

Fundamentos en el Diagnóstico y Control de la **Malaria**



República Bolivariana de Venezuela
Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS)

Cnela. Eugenia Sader Castellanos
Ministra del MPPS

Dra. Isabel Iturria
Viceministra de Recursos para la Salud

Dr. Jesús Enrique Valero Chacín
*Director Ejecutivo del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios
"Dr. Arnoldo Gabaldón"*

Lcdo. José Edgardo Morr
Jefe de la Oficina de Documentación e Información del IAE

Compiladores:
Prof. Msc. Albina Wide
Prof. Msc. Jorge Moreno
Dr. Msc. Oscar Noya G.

Corrección de Estilo: Lcdo. Enrique Acosta Freitas
Concepto Gráfico y Diseño: TSU. Yadira Salas G.

Junio 2011

Todos los derechos reservados.

© Prof. Msc. Albina Wide, Prof. Msc. Jorge Moreno, Dr. Msc. Oscar Noya G.

© Sobre la presente edición: SA IAE "Dr. Arnoldo Gabaldón"

Depósito Legal: If90420116101401

ISBN: 978-980-6778-29-0

Esta obra se puede reseñar, reproducir o traducir con fines de investigación o académico, pero no para la venta u otro uso comercial. En todo uso que se haga de esta información, se deberá indicar su fuente.

1. Presentación del libro	
Dr. Jesús E. Valero C. Director del IAES.....	05
2. Prólogo	
Oscar Noya G.....	07
3. A la memoria del Dr. Arnoldo Gabaldón Carrillo en el centenario de su nacimiento	
Oscar Noya G.....	09
4. Introducción	
Oscar Noya G.	13
5. Hitos en Malaria en el mundo	
Oscar Noya G.....	23
6. Hitos de la historia de la Malaria en Venezuela	
Oscar Noya G.....	25
7. Conceptos en Malaria	
Albina Wide y Oscar Noya G.....	27
8. Ubicación taxonómica de <i>Plasmodium</i> spp	
Albina Wide.....	33
9. Ciclo de vida de <i>Plasmodium</i> spp	
Albina Wide.....	35
10. Epidemiología de la Malaria en Venezuela	
Leopoldo Villegas, Nelly Hernández, María Eugenia Guevara.....	41
11. Fisiopatología y patogenia de la Malaria	
Oscar Noya G.....	59
12. Respuesta inmunitaria en Malaria. Bases de la inmunidad innata y adquirida (humoral y celular)	
Albina Wide.....	69
13. Notas sobre la respuesta inmunitaria al paludismo por <i>Plasmodium falciparum</i>	
Hilda Pérez.....	87
14. Diagnóstico clínico de la Malaria	
Oscar Noya G. y John Ossenkopp.....	101
15. Malaria y embarazo	
Nelly Hernández y Leopoldo Villegas.....	117
16. Diagnóstico de laboratorio	
Albina Wide, Rosalba Pabón, Noraida Zerpa y Jacinta Capaldo.....	125
16.1. Diagnóstico Parasitológico.....	125
16.2. Diagnóstico Inmunológico.....	150
16.3 Diagnóstico por Biología Molecular.....	155

17. Tratamiento de la Malaria	
Oscar Noya G. y Albina Wide.....	159
17.1. Pauta Nacional según la Dirección de Salud Ambiental del Ministerio del Poder Popular para la Salud.....	160
17.2. Tablas de tratamiento y dosificación exacta por peso (Proyecto RAVREDA, Leopoldo Villegas. Recopilación de Albina Wide y Oscar Noya G.).....	170
17.3. Evaluación de sensibilidad de medicamentos antimaláricos y clasificación del grado de resistencia Albina Wide.....	183
18. Entomología en Malaria. Biología de los mosquitos	
Jorge Moreno.....	193
19. Ciclo esporogónico del género <i>Plasmodium</i>	
Jorge Moreno.....	203
20. Ecología de los anofelinos	
Jorge Moreno.....	209
21. Vectores de la Malaria en Venezuela	
Jorge Moreno.....	213
22. Control de los mosquitos con insecticidas. Bioensayos de susceptibilidad a los insecticidas	
Darjaniva Molina de Fernández.....	227
23. Principios en el control de la Malaria	
Oscar Noya G.	245
Bibliografía General.....	251

2. PRÓLOGO

Coincidiendo con el centenario del nacimiento del Dr. Arnoldo Galdón, el 1° de Marzo de 1909 y ante la necesidad de concretar en este libro la experiencia acumulada a través de los cursos sobre Malaria, entre ellos el Internacional de Malaria del IAES y los módulos de Malaria bianuales de la asignatura Protozoología del Postgrado Nacional de Parasitología, se decidió elaborar un libro mejor estructurado que los editados previamente, para los cursos antes citados. El mismo, ha sido elaborado gracias a la participación de numerosos investigadores y docentes de diferentes instituciones, que se plantean sedimentar los diferentes capítulos en un libro que sea de utilidad para el personal de salud, desde los profesionales de la medicina hasta los inspectores, microscopistas y visitantes de la entramada red de trabajadores que luchan en pro del control y eventual eliminación de la Malaria. Estamos conscientes de que falta información en este libro y en virtud de la necesaria actualización, profundización y ampliación de la información contenida en este libro, pretendemos que éste sea solo la primera edición del mismo, que debiera ser reeditado al menos cada 3 años. Es tan profusa la información que se genera día a día sobre esta importante enfermedad parasitaria, que se hace necesaria su actualización permanente, para poder estar al tanto sobre los últimos avances en investigación y su aplicación en el área de la salud pública.

La creciente preocupación sobre los rápidos cambios bio-ecológicos que están sucediendo con esta enfermedad, como son la dispersión de especies propias de los primates no humanos al hombre como está ocurriendo con *Plasmodium knowlesi* en el sudeste asiático y viceversa, la reciente demostración de la infección natural de primates (gorilas) con *P. falciparum* conlleva a redefinir a la entidad clínica producida por esta especie, como una antropozoonosis, que asociado a los crecientes reportes de resistencia de los parásitos y vectores a las drogas y a los insecticidas respectivamente, obliga a revisar periódicamente toda la información presentada en este libro. Asimismo, estamos conscientes que algunos capítulos deben fortalecerse, para enriquecer aún más la estructura didáctica de este libro.

Finalmente, agradecemos a todas aquellas personas que han realizado críticas constructivas sobre los contenidos del libro que tengan a bien hacerlas después de esta edición, teniendo como meta mejorar edición tras edición el contenido del mismo.

Oscar Noya G.
Diciembre 14-2009

3. A LA MEMORIA DEL DR. ARNOLDO GABALDÓN CARRILLO

Es notable que las cuatro grandes figuras de la Parasitología y la Microbiología venezolana del siglo pasado, Rafael Rangel (Trujillo), Enrique Tejera Guevara (Carabobo), José Francisco Torrealba (Guárico) y Arnoldo Gabaldón (Trujillo), hayan nacido en el interior del país, en una época de gran atraso social e intelectual en esa parte importante del territorio nacional.

Arnoldo Gabaldón Carrillo nace en Trujillo, el 01-03-1909, hijo de Joaquín Gabaldón Iragorri y Virginia Carrillo Márquez. En su educación tuvieron particular influencia su madre, quien a su vez había sido muy influenciada por su padre, Juan Bautista Carrillo Quevedo, un prestigioso industrial que participó en un sinnúmero de actividades benéficas, particularmente del área sanitaria (dirigió la Junta de Sanidad del Estado en los sucesivos brotes de enfermedades que aquejaron la región).

El joven Gabaldón se muda a Caracas y a la edad de 15 años ingresa a la Facultad de Medicina de la UCV, y comienza a trabajar en el Laboratorio de Bacteriología y Parasitología de la Dirección de Sanidad que dirigía el Dr. Enrique Tejera Guevara. Es allí, donde empieza a investigar y le permite hacer su tesis de grado que culmina en 1930 y la publica en la Gaceta Médica de Caracas. Luego, parte a Alemania para realizar el Curso sobre Malaria en el Instituto de Enfermedades Tropicales y Navales de Hamburgo. Al concluir el curso, se traslada a Italia para estudiar el programa de control de la Malaria en ese país, regresando a Venezuela en 1932, publicando sus experiencias europeas en la Gaceta Médica de Caracas. Comienza a trabajar como Médico de Sanidad del estado Apure, donde puede apreciar el impacto de la Malaria y la complejidad de su control.



En 1933 parte para la Escuela de Salud Pública de la Universidad de John Hopkins en

Baltimore EUA, para realizar su doctorado en Ciencias de Higiene con una beca de la Fundación Rockefeller, el cual culmina en 1936. Comienza una breve pasantía en Nueva York en el Instituto Rockefeller y retorna al país en febrero de ese mismo año. Luego de la muerte del general Gómez, invitado por el nuevo Ministro de Salubridad y Agricultura y Cría, su maestro el Dr. Enrique Tejera Guevara, quien inmediatamente separa al Ministerio de Sanidad y Asistencia Social del Ministerio de Agricultura. El Dr. AG, colabora con la redacción de la Ley de Defensa contra el Paludismo, que es aprobada en junio de ese mismo año y ocasiona la renuncia del Dr. Tejera como Ministro. El nuevo Ministro Santos Dominici, crea el 27-07-1936 la Dirección Especial de Malariología, nombrando a A. G. como su primer Director. Entre sus primeros colaboradores selecciona al Ing. Arturo Luís Berti.

Al frente de la Dirección de Malariología, Gabaldón lleva a cabo la acción sanitaria de mayor impacto en la morbilidad y mortalidad de la población venezolana, que condujo a la eliminación de la Malaria en dos tercios de los aproximadamente 600.000 Km² del área originalmente malárica. Esta titánica y exitosa labor recibió el reconocimiento internacional de la Organización Mundial de la Salud, quién certifica en 1942 la mayor área de Malaria eliminada de la franja tropical y a partir de esa fecha y en base a esos resultados, la OMS establece la estrategia mundial de “erradicación” de la Malaria para el resto de los países. En paralelo inicia dos programas que tuvieron un gran impacto en la salud de la población rural venezolana, como fueron los programas de acueductos rurales iniciado en 1945 y el de viviendas rurales en 1958. Esta labor solo fue posible ya que en esta gran figura se conjugaron sus dotes de educador, creando la publicación “Tijeretazos sobre Malaria” en 1938, la Escuela de Malariología en 1943, el Primer Curso Internacional de Malaria en 1944, que corresponde al primer postgrado creado en salud del país y el Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental en 1960. De investigador, dejó 118 publicaciones, habiendo descrito entre otros destacados trabajos, tres importantes especies de anofelinos y una especie de parásitos maláricos de aves; de liderazgo como sanitarista y político al ejercer de forma brillante como Ministro de Salud entre 1960-65, cuyos logros están resumidos en dos tomos de “Una política Sanitaria” editados en 1965. Continuó asesorando al Ministerio de Sanidad en su carácter de asesor ya jubilado y desde el Laboratorio para Estudios sobre Malaria, creado el 11-04-1973 en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” bajo la Dirección del Dr. Enrique Tejera, en donde se dedicó a

investigar sobre Malaria aviaria, sin desligarse de la actividad sanitaria, haciendo dos grandes aportes, la creación de los Comités Asesores de la Dirección de Salud Ambiental en 1984 y fue quien invitó al Dr. Manuel Elkin Patarroyo a evaluar la vacuna antimalárica SPf66 en Venezuela en enero de 1989. Este proyecto fue el Proyecto Majadas, el primer estudio de campo en población civil de una vacuna sintética y el primero contra la Malaria. A pesar de su avanzada edad, creyó en otras novedosas estrategias para el control de la Malaria, mucho antes que jóvenes epidemiólogos e investigadores del área, incrédulos de esta nueva e interesante estrategia de control. Solo los seres de grandes horizontes y visionarios logran ver mas allá y no se atan a principios clásicos y rutinarios. Fue el último gran aporte de este gigante de la salud a la humanidad.

Gabaldón fallece en Caracas el 1º de septiembre de 1990 a la edad de 81 años, luego de una larga y muy digna lucha contra el cáncer.

Oscar Noya G.

REFERENCIAS

- Berti Arturo L. (1997). Arnoldo Gabaldón. *Testimonios sobre una vida al servicio de la gente. Ediciones de la Cámara de Diputados del Congreso de la República de Venezuela*. Caracas, Venezuela, p:353.
- Briceño León R. (2010). Biografía de Arnoldo Gabaldón, Ed. El Nacional, Caracas, Venezuela.
- Guerrero L. y Borges L. (1998). Arnoldo Gabaldón. *Un prócer civil*. Editorial El Aragueño C.A. Maracay, Estado Aragua, p:131.
- López Ramírez T. (1987). *Historia de la Escuela de Malariología y Saneamiento Ambiental de Venezuela*. Imprenta Universitaria de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, p: 264.

4. INTRODUCCIÓN

La Malaria es causada por parásitos del género *Plasmodium* y transmitida por la picadura de mosquitos hembras del género *Anopheles*. En el ciclo del *Plasmodium* los anofelinos participan como hospedadores definitivos ya que en ellos, el *Plasmodium*, se reproduce sexualmente, mientras que los humanos y otras especies de vertebrados actúan como hospedadores intermediarios, al multiplicarse asexualmente. Las especies de plasmodios que clásicamente infectan al hombre son: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. Malariae*, que producen las fiebres Terciana Maligna, Terciana Benigna, Terciana Ovale y Malaria Cuartana respectivamente (Hommel y Gilles, 2005). Sin embargo, hay reportes recientes en el sudeste asiático de infección natural en humanos por *Plasmodium knowlesi*, especie propia de simios (Oon Teg Ng y col., 2008).

Para el 2010 hasta la semana epidemiológica N° 52 se han registrado 45.155 casos, distribuidos en los siguientes estados: Bolívar 39.744 (88,0%), Amazonas 2.797 (6,2%), Sucre 561 (3,5%) y resto del país 561 (1%). La fórmula parasitaria hasta esa semana epidemiológica fue de 76,8% para *P. vivax*, 20,4% para *P. falciparum*, 2,7% infecciones mixtas (*P. vivax* y *P. falciparum*) y 0% para *P. malariae* (Boletín Epidemiológico Semanal de la Dirección de Salud Ambiental del MPPS, 2010).

La enfermedad se manifiesta clínicamente como un síndrome febril agudo o crónico, anemia, esplenomegalia y hepatomegalia. Las complicaciones graves y los casos mortales son más frecuentes en la Malaria por *P. falciparum*, la cual se encuentra distribuida en África, Asia y Latinoamérica; la mayoría de las muertes provocadas por *P. falciparum* ocurre en África sub-Sahariana (Snow, 1999). Sin embargo, en el resto de los continentes la especie de mayor prevalencia es *Plasmodium vivax* (causa más del 50% de la Malaria que ocurre fuera de África) y está distribuida en los trópicos y en algunas zonas de clima templado y raramente es letal. No obstante, debido al efecto debilitante ocasionado por las recaídas (por los hipnozoitos), afecta notablemente la actividad productiva de la población económicamente activa y el rendimiento escolar, acarreando obstáculos al desarrollo social y económico (Mendis y col., 2001). *P. Malariae* está circunscrito a ciertas regiones de África y América, mientras que *Plasmodium ovale*, se encuentra sólo en algunas zonas de África Occidental.

Las infecciones por *P. vivax* predominan en el continente americano, salvo Guayana Francesa, Guyana y Surinam donde prevalece *P. falciparum*, mientras que en la República Dominicana y Haití la Malaria es causada exclusivamente por *P. falciparum*. Afortunadamente, la tasa de mortalidad por *P. falciparum* en América es significativamente menor que la que se registra para esta misma especie en África, y para el año 1999 alcanzó la cifra de 1,7/100.000 habitantes lo cual representa una reducción de un 78% (OPS, 2001). La Malaria continúa siendo la enfermedad parasitaria más importante en el mundo, ya que afecta a 273 millones de personas por año y se estima que provoca 1,5 a 2.7 millones de muertes por año, sola o en combinación con otras enfermedades (Snow, 1999; 2003). La enfermedad se concentra en las áreas tropicales y subtropicales de Asia, África y América, pero hoy en día con las migraciones y desplazamientos turísticos puede registrarse casos de infección malárica en zonas no endémicas como los EUA y Europa (Paxton y col. 1996).

En Venezuela esta parasitosis ha sido la enfermedad que más afectó negativamente el desarrollo económico y social del país por su elevada morbilidad, llegando a infectar a uno de cada tres venezolanos, hasta en 1936 que se crea la División de Malariología del Ministerio de la Salud y se estructura el mejor programa de control de la Malaria de la región tropical. Logran bajar las tasas de mortalidad de aproximadamente 300 muertes por 100.000 habitantes a 62,5 en diciembre de 1945, que se inicia el rociamiento intradomiciliario con DDT. A partir de esa fecha la mortalidad disminuyó a menos de 0,2 x 100.000 habitantes a comienzos de 1970 (Tabla 4.1). El área de transmisión malárica comprendía todo el territorio nacional por debajo de los 800 metros de altura s.n.m. (figura 4.1) y debido al programa de control, esta área se redujo en dos tercios de los aproximadamente 600.000 km². Es por ello que nuestro país fue certificado en 1942 por la OMS, como el de mayor área eliminada, en la región tropical. A partir de los años 70 se logró que permanecieran solo los focos occidental (edos. Táchira, Zulia, Apure, Barinas, y Mérida) y meridional (Bolívar y Amazonas) y a partir de 1982 se reactivara el foco oriental (Edos. Sucre, Anzoátegui y Monagas), que permanecen en la actualidad (figura 4.2). En la Figura 4.3 se presenta la evolución de las tasas de prevalencia de la Malaria desde 1936. En la Figura 4.4., se presenta el número de casos ocurrido en la última década.

Para el 2009 hasta la semana epidemiológica N° 52 se han registrado 35.725 casos, distribuidos en los siguientes estados: Bolívar 30.462 (82,3%), Amazonas 3.530 (9,9%), Anzoátegui 881 (2,5%), Sucre 393 (1,1%), Delta Amacuro 239 (0,7%), Monagas 113 (0,3%) y el resto del país 141 (0,4%). La fórmula parasitaria hasta esta semana epidemiológica es de 80,4% *Plasmodium vivax*, 15,6% *Plasmodium falciparum*, 0% *Plasmodium Malariae* y 4% Infecciones Mixtas (*P. vivax* + *P. falciparum*) (Boletín Epidemiológico Semanal de la Dirección General de Salud Ambiental del MPPS, 2009).

Para el 2010 hasta la semana epidemiológica N° 21 se han registrado 22.880 casos, distribuidos en los siguientes estados: Bolívar 20.900 (91%), Amazonas 1.250 (5,5%), lo cual representa el 96,5% de los casos del país, mientras que el resto de los estados solo produjeron el 3,5% (Boletín Epidemiológico Semanal n° 21, 2010) (Tabla 4.2). La fórmula parasitaria actual es de *P. vivax*: 68,3%, *P. falciparum*: 27,8% e infecciones mixtas: 4%.

Con el objeto de mejorar las actividades de control de las enfermedades metaxénicas el MPPS ha instrumentado a partir del 2010 el Programa Bicentenario de Control de los Vectores de la Enfermedad de Chagas, Malaria y Dengue.

En la Tabla 4.3 se resumen los aspectos más resaltantes de la epidemiología de la Malaria en Venezuela.

Tabla 4.1
Evolución de la mortalidad por Malaria en Venezuela

Etapas del Control de la Malaria		Fechas	Tasa de mortalidad (X 100.000)
Antes del Programa de Control		Hasta 1936	300,0
Programa de Control de la Malaria	Antes del DDT	1936 - 1944	112,0
	Inicio de aplicación del DDT	02 - 12 - 1945	62,5
	Etapa de aplicación del DDT	1946	51,6
		1947	31,8
		1948	16,1
		1949	8,8
		1950	8,5
		1951 - 1969	< 2,0
1970 - 2009		< 0.2	

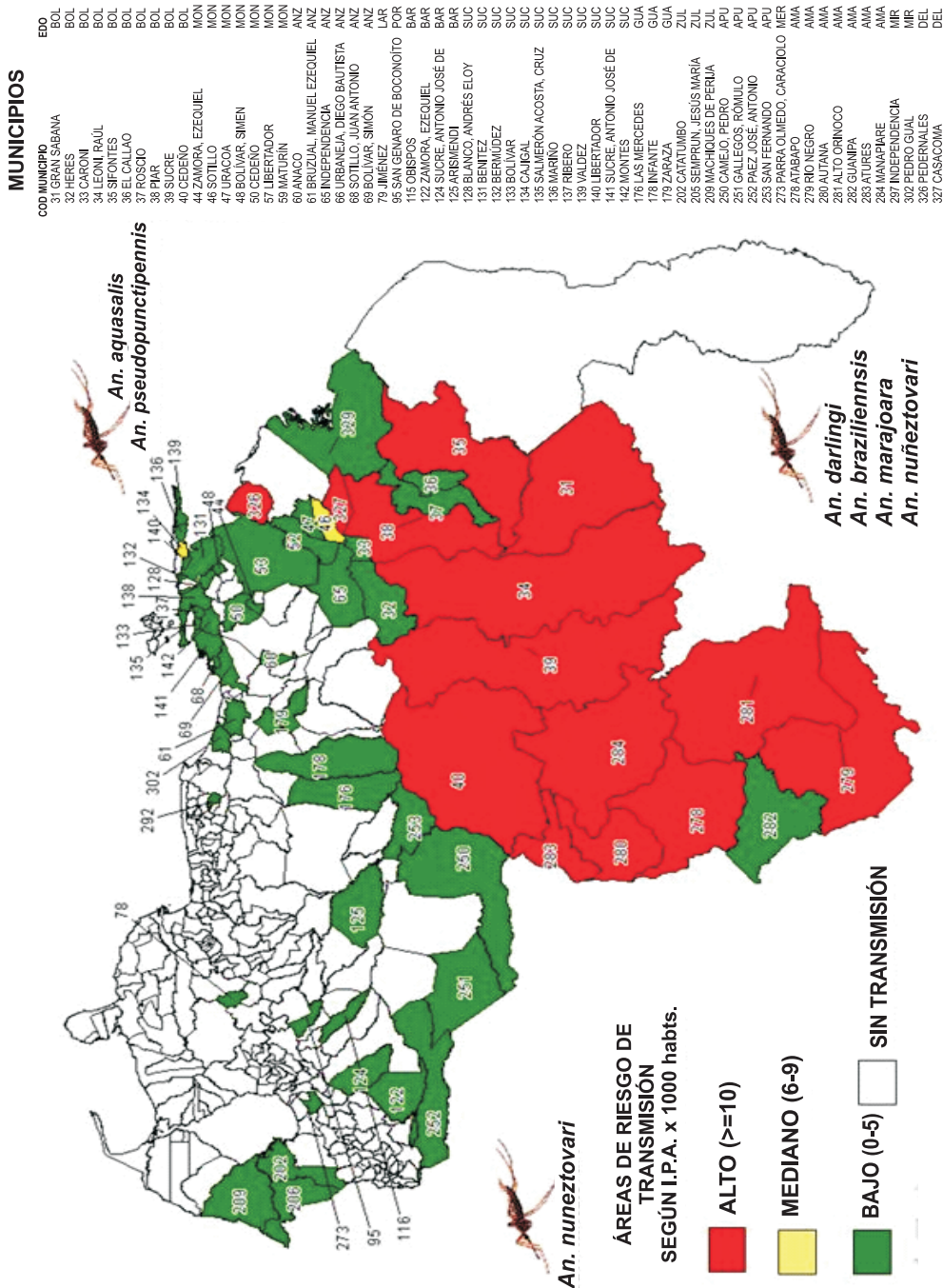
Fuente: Modificado de Pereira C. 1986. Malariología, M. S.

Figura 4.1
Distribucion original de la Malaria en Venezuela,
Año 1942



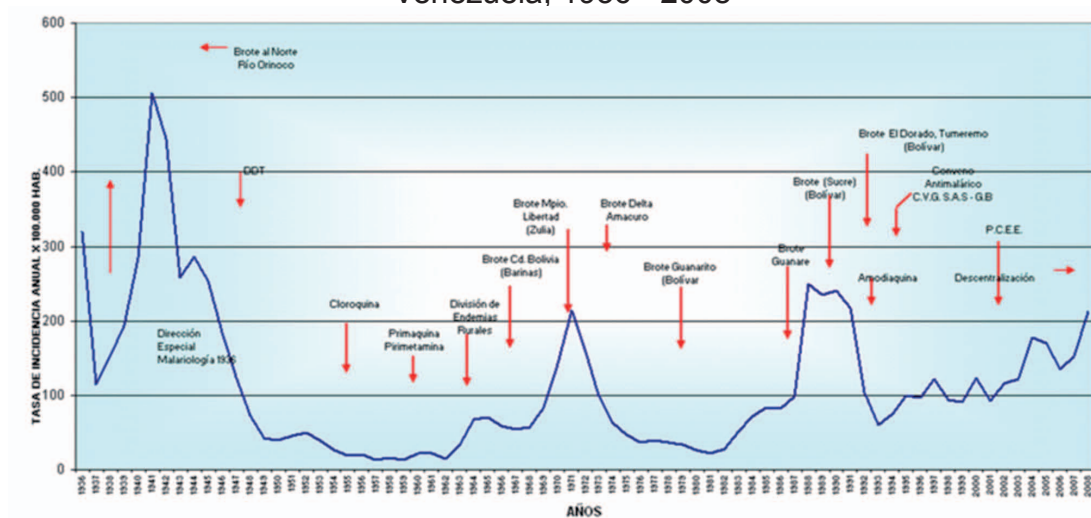
Fuente: Departamento de Estadística de la Dirección de Vigilancia Epidemiológica Sanitario Ambiental

Figura 4.2
Programa de Malaria. Áreas de riesgo malárico. Venezuela 2008



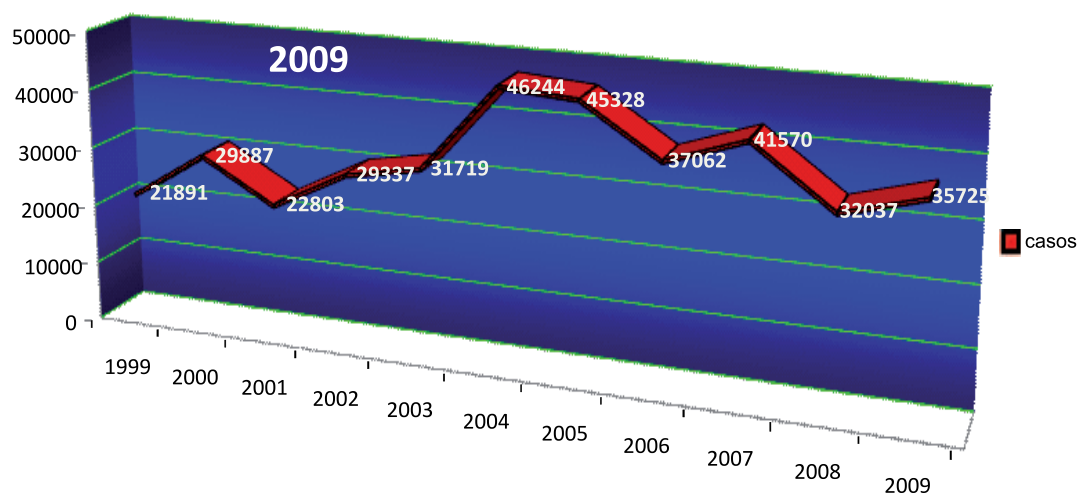
Fuente: Dirección General de Salud Ambiental - 2009

Figura 4.3
Incidencia anual por Malaria x 100.000 hab.
Venezuela, 1936 - 2008



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental - 2009

Figura 4.4
Casos de Malaria en Venezuela 1999 - 2010



Fuente: Dirección de Salud, Ministerio del Poder Popular para la Salud

Tabla 4.2.

Casos de Malaria según lugar de origen de infección, Venezuela,
semana epidemiológica N° 52, año 2010

* Con Base a la población expuesta a riesgo en municipios a los cuales por investigación, se les haya atribuido transmisión malarica durante el año.

Tabla 1. CASOS DE MALARIA SEGÚN LUGAR DE ORIGEN DE INFECCIÓN, VENEZUELA, SEMANA EPID. N° 52, AÑO 2010																
ESTADOS	MUESTRAS TOMADAS	CASOS SEMANA N° 52							ACUMULADO MUESTRAS TOMADAS	ACUMULATIVO HASTA SEMANA N° 52						
		ESPECIE				TOTAL 2010	SITUACIÓN	2009		ESPECIE				TOTAL 2010	SITUACIÓN	2009
		P.v	P.f	P.m	P.v.f					P.v	P.f	P.m	P.v.f			
Dtto. Capital	1	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	132	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Amazonas*	261	8	3	0	0	11	ÉXITO	22	22.312	2.083	636	57	21	2.797	ÉXITO	3.612
Anzoátegui	16	0	0	0	0	0	ÉXITO	2	6.063	95	4	0	4	103	SEGURIDAD	881
Apure	10	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	821	16	4	0	1	21	SEGURIDAD	34
Aragua	2	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	147	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Barinas	15	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	1.733	1	0	0	0	1	SEGURIDAD	1
Bolívar	1.332	311	94	0	13	418	SEGURIDAD	1.026	244.807	28.075	9.947	2	1.720	39.744	EPIDEMIA	30.483
Carabobo	8	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	232	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Cojedes	2	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	20	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
D. Amacuro	48	26	0	0	0	26	ALARMA	28	11.515	1.547	34	0	7	1.588	ALARMA	239
Falcón	0	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	7	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Guárico	35	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	4.925	8	0	0	2	10	ALARMA	17
Lara	34	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	1.310	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Mérida	49	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	4.592	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Miranda	0	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	51	1	0	0	0	1	SEGURIDAD	3
Monagas	16	4	0	0	0	4	SEGURIDAD	0	4.248	95	1	0	1	97	ÉXITO	113
N. Esparta	1	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	179	3	0	0	0	3	ALARMA	3
Portuguesa	5	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	1.178	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Sucre	1.321	12	0	0	0	12	SEGURIDAD	5	87.687	557	3	1	0	561	SEGURIDAD	393
Táchira	5	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	2.621	0	0	0	0	0	ÉXITO	2
Trujillo	0	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	489	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Vargas	2	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	10	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Yaracuy	2	0	0	0	0	0	ÉXITO	0	46	0	0	0	0	0	ÉXITO	0
Zulia	15	4	0	0	0	4	ALARMA	0	5.347	229	0	0	0	229	ALARMA	47
Venezuela	3.180	365	97	0	13	475	ÉXITO	1.083	400.472	32.710	10.629	60	1.756	45.155	ALARMA	35.828
CASOS IMPORTADOS		6	2	0	0	8		7		461	325	0	28	814		728
Guyana (7), Colombia (1).									Guyana (673), Colombia (115), Brasil (14), Haití (6), Nigeria (5), Panamá (1)							
Total Estados Notificantes 24 (100%)																

Fuente: Dirección General de Salud Ambiental

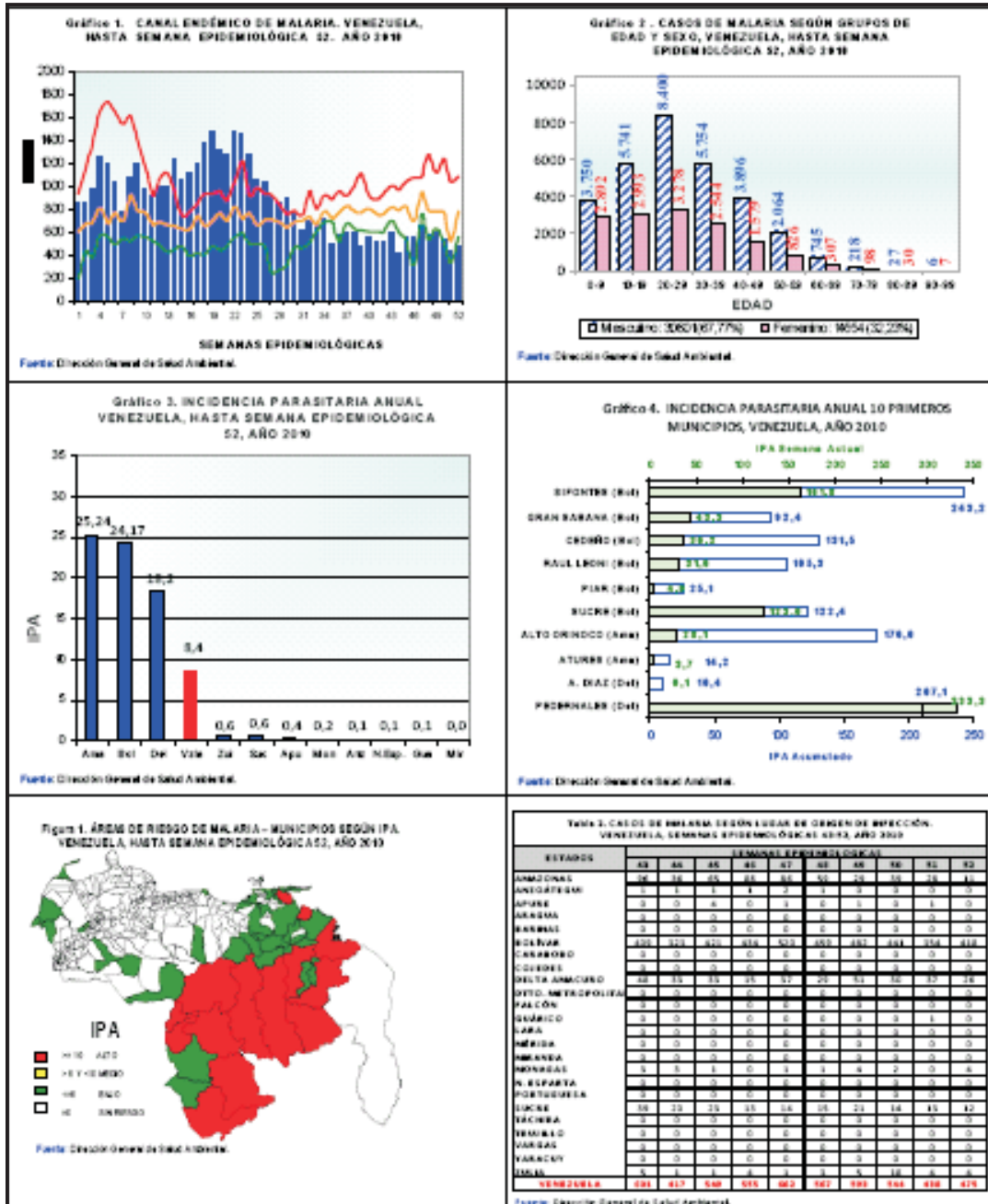
NSI: No suministro información

*Láminas / Pruebas Diagnósticas Rápidas

*Se Corrige Acumulado

P.v.= *Plasmodium vivax*, P.f.= *Plasmodium falciparum*, P. m.= *Plasmodium malariae*, P.vf.= Infecciones mixtas (P. vivax + P. falciparum).

Figura 4.5
Evolución y caracterización epidemiológica de la Malaria
hasta la semana 52 de 2010, Venezuela



Características de la Malaria en Venezuela

1. Predominio de *P. vivax* sobre *P. Falciparum* (aprox. 70 % / 30%).
2. Infección ya no es sinónimo de enfermedad. Frecuente los portadores asintomáticos (Se estiman que existen 3 casos asintomáticos por cada caso diagnosticado).
3. Baja frecuencia de esplenomegalia. No tiene valor el índice esplénico como indicador de transmisión.
4. En la actualidad moderada morbilidad con tendencia al aumento. Tasa de 128 casos x 100.000 hab. en el 2009.
5. Transmisión en población dispersa en áreas rurales, selváticas y fronteras de difícil acceso y control. Frecuentes reinfecciones de focos de Malaria erradicada, que habitualmente son controlados. Reciente aparición de casos en zonas urbanas.
6. Habitualmente, los focos más importantes están ubicados en los estados fronterizos. En la actualidad Bolívar es el estado con mayor morbilidad (91% de los casos).
7. Población de más alto riesgo son: adultos jóvenes (65,4%), con ciertas ocupaciones (mineros, agricultores, militares) y comunidades amerindias. Malaria laboral y de fronteras.
8. Moderada presión sobre el vector con insecticidas residuales y nebulizaciones ambientales en todo el país.
9. A pesar de ser mayor la búsqueda activa se diagnostican más casos por búsqueda pasiva.
10. Muy baja mortalidad posiblemente debido al diagnóstico precoz. El subregistro predomina en comunidades indígenas de los estados Bolívar y Amazonas.
11. Presencia de resistencia a los antimaláricos detectada desde 1959. No hay registro sistemático.
12. Desmantelamiento de la Dirección General Sectorial de Malariología, hoy Dirección General Sectorial de Salud Ambiental y fraccionamiento de las actividades de control de la Malaria acentuado por el proceso de descentralización del Ministerio de Salud. El programa de control actual se basa en el diagnóstico y tratamiento precoz y en menor grado, en los rociamientos intradomiciliarios.

REFERENCIAS

- Hommel M. and Guilles H. M. (2005). Malaria, Tapley & Wilson's. In: Microbiology and microbial infections. 10th edition. Volumen editors. Cox F. E., Kreeier J. P. Wakelin D. London 361-409.
- Mendis K., Sina B., Marchesini P., Carter R. (2001). The neglected burden of *Plasmodium vivax* Malaria. Am. J. Trop. Med.Hyg. 64 (1,2) **S:97-106**.
- Oon Teg Ng, Eng Eong Ooi, Cheng Chuan Lee, Piao Jarrod Lee, Lee Ching Ng, Sze Wong Pei, *et al.* (2008). Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. Emerg. Infect. Dis. J. Home. **14(5)**: Documento en línea: <http://www.cdc.gov/EID/content/14/5/814.htm>.
- OPS. (2001) Situación de la Malaria en las Americas. Boletín epidemiológico. Vol. 22 N° 1.
- Paxton L., Slutsker L., Schultz L., Luby S., Meriwether R., Matson P., *et al.* (1996). Imported Malaria in Montagnard refugees settling in North Carolina: implications for prevention and control. Am. J. Trop. Med. Hyg. **54**: 54-57.
- Snow R.W., Craig M., Marsh K. (1999). Estimating mortality, morbidity and disability due to Malaria among Africa's non-pregnant population. Bull.WHO **77**: 624-640.
- Snow R. W., Newton C. R. J. C., *et al.* (2003). The public health burden of *Plasmodium falciparum* Malaria in Africa : deriving the numbers. Dis. Control Parasites Project Working Paper N° 111.
- Sturm A., Amino R., Van de Sand C., Regen T, Retzlaff S., Rennenberg A., *et al.* (2006) Manipulation of host hepatocytes by the Malaria parasite for delivery into liver sinusoids. Science **313(5791)**:1287-1290.

5. HITOS EN MALARIA EN EL MUNDO

Siglo V A.C.	Hipócrates en Grecia hace la primera descripción de la enfermedad.
1600	Juan López un jesuita misionero, describe por primera vez las propiedades antipiréticas de la corteza de la Cinchona utilizada por los Indios del Perú.
1874	Zeiller sintetiza el DDT en Alemania pero su efecto residual es descubierto por Müller y Wiesman en Suiza 1936.
1880	Alfonso Laveran describe por primera vez los parásitos maláricos en Argelia.
1886	Golgi describe en detalles a <i>P. vivax</i> y <i>P. Malariae</i> .
1889-90	Celli y Marchiafava describen a <i>P. falciparum</i> en Italia.
1894	Manson propone que la Malaria es transmitida por mosquitos.
1897	Ronald Ross describió oocistos en anofelinos que se alimentaron de un paciente en la India.
1898	Battista Gras, Amico Bignansi y Giuseppe Bastianelli descubrieron el ciclo completo del <i>Plasmodium</i> en anofelinos.
1901	Gras, pronostica la existencia de una fase exoeritrocítica en el humano.
1906	Carlos Chagas establece el concepto de interceptación de la Malaria (Gráfica 5.1).
1922	Stephens identificó y descubrió a <i>P. ovale</i> .
1934	Desarrollo de la cloroquina en Alemania.
1948	Shor, Graham, Covell y Shude describen la fase eritrocítica hepática de <i>P. cynomolgi</i> en monos rhesus.
1948-49	Short, Graham, Covell y Shude describen las formas pre-eritrocíticas de <i>P. vivax</i> y <i>P. falciparum</i> en el hígado humano.
1949	Arnoldo Gabaldón presentó los resultados de las estrategias de la enfermedad de la Malaria en Venezuela, estableciendo las bases de control de esta enfermedad en las áreas Tropicales.
1952	Elderfield desarrolla la primaquina en Alemania.
1959	Silvio Maberti demuestra y publica por vez primera el desarrollo de la quimioresistencia de <i>P. falciparum</i> y <i>P. vivax</i> en Venezuela.
1973	David Clyde logra por primera vez inmunizar humanos con esporozoítos irradiados.
1976	Trager y Jensen cultivan "in vitro" a <i>P. falciparum</i> .
1980	Krotovski demuestra la fase de hipnozoíto de <i>P. cynomolgi</i> y <i>P. vivax</i> .
1988	Manuel Elkin Patarroyo publica el primer ensayo exitoso en humanos de una vacuna contra la Malaria y la primera vacuna sintética de la historia
2002	Descripción del genoma de <i>P. falciparum</i> y <i>Anopheles</i> .
2010	Franck Prugnolle y col. demuestran la infección natural de primates (gorilas) con <i>P. falciparum</i> en África Central.

Gráfico 5.1
Artículo de Carlos Chagas

Anno XX Num. 41 1 de Novembro de 1906

Brazil-Medico

SUMMARY

Trabalhos Originaes — *Prophylaxia da impaludismo* (continuação), pelo Dr. Carlos Chagas.
Clinica Curativa — *Da hyperchaeta como agente therapeutico*, pelo Dr. Joozef E. Bauman.
Noticias Demographicas — *Mortalidade da cidade do Rio de Janeiro*, por R. L.
Chronicas e Noticias

TRABALHOS ORIGINAES

Prophylaxia do Impaludismo

(Trabalho do Instituto de Manguinhos)

PELO DR. CARLOS CHAGAS

(Continuação)

Medidas prophylaticas

Vimos, até aqui, estudando as condições epidêmicas do impaludismo, no intuito de bem comprehender e racionalmente executar uma campanha anti-paludica. Os factos expostos, assim de um modo geral, constituem de certo, apesar disso, orientação bastante para o fim que temos em mira, e de referir as regras prophylaticas classicas, adicionando-lhes alguns detalhes praticos, que lucrámos de uma pequena experiência.

Poder-se-ha synthetisar n'um duplo intuito a prophylaxia do impaludismo: *impedir que o homem doente contamine o culicídio transmissor, evitar que o culicídio parasitado infecte o homem sã.*

Tal objectivo é seguramente conquistavel pela execução dos processos prophylaticos deduzidos de conhecimentos etiologicos exactos, relativos ao hematozoario e à anophelina. A prophylaxia será, por isso mesmo, *anti-culicidica*, quando applicada ao mosquito, e *germicida*, quando á destruição do hematozoario, na phase endogena da evolução delle.

Necessaria, n'um caso particular de uma campanha anti-paludica, a selecção de medidas praticas capazes de proporcionar o maximo de resultados, essa devera ser a resultante de um estudo minucioso de todas as condições da experiência, trabalho prévio essencial e, no geral, aquelle que mais requer cuidado profissional e habilidade technica especializada.

Será, pois, a actividade do experimentador primeiro applicada ao estudo das anophelinas existentes na zona, campo da experiência, procurando determinar-lhes as especies e colhendo a maior somma possível de dados relativos á biologia dellas.

Os depositos larvarios serão cuidadosamente estudados, quer nas relações de distancia entre elles e as habitações, quer para o intuito de escolher o melhor processo de os extinguir, o que exigirá, muitas vezes, oçes de hydrographia.

Votar-se-ha demorada attenção ao hematozoario, eijos reservatorios serão pesquisados nas crianças e

nos antigos impaludados, e cujos tipos morphologicos serão cuidadosamente determinadas. Nos infectados serão procurados os gametos, esphêricos ou semilunares, tendo maxima importancia prophylatica a presença ou ausencia actual dell'es. E a periodicidade, si existe, regular, ou irregular, dos accessos de reacção thermica, será indicação tambem necessaria, destinada especialmente a orientar a applicação da quina.

Atim de determinar o indice endemico da região e no intuito de afastar os elementos contaminadores dos culicidios, será trabalho prévio rigoroso a pesquisa dos casos de esplenomegalia, criterio que adoptamos para o isolamento permanente dos individuos julgados perigosos.

Indispensaveis são ainda conhecimentos relativos ás habitações e á natureza de vida e de trabalho da população a proteger contra o impaludismo. Em dadas condições, uma vez extintos os reservatorios locais do parasita, poderão elles chegar de outras zonas, onde grasse a molestia, pelo que devera essa hypothese merecer cuidado, expresso na vigilância dos recém-chegados.

Taes pesquisas levarão a escolha do methodo prophylatico mais applicavel ao caso particular, excluindo medidas inefficazes, fazendo adoptar aquellas capazes de proporcionar o maximo de resultados praticos. Cumpre, porém, affirmar a conveniencia de u'uma campanha anti-paludica, usar do maior numero de processos prophylaticos, porquanto sendo o exito final resultante das vantagens colhidas na applicação de medidas parcellares, os resultados destas, sejam em bora minimos, serão cuidadosamente aproveitados.

Prophylaxia anti-culicidica. — A prophylaxia anti-culicidica será offensiva ou defensiva, conforme destinada á extincção dos culicidios ou á protecção do homem contra as picadas dell'es. Na primeira incluem-se todas as medidas que visam ou diminuir, no maximo de possibilidade pratica, os culicidios de uma zona, ou afastal-os do homem em distancia superior ao maior raio de seu vôo habitual.

Os processos que conduzem a taes resultados são os seguintes: 1.º trabalhos de hydrographia sanitaria, destinados a eliminar os *habitats* de evolução dos culicidios; 2.º medidas anti-larvarias; 3.º *destruição domiciliar dos culicidios adultos*.

A prophylaxia defensiva comprehende a protecção individual e a collectiva contra as picadas, realizavel a primeira pelos véos, cortinados, etc, e a segunda pela protecção mechanica das habitações.

Estudemos parcelladamente cada um destes processos prophylaticos.

Hydrographia anti-paludica. — Vem de longe, e está contida na propria denominação da molestia, a dependencia entre o impaludismo e a estagnação das aguas. Verdade é que a sciencia, conhecendo nas aguas estagnadas o *habitat* de evolução das anophelinas e explicando o papel destas na transmissão da especie morbida, veio destruir a idéa de emanções subteis, miasmaticas ou animadas, em que se expressava erroneamente o maleficio dos pantanos. O principio sanitario, porém, de dessecamento do solo, permanece nas noções modernas e constitue o methodo por excellencia de uma prophylaxia anti-paludica definitiva.

Fuente: Brazil - Medico (1906), Anno XX, num 41: 419 - 422

6. HITOS DE LA HISTORIA DE LA MALARIA EN VENEZUELA

Oscar Noya G.

1896	Dr. Santos Dominici descubre por primera vez a <i>Plasmodium falciparum</i> en Venezuela.
1946	Primer curso de Malariología fue dictado en 4 lecciones por el Dr. Santos Dominici en la Universidad Central de Venezuela (UCV). Dr. Arnoldo Gabaldón:
1930 1931 1933 - 1935	•Se graduó de médico en la UCV •Especialización en Hamburgo - Alemania •Doctor on Public Health (DPH) John Hopkins
1936	Se crea el MSAS 25 de febrero y se firma el ejecútase el 27 de Julio.
1936	Ley de Defensa del Paludismo: 16 Junio. Renuncia el Dr. Enrique Tejera para no firmar el "Ejecútase" de la L. D. P. Lo firma el Ministro Santos Dominici.
1937	Escuela de Malariología empieza a funcionar en Caracas. Primer Director Dr. Alberto J. Fernández.
1938	Primer Curso de Capacitación por correspondencia (3 años) para inspectores.
1938	Gabaldón crea "Tijeretazos sobre Malaria"
1939	Había 2.038 puestos de notificación (diagnóstico y vigilancia epidemiológica)
1943	Se inaugura el Edificio de la Escuela de Malariología
1944	El 2-10-1944 se inauguró el Primer Curso Internacional de Malariología, que duró 4 ½ meses Repartidores Benévolos. Quinina por 7 días
1945	Se dió inicio a la aplicación del DDT el 2 - 12- 1945 en Morón - Edo Carabobo, 3 días después de llegar al país cuadrilla N° 1 dirigida por el Inspector Levi Borges (Guarda -Jefe).
1954	Se declara con aprobación de la OMS el área más grande de Malaria erradicada en la zona tropical 461.289 Km ² de los 600.000 originales. Este éxito se debió a la distribución masiva de antimaláricos con los repartidores Benévolos y al rociamiento intradomiciliario con insecticidas (D.D.T.), cumpliendo los requisitos establecidos por Carlos Chagas en 1906. Rociamientos: •Completo (toda la vivienda) •Suficientes 2 grs. /m² •Totales (todas las casas) •Regulares (cada 6 meses)
1960	Silvio Maberti en diciembre 1960 publica la primera demostración de la resistencia de los parásitos maláricos a los medicamentos en los Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica. Vol. III: 239
1989	Agosto 1989 se da inicio en el municipio Majadas del Estado Bolívar el primer ensayo en población civil (Fase II) de la primera vacuna sintética contra la Malaria (J. Infect. Dis 1994 Vol. 170 (2): 396 – 402).

7. CONCEPTOS EN MALARIA

Albina Wide V. y Oscar Noya G.

Caso de Malaria

Cualquier caso de infección palúdica confirmada por observación microscópica de la presencia del parásito en la sangre, se aprecien o no síntomas clínicos. En la fase de vigilancia todos los casos de paludismo diagnosticados se clasifican, según el origen de la infección como: autóctonos, importados, introducidos, recidivantes e inducidos.

Caso autóctono

Caso de infección malárica contraída por el enfermo en la zona o el país de su residencia, es decir que no ha venido del exterior. Se refiere a los casos en los que no puede descartarse la transmisión local. En las campañas de eliminación del paludismo, se consideran como autóctonos los casos recidivantes.

Caso importado

Caso de paludismo contraído fuera de la zona en que se hace el diagnóstico. El uso de esta expresión presupone que se puede situar con certeza el origen de la infección en una zona palúdica conocida.

Caso introducido

En la terminología de la erradicación del paludismo, se da este nombre a los casos secundarios directos cuando se puede probar que constituyen el primer eslabón de la transmisión local consecutiva a un caso conocido.

Caso inducido

Caso de paludismo que puede fundamentalmente atribuirse a una transfusión de sangre o a otra forma de inoculación parenteral, pero no a la transmisión natural por el mosquito. El curso de la infección es distinto del que se observa en los casos de paludismo transmitido por mosquitos. La inoculación puede ser accidental o deliberada, y en este último caso puede tener fines terapéuticos o de experimentación.

Incidencia Parasitaria Anual (IPA)

Número de casos de paludismo microscópicamente confirmados registrados en un año entre mil (1000) personas sometidas a vigilancia.

Índice Anual de Exámenes de Sangre (IAES)

Es la proporción de los exámenes de sangre practicados durante un año respecto a toda la población vigilada por el servicio de búsqueda de casos. Este valor indica, por tanto, el número de observaciones practicadas y no el de personas examinadas, que puede ser menor, pues algunas de ellas son examinadas más de una vez al año. Este índice no expresa tampoco la proporción de casos de fiebre, pues comprende las láminas de casos no febriles recogidas para los exámenes hemáticos en masa y las investigaciones epidemiológicas.

Índice Esplénico (IE)

Porcentaje de personas (por lo común niños) que en un momento dado presenta esplenomegalia palpable. Si el porcentaje se refiere a la población adulta exclusivamente, se usa la expresión "índice esplénico de los adultos".

Índice de Láminas Positivas (ILP)

Porcentaje de láminas con parásitos, calculados por los general para un período determinado de actividades de búsqueda de casos.

Malaria congénita

Infección palúdica transmitida directamente de la madre al hijo. Esta forma de infección es relativamente rara y suele producirse in útero, a través de la placenta (paludismo transplacentario o paludismo congénito genuino), aunque no está excluido que el contagio se produzca durante el parto.

Malaria estable

Tipo epidemiológico de paludismo endémico caracterizado por una prevalencia constante que apenas varía en la temporada de transmisión o de una época a otra, excepto en el caso de cambios extremos

en las condiciones del que influyen en la transmisión. En las zonas de paludismo estable no se observan epidemias, ya que la población tiene por lo general un alto grado de inmunidad. Esta situación suele estar asociada a la presencia de vectores de antropofilia pronunciada y gran longevidad.

Malaria inestable

Tipo epidemiológico de paludismo caracterizado por una prevalencia muy variable no solo durante la épocas de transmisión sino de un año a otro. En las áreas de Malaria inestable la población suele tener una inmunidad muy baja y las epidemias son frecuentes. Esta situación suele ir unida a la presencia de vectores que no tienen ni antropofilia pronunciada ni gran longevidad.

Malaria refractaria

Expresión con que designan algunos autores la disminución lenta y gradual del paludismo en una determinada región a pesar de haberse logrado la cobertura integral mediante rociamientos con insecticidas y tratamiento de los casos maláricos.

Caso recidivante

Reaparición de las manifestaciones clínicas, parasitemia o ambas de una infección malárica, al cabo de un tiempo superior a la periodicidad normal de los accesos. Las recidivas se clasifican a veces en recrudesencias y recurrencias y pueden ser clínicas o parasitológicas; éstas últimas se manifiestan exclusivamente por la reaparición o el aumento de la parasitemia. Pueden emplearse los calificativos de “precoz” o “tardía” para las recidivas que se producen antes de los dos meses o después de seis, respectivamente del ataque primario.

Control de la Malaria

Corresponde a la situación en la cual la Malaria no produce un número considerable de muertes o enfermos, sin embargo persiste la transmisión.

Eliminación

La eliminación de la Malaria se aplica cuando en un país o una región ha cesado la transmisión de Malaria, pero que pudiera ocurrir de nuevo como resultado de ser introducida por personas infectadas de otras áreas.

Erradicación

La erradicación de la Malaria se refiere a que esta parasitosis desaparezca del globo terráqueo, con excepción de aislados mantenidos en el laboratorio. La erradicación se puede utilizar para una sola especie malárica, como a todas las especies que afectan al hombre.

Recaída

Todo caso de Malaria que se presente dentro del lapso de los 30 días siguientes a la conclusión del tratamiento antimalárico de cura radical de la infección confirmada parasitológicamente. Este episodio es debido a la reactivación de los hipnozoítos hepáticos de *P. vivax* y *P. ovale*. Hay que acotar que en zonas de alta transmisión malárica es difícil diferenciar una recaída de un caso nuevo.

Recrudescencia

Aquella infección confirmada parasitológicamente en el período de 30 días posteriores a la última infección reportada como caso nuevo para *P. falciparum*. Este episodio es debido a la supervivencia de formas eritrocíticas observadas en las infecciones por *P. falciparum* y *P. Malariae*.

Quimiopprofilaxis

Consiste en el uso de medicamentos antimaláricos con fines preventivos, bajo un esquema que mantiene niveles hemáticos de las drogas a un nivel suficiente para inhibir la multiplicación parasitaria durante todo el período en riesgo de infección. En las pautas del Ministerio del Poder Popular para la Salud no se contempla la quimiopprofilaxis, sin embargo debe ser a criterio del médico especialista y en base a condiciones especiales de alto riesgo de contraer Malaria, indicar quimiopprofilaxis.

Tratamiento Preventivo Intermitente (TPI) (Intermittent Preventive Treatment – IPT)

Se refiere a un medicamento o combinaciones de medicamentos antimaláricos en períodos específicos, que habitualmente corresponde a los momentos de acceder a los servicios de salud, en personas de estar o poder ser infectados (embarazo). Durante los períodos entre los tratamientos, los niveles de antimaláricos pueden estar debajo de las concentraciones inhibitorias mínimas.

Administración Masiva de Medicamentos (AMM) (Mass Drug Administration – MDA)

Consiste en la administración de una o combinación de drogas antimaláricas a la población total en áreas en riesgo, estén o no infectados, con el fin de interrumpir la transmisión. Si se aplica en más de una ocasión, se superpone con el Tratamiento Preventivo Intermitente – TPI.

8. UBICACIÓN TAXONÓMICA DE *Plasmodium* spp.

Albina Wide V.

	Reino :	Protista
	Subreino:	Protozoa
	Phylum:	Apicomplexa
Clase:		Sporozoea
Sub-Clase:		Coccidia
Orden:		Eucoccidida
Sub – Orden:		Haemosporidiidea
Familia		Plasmodiidae
Género:		<i>Plasmodium</i>
Sub-género:		<i>Plasmodium</i>
Especies:		<i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. Malariae</i> , <i>P. knowlesi</i>
Sub-género:		<i>Laverania</i>
Especie:		<i>P. falciparum</i>

REFERENCIAS

Levine ND, Corliss JO, Cox FE, Deroux G., Grain J., Honigberg BM, et al. (1980). A newly revised classification of the protozoa. J Protozool. **27(1)**: 37–58.

9. CICLO DE VIDA DE *Plasmodium* spp.

Albina Wide V.

Los parásitos de la Malaria humana tienen un ciclo de vida complejo, que cumplen entre un invertebrado (los mosquitos hembras *Anopheles* spp.), el cual se comporta como vector y hospedador definitivo; y un vertebrado u hospedador intermediario (el hombre). Este ciclo está conformado por una secuencia de cuatro fases: tres asexuales y una sexual (figura 9.1).

Ciclo esporogónico (sexual) en el vector

Se inicia cuando el mosquito hembra hematófaga *Anopheles* spp. ingiere la sangre de un individuo infectado con *Plasmodium* spp. tomando las diferentes formas evolutivas circulantes (trofozoítos, merozoítos, esquizontes y gametocitos). En el estómago del insecto son destruidas las formas asexuadas (trofozoítos, merozoítos y esquizontes) junto con los glóbulos rojos y sobreviven las formas sexuadas (gametocitos), los cuales continúan su desarrollo hacia la diferenciación (gametogénesis) en gametos masculinos (microgametos) y gametos femeninos (macrogametos).

La maduración del gametocito femenino (macrogametocito) se lleva a cabo sin muchos cambios morfológicos. El gametocito masculino divide su núcleo formándose 8 núcleos originando 8 microgametos. Para la formación de los microgametos los núcleos migran a la periferia del gametocito y allí se forman largas estructuras citoplasmáticas muy móviles, este fenómeno se denomina exflagelación y ocurre en pocos minutos y está condicionado por la disminución de la temperatura.

La fecundación del macrogameto por el microgameto da inicio al proceso de fertilización y la fase sexual del ciclo de vida del parásito. Posteriormente, se forma el cigoto que sólo podrá continuar su maduración en un período de 18 a 24 h. El cigoto adquiere movilidad (oocinetos) y atraviesa la pared del estómago del mosquito, penetra hasta el espacio entre la capa muscular y la membrana externa donde se enquistan, dando lugar a un cuerpo circular ooquiste, cuyo citoplasma y núcleo se dividen en elementos alargados llamados esporozoítos, los cuales salen del ooquiste y migran hacia las células de las glándulas salivales, para luego ser inoculados al hospedador vertebrado en una próxima ingesta de sangre.

Así termina la reproducción sexual en el hospedador definitivo, para dar paso a la reproducción asexual en el hospedador intermediario, el ser humano.

Ciclos esquizogónicos (asexual) en el humano:

El parásito realiza una fase de reproducción asexual denominado esquizogonia. Ésta consta de dos sub-fases: 1.- esquizogónica exo-eritrocítica, que se efectúa en el hígado, es acíclica y no pigmentada y la fase esquizogónica eritrocítica la cual es cíclica y pigmentada.

Sub-fase esquizogónica (exo-eritrocítica):

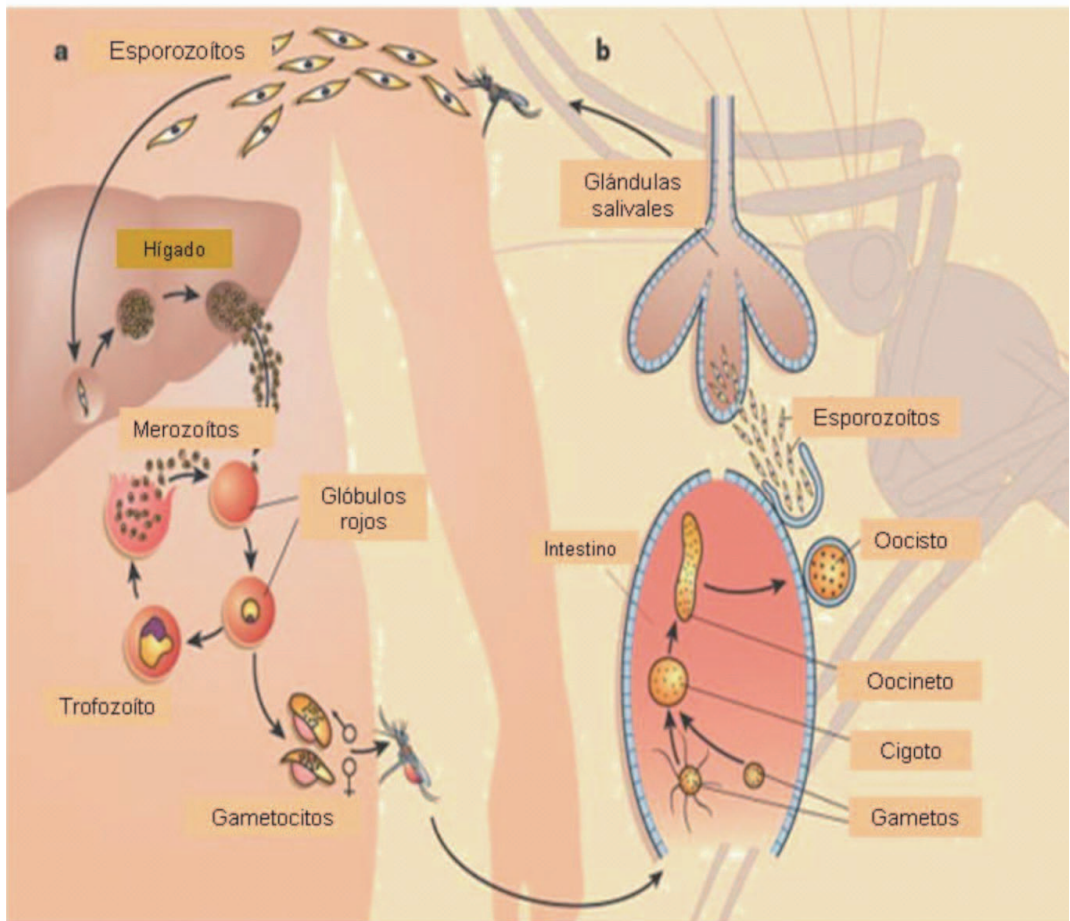
Se inicia cuando los esporozoítos (formas infectantes) del plasmodio son inoculados en el torrente sanguíneo por el mosquito infectado durante la picadura. Los esporozoítos inoculados por los mosquitos son alargados, móviles y circulan en sangre periférica por un período de 30 a 60 min., hasta que penetran las células del parénquima hepático (hepatocitos) por la vía de las células de Kupffer, ocurre una interacción ligando-receptor, donde está involucrada la proteína circunsporozoítica CS, que tiene afinidad por un receptor presente a nivel del hígado, el heparán sulfato. Los esporozoítos se diferencian, maduran y multiplican dando origen a los esquizontes pre-eritrocíticos o exo-eritrocíticos, este proceso tiene una duración aproximada de 15 a 16 días o más según la especie de Plasmodium y corresponde con el período prepatente de la enfermedad. Como consecuencia de la ruptura del esquizonte hepático, se liberan los merozoítos que caen al torrente circulatorio e invaden a los glóbulos rojos e inician la sub-fase esquizogónica eritrocítica. Esta ocurre a partir de la interacción de receptores específicos en la superficie del parásito con ligandos en la membrana plasmática del glóbulo rojo, la cual es responsable de las manifestaciones clínicas de la Malaria.

En *P. vivax* y *P. ovale* algunos esporozoítos no evolucionan de inmediato en el hepatocito, por alguna razón desconocida permanecen en estado de latencia, por un período de uno o más meses, dependiendo del aislado del parásito, para reactivarse posteriormente. Estas formas evolutivas se denominan hipnozoítos y son las que originan las recaídas en el paludismo (figura 9.1).

En *P. falciparum* y *P. Malariae* todos los esporozoítos no forman

los hipnozoítos, continúan inmediatamente después de la infección su desarrollo esquizigónico exo-eritrocítico e inician inmediatamente la sub-fase eritrocítica (figura 9.2).

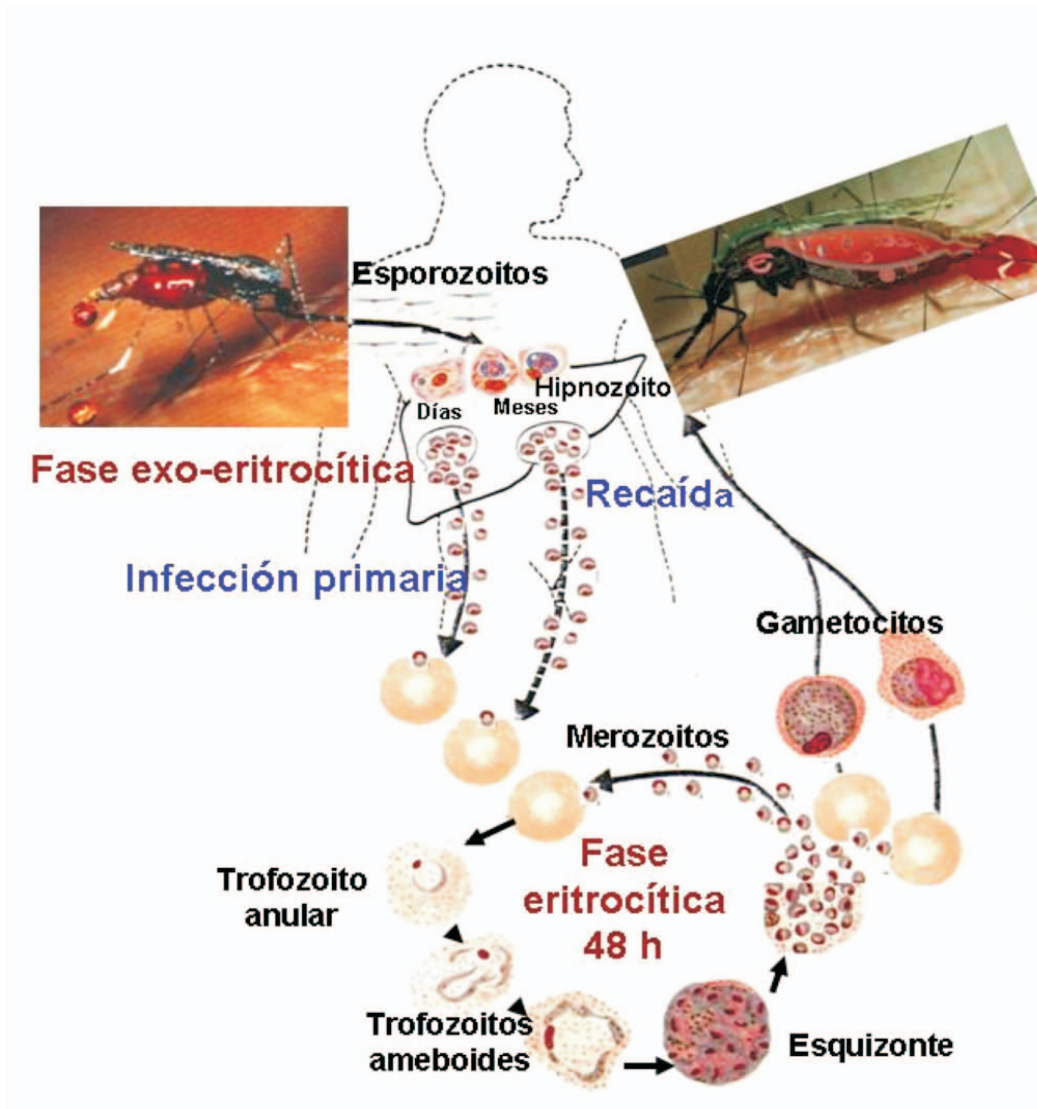
Figura 9.1
Ciclo de vida de *Plasmodium falciparum*



Fuente: Tomado de Wellcome Trust Sanger Instituto, Wellcome Trust Campus, Hixton, Cambridge, CR10, 1SA, U. K.

Cuando el merozoíto invade el eritrocito, se transforma en trofozoíto joven o anular, que evoluciona a trofozoíto mediano o ameboide, esquizonte presegmentado (inmaduro) y esquizonte segmentado maduro. Al estallar el glóbulo rojo parasitado ocurre la liberación de merozoítos, toxinas y pigmento malárico. Los merozoítos invaden otros glóbulos rojos sanos y algunos se diferencian sexualmente en el interior del glóbulo rojo inmediatamente o después que se han producido varias generaciones de merozoítos, originando los gametocitos, que pueden ser hembras (macrogametocitos) o machos (microgametocitos). Estos gametocitos maduros tienen diferentes formas en las diferentes especies de plasmodios. Estas formas evolutivas no se dividen en la sangre y circulan aproximadamente 60 días, representando la forma infectante para el mosquito (Bruce-Chwat, 1986; Knell, 1991; Rey, 2001; Hommel y Gilles, 2005).

Figura 9.2
Ciclo de vida de *Plasmodium vivax*



Fuente: Cecilia Colmenares - Albina Wide. Cátedra de Parasitología, Escuela de Medicina "Luis Razetti" - UCV

REFERENCIAS

- Bruce-Chwatt L. J. (1986). *Essential Malariology*. Second Edition. William Heinemann Medical Books Ltd. London.
- Hommel M. and Guilles H. M. (2005). *Malaria, Tapley & Wilson's. In: Microbiology and microbial infections*. 10th edition. Volumen editors. Cox F. E., Kreeier J. P. Wakelin D. London 361-409.
- Knell A. J. (1991). *Malaria. A publication of the Tropical Programme of the Wellcome Trust*. Oxford University Press. Pp. 12-17.
- Rey L. (2001). *Parasitología*. 3^{ra} ed. Editora Guanabara Koogan S. A. Río de Janeiro, Brasil. Capítulo 28. Pp 371-385.

10. EPIDEMIOLOGÍA DE LA MALARIA EN VENEZUELA

Leopoldo Villegas, Nelly Hernández
y María Eugenia Guevara

Introducción

La Malaria persiste como uno de los grandes problemas de salud pública en el mundo y en Venezuela. La Organización Mundial de la Salud ha estimado que cada año ocurren entre 300 y 500 millones de nuevos casos clínicos y hasta 2,7 millones de muertes ocasionadas por la Malaria. Sin embargo, datos recientes indican una reducción significativa de la morbilidad y mortalidad en todos los continentes (Malaria Global Action Plan, 2008; WHO, 2008). Aunque la mayoría de las muertes ocurren en el continente Africano, la enfermedad ocasiona considerable morbilidad también en el continente Americano con 276 millones de personas a riesgo, endemidad demostrada en 21 países y una alta concentración en la Cuenca Amazónica (PAHO, 2008). En Venezuela, la mayor parte de la enfermedad se ha originado en los estados Bolívar, Sucre y Amazonas en las últimas décadas, siendo estos los focos remanentes de Malaria desde la época de erradicación (Gabaldón, 1949). Este capítulo busca describir, de manera práctica, los principales aspectos epidemiológicos de la Malaria en Venezuela y algunos factores de riesgo asociados a las infecciones por *Plasmodium vivax* en el principal foco de transmisión del país, localizado en el Municipio Sifontes del estado Bolívar.

Malaria estable e inestable

En 1957, MacDonald fue el primero en describir la idea de la dualidad malárica (estable e inestable), las cuales fueron basadas en ciertos parámetros (Tabla 10.1). En zonas donde la Malaria es estable, la transmisión es usualmente alta, y continúa a lo largo del año. Los vectores son muy antropofílicos aunque en baja densidad y la población adquiere anticuerpos en etapas tempranas de la vida (inmunidad parcial muy elevada). *P. falciparum* es el más común de los parásitos involucrados en la transmisión (Manguin y col., 2008). En zonas de Malaria inestable, la endemidad es de moderada a baja, con vectores no muy antropofílicos y marcadas variaciones estacionales. Los brotes epidémicos son frecuentes en estas áreas (Manguin y col., 2008).

Tabla 10.1
Clasificación de la Malaria de acuerdo a la estabilidad de su
transmisión (adaptada de Bruce-Chwatt 1980)

Característica	Malaria inestable	Malaria estable
Endemicidad	Usualmente muy baja	Usualmente muy alta
Vectores	Baja antropofilia Longevidad corta Estaciones de transmisión cortas	Alta antropofilia Longevidad moderada/larga Estaciones de transmisión largas
Densidad de anofelinos	1-10 picadas por persona/noche	Probablemente muy baja <1 picada por persona/noche
Variaciones estacionales	Marcadas	No muy marcadas
Parásitos	Fluctuaciones anuales <i>P. vivax</i> más frecuente	Fluctuaciones estacionales no muy marcadas <i>P. falciparum</i> más frecuente
Inmunidad	Muy variable Muy baja en ciertos grupos	Alta Variaciones locales
Epidemias	Frecuentes, dependiendo del clima	Poco probable

Fuente: Manguin S, Carnevale P & Mouchet J (2008)

Endemicidad malárica

La endemicidad es la presencia continua de una infección en una comunidad. Según la intensidad puede ser: hipoendémica, mesoendémica, hiperendémica u holoendémica (Manguin y col., 2008). La tabla 10.2 muestra las características de los diferentes niveles de endemicidad (Manguin, 2008). En las Américas, la endemicidad es baja, especialmente para infecciones por *P. falciparum* (WHO, 2009).

Tabla 10.2
Características de la Malaria de acuerdo a la endemividad

Característica	Endemividad de la Malaria			
	Hipoendémica	Mesoendémica	Hiperendémica	Holoendémica
Tasa de esplenomegalia (2-9 años)	0-10%	11-50%	>50%	>75
Prevalencia parasitaria (2-9 años)*	0-10%	11-50%	>50%	>75
Endemividad	Baja	Moderada	Alta	
Estabilidad	Inestable	-	Estable	
Tasa de inoculación entomológica	<0,25	0,25-10	11-140	>140

Fuente: WHO, 2009, modificado.

Malaria en Venezuela

La Malaria llegó a afectar, en la década de los treinta (1930), un tercio de la población y fue responsable, de una tasa de mortalidad de 110 por cada 100.000 habitantes. Venezuela fue modelo en la región por el combate a la enfermedad marcando un hito en la salud pública mundial con la erradicación de la Malaria en el 70% de su territorio. (PAHO, 2008; Hay y col., 2007). La clave principal del éxito fue la focalización de las intervenciones en partes del ciclo del vector, concentrándose en el contacto hombre-vector. Las actividades de control vectorial consistieron en el uso de larvicidas y adulticidas no residuales. En 1945, se iniciaron las aplicaciones de Rociamientos Intradomicilia-rios con Insecticidas (RII). El impacto de esta intervención fue una caída dramática de la mortalidad a 0.01 por 100.000 habitantes, lográndose para finales de los años cincuenta erradicar la Malaria en un 50% del territorio nacional (Gabaldón, 1949 a, b; Gabaldón y Berti, 1954). En 1982, la Malaria re-emergió en el estado Sucre (Barrera y col., 1998, 1999) y desde entonces, el control de la enfermedad se ha complicado en Venezuela, debido a muchos factores: incremento en la resistencia del parásito (*Plasmodium falciparum* y *P. vivax*) a las drogas; resistencia de los principales vectores (*Anopheles darlingi*, *An. nunez-tovari* y *An. aquasalis*) a las tradicionales medidas de intervención; re-emergencia de focos de Malaria por el crecimiento poblacional, las transformaciones ambientales y una movilización poblacional elevada (Barrera y col., 1998, 1999; Aché, 1998).

Estudios previos han reconocido la existencia de importantes variaciones en la epidemiología de la Malaria (entre las principales áreas maláricas del país, así como diferencias y heterogeneidad dentro de cada foco (Hay y col., 2007). En el estado Bolívar, la transmisión de la Malaria se ha atribuido a la presencia de vectores eficientes, como lo son *Anopheles darlingi* y *An. marajoara* entre otros, y a su presencia en zonas geográficas de difícil acceso (áreas de explotación minera y/o uso agrícola temporal) (Aché, 1998). En los estados Sucre y Delta, el escenario eco-epidemiológico es diferente con áreas ecológicas de humedales, con un alto potencial de cría de *An. aquasalis*, principal vector de Malaria para *P. vivax* en el foco oriental de Venezuela (Barrera y col., 1998,1999; Berti y col., 1993 a, b; Grillet y col., 1998; Grillet, 2000).

Carga de enfermedad y distribución geográfica

La transmisión malárica en Venezuela se localiza en tres focos: el foco oriental representado por los estados Monagas, Sucre, Anzoátegui y la parte occidental de Delta Amacuro; el foco occidental que incluye los estados Barinas, Mérida, Portuguesa, la parte occidental de Apure, Yaracuy, Zulia, Trujillo y Táchira, y el foco meridional conformado por los estados Bolívar, Amazonas y parte oriental de Apure y Delta Amacuro (Aché, 1998; Consenso de Malaria, 2006).

Desde 1985, las zonas con mayor incidencia malárica del país han sido los estados Bolívar y Sucre, seguidos de Amazonas, Delta Amacuro y Apure, con algunas excepciones. Esto representa en la actualidad un 20% del territorio venezolano con una población cercana al millón de habitantes o en otras palabras, un 5% de la población que vive en áreas ecológicamente aptas para la transmisión (Aché, 1998; Consenso de Malaria, 2006).

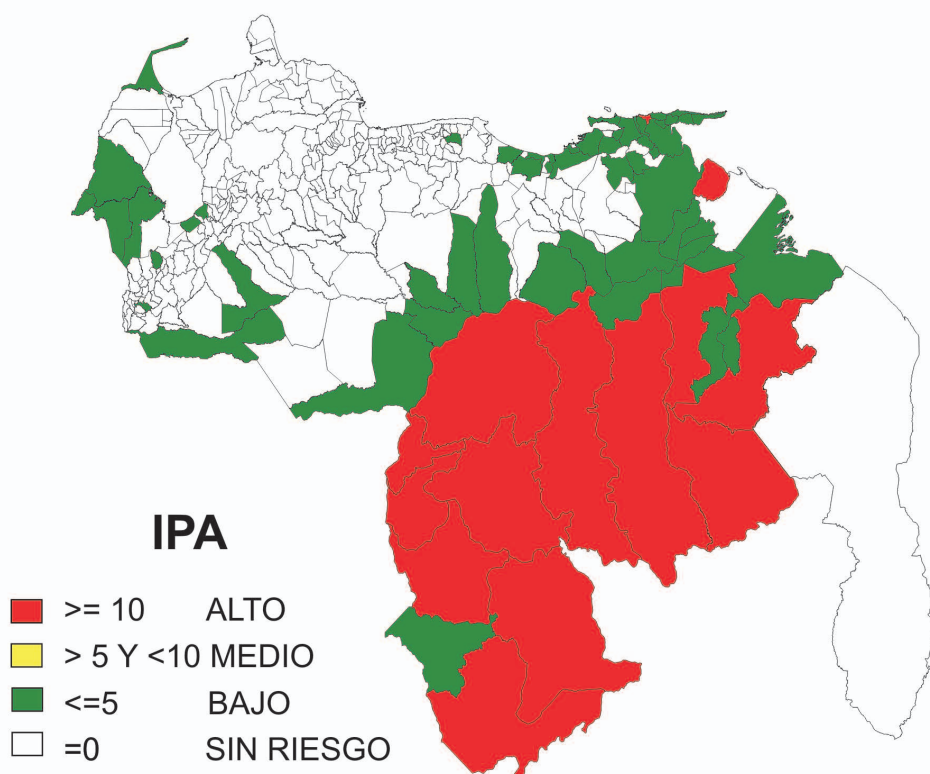
A pesar de los grandes esfuerzos en la campaña de erradicación de la Malaria y haber logrado la eliminación de ésta enfermedad en más de dos tercios del territorio venezolano (Aché, 1998), muchos factores han favorecido la re-emergencia de la Malaria.

La distribución geográfica de la Malaria en Venezuela muestra que la enfermedad está confinada a estratos micro-epidemiológicos asociados a movilización de poblaciones, fundamentalmente sobre un eje

de interés económico (minería, agricultura, etc.), (Consenso de Malaria, 2006).

Para finales del año 2009 Venezuela reportó un acumulado de 35.725 casos de Malaria autóctonos y 723 casos de Malaria importada de otros países (Reporte Epidemiológico Semanal, 2009). La figura 10.1 muestra las regiones con riesgo malárico en el 2009 y las regiones afectadas por la Malaria en los diferentes focos del país (Reporte Epidemiológico Semanal, 2009). Venezuela es considerado uno de los pocos países en Latinoamérica que ha presentado un aumento en el número total de casos de Malaria con una incremento significativo de la proporción de infecciones por *P. falciparum* desde el año 2008 PAHO (2008).

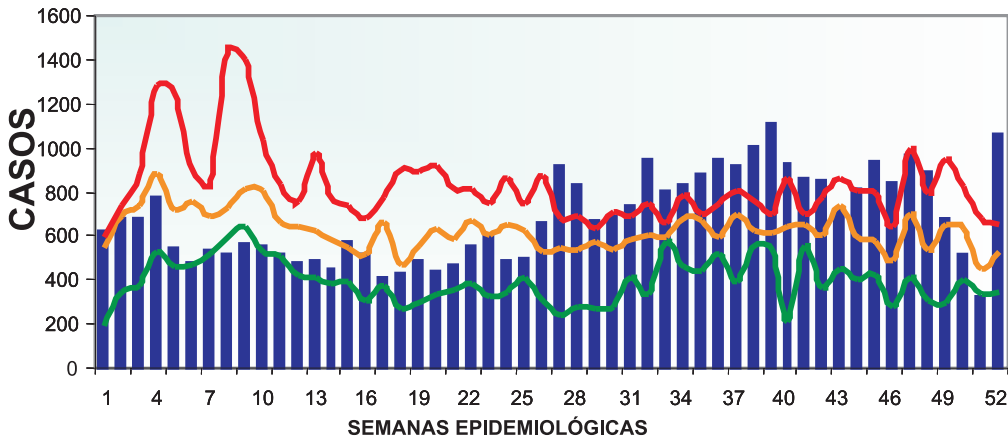
Figura 10.1
Mapa de riesgo malárico por municipios en Venezuela,
semana 52, 2009



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental. Semana Epidemiológica 52. Diciembre 2009.

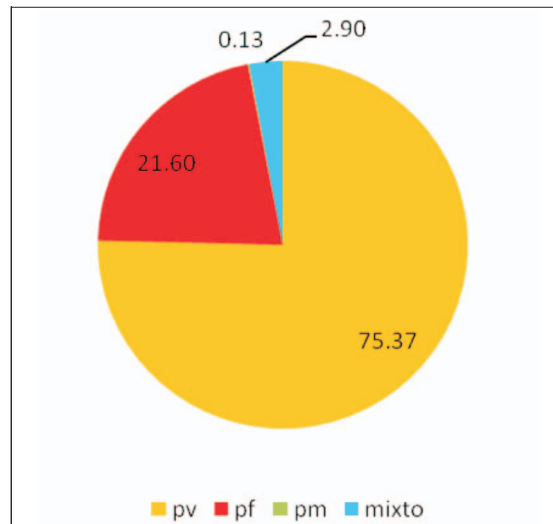
El canal endémico nacional de Malaria del 2009 (figura 10.2), ubicó al país en estado de “epidemia” durante 22 semanas epidemiológicas. *Plasmodium vivax* continúa siendo la especie parasitaria más frecuente en país (75,3%), seguida de las infecciones por *P. falciparum*, *P. Malariae* y las infecciones mixtas (figura 10.3).

Figura 10.2
Canal endémico de Malaria, Venezuela, semana 52, 2009.



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental. Semana Epidemiológica 52. Diciembre 2009.

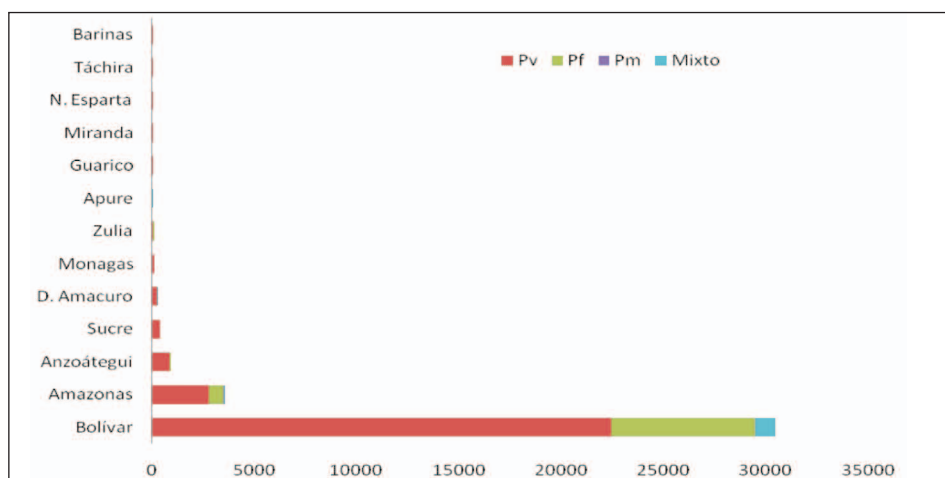
Figura 10.3
Porcentaje de casos maláricos según especie, Venezuela, semana 52, 2009



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental. Semana Epidemiológica 52. Diciembre 2009.

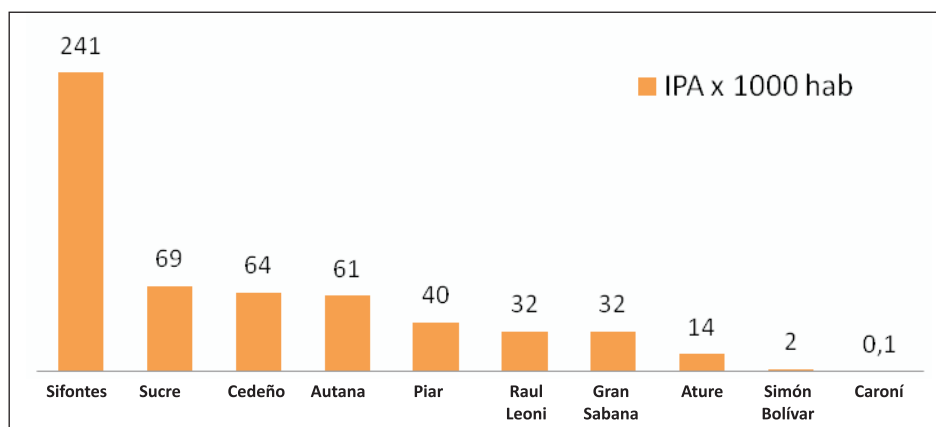
El estado Bolívar fue el de mayor número de casos de Malaria, liderizando la casuística nacional siendo el responsable del 85,26% de la morbilidad en el 2009 (figura 10. 4). Más de dos tercios (67,2%) de las infecciones maláricas predominaron en las personas del sexo masculino. La mayor concentración de casos de Malaria (IPA>10) o “focos calientes” están concentrado en los municipios Sifontes, Cedeño, Autana, Sucre, Atures, Piar, Gran Sabana y Raúl Leoni, demostrando el carácter local de la transmisión (figura 10.5) (Reporte Epidemiológico Semanal, 2009).

Figura 10.4
Casos de Malaria autóctonos por estados, Venezuela,
semana 52, 2009



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental. Semana Epidemiológica 52. Diciembre 2009.

Figura 10.5
Incidencia parasitaria anual en los 10 primeros municipios,
Venezuela, semana 52, 2009



Fuente: Dirección General de Salud Ambiental. Semana Epidemiológica 52. Diciembre 2009

Factores de riesgo

Según Last (1995), un factor de riesgo es definido como “un aspecto personal de conducta o estilo de vida, una expresión ambiental o una característica hereditaria, el cual en base a evidencias epidemiológicas, es conocido por ser asociado a una condición relacionada a la salud” (Last, 1995). La ocurrencia de la Malaria en cualquier lugar y momento depende de la interacción de tres elementos básicos a saber (Gilles y Warrel, 1993; Wernsdorfer y Wernsdorfer, 1998; Bruce-Chwatt, 1953).

- Huésped humano
- Agente (parásito y vector)
- Ambiente (físico, biológico y económico)

Los factores de riesgo para la Malaria son todas aquellas variables que cuentan en el incremento y magnitud de la incidencia malárica en determinados lugares. Pueden incluirse características, atributos, condiciones y/o circunstancias que incrementan la posibilidad de la ocurrencia malárica en un momento determinado. Por razones prácticas, estos se han agrupados en factores ambientales (geográficos y ecológicos), sociales, económicos, demográficos y factores relacionados con el sistema de salud (Wernsdorfer, y Wernsdorfer, 1998; Castillo-Salgado, 1992; Martens y col.1995).

Un foco de Malaria sería definido como cualquier localidad dentro de un área malárica que incluya a todos aquellos factores epidemiológicos necesarios para que haya transmisión (población humana, fuente de infección –al menos un caso–, población del vector y las condiciones ambientales apropiadas (temperatura, humedad, pluviosidad, etc.).

Todos los seres humanos son susceptibles a la infección con parásitos maláricos aunque los melanoafricanos son genéticamente refractarios a las infecciones por *P. vivax*. Lo que detiene a la expansión de la infección es que no puede ser transmitida directamente de humano a humano y es la necesidad de un intermediario, el vector (Manguin y col., 2008).

Para que la transmisión de la Malaria ocurra (Malaria autóctona) se requiere la presencia de (Manguin y col., 2008):

- Especies de *Anopheles* que sean genéticamente capaces de desarrollar el ciclo del *Plasmodium*.
- Criaderos de mosquitos en número suficiente para mantener una densidad mínima o crítica de *Anopheles* y una tasa de alimentación sanguínea en personas de la localidad.
- Sobrevivencia prolongada de los *Anopheles* antropofílicos en condiciones climáticas locales, para completar el ciclo esporogónico.
- Seres humanos portadores de gametocitos en sangre y susceptible a las infecciones por *Plasmodium*.

Sin embargo, otras determinantes de la transmisión malárica incluyen: temperatura, altitud, pluviosidad y humedad, estacionalidad, cambios ambientales hechos por el hombre, movilización de las poblaciones, factores socio-económicos, zoofilia, protección personal, efectos de las medidas de control vectorial y de las drogas antimaláricas en uso.

1. En la actualidad, el municipio Sifontes del estado Bolívar reporta la mayoría de los casos de Malaria del país con una intensa movilidad poblacional debido a las actividades económicas relacionadas con la minería artesanal e industrial (Reporte Epidemiológico Semanal, 2009). Durante los años 2005-2007, se realizó un estudio de las determinantes asociadas a la Malaria en el Centro de Investigación de Campo Dr. Francesco Vitanza (CICFV), ente adscrito al Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón”.

Desde el 3 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2007, fueron realizadas 27.918 gotas gruesa y extendido para el diagnóstico microscópico de la Malaria, implementándose simultáneamente un formulario estandarizado para la evaluación de factores de riesgos claves para la Malaria. Por razones prácticas, se presentan los resultados en las infecciones por *P. vivax*, el cual es la principal especie parasitaria presente en el país y en el área de estudio. Se midió la fuerza de asociación mediante el uso de la razón de probabilidades o razón de suertes (OR – odds ratio, por sus siglas en ingles). Se aplicó regresión logística para la identificación de los factores de riesgo OR ajustados para la infección de la Malaria por *P. vivax* en la población estudiada, considerándose significancia estadística un valor de $p \leq 0,05$.

Figura 10.6
Perfil del estudio

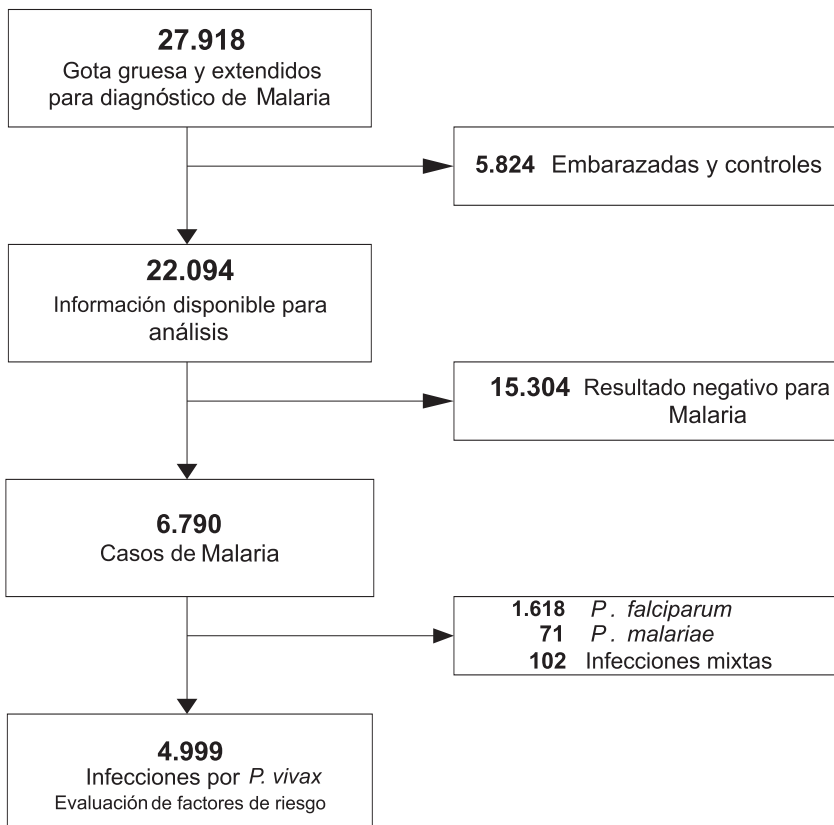


Tabla 10.3
Características de la población estudiada, Tumeremo
estado Bolívar, 2005-2007

Mediana Edad (min-max), - años	27 (1mes-98 años)
Sexo N (%)	
Masculino	15257(69.1)
Femenino	6828 (30.9)
Etnia N (%)	
Criollo	18963 (85.9)
Kariña	2285 (10.4)
Pemón y otros	827 (3.7)
Ocupación N (%)	
Minero	10036 (46.9)
Del hogar	3989 (18.6)
Indígena/Agricultor	1881 (8.8)
Estudiante/Docente	1840 (8.6)
Otros	2297 (10.7)
No aplica (niños<6 años)	1370 (6.4)
Antecedente Malárico N (%)	14088 (63.8)
Mediana número de días en áreas endémicas (min-max)	23 (1-1095)
Mediana número de días con fiebre (min-max)	3 (1-60)
Mediana número de episodios <i>todos</i> (min-max)	3 (1-53)
Mediana número de episodios Pf (min-max)	1 (1-46)
Mediana número de episodios Pv(min-max)	2 (1-53)
Prevalencia de Malaria % (n/N)	30.7 (6790/22094)
Especies parasitarias N (%)	
<i>P. falciparum</i>	1618 (23.8)
<i>P. vivax</i>	4999 (73.6)
<i>P. Malariae</i>	71 (1.0)
Infecciones mixtas	102 (1.5)
Recidivas en los últimos 2 meses N (%)	1818 (8.2)
Recidivas en los últimos 6 meses N (%)	854 (3.9)

Fueron excluidos del estudio mujeres embarazadas y los controles parasitológicos realizados posteriores al diagnóstico inicial, con información disponible para 22.094 consultas realizadas en el CICFV. Las características de la población estudiada muestra un mayor predominio del sexo masculino sobre el femenino ($M=69,1\% > F=30,9$); la gran mayoría de las personas atendidas fueron criollos y poco más del 14% correspondió a indígenas de las etnia Kariña, Pemón, Warao

entre otros. Más de la mitad de las personas tenían antecedentes maláricos (63,8%) con una mediana del número de episodios (todas las especies, mínimo-máximo) de 3 (1-53). La prevalencia de Malaria para el período 2005-2007 fue de 30,7%. 15.304 gotas gruesas resultaron negativas con 6.790 casos confirmados de Malaria de los cuales 1618, 4999, 71 y 102 correspondieron a infecciones por *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. Malariae* e infecciones mixtas, respectivamente. La mayoría de los atendidos en el CICFV se dedicaban a la minería artesanal (46,9%), seguidos de las amas del casa (18,6%), otros (10,7%), indígena/agricultor (8,8), estudiante/docente (8,6%) y en un 6,4% de los casos la ocupación no aplicó (menores de 6 años). El porcentaje de recidivas de las infecciones maláricas reportadas (todas) en los últimos 2 y 6 meses fue de 8,2% y 3,9%, respectivamente.

La Tabla 10.4 muestra la fuerza de asociación y la significancia estadística comparando las variables y las infecciones por *P. vivax*. Fueron factores asociados significativamente: edad (todas) <5, 5-14 y >25 años con OR de 1,63, 2,68 y 2,49, respectivamente. El sexo masculino (OR=1,52), los criollos (OR= 1,22), las ocupaciones (todas las reportadas), el antecedente malárico (OR=2,03); la estadía en la zona de mayor de 30 días (OR=1,19); el número de días febriles (todas); y las recidivas en los últimos 2 y 6 meses, con OR de 1,36 y 1,41, respectivamente. Contrasta la única asociación protectora (estadísticamente significativa) a las infecciones por *P. vivax* en el grupo étnico Kariña con OR de 0,80.

En el análisis multivariado preliminar, el modelo de regresión mostró que los factores de riesgo asociados significativamente después del ajuste estratificado entre las variables fueron el número de episodios anteriores de Malaria (OR=1,020; 95% IC= 1,004-1,035; $p=0,013$) y la edad (grupo etario >25 años OR= 1,017; 95%IC= 1,009-1,025; $p=0,008$).

Tabla 10.4
Factores de riesgo asociados con las infecciones por
Plasmodium vivax en el análisis bivariado

	OR	95% IC	p
Edad			
<5 años	1	-	-
5-14 años	1,63	1,36-1,96	<0,001
15-24 años	2,68	2,30-3,12	<0,001
>25 años	2,49	2,16-2,88	<0,001
Sexo			
Masculino	1,52	1,44 – 1,60	<0,001
Femenino	1	-	-
Etnia			
Criollo	1,22	1,02-1,46	0,021
Kariña	0,80	0,64-0,98	0,034
Pemón y otros	1	-	-
Ocupación			
Minero	3,02	2,65-3,43	<0,001
Del hogar	1,79	1,55-2,07	<0,001
Indígena/Agricultor	1,42	1,19-1,69	<0,001
Estudiante/Docente	1,22	1,02-1,46	0,021
Otros	1	-	-
Antecedente malárico			
Si	2,03	1,88-2,19	<0,001
No			
Estadía en área endémica			
1-14 días	1	-	-
15-30 días	1,05	0,94-1,17	0,378
>30 días	1,19	1,09-1,32	<0,001
Temperatura	0,645	0,606-0,688	0,000
Número de días febril			
1	1	-	-
2-3	1,11	1,01-1,23	0,022
>4	1,35	1,22-1,49	<0,001
Recidivas en los últimos 2 meses			
Si	1,36	1,18-1,58	<0,001
No	1	-	-
Recidivas en los últimos 6 meses			
Si	1,41	1,19-1,67	0,000
No	1	-	-

Cambios en la epidemiología de la Malaria a nivel mundial

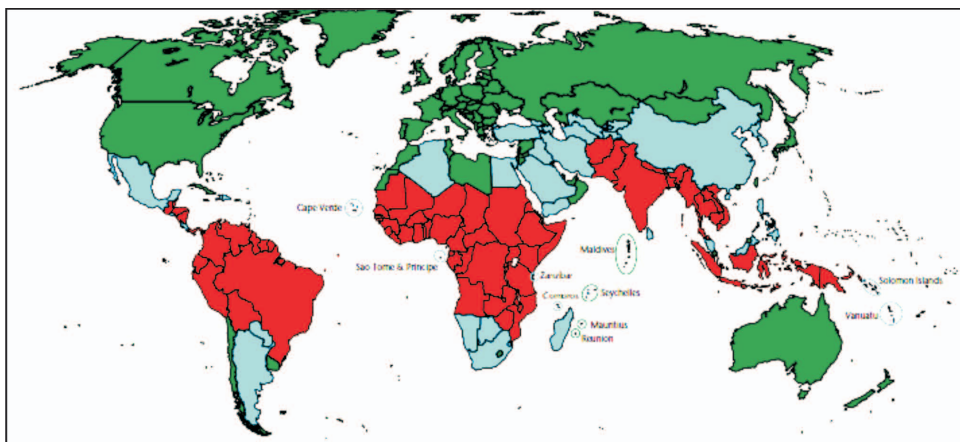
Hoy día, 108 países en el mundo están libres de Malaria. Cien países aún continúan con transmisión malárica, y de esos, treinta y nueve se han embarcado o están contemplando la eliminación de la Malaria; los sesenta y un países restantes, tienen sus esfuerzos en el control sustentable de la Malaria (ver figura 7) (Feachem, y col.,2009; Feachem y The Malaria Elimination Group, 2009). En octubre 17, 2007 la Fundación Bill y Melinda Gates anunció la meta de la eventual eliminación de la Malaria en una reunión de expertos en Malaria en Seattle, USA. Esta estrategia fue articulada recientemente con en el plan de acción global de la Malaria del “Roll Back Malaria (RBM)” en septiembre de 2008.¹ Mediante el trabajo conjunto del RBM y el Grupo de Eliminación de Malaria (MEG por sus siglas en inglés) nació una estrategia triple para reducir progresivamente la magnitud de la Malaria, buscando eventualmente la erradicación de la Malaria. Esta estrategia incluye Feachem, y col.,2009; Feachem y The Malaria Elimination Group, 2009) :

1. Control agresivo en el corazón de la Malaria, con la finalidad de alcanzar una baja transmisión y mortalidad en aquellos países tropicales que actualmente tienen la mayor cantidad de casos y muertes.
2. Eliminación progresiva de los márgenes endémicos, para contraer el mapa malárico.
3. Investigación, para alcanzar una vacuna y mejores drogas, pruebas diagnósticas, insecticidas y otras herramientas.

En la actualidad, Venezuela continúa su programa nacional de prevención y control de la Malaria, sin embargo las intervenciones no se han adaptado completamente a las recomendaciones internacionales del Programa Mundial de la Malaria de la Organización Mundial de la Salud. Las nuevas evidencias sobre el impacto de las intervenciones en el control de la Malaria en América Latina y el resto del mundo han sido publicadas recientemente en el Reporte Mundial de la Malaria 2009 (WHO, 2009).

(http://www.who.int/Malaria/world_Malaria_report_2009/en/index.html).

Figura 10.7
Países libres de Malaria (verde), en proceso de eliminación (azul)
y en proceso de control (rojo)



Fuente: Feachen, Phillips and Targett (2009), modificado.

REFERENCIAS

- Aché A. (1998). Situación actual de la Malaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.*, **38(1)**: 68-72.
- Barrera R., Grillet M. E., Rangel Y., Berti J., Ache A. (1998). Estudio Eco-epidemiológico de la Reintroducción de la Malaria en el Nor-oriente de Venezuela, mediante Sistemas de Información Geográfica y Sensores Remotos. *Bol. Dir. Malariol. y San. Amb.*, **38(1)**:14-30.
- Barrera R., Grillet M. E., Rangel Y., Berti J., Ache A. (1999). Temporal and spatial patterns of Malaria reinfection in northeastern Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*, **61(5)**: 784-790.
- Berti J., Zimmerman R., Amarista J. (1993a). Spatial and temporal distribution of anopheline larvae in two malarious areas in Sucre state, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **88**:353-362.
- Berti J., Zimmerman R., Amarista J. (1993b). Adult abundance, biting behavior and parity of *Anopheles aquasalis* Curry, 1932 in two malarious areas of Sucre state, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **88(3)**: 363-369.

Bruce-Chwatt (1953). A diagram of the Epidemiology of Malaria. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. **Vol. 47 (2):** 166-168.

Castillo-Salgado, C. (1992). Epidemiological risk stratification of Malaria in the Americas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **Vol. 87, Suppl. 3**, 115-120.

Consenso de Malaria (2006). Sociedad Venezolana de Infectología. Documento en línea: <http://www.svinfectologia.org/Consenso%20Malaria006.pdf>.

Feachem, R.G.A., with A.A. Phillips and G.A. Targett (eds) (2009). Shrinking the Malaria Map: A Prospectus on Malaria Elimination. San Francisco: The Global Health Group, Global Health Sciences, University of California, San Francisco.

Feachem, R.G.A. and The Malaria Elimination Group (2009). Shrinking the Malaria Map: A Guide on Malaria Elimination for Policy Makers. San Francisco: The Global Health Group, Global Health Sciences, University of California, San Francisco.

Gabaldón, A. (1949). The nation-wide campaign against Malaria in Venezuela. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. **Vol. 43 (2):** 113-164.

Gabaldón, A. (1949b). Conquistas de la campaña antimalárica en Venezuela. Tipografía Vargas ed. Conferencia pronunciada en la Sala de Conferencias de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. 12 de Enero de 1948, pp.5-30.

Gabaldón A., Berti AL. (1954). The first large area in the tropical zone to report Malaria eradication: North-central Venezuela. Am J Trop Med Hyg, **3**: 793-807.

Gilles & Warrel, (1993). Bruce-Chwatt's essential Malariology. Third edition. Boston: Little, Brown and Company.

Grillet M., Montañéz H, Berti J. (1998). Estudio biosistemático y ecológico sobre *Anopheles aquasalis* y sus implicaciones para el control

de la Malaria en el estado Sucre II. Ecología de los criaderos. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.*, **38(1)**: 38-46.

Grillet M E. (2000). Factors associated with distribution of *Anopheles aquasalis* and *Anopheles oswaldoi* (Diptera: Culicidae) in a malarious area, northeastern Venezuela. *J Med Entomol*, **37(2)**: 231-238.

Hay SI, Guerra CA, Gething PW, Patil AP, Tatem AJ, Noor AM, et al. (2007). A world Malaria map: *Plasmodium falciparum* endemicity in 2007. *Plos Medicine* **6 (3)**: e1000048. Doi:101371/journal.pmed.1000048.

Last, J. (1995). Dictionary of Epidemiology. Third edition. New York: Oxford University Press, Inc.

Malaria Global Action Plan (2008). Documento en línea: <http://www.rollbackmalaria.org/gmap>.

Manguin S, Carnevale P & Mouchet J (2008). Biodiversity of Malaria in the World. United Kingdom. John Liberty Eurotext.

Martens, W. et al. (1995). Potential impact of global climate change on Malaria risk. *Environmental Health Perspectives*. **103 (5)**: 458-464.

Ministerio del Poder Popular para la Salud, Reporte Epidemiológico Semanal, Programa Nacional de prevención y control de Malaria Dirección de Salud Ambiental, **semana 52**, 2009.

PAHO (2008). Malaria in the Americas: status report 2008. Pan-American Health Organization, Washington, USA.

Wernsdorfer, G. And Wernsdorfer, W. (1998). Social and economic aspects of Malaria and its control. In W. Wernsdorfer and I. McGregor, eds. *Malaria Principles and Practice of Malariology*. **Vol. 2**. Edinburgh: Churchill-Livingston, 1421-1471.

WHO (2008). World Malaria Report 2008. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

WHO (2009). Methods for surveillance of antiMalarial drug efficacy. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

WHO (2009). World Malaria Report 2009. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Documento en línea: http://www.who.int/Malaria/world_Malaria_report_2009/en/index.html.

11. FISIOPATOLOGÍA DE LA MALARIA

Oscar Noya G.

Son varias las razones que explican los numerosos eventos fisiopatológicos que se observan simultáneamente en la infección malárica, muy especialmente en el caso del parasitismo por *Plasmodium falciparum*, la especie más patógena. Los plasmodios tienen una muy alta tasa reproductiva, pues de 1 solo esporozoíto infectante se pueden derivar alrededor de 20.000 merozoítos provenientes de la fase hepática, que una vez comienzan el ciclo eritrocítico en el caso de *P. falciparum* teóricamente se pueden multiplicar X 36, lo cual equivale a 720.000 merozoítos en las 48 horas siguientes, que a su vez pueden multiplicarse por ese factor cada 48 horas, ocasionando altas cargas parasitarias en escasos 3 ciclos eritrocíticos en esta especie. El hecho de ser un hemoparásito que destruye eritrocitos derivando en anemia y otras alteraciones vasculares, afecta en mayor o menor grado todos los tejidos del humano, teniendo como consecuencia innumerables eventos fisiopatológicos, causados directamente por el parásito o indirectamente por mediadores de la respuesta inmune que genera su presencia. La sumatoria de todos estos eventos pueden ocasionar una falla multisistémica (insuficiencia renal, hepática y suprarrenal, anemia severa, edema pulmonar, isquemia cerebral y daño endotelial sistémico) de muy difícil manejo terapéutico, que con frecuencia culminan con la muerte del paciente.

Con fines didácticos, dividiremos por sistemas y/o síntomas los principales eventos fisiopatológicos que ocurren en la Malaria, particularmente causada por *P. falciparum*, pues es la especie mejor estudiada, debido a su muy alta morbilidad y la posibilidad de cultivarla “*in vitro*” y mantenerla en diferentes especies de simios.

Paroxismo malárico

El mismo consta de tres fases que dura entre 3 a 5 horas, que son: las fases de escalofríos, hipertermia y sudoración profusa, que van a sucederse cuando se sincroniza el ciclo de la esquizogonia eritrocítica cada 48 horas en el caso de *P. falciparum* y *P. vivax* y cada 72 horas en el caso de *P. Malariae* (figura 11.1). La liberación de endotoxinas parasitarias en particular fosfolípidos (glicosilfosfatidilinositol-GPI) y otros productos no bien identificados, al romperse los eritrocitos al

finalizar la esquizogonia eritrocítica, conjuntamente con la producción de ciertas citoquinas (IL1 y Factor de Necrosis Tumoral alfa-TNF α) por monocitos y neutrófilos activados por antígenos del parásito, inducen la producción de Prostaglandina E (PGE) a nivel hipotalámico, que se traduce en los siguientes eventos generadores de calor: vasoconstricción periférica, piloerección, escalofríos, estimulación simpática y secreción de tiroxina. Esto conlleva a que inicialmente, se genere la fase de sensación de hipotermia, seguida de la fase de hipertermia y vasodilatación periférica y sudoración profusa (figura 11.2).

Como consecuencia de la estimulación simpática se produce malestar general y síntomas digestivos tales como náuseas y vómitos, que sumado a la hipertermia favorecen la deshidratación.

El descenso de los productos de excreción-secreción (endotoxinas) y de la consiguiente ausencia de estimulación de monocitos, disminuye la producción de PGE a nivel hipotalámico y en consecuencia se activan todos los mecanismos de pérdida de calor: vasodilatación y sudoración profusa.

Anemia

Habitualmente es normocítica y normocrómica, a menos que se asocie a problemas nutricionales. Son varios los factores que causan la disminución de los eritrocitos (figura 11.3). Ellos son: la hemólisis causada por la periódica esquizogonia eritrocítica cada 48 ó 72 horas, el secuestro esplénico por la hiperplasia esplénica y la disminución de su capacidad de deformabilidad al paso por la microvasculatura, el envejecimiento de los eritrocitos al oxidarse tempranamente la proteína superficial banda 3 (Tabla 11.1) y fijarse a ella anticuerpos anti-banda 3, que permite su secuestro en el bazo, auto-anticuerpos que causan hemólisis al fijar complemento y eventuales hemorragias, que sumado a la disminución de la eritropoyesis (falla nutricional, citoquinas pro-inflamatorias, etc), son los principales causantes de la anemia. En paralelo, inicialmente hay leucocitosis, pero posteriormente hay tendencia a la leucopenia y desviación a la izquierda. La hemozoína resultante de la hemólisis, es fagocitada por células del retículo-endotelio que se observan tanto a nivel de la circulación (neutrófilos y monocitos) como en ciertos tejidos (bazo e hígado).

Puede ocurrir hemólisis intravascular severa en pacientes con deficiencia de la enzima glucosa 6-fosfato dehidrogenasa (G6PD) por consumo de algunos medicamentos, como es el caso de la primaquina. Esta debe diferenciarse de los casos de hiperparasitemia.

En el caso de *P. vivax*, aproximadamente el 50% de los pacientes desarrollan plaquetopenia por consumo de estas células, sin afectar su funcionalismo y por ende sin causar trastornos de la coagulación, con excepción de los casos severos de coagulación intravascular diseminada que se observan con *P. falciparum*.

Hipoglicemia

Es consecuencia de varios factores: el alto consumo de glucosa por un parásito con una alta tasa metabólica que le permite garantizar su rápida replicación; el alto consumo energético por el propio hospedero durante el paroxismo febril, en particular los escalofríos; la disminución nutricional por hipo o anorexia y vómitos de los pacientes; el aumento del metabolismo basal (tiroxina) y la producción de una molécula similar de la insulina, favorecen la hipoglicemia (figura 11.3), que en ocasiones lleva al paciente al shock, que debe diferenciarse de la Malaria cerebral.

Hipotensión

Es causada fundamentalmente por el óxido nítrico (ON), liberado por células endoteliales, macrófagos y neutrófilos que han sido estimulados por IL-1, TFN α e IFN γ , producido a su vez por macrófagos activados por factores parasitarios (GPI) (figura 11.3). El ON relaja la musculatura vascular produciendo vasodilatación, que sumado a la pérdida de agua y electrolitos durante los paroxismos maláricos, los vómitos y la disminución de la ingesta de líquidos, condicionan la hipotensión. Con menor frecuencia, en casos graves con coagulación intravascular diseminada y daño endotelial se produce edema de todos los tejidos y hemorragias que favorecen el shock hipovolémico.

Hipoxia tisular

Está condicionada por la sumatoria de los siguientes eventos patológicos: la anemia, la vasodilatación periférica, el incremento de la viscosidad sanguínea producto de la deshidratación ocasionada por

la fiebre, hiporexia y vómitos; el daño endotelial y subsiguiente coagulación intravascular diseminada. Muy en particular en el caso del parasitismo por *P. falciparum*, se añade la adhesión de los glóbulos rojos parasitados que expresan proteínas adherentes en su superficie ("rosetinas" y la *P. falciparum* erythrocyte membrane protein- y PfEMP-I) que forman los "botones de adhesión" o "knobs", quienes en forma específica se adhieren a receptores endoteliales (Trombospondina-TSP, Glicoproteínas IV ó CD36, ICAM-1, VCAM-1 y E – Selectina, Condroitín sulfato A y Ácido Hialurónico) de capilares y vénulas post-capilares. (figura 11.3 y Tabla 11.1). En este último caso, se observa que los glóbulos rojos infectados pueden pegarse entre sí formando rosetas y a su vez quedar adheridos al endotelio vascular bloqueando el flujo sanguíneo de los capilares. Finalmente, en los casos severos que desarrollan edema tisular y hemorragias, se agrava la hipoxia de todos los órganos de la economía.

La asociación de la hipoxia tisular con la hipoglicemia favorece la aparición de la acidosis metabólica.

Malaria cerebral

Es una de las más temidas complicaciones en la Malaria causada por *P. falciparum*. La etiología de esta complicación parece corresponder a la conjunción de los mecanismos "mecánicos", como es la hipoxia tisular condicionada por los factores antes descritos como son: la obstrucción de la vasculatura, la anemia, etc, sumado a los mecanismos "bioquímicos", como es la producción de ON, cuyo origen ya fuera señalado anteriormente. Esta molécula, no solo favorece la hipoxia por la hipotensión, sino que también por actuar como "neurotransmisor aberrante" puede llevar al paciente al coma (figura 11.3).

Insuficiencia renal

Esta grave complicación se puede producir por hipoxia, por cuadros de hemólisis severa (por alta parasitemia o por medicamentos como la primaquina), por deposición de complejos inmunes circulantes que puede ocasionar glomerulonefritis y en casos de Malaria crónica por *P. Malariae*, se puede producir un síndrome nefrótico (figura 11.3). Es muy frecuente la proteinuria particularmente a expensas de la hemog-

lobina, así como la presencia de cilindros hialinos, epiteliales y granulares. En casos severos, evolucionan hacia la oliguria y uremia debido a la instalación de la insuficiencia renal por glomerulonefritis aguda.

Insuficiencia hepática

Se ha considerado que la fisiopatología de esta entidad está asociada primordialmente a la hipoxia tisular que ocasiona degeneración y necrosis centrolobular, alterando el funcionamiento y perfil sanguíneo de las enzimas hepáticas. Hay una gran sobrecarga del hígado en el procesamiento de la hemoglobina circulante, observándose hipertrofia de las células de Kuffer, repletas de glóbulos rojos parasitados y hemozoína.

Malaria y embarazo

La mayor susceptibilidad en el primer embarazo se ha explicado por la ausencia de anticuerpos anti-adhesión en la primigrávida que se ha expuesto por primera vez a una sub-población de parásitos maláricos que se adhieren exclusivamente a condroitín sulfato A (CSA) y a ácido hialurónico (AH) en la placenta (sincitiotrofoblasto) que llevan a la insuficiencia placentaria, afectando el desarrollo y viabilidad del feto. En los embarazos sucesivos se van produciendo anticuerpos que neutralizan la adhesión de los glóbulos rojos parasitados al endotelio de la vasculatura endometrial. La hipoglicemia, la anemia severa y el edema pulmonar son las complicaciones más frecuentes, que ocasionan mortalidad materna, abortos, prematuros y recién nacidos de bajo peso.

Otros órganos y tejidos

El funcionamiento del resto de los tejidos del organismo no mencionados previamente, como es el caso del aparato digestivo, los pulmones y las glándulas suprarrenales, se ven afectados principalmente por la hipoxia tisular y algunas citoquinas proinflamatorias, que pueden llevar a la necrosis parcial, alterando seriamente su funcionalismo.

La figura 11.3 resume la complejidad de los procesos que se generan durante la infección malárica, cuya interacción puede llegar a generar una falla multisistémica, generalmente irreversible, que es de muy difícil manejo para el clínico.

Tabla 11.1

Eventos patogénicos en Malaria por *Plasmodium falciparum*.
Consecuencias directas sobre el Eritrocito.
Secuestro, bloqueo intravascular y Hemólisis

1.- Alteraciones en la flexibilidad de los eritrocitos

- ↑ fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina y ↓ fosfatidilcolina de la capa externa del glóbulo rojo.
- ↑ rigidez de la membrana.
- ↑ de la viscosidad citoplasmática.

2.- Citoadherencia

- Proceso específico con células endoteliales (capilares y vénulas post-capilares).
- Fenómeno modulado por el bazo.
- Asociado a las protuberancias de adhesión ("knobs").
- Asociado a las proteínas PfEMP-1 (*P. falciparum* erythrocyte membrane protein: 240-260 kDa).
- ↑ Banda 3 oxidada.

3.- Receptores de las células endoteliales

- Trombospondina TSP (glicoproteína de plaquetas).
- Glicoproteínas IV ó CD36 (Ag de diferenciación de leucocitos).
- ICAM - (Molécula de Adhesión Intracelular).
- E – Selectina.
- VCAM - 1 (molécula de Adhesión a Células Vasculares).
- Modulación por IFN γ , TNF α y directamente por el parásito.

4.- Formación de rosetas

- Rosetinas (22 – 28 kDa).
- Carbohidratos de los grupos A y B. Molécula CD36.

Figura 11.1

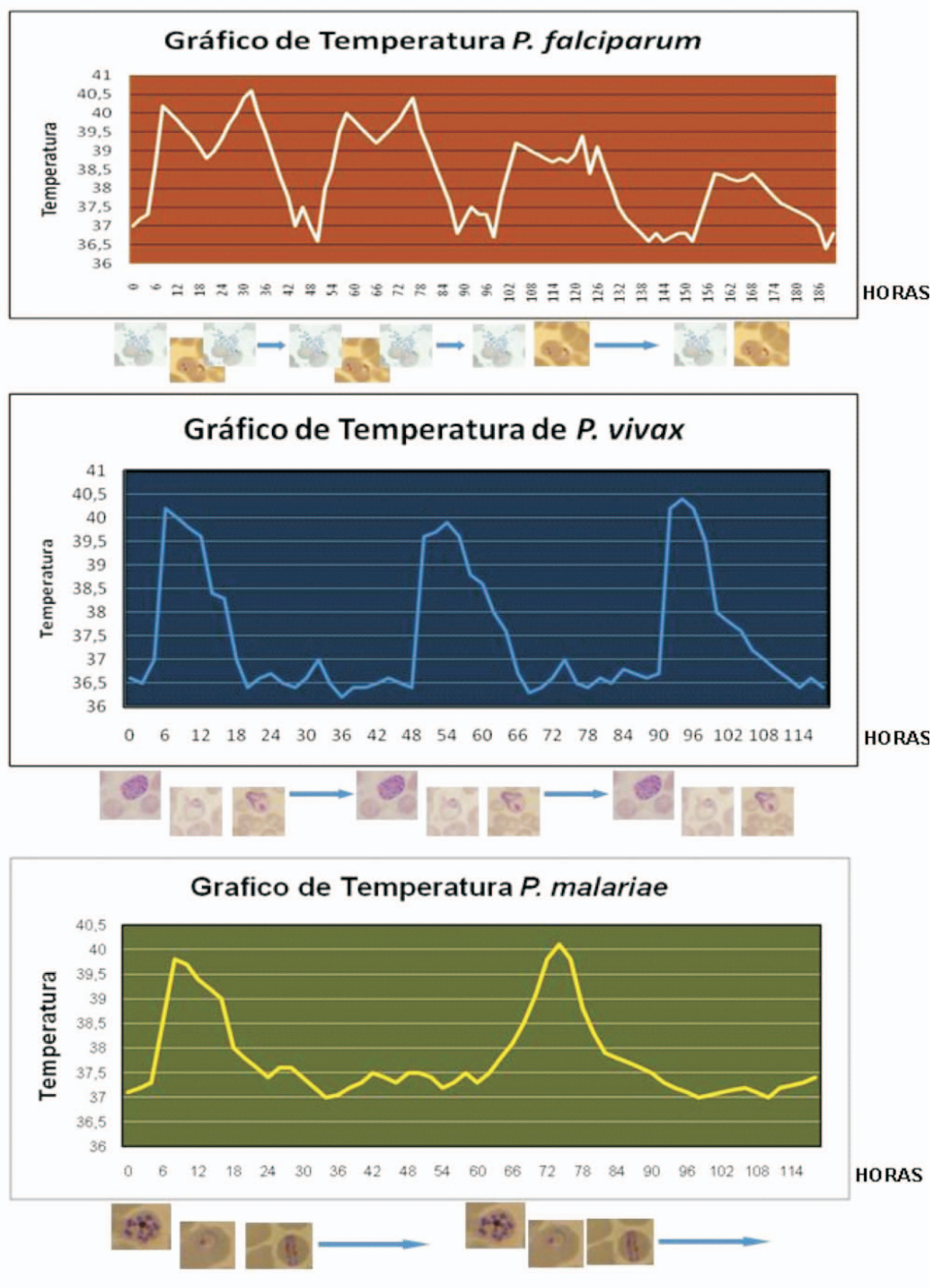


Figura 11.2
Regulación de la temperatura corporal y patogenia de la fiebre

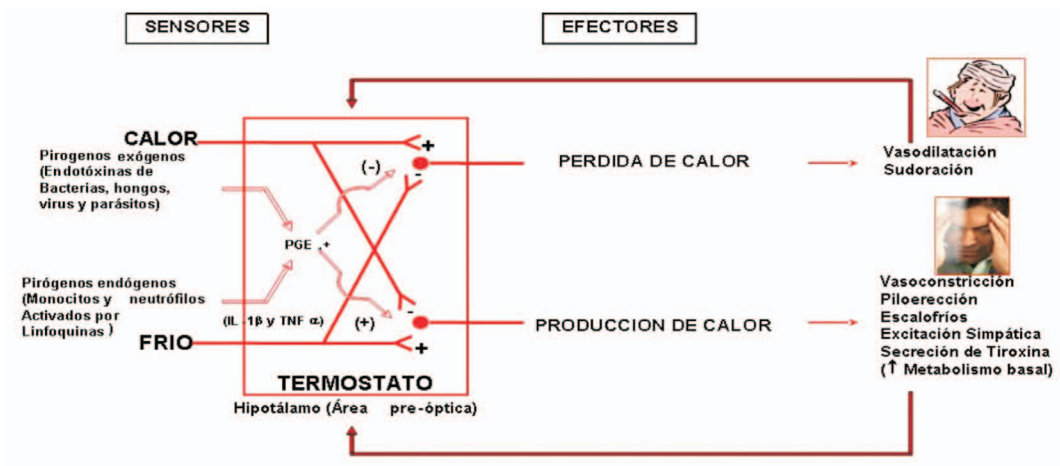
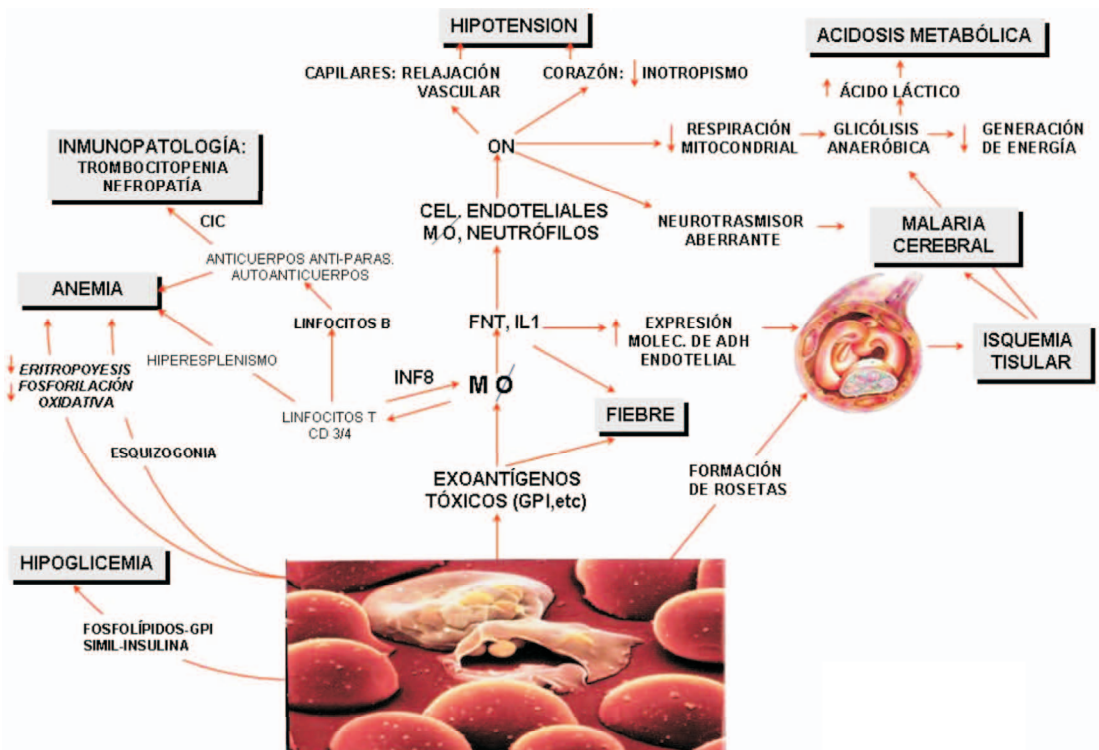


Figura 11.3
Fisiopatología de la infección Malárica por *Plasmodium falciparum*



Fuente: Oscar Noya IMT-UCV 2010

REFERENCIAS

- Chen Q., Schlichtherle M. and Wahlgren M. (2000). Molecular aspects of severe Malaria. Clin. Microbiol. Rev. **13**: 439-450.
- Clark I. and Cowden W. (1999). Why is the pathology of falciparum worse than that of vivax Malaria? Parasitol. Today. **15**: 458-461.
- Clark I., Alleva L., Mills A., Cowden W. (2004). Pathogenesis of Malaria and clinically similar conditions. Clin. Microbiol. Rev. **17**: 509-539.
- Fried M. and Duffy P. (1996). Adherence of *Plasmodium falciparum* to chondroitin sulphate A in the human placenta. Science. **272**: 1502-1504.
- Goel V. K., Li X., Chen H., Liu S. C., Chishti A. H. and Oh S. S. (2003). Band 3 is a host receptor binding merozoite surface protein 1 during the *Plasmodium falciparum* invasion of erythrocytes. Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A. **100**(9): 5164-5169.
- Ho M. and White N. (1999). Molecular mechanisms of cytoadherence in Malaria. Am. J. Physiol. **276**: C1231-1242.
- Miller L.H., Baruch D., Marsh K. and Doumbo O. (2002). The pathogenic basis of Malaria. Nature **415**: 673-679.
- Newbold C., Craig A., Kyes S., Rowe A., Fernández-Reyes D. and Fagan T. (1999). Cytoadherence, pathogenesis and the infected red cell surface in *Plasmodium falciparum*. Int. J. Parasitol. **29**: 927-937.
- Nguyen P., Day N., Pram T., Ferguson D. and White N. (1995). Intra-leucocytic Malaria pigment and prognosis in severe Malaria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. **89**: 200-204.
- Rogerson S., Hviid L., Duffy P., Leke R. and Taylor D. (2007). Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. Lancet **7**: 105-117.
- Rowe J., Moulds J., Newbold C. and Miller L. (1997). *P. falciparum* re-setting mediated by a parasite-variant erythrocyte membrane protein and complement receptor 1. Nature. **388**: 292-295.



Tachado S., Gerold P., McConville M., Baldwin T., Quilici D., Schwarz R. and Schofield L. (1996). Glycophosphatidylinositol toxin of *Plasmodium* induces nitric oxide synthase expression in macrophages and vascular endothelial cells by a protein tyrosine kinase-dependent and protein-kinase C-dependent signalling pathway. J. Immunol. **156**: 1897-1907.

Weatherall D., Miller L., Baruch D., Marsh K., Doumbo O., Cassals-Pascual C., et al. (2002). Malaria and the red cell. Nature **415**: 673-679.

12. RESPUESTA INMUNITARIA EN MALARIA. BASES DE LA INMUNIDAD INNATA Y ADQUIRIDA (HUMORAL Y CELULAR)

Albina Wide V.

Cuando el parásito infecta al hospedador humano, este último establece una respuesta inmunitaria contra los antígenos del parásito. Esta respuesta juega papel importante en el control del número de parásitos en el hospedador, aunque también contribuye a la patogenia y patología. Como en otros sistemas hospedador-parásito, también existe un balance entre la supervivencia del parásito y la respuesta inmunitaria específica del mismo. Si el parásito mata al hospedador o viceversa no ocurre transmisión. Por lo tanto, el parásito necesita escapar de la respuesta inmunológica para mantenerse en niveles transmisibles sin eliminar al hospedador (Greenwood y col., 1991).

La respuesta inmunitaria a *Plasmodium spp.* se diferencia de la respuesta a las infecciones virales y bacterianas. Esto se debe a que la infección por este parásito, es compleja como lo demuestra su ciclo de vida (Good y Doolan, 1999; Richie y Saul, 2002) (figura 12.1). Además, la inmunidad protectora se desarrolla sólo después que el individuo ha sido expuesto a múltiples infecciones a través de los años (Hommel y Gilles, 2005; Greenwood, 1999).

La infección malárica provoca una respuesta inmunitaria intensa en el hospedador. Las reacciones son tanto específicas como inespecíficas. Aunque tan pronto aparece una parasitemia importante, aumenta la actividad del Sistema Fagocítico Mononuclear, especialmente en bazo, hígado y médula ósea. La respuesta se debe a la participación de la inmunidad innata, producción de $\text{INF-}\gamma$, proliferación de células T y la inducción de Linfocitos B a la producción de anticuerpos (Good y Doolan, 1999; Plebanski y Hill, 2000).

Inmunidad innata

La existencia de mecanismos inmunológicos no adquiridos en personas residentes en áreas maláricas, ha recibido diversas explicaciones, entre las que se encuentran la presencia de alteraciones genéticas capaces de modificar la capacidad infectante del parásito una vez que éste entre en contacto con el eritrocito, como ocurre por ejemplo en diferentes hemoglobinopatías y enzimas tales como: deficiencia de

Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (G6PDH) (Bruce- Chwatt, 1985; Patarroyo, 1989; Knell, 1991; Miller, 1994; Stevenson y Ridley, 2004).

P. vivax se limita a infectar reticulocitos y células Duffy positivos, mientras que el *P. falciparum* infecta a GR de todas las edades que presenta el receptor glicoforina A y la invasión se reduce cuando el GR presenta anomalías en dicho receptor (Bruce-Chwatt, 1986; Knell, 1991; Hommel y Gilles, 1998).

La resistencia a la entrada del parásito se observa en células con anomalías en el cito-esqueleto. La ovalocitosis confiere resistencia a todas las especies de Malaria, mientras que la eliptocitosis, debido a la ausencia de la banda 4 puede detener la entrada de *P. falciparum*. Así mismo, el desarrollo intraeritrocitario de este parásito se reduce en GR que presente varias hemoglobinopatías tales como: Hb S, Hb E, Hb F, Hb C y enzimopatías tales como deficiencia de G6PDH o β -Talasemias. En otros casos el crecimiento reducido puede ser observado solo en el ciclo inicial del desarrollo del parásito en células anormales. *Plasmodium falciparum* activa sus propias enzimas cuando crece en el GR que son deficientes en G6PDH, demostrando la habilidad de adaptarse a éstas (Bruce-Chwatt, 1985; Knell, 1991; Hommel y Gilles, 1998). Además de la resistencia innata a la infección, el grado de susceptibilidad individual a las formas severas puede ser variable. Se ha estimado que *P. falciparum* conlleva a la Malaria cerebral solo en un porcentaje pequeño de los casos en zonas endémicas y solo una cantidad minoritaria de éstos es fatal (Miller y col., 2002; Mackintosh y col., 2004).

Recientemente, algunos estudios han estado dirigidos a resaltar el papel de la inmunidad innata en Malaria, tanto en el modelo murino como humano. Este tipo de respuesta participa en el contacto inicial con el agente infeccioso, por lo que es la primera línea de defensa en controlar la infección aguda y modula la inmunidad adaptativa a las subsecuentes exposiciones. La producción de mediadores (IL-12, IL-18, IL-15, IL-23) por las células dendríticas y macrófagos activan a las células NK, éstas producen IFN- γ que a su vez activa a los macrófagos a liberar TNF- α y óxido nítrico para eliminar los parásitos. Los plasmodios también activan directamente a las NK por reconocimiento directo de los receptores, las cuales liberan perforinas capaces de eliminar a los parásitos intracelularmente (Stevenson y Korb, 2004; Riley y col., 2004).

Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida en la Malaria, es compleja y esencialmente específica de especie y de estadio; de manera que la inmunización con los antígenos derivados de los esporozoítos, merozoítos o gametocitos, protege sólo frente a un estadio particular (Stevenson y Riley, 2004). La inmunidad en Malaria es multifactorial: 1.- A nivel de la fase exo-eritrocítica incluye anticuerpos específicos contra esporozoítos, células efectoras CD8⁺ y células T CD4⁺ y células T CD8⁺ que reconocen hepatocitos infectados (referido por Waters y col., 2005), 2.- A nivel de la fase eritrocítica aunque es sustancialmente mediada por anticuerpos, participan otros mecanismos independiente de anticuerpos, tales como la producción de INF- γ por células T CD4⁺ activadas por antígenos específicos que además cooperan en la inducción de anticuerpo IgG citofílicos y a la producción de otras citoquinas y mediadores importantes en la eliminación de los plasmodios (Good y Doolan, 1999; Plebanski y Hill, 2000; Carvahlo, 2002) (figura 12.1 y 12.2).

La respuesta inmunitaria contra la Malaria no protege en un 100% contra re-infecciones, y la adquisición de dicha inmunidad es lenta tanto en los niños una vez sobrepasado el período de inmunidad pasiva posterior al nacimiento, como en los adultos. Una explicación parcial de este fenómeno es la elevada variabilidad genética del hospedador, el grado y duración de la infección, estadio del parásito, estado nutricional, e inclusive del uso de medicamentos entre otros (Greenwood, 1999; Troye-Blomberg y col., 1999). La lentitud de la adquisición de la inmunidad frente a los plasmodios también se atribuye a la capacidad del parásito para evadir la respuesta inmunitaria mediante diversos mecanismos entre los cuales están la extrema diversidad y variación antigénica y/o polimorfismo de los parásitos, el fenómeno de secuestro, la inducción de anticuerpos bloqueadores inducción de inmunosupresión en el hospedador (Patarroyo, 1989, Miller, 1994; Riggione, 1996; Good y Doolan, 1999; Nascutiu, 2002).

Los habitantes de áreas endémicas ya adaptados, sufren menos episodios de Malaria por períodos de tiempo que los no adaptados y menos infecciones de menor gravedad que las que sufren los visitantes ocasionales de dichas áreas. Así mismo, los lactantes de hijos de mujeres inmunes están protegidos contra la Malaria durante los primeros tres o cuatro meses de edad, debido a los anticuerpos IgG que pasan

transplacentariamente de sus madres y también a la disminución en la capacidad de la hemoglobina fetal para sostener el crecimiento del parásito (Hviid y Staalsoe, 2004). A partir de este momento se vuelven susceptibles y empiezan a presentar al menos dos o tres episodios por año hasta que con el tiempo desarrollan cierta inmunidad y la frecuencia de infección por año baja a lo habitual para los residentes aclimatados (Bull y Marsh, 2002).

Inmunidad humoral

Los anticuerpos pueden destruir al patógeno directa o indirectamente a través de las Células Asesinas Naturales (NK) de manera que en la función protectora del anticuerpo es importante la naturaleza citofílica de éstos y la cooperación con otras células (Bruce-Chwatt, 1986; Hommel y Gilles, 2005, Garraud y col., 2003; Korbel y col., 2004).

La inmunidad contra el estadio sanguíneo de la Malaria por *P. falciparum* está asociada con los anticuerpos de tipo protector de ciertas clases y sub-clases.

Las sub-clases IgG dependen de la dinámica de transmisión del parásito y del sistema inmune de los individuos.

Los anticuerpos actúan en diferentes fases del ciclo evolutivo del parásito:

- Bloqueo directo de la invasión de los eritrocitos por merozoítos, mediante la neutralización de sus antígenos (Saul, 1987 Ferreira y col., 1998).
- Inhibición de la dispersión del merozoíto luego de la ruptura del esquizonte (Ferreira y col., 1998).
- Opsonización que promueve la fagocitosis y activación del complemento para eliminar el eritrocito infectado, especialmente a nivel esplénico (Ferreira y col., 1998).
- Neutralización de toxinas.
- Neutralización de gametocitos en el interior del mosquito.

Cuando las moléculas de inmunoglobulinas (IgG) se unen a una partícula antigénica y la recubren, se lleva a cabo el proceso de opsonización. La IgG unida es reconocida por los FcγR de los leucocitos, lo que aumenta la eficacia de la fagocitosis. Es importante destacar que

los isotipos de inmunoglobulinas IgG1 e IgG3 son los que mejor se unen a estos receptores, promueven la fagocitosis, inhibición celular y opsonización. (Aribot y col., 1996; Hommel y Gilles, 1998; Ndungu y col., 2002; Garraud y col., 2003).

Los anticuerpos citofílicos (IgG1 e IgG3) son capaces de cooperar con los monocitos y macrófagos humanos, en la opsonización, fagocitosis y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, a través de los receptores FcγRI y FcγRII. Sin embargo, los anticuerpos no citofílicos (IgG2 e IgG4) pueden inhibir tales respuestas efectivas, mediante la competencia con los anticuerpos citofílicos por los mismos dominios vecinos, actuando en consecuencia como anticuerpos bloqueadores (Ferreira y col., 1998; Garraud y col., 2003) (figura 12.2).

Algunos de los estadios asexuales sanguíneos de *P. falciparum* inducen preferencialmente anticuerpos citofílicos. Dos antígenos principales de superficie del merozoito de *P. falciparum*, inducen el estímulo de patrones diferentes de respuesta de IgG naturalmente adquirida. Estos antígenos son: MSA-1, el cual se asocia con la respuesta de IgG1 e IgG3. Mientras que las respuestas anti-MSA-2 están restringidas básicamente al estímulo de la síntesis de IgG3 (Ferreira y col., 1998). A pesar de que los anticuerpos son elementos esenciales en la inmunidad, niveles elevados de IgG contra un amplio rango de antígenos de estadios sanguíneos de *P. falciparum* son usualmente pobres en la protección clínica (Ferreira y col., 1998; Ndungu y col., 2002) (figura 12.2).

Evidencias del papel protector de la respuesta humoral en Malaria

Diferentes estudios han demostrado la eficacia de los anticuerpos en controlar el nivel de parasitemia en Malaria (Warren, 1993). Se ha establecido que los anticuerpos dirigidos contra estadios eritrocíticos de *P. falciparum*, además de la inmunidad mediada por células son importantes en la respuesta protectora a Malaria. La transferencia pasiva de anticuerpos policlonales o monoclonales en modelos humanos y animales tiene efectos protectivos (McGregor y col., 1964. Igualmente, la transferencia de linfocitos B a animales no inmunes o depletados de estas células, aumenta la resistencia a la infección por plasmodios (Jayawardena y col., 1979 referido por Warren, 1993). Varias moléculas

las han sido caracterizadas como blanco de protección y sugeridos como candidatos para vacuna. Entre ellas la proteína de superficie del merozoito MSP-1. Esta tiene importancia como prospecto de vacuna por cuanto hay inducción de anticuerpos que están asociados con la resistencia clínica en áreas hiperendémicas (Branch y col., 1998). La prevalencia y los niveles de IgG a PfMSP-1 incrementa con el tiempo de exposición y existe una correlación positiva con la ausencia de síntomas clínicos en pacientes con parasitemia. Aunque el papel de las subclases de IgG en la adquisición de la inmunidad antimalárica no está completamente clara, se ha encontrado que la prevalencia del isotipo IgG1 ha resultado significativamente más alta entre las personas con mayor exposición a los plasmodios y con infecciones asintomáticas (Braga y col., 2002).

Estudios *in vivo* e *in vitro* sobre el análisis del efecto protector de los anticuerpos apuntan al menos hacia dos mecanismos: 1.- anticuerpos opsonizantes que promueven la fagocitosis de los eritrocitos infectados y 2.- anticuerpos citofílicos correspondientes a los isotipos IgG1 e IgG3 que actúan en cooperación con monocitos para inhibir el crecimiento o desarrollo parasitario (Garruad y col., 1989) (figura 12.2). Estudios epidemiológicos en áreas holoendémicas de Africa tropical demostraron que los anticuerpos citofílicos están asociados con protección adquirida, mientras que los isotipos IgG2 e IgG4 y IgM son predominantes en individuos o grupos de individuos no protegidos (Dubois y Pereira da Silva, 1995). De allí, que más que los niveles de anticuerpos es el balance de los isotipos los que son importantes en la protección mediada por anticuerpos.

Por otra parte, la interacción entre el sistema inmunitario y los parásitos varía acorde al grado de endemidad. En áreas de alta transmisión, se asume que la adquisición de la inmunidad a *P. falciparum* requiere 10 – 15 años de ininterrumpida exposición debido al polimorfismo antigénico de los plasmodios (Theander y col., 1992).

La protección de la sintomatología observada en adolescentes parasitélicos conocida como inmunidad clínica usualmente nunca es alcanzada en regiones de muy baja exposición estacional de la transmisión malárica. Entre sujetos ligeramente expuestos en áreas hipoendémicas o mesoendémicas no hay asociación entre la edad y la severidad de la enfermedad (Marsh y Snow, 1997). Tales datos apoyan la hipótesis del requerimiento de una exposición “pasada” e ininterrumpi-

da a antígenos de los esporozoítos y principalmente a estadios eritrocíticos del parásito para la protección de los síntomas clínicos de Malaria (Braga y col., 2002). Así mismo, existe una especificidad de los anticuerpos, donde individuos con exposición sólo a *P. vivax* no presentan anticuerpos contra PfMSP1-19, además está asociada con resistencia a la Malaria clínica en áreas hiperendémicas (Egan y col., 1996). Sin embargo, la resistencia adquirida a la Malaria clínica puede ocurrir a pesar de los perfiles epidemiológicos de endemidad. Predominio de los isotipos IgG₁ e IgG₂ contra PfMSP1-19 se ha observado en personas con una prolongada exposición a Malaria en áreas de transmisión inestable mientras que los niveles altos de anticuerpos IgG₁ pueden estar involucrados con las infecciones asintomáticas, sugiriendo que este isotipo media los mecanismos de protección en la inmunidad adquirida naturalmente (Braga y col., 2002; Diallo y col., 2002).

Niños no inmunes y turistas producen títulos altos de anticuerpos IgG2 anti- *P. falciparum*, mientras que para africanos adultos inmunes tiende a predominar IgG₁ e IgG₃ en relación a los anticuerpos no citofílicos (Bouharoun-Tayoun, 1992). Estos hallazgos son debido al alto grado de variabilidad individual en las respuestas a las subclases de IgG. Hay algunas evidencias de que los anticuerpos IgG₂ e IgG₄ asociados con un alto riesgo de desarrollar Malaria severa, lo cual refleja su papel no protector e incluso se ha planteado el efecto antagónico compitiendo por los mismo sitios antigénicos de los isotipos IgG₁ e IgG3 (Ndungu y col., 2002).

Además, es bien conocido que la inmunidad contribuye a la respuesta terapéutica en Malaria (Mayxay y col., 2001). Los anticuerpos anti-RESA han sido asociados con protección en Malaria pudiendo considerarse un candidato potencial para vacuna. Estos pueden ser utilizados como marcadores de la respuesta humoral (Mayxay y col., 2001). Se ha establecido que la respuesta al tratamiento en Malaria mejora con la edad. Esto ha sido interpretado como reflejo de la inmunidad pero no ha sido completamente demostrado. Por otro lado, los componentes responsables de la respuesta inmunitaria no han sido caracterizados (Mayxay y col., 2001).

Pacientes con historia previa de Malaria y con fase aguda de Malaria por *P. falciparum* presentaron títulos más altos de anticuerpos y densidades parasitarias más bajas comparado con aquellos pacientes primo infectados. Este hallazgo es consistente con otros estudios

donde los títulos de anticuerpos anti-RESA fueron relacionados con la exposición. En individuos con anticuerpos positivos anti-RESA (IgG e IgM) sugiere que éstos y otros anticuerpos antimaláricos pueden tener un papel en el control de las manifestaciones clínicas durante la Malaria aguda. Es decir, hay una asociación significativa entre la presencia de anticuerpos anti-RESA, la resistencia a la Malaria clínica y la baja parasitemia. Además, la proporción de pacientes con IgM positivo fue más alto en los casos no complicados comparado con los grupos severos, pudiéndose interpretar como el papel protector de la IgM para un control inicial de la enfermedad severa (Mayxay y col., 2001).

Niños recién nacidos en áreas endémicas son eminentemente resistentes a la Malaria por *P. falciparum*. Por consiguiente, la enfermedad severa es rara durante los primeros meses de vida y las infecciones se presentan con baja densidad y relativamente asintomática durante este período. Esto es debido a una inmunidad transferida pasivamente por la madre que es de vida al paso de IgG específicos de las VAS (variante de antígeno de superficie) codificados por el parásito. Por otra parte, se infiere que existe una relación entre los VASs expresados y las manifestaciones clínicas de la infección. La expresión de la VAS varía con la edad del hospedador y con la severidad de la enfermedad (Hviid y Staalsoe, 2004). Anticuerpos IgG e IgM específicos en niños con los antígenos esporozoítos y el parásito total antes y después del tratamiento tanto con la Malaria por *P. falciparum* no severa como severa, se encontró que la IgG pero no la IgM respondió fuertemente tanto clínicamente como parasitológicamente.

Aunque la protección del estadio sanguíneo es principalmente mediado por anticuerpos, otros mecanismos protectores se encuentran involucrados, incluyendo la inmunidad innata, como es la producción de interferón γ (IFN- γ) y radicales de oxígeno liberados por macrófagos y neutrófilos (Hommel y Giles, 2005).

Inmunidad celular

En las infecciones producidas por *Plasmodium spp.*, los linfocitos T CD8⁺ no confieren inmunidad frente a los parásitos intraeritrocíticos. Esto se debe a que los eritrocitos no expresan en su superficie, moléculas del Sistema Mayor de Histocompatibilidad (SMH), esencial para el reconocimiento por parte de dichos linfocitos y por lo tanto, no ejercen sus acciones de citotoxicidad celular (Hommel y Gilles, 2005). Sin em-

bargo, las células T CD8⁺ desempeñan una importante función en la inmunidad frente a los estadíos hepáticos de la infección. Los efectos protectores de estas células pueden estar mediados por la lisis directa de los hepatocitos infectados con esquizontes hepáticos a través de las células CD8⁺, o indirectamente a través de la secreción de IFN- γ que a su vez activa la óxido nítrico sintetasa para inducir la vía del óxido nítrico que eliminan los parásitos (Good y Doolan, 1999; Waters y col., 2005).

En animales infectados con *P. falciparum*, se produce un incremento de macrófagos en el hígado, bazo y en médula ósea. El número elevado de macrófagos en el bazo ha sido relacionado con la liberación de citoquinas por parte de células T, lo cual parece desencadenar una afluencia, conllevando a la esplenomegalia. Los macrófagos realizan la fagocitosis de los parásitos, eritrocitos infectados, cuerpos residuales y pigmentos. A pesar de la activación masiva de estos mecanismos de defensa contra el parásito, el proceso no es muy efectivo en la eliminación de la infección, posiblemente debido a los efectos supresores de los pigmentos maláricos ingeridos.

En adición a la actividad fagocítica, los macrófagos y los monocitos pueden producir una variedad de sustancias tóxicas que pueden dañar o destruir al parásito. Las funciones efectoras de los macrófagos incluyen la liberación de intermediarios de oxígeno como el peróxido de hidrógeno y de radicales oxidrilos, la producción de Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y otras citoquinas y enzimas, algunas de las cuales pueden afectar al parásito como por ejemplo: la poliamida oxidasa, la cual puede eliminar a *P. falciparum*. Los productos tóxicos derivados de los macrófagos activados, afectan directamente o por medio de la producción de óxido nítrico a los plasmodios en su ciclo exoeritrocítico (Hommel y Gilles, 2005; Good y Doolan, 1999; Waters y col., 2005).

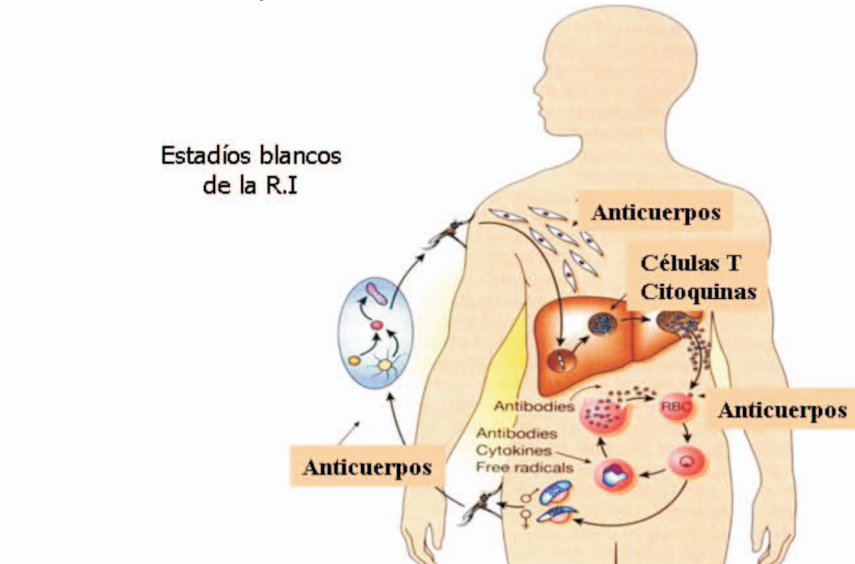
Durante la infección por Malaria, ocurre una deposición de complejos inmunes en pequeños vasos sanguíneos; probablemente conllevando a la sobre producción del TNF, que es inducido por la liberación de los productos parasitarios durante la ruptura del esquizonte y tener una función central en la fisiopatología de los síntomas de la Malaria, ya que esta citoquina es responsable del paroxismo malárico. La elevación de la temperatura durante los paroxismos por *P. vivax*, le sigue a la elevación de los niveles circulantes de TNF. Los niveles de esta citoquina son más elevados en Malaria severa causada por *P. falciparum* y a su

vez son bastante altos en los casos fatales. Los niveles fisiológicos de esta citoquina (TNF), puede destruir los parásitos intracelulares o reducir la infectividad de los gametocitos hacia los mosquitos; mientras que a niveles elevados induce fiebre, deprime la eritropoyesis, incrementa la eritro-fagocitosis; de manera que contribuye a la anemia y a los síntomas no específicos de la Malaria (náuseas, vómitos, diarrea, etc.). Así mismo, la IL-1 e IL-6 también se incrementan durante la Malaria y se cree que actúan en sinergismo con el TNF en la fisiopatología de dicha infección (Troyer-Blomberg y col., 1999; Clarck y Schofield, 2000).

Por otro lado, en los estadios agudos de las infecciones humanas por *P. falcíparum* y *P. vivax*, se ha detectado un incremento en el número de células T $\gamma\delta$ (receptor expresado en un pequeño número de linfocitos periféricos). Dichas células producen IFN- γ y TNF- α (en donantes expuestos y no expuestos a Malaria) cuando son estimuladas *in vitro* con antígenos de *P. falcíparum*. Se ha propuesto que estas células contribuyen a la patogenia de las infecciones por *P. falcíparum*. Otros investigadores han sugerido una función protectora para dichas células, ya que inhiben la replicación de los estadios eritrocíticos *in vitro*. Una vez activadas estas células T $\gamma\delta$ por antígenos maláricos, producen citoquinas tipo TH1; aunque pueden producir ocasionalmente citoquinas tipo TH2. (Troyer-Blomberg y col., 1999; Artavanis-Tsakonas y col., 2003).

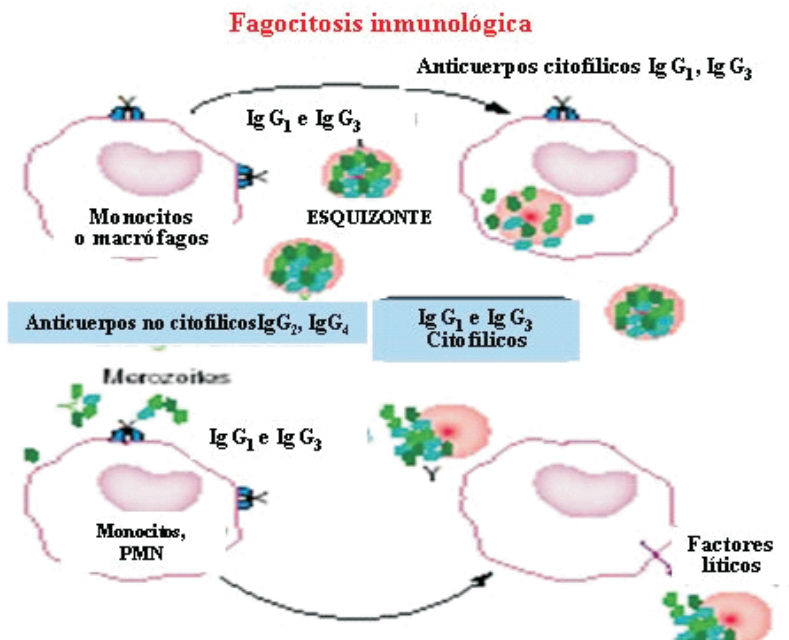
Otras citoquinas que juegan papel importante en la inmunidad contra la Malaria son: GM-CSF, actúa sinérgicamente con TNF- α , en la fagocitosis mediada por neutrófilos en la muerte de estadios sanguíneos asexuales y la IL-10, la cual incrementa durante los ataques agudos y luego retorna a niveles normales cuando los síntomas clínicos desaparecen (Doodoo y col., 2002; Artavanis-Tsakonas y col., 2003; Tongren y col., 2004; Hommel y Gilles, 2005; Yildiz y col., 2006 Iriemenam y col., 2009).

Figura 12.1
Respuesta inmunitaria en Malaria



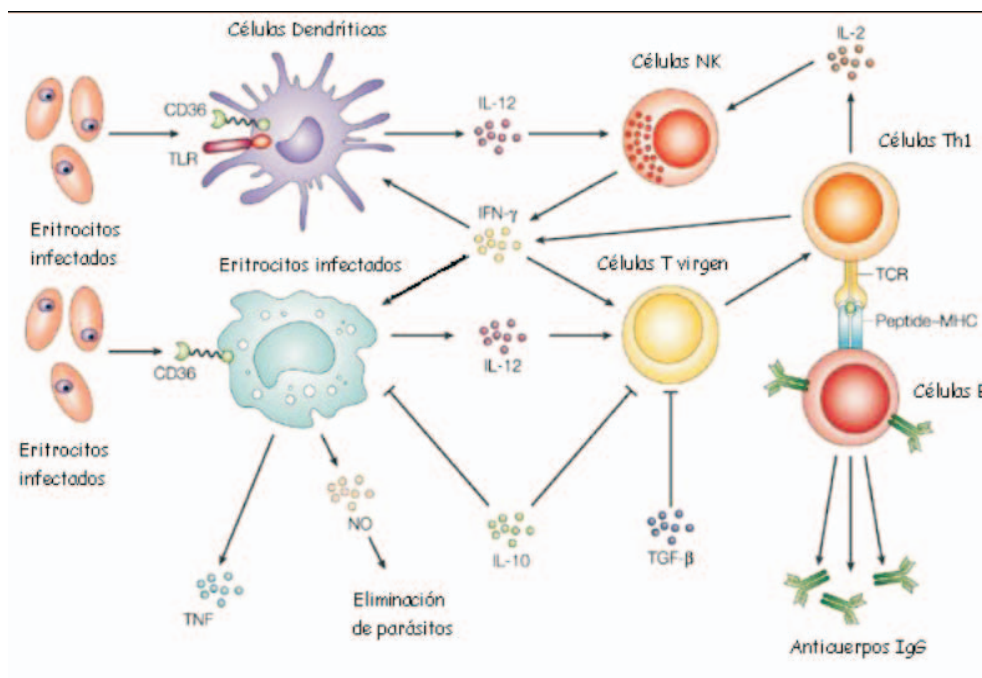
Fuente: Thomas L. Richie & Alan Saul. Nature Insight. Malaria. 415 (6872); 694-70, 2002

Figura 12.2
Inhibición celular dependiente de anticuerpos



Fuente: Garraud O. et al.2003. Trends Immunol, 24 (1): 30-35

Figura 12.3
Respuesta inmunológica en Malaria



Fuente: Mary M. Stevenson & Eleanor M. Riley Nature Reviews Immunology 4, 169-180. 2004.

REFERENCIAS

- Aribot G., Rogier C., Sarthou J. L., Trape J. F., Balde A. T., Druilhe P. and Roussilhon C. (1996). Pattern of Immunoglobulin Isotype Response to *Plasmodium falciparum* Blood-Stage Antigens in Individuals Living in a Holoendemic Area of Senegal (Dielmo, West Africa). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **54(5)**: 449-457.
- Artavanis –Tsakonas K., Tongren J. E. and Riley E. M. (2003). The war between the Malaria parasite and the immune system: immunity, immunoregulation and immunopathology. *Clin. Exp. Immunol.* **133**: 145 -152.
- Bouharoun – Tayaun H. And Druilhe p. (1992). *Plasmodium falciparum* Malaria: evidence for an isotype imbalance which may be responsible for delayed acquisition of protective immunity. *Infect. Imm.* **60**: 1473-1481.

- Braga E. M., Barros R. M, Reis T. A., Fontes C. J. F., Morais C. G., Martins M. S. and Krettli A.U. (2002). Association of the IgG response to *Plasmodium falciparum* merozoite protein (C – terminal 19 kD) with clinical immunity to Malaria in the Brazilian Amazon region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66 (5)**: 461-466.
- Branch O. H., Udhayakumar V., Hightower A. W., Oloo A. J., Hawley W. A., Nahlen B. L., *et al.* (1998). A Longitudinal investigation of IgG and IgM antibody response to the merozoite surface protein-1 19-kilodalton domain of *Plasmodium Falciparum* in pregnant women and infants: Associations with febrile illness, parasitemia and anemia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **58**: 211-219.
- Bruce-Chwatt L. J. (1986). *Essential Malariology*. Second Edition. William Heinemann Medical Books Ltd. London.
- Bull P.C. and Marsh K. (2002). The role of antibodies to *Plasmodium falciparum* - infected erythrocyte surface antigens in naturally acquired immunity to Malaria. *Trends Microbiol.* **10**: 55-58.
- Clark I. A. and Schofield L. (2000). Pathogenesis of Malaria. *Parasitol. Today.* **16 (10)**: 451-464.
- Diallo T. O., Spiegel A., Diouf A., Lochouart L., Kaslow D. C., Tall A., *et al.* (2002). Short report: Differential Evolution of Immunoglobulin G1/G3 Antibody Responses to *Plasmodium falciparum* MSP119 over time in Malaria-Immune adult Senegalese patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66(2)**: 137-139.
- Dodoo D., Omer, F. M. , Todd J., Akanmori D., Koram A. and. Riley E. M. (2002). Absolute Levels and Ratios of Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokine Production In Vitro Predict Clinical Immunity to *Plasmodium falciparum* Malaria. *J. Infect. Dis.* **185**: 971–979.
- Dubois P. and Pereira da Silva L. (1995). Towards a vaccine against asexual blood stage infection by *Plasmodium falciparum*. *Res. Immunol.* **146**: 263 – 275.
- Egan A. B., Morris J., Barnish G., Allen S., Greenwood B.M., Kaslow D. C., *et al.* (1996). Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* Malaria is associated with serum antibodies to the 19 kDa C-terminal

fragment to the merozoite surface antigen.PfMSP – 1. J Infect. Dis. **173**: 765 – 769.

Ferreira M., Kimura E. and Katzin A. (1998). The IgG subclass distribution of naturally acquired antibodies to *Plasmodium falciparum*, in relation to Malaria exposure and severity. Ann. Trop. Med. Parasitol. **92 (3)**: 245-256.

Garraud O., Mahanty S. and Perraut R. (2003). Malaria-specific antibody subclasses in immune individuals: a key source of information for vaccine design. Trends Immunol. **24 (1)**: 30-35.

Garraud O., Mnhanty S. and Perraut R., Gysin J. (1989). Peripheral blood mononuclear celis in the squirrel monkey *Saimiri saureus*: characterization and fintional aspects of T lymphocytes. Res. Immunol. **140**: 857 – 874.

Good M. F. and Doolan D. L. (1999). Immune effector mechanisms in Malaria. Cuur. Opin. Immunol. **11**: 412-419.

Greenwod B. (1999). What can the residents of Malaria endemic countries do to protect themselves? Parasitología **41**: 295 – 299.

Greenwood B., Marsh K. and Snow R. (1991). Why do some African children develop severe Malaria?. Parasitology Today. **7**: 277- 281.

Hommel M. and Gilles M. (1998). Malaria. Topley and Wilson´s. Microbiology and Microbial Infections Parasitology 5, edit. Cox. F.E., Kreier J. P. and Wakelin D. Chapter 20, pp 361-409.

Hommel M. C. and Gilles H. M. (2005). Malaria. Topley and Wilson´s Microbiology and Microbial Infections Parasitology vol. 5, Edit. Cox. F. E. G., Kreier J. P. and Wakelin D. Chapter 24, pp. 464-528.

Hviid L. and Staalsoe. (2004). Malaria immunity in infants: a special case of a general phenomenon? Trends Parasitol. **20 (2)**: 66-72.

Iriemenam N., Okafor C. M. F., Balogun H. A., Ayede I., Omosun Y., Persson J-O., et al. (2009). Cytokine profiles and antibody responses to *Plasmodium falciparum* Malaria infection in individuals living in Ibadan, southwest Nigeria. Afr Health Sci. **9 (2)**: 66–74.

- Jayawardena A.N., Murphy D.B., Janeway C.A., Gershon R.K. (1982). T cell-mediated immunity in Malaria . I The Lyphenotype of T cells mediating resistance to *Plasmodium yoelli*. J. Immunol. **129**: 377-381.
- Knell A. J. (1991). Malaria. A Publication of the Tropical Programme of the Wellcome Trust.Korbel D.S., Finney O.C. and Riley E.M. 2004 Natural Killer cells and innate immunity to protozoan pathogens. Parasitol. **34 (13-14)**: 1517 – 28.
- Mackintosh C.L., Beeson J.G. and Marsh K. (2004). Clinical features and pathogenesis of severe Malaria. Trends Parasitol. **20 (12)**: 597-603.
- Mayxay M., Chotivanich K., Pukrittayakamee S., Newton P, Looareesuwan S. and White N. J. (2001). Contribution of humoral immunity to the therapeutic response in *Falciparum* Malaria. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. **65**: 918-923.
- McGregor I. A. (1964). The passive transfer of human Malarial immunity. Am. J. Trop. Med. Hyg. 13 Suppl.: 237-239.
- Miller L. H., Baruch D. I., Marsh K. and Doumbo O. K. (2002). The pathogenic basis of Malaria. Nature. **415 (6872)**: 673 – 679.
- Miller L.H. (1994). Impact of Malaria on genetic polymorphism and genetic diseases in Africans and African Americans. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **91**: 2415-2419.
- Nascutiu A. M. (2002) “Hide-and-seek” as modus vivendi of Malaria parasites. Roum. Arch. Microbiol. Immunol. **61 (4)**: 301-14.
- Ndungu F. M., Bull P. C., Ross A., Lowe B.S. and Kabiru E. (2002). Naturally acquired immunoglobulin (Ig)G subclass antibodies to crude asexual *Plasmodium falciparum* lysates: evidence for association with protection for IgG1 and disease for IgG2. Parasite Immunology. **24**: 77-82.
- Ndungu F. M., Bull P. C., Ross A., Lowe B. S. and Kabiru E. (2002). Naturally acquired immunoglobulin (Ig)G subclass antibodies to cru-

- de asexual *Plasmodium falciparum* lysates: evidence for association with protection for IgG1 and disease for IgG2. *Parasite Immunology*. **24**: 77-82.
- Patarroyo M. E. (1989). El desarrollo de una vacuna antimalárica. *Tribuna Médica*. **80 (2)**: 52-61.
- Plebanski M. and Hill A. V. S. (2000). The Immunology of Malaria. *Curr. Opin. Immunol.* **12**: 437-441.
- Richie T. and Saul A. (2002). Progress and challenges for Malaria vaccines. *Nature*. **415**: 694- 701.
- Riggione F., Pulido M. And Noya A. (1996). *Plasmodium falciparum*: surface modifications of infected erythrocytes from clinical isolates. Evidence of antigenic diversity using human Malarial sera. *Parasitology Research*. **82**: 490 – 496.
- Riggione F., Pulido M. And Noya A. (1996). *Plasmodium falciparum*: surface modifications of infected erythrocytes from clinical isolates. Evidence of antigenic diversity using human Malarial sera. *Parasitology Research*. **82**: 490 – 496.
- Saul A. (1987). Kinetic constraints upon the development of a Malaria vaccine. *Parasite Immunol.* **9**: 1-9.
- Stevenson M. M. and Riley E. M. (2004). Innate Immunity to Malaria. *Nature Rev. Immunol.* **4**: 169 - 180.
- Stevenson M. M. and Riley E. M. (2004). Innate immunity to Malaria. *Nat. Rev. Immunol.* **4**: 164-180.
- Theander T. G. (1992). Defense mechanisms and immune evasion in the interplay between the immune system and *Plasmodium falciparum*. *Dan. Med. Bull.* **39**: 49 – 63.
- Tongren J. E., Zabala F., Roos D. S. and Riley E. M. (2004). Malaria vaccines: if at first you don't succeed. *Trends Parasitol.* **20 (12)**: 604-610.
- Troyer-Blomberg M., Perlmann L., Mincheva Nilsson L. and Perlmann

- H. (1999). Immune regulation of protection and pathogenesis in *Plasmodium falciparum* Malaria. *Parasitología*. **41**: 131-138.
- Troyer-Blomberg M., Perlmann L., Mincheva Nilsson L. and Perlmann H. (1999). Immune regulation of protection and pathogenesis in *Plasmodium falciparum* Malaria. *Parasitología*. **41**: 131-138.
- Yildiz Z. F., Kurcer M. A., Zeyrek D. and Simsek Z. (2006). Parasite density and serum cytokine levels in *Plasmodium vivax* Malaria in Turkey. *Parasite Immunol.* **28**: 201–207.
- Warren K.S. (1993). Immunology and molecular Biology and Parasitic Infections. 3rd Edition. Blackwell Scietific Publications. Boston. Chapter 2 – Section 14. Pp.302-351.
- Waters A.P., Mota M. M., Van Dijk M.R. And Janse C. J. (2005). Malaria vaccines: Back to the Future ? *Science*. **307 (5709)**: 528 – 530.

13. NOTAS SOBRE LA RESPUESTA INMUNITARIA AL PALUDISMO POR *Plasmodium falciparum*

Hilda A. Pérez C.

Introducción

Conforme al último reporte sobre la situación mundial del paludismo publicado por la OMS a finales del 2009, cerca de 250 millones de casos clínicos y de un millón de defunciones fueron el legado de la enfermedad el pasado 2008. Endémico en 108 países, sus víctimas principales son niños menores de cinco años. África el continente más agobiado con más del 80% de la casuística global de morbilidad y mortalidad. *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. Malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi* son los agentes causales. Los dos primeros más importantes, primordialmente *P. falciparum* porque motiva la generalidad de las defunciones, enfermedad complicada e infecciones fármaco-resistentes.

Desarrollo y consumación de estrategias preventivas, nuevos tratamientos y avances fundamentales en la investigación básica, son logros de la última década. El concepto de erradicación ha resucitado, varios países se aprestan a la eliminación y otros avanzan hacia la meta “libres de paludismo” mientras algunas regiones africanas, muestran un descenso importante de la morbilidad y mortalidad. Sin embargo, las medidas disponibles no se adecuan a todas las situaciones de transmisión y de atención sanitaria. Aparte del suceso probable de resistencia a las drogas e insecticidas desplegados actualmente. Contexto en el cual continua vigente la procura de vacunas antipalúdicas, alentada por el éxito de la formulación RTS,S.

La inmunidad adquirida naturalmente y el paludismo

Las manifestaciones clínicas del paludismo obedecen a la propagación sanguínea de los parásitos. Luego, la inmunidad protectora es juzgada según proteja contra la merogonia eritrocítica y sus consecuencias perniciosas. La inmunidad antipalúdica adquirida de manera natural (IAPAN) contra *P. falciparum*, resulta de la exposición habitual a la transmisión. Esta inmunidad actúa sobre los estadios eritrocíticos (EE). Protege contra la sintomatología (*inmunidad clínica o contra la enfermedad*), las parasitemias elevadas (*inmunidad antiparasitaria*) y la muerte. No alcanza la condición de inmunidad esterilizante, es menos eficaz frente a las parasitemias de baja densidad y no engendra una

memoria perdurable. Tiende a declinar con el cese de la exposición a la transmisión. El propósito de este artículo es revisar brevemente, algunos aspectos básicos de la inmunidad adquirida contra el paludismo por *P. falciparum*. En la literatura especializada sobre la materia, el interesado encontrará el tema con mayor extensión y profundidad.

La edad, los niveles de transmisión y el desarrollo de la IAPAN

La visión clásica de la inmunidad antipalúdica tiene base académica en el patrón observado en regiones de Malaria hiper y holoendémica, principalmente en África. El paradigma describe los casos severos encumbrados en la niñez temprana y disminuidos paulatinamente hacia la pubertad. Coincidente con el descenso de la prevalencia de los casos sintomáticos (*Inmunidad clínica*), más no de la infección. Cuyo descenso (*Inmunidad antiparasitaria*), instalado en la juventud, conlleva gradualmente la condición de adulto asintomático, portador de infecciones de muy baja densidad. Sin embargo, las nociones derivadas de este contexto no distinguen las contribuciones separadas de la edad y de la exposición acumulada (figura 13.1).

Los cuestionamientos a este modelo clásico plantean que la IAPAN ocurre también bajo circunstancias incompatibles con la exposición acumulada. Sucintamente: a) la Inmunidad antipalúdica devenida a los pacientes tras la malario-terapia de la paresia, aunque con pocas infecciones inducidas en el lapso de un año, b) la inmunidad observada en las poblaciones sin experiencia palúdica y emigradas a zonas de transmisión. Las cuales a corto plazo igualaron el patrón autóctono de IAPAN (alta prevalencia en niños susceptibles y adultos asintomáticos), c) la IAPAN advertida en poblaciones suramericanas y de algunas regiones africanas, siguiente a pocos años de exposición a transmisión baja o moderada (Malaria hipo y meso endémica). Las ideas siguientes forman parte de la información implícita que se infiere de lo anterior: la inmunidad dependiente de la edad puede ocurrir siguiente a la exposición aguda y crónica a la infección; frente a la exposición crónica, los adultos desarrollan inmunidad antiparasitaria e inmunidad clínica con mayor rapidez que los niños; el estímulo antigénico proporcionado por la transmisión baja y moderada, satisface también el desarrollo de IAPAN en su entorno regional. Posiblemente la inmunidad clínica surge a edades tempranas y depende de la exposición, mientras la inmunidad antiparasitaria obedece mas a cambios en la madurez funcional del sistema inmune y otros procesos biológicos propios de la edad.

Uno de los dilemas de la IAPAN es si genera una memoria inmunitaria longeva o al contrario transitoria o defectuosa y sujeta a la persistencia del estímulo antigénico. Varios datos favorecen esto último. Un ejemplo ilustrativo proviene de los africanos emigrados a Europa que tiempo después han retornado a zonas de transmisión. Aunque menos susceptibles que los europeos, muchos han respondido sintomáticos y hasta con enfermedad severa. Pocas han sido las investigaciones sobre las células B memoria reconocedoras de los antígenos de *P. falciparum* (CBMPf). Un estudio reportó la persistencia de CBMPf en adultos alejados de la transmisión por 8 años y otro refirió frecuencia muy baja de CBMPf en los niños expuestos a *falciparum*. Datos más recientes apuntaron el hallazgo de CBMPf hipo-responsivas (FCRL4⁺) en niños, pero particularmente en los adultos expuestos a la transmisión. La expansión de las CBMPf atípicas, al parecer responde y favorece a las infecciones crónicas de baja densidad, en individuos con inmunidad clínica. Aunque el tema es reciente, posiblemente interesa a la vacunación antipalúdica de las poblaciones residentes en regiones endémicas.

La IAPAN y los mecanismos inmunitarios protectivos

Respuestas inmunitarias del tipo celular y humoral intervienen en la IAPAN. Pero la importancia otorgada a los anticuerpos del tipo IgG, tiene fundamento en datos obtenidos hace unos 50 años en África y ratificados posteriormente. Entonces los anticuerpos IgG de adultos inmunes, transferidos a sujetos infectados y sin inmunidad, tuvieron efectos terapéuticos.

Los anticuerpos protectivos contra los EE del parásito, se relacionan con las subclases IgG1 e IgG3, posiblemente acarrear: a) remoción esplénica de los eritrocitos parasitados mediante opsonización y fagocitosis; b) interrupción del ciclo eritrocítico por la acción de mecanismos celulares dependientes de anticuerpos; c) lisis por complemento. Antígenos diferentes de los merozoitos alternan distintas concentraciones relativas de anticuerpos IgG1 e IgG3. Se alega que la polarización de la respuesta de sub-clases de IgG contra los EE de *P. falciparum* es moldeada independientemente por la edad, las características del antígeno y el período de exposición al antígeno. No obstante, varios estudios anteponen la naturaleza del antígeno porque: a) la respuesta de IgG3 es favorecida por antígenos con secuencias de aa que concurren repetidas y polimórficas b) la de IgG1 por antígenos sin repeticiones

polimórficas, c) las respuestas mixtas IgG1/IgG3 por los polimórficos sin secuencia repetidas.

A la postre, el desarrollo de IAPAN sucede en compañía de una constelación de anticuerpos de suyo IgG1 e IgG3, de concentración creciente con la edad y afinidad por varios antígenos de los EE, a veces con reacción cruzada entre ellos.

La IAPAN y los antígenos del desarrollo eritrocítico

Identificar a los antígenos y anticuerpos correlativos de IAPAN ha sido tarea difícil porque menudean los datos relativos a la funcionalidad de los antígenos y porque no existen testimonios adecuados de inmunidad protectora contra la enfermedad. En reemplazo surgieron los ensayos de la actividad inhibidora de los anticuerpos sobre el crecimiento del parásito *in vitro* (AIC). También la inhibición por monocitos dependiente de anticuerpos (ADCI). En las poblaciones expuestas la pesquisa acude al cotejo de la respuesta de anticuerpos a uno varios antígenos, con la inmunidad clínica o antiparasitaria.

Los antígenos más estudiados pertenecen al merozoito, especialmente aquellos situados en la superficie celular y en los organelos apicales. De momento el portafolio de antígenos de los EE vinculados a la IAPAN, no representa siquiera el 1% de los blancos potenciales representados en el genoma de *P. falciparum*.

Antígenos de la superficie del merozoito

La proteína 1 de la superficie del merozoito (MSP1). Abundante y anclada a la membrana del merozoito por glicosil-fosfatidil-inositol (GPI), la MSP1 tiene dos variantes alélicas principales MAD20 y K1. Procesada por proteólisis justo antes de invadir al eritrocito, la ruptura final de su extremo C- terminal genera dos fragmentos de 42 kDa (MSP1₄₂) y 19 kDa (MSP1₁₉), respectivamente. Estos, importan a la invasión y generan anticuerpos IgG1 en la infección natural. Los anticuerpos IgG1 a MSP1₁₉ son funcionales como AIC y asociados irregularmente a la inmunidad clínica. En el extremo N-terminal de la MSP1, el bloque 2, muy polimórfico, y aparentemente bajo presión selectiva de la respuesta inmunitaria, es también blanco de anticuerpos específicos, del tipo IgG3, mediadores quizás de inmunidad clínica (figura 13.2).

Probados en la vacunación experimental de primates, MSP1₄₂ y MSP1₁₉, mostraron potencial protectoro contra *P. falciparum*. Acicate de pruebas posteriores de vacunación en humanos. Estas, al margen de la inmunogenicidad y relación con AIC, no han probado eficacia protectora convincente. Por ejemplo, la formulación de MSP1₄₂ producida por GlaxoSmithKline y la quimera entre MSP1₁₉ y el dominio 3 de AMA1 (PfCP2.9) fabricada por la francesa Seppic, ninguna protectora.

La proteína 2 de la superficie del merozoito (MSP2). La MSP2 anclada también por GPI, abundante en la superficie del merozoito y de función desconocida, incluye dos alelos FC27 y 3D7. Flanqueada por regiones conservadas, la molécula contiene una región central muy variable e integrada por varias repeticiones. Los residentes de zonas endémicas desarrollan anticuerpos IgG3 anti-MSP2, posiblemente protectores contra la enfermedad sintomática. Las pruebas de vacunas humanas con MSP2 refieren la Combinación B, un formulado que incluyó recombinantes de MSP1 y MSP2 y cuya acción protectora fue juzgada como reguladora de la parasitemia (figura 13.2).

La proteína 3 de la superficie del merozoito (MSP3). La MSP3 sin ancla de GPI ni dominio trans-membrana típico viene unida a la superficie del merozoito en interacción no covalente. De función desconocida, posiblemente interactúa con MSP9. Tiene dimorfismo alélico (K1 y 3D7), el extremo C-terminal conservado y el N-, polimórfico. Esta proteína descrita originalmente como MSP3, hace parte de la familia del mismo nombre de varios miembros, que muestran conservado el dominio C-terminal y poseen epitopos de reactividad cruzada. Expresadas todas simultáneamente en la superficie del merozoito. Los anticuerpos a MSP3 provocados por la infección natural, máxime de las subclases IgG1 e IgG3, han sido vinculados a inmunidad protectora y a efectos *in vitro* del tipo ADCI. Un péptido sintético de 95 aa basado en el fragmento C-terminal conservado, cuando usado como vacuna, en fase I, estimuló anticuerpos anti-MSP3, la mayoría IgG3, funcionales en las pruebas de ADCI. Otras pruebas de vacunación aplicadas a niños residentes en dos regiones endémicas (transmisión baja y Malaria estable), provocaron anticuerpos IgG1 e IgG3 contra MSP3, de tenor comparable a los adquiridos por los adultos. La vacunación con este formulado de la MSP3 encaminada a fase II (figura 13.2).

Otros antígenos del Merozoito

El antígeno de *P. falciparum*, rico en glutamato (GLURP). Presente en los estadios pre-eritrocíticos, eritrocíticos y superficie de los merozoitos, GLURP comprende dos regiones hidrofóbicas, una N-terminal de 23 residuos sin repeticiones (R0) y otra C-terminal de 33 residuos hidrofóbicos. El resto es hidrofílico y aloja dos módulos de repetición, R1 y R2, muy conservados entre los aislados de diferentes zonas geográficas. Varios estudios epidemiológicos en regiones con alta transmisión, precisan el hallazgo de concentraciones elevadas de anticuerpos contra GLURP, especialmente en los adultos, junto a parasitemias bajas e inmunidad clínica. Con predominio entre los protegidos de IgG1 anti-GLURP/R0 e IgG3/ R1/R2. Empleado como vacuna (fase I), el formulado GMZ2 una quimera de GLURP y MSP3, fue bien tolerado y produjo anticuerpos específicos, subsistidos por un año (figura 13.2).

El antígeno 1 de la membrana apical (AMA1) del merozoito. Encontrado en los EE de todas las especies de *Plasmodium*, AMA1 participa en la invasión del eritrocito, posiblemente, orientando el contacto apical del merozoito. Consta de un ectodominio en el cual grupos no solapados de enlaces di-sulfurados, definen cuatro dominios independientes (pro-dominio y los dominios I, II y III) . La infección natural por *P. falciparum* estimula AIC con afinidad por Pf-AMA1 que surten, posiblemente, inmunidad clínica. Pf-AMA1 es muy polimórfica y estimula anticuerpos específicos de alelos sin reacción cruzada. Protectora en primates, son varias las pruebas de vacunación humana con Pf-AMA1 (fases I y II). Las formulaciones con varios adyuvantes sustentan cualidades inmunogénicas y la generación de AIC del parásito, aunque con decadencia de los niveles de anticuerpos y condicionamiento de los AIC *in vitro*, según la variante. Formulaciones más complejas de AMA1 con la CSP, incluidas en un vector de adenovirus o en virosomas de la Influenza resultaron exitosas en la estimulación de anticuerpos mas de efectos protectivos dudosos (figura 13.2).

Antígenos que participan en la interacción con el eritrocito. Entre los plasmodios humanos, *P. falciparum* gestiona las vías más versátiles de invasión a los eritrocitos, valido de varias proteínas similares o cuasi ligandos a Duffy (DBL) y a los reticulocitos (PfRBL o PfRh). A la familia DBL y provenientes de los micronemas, pertenecen tres antígenos de unión al eritrocito (EBA). Son EBA-175, EBA-140 y EBA-181, de

la superfamilia ebl de al menos cinco miembros. Alcanzan el eritrocito con dominios estructurados, promotores de uniones dependientes o independientes de ácido siálico. EBA-175 se une a la glicoforina A por la senda del ácido siálico. EBA-140 liga con la glicoforina C y adecua otra vía de invasión.

De la familia Pfrh tercian en la invasión seis miembros (Pfrh1, Pfrh2a, Pfrh3, Pfrh4 y Pfrh5), localizados en el cuello de las roptrias. La expresión diferencial de las proteínas Pfrh y de la activación de ligandos específicos, habilita el uso de receptores alternos y provee al parásito la competencia de evadir la respuesta inmunitaria y superar la naturaleza polimórfica de los eritrocitos humanos. Pfrh1 y Pfrh 4 junto a EBA-175 operan la unión apretada (tight junction), una estructura transitoria que acopla el eritrocito con el motor actina-miosina del merozoito. Los anticuerpos a EBA-175 adquiridos naturalmente, se han juzgado con cualidades de AIC y favorables a la inmunidad clínica. La vacunación de primates con EBA-175 surte protección. Sumando candidatos a vacunas interruptoras de la aproximación del merozoito al eritrocito.

El escape del merozoito del eritrocito infectado y el antígeno con repeticiones de serina (SERAs). Finalizada la esquizogonia, el naciente merozoito cuenta con un lapso breve y perentorio para egresar de una célula moribunda e ingresar a otra, en tanto atraviesa el medio extracelular inhóspito. En los desvelos por comprender la relación entre la IAPAN y la invasión del eritrocito, poco interés ha habido sobre el egreso del parásito del esquizonte y si es advertido por el sistema inmunitario. El parásito escapa activamente del eritrocito infectado (EI), poniendo en marcha una cascada de activación y de actividad proteolítica, cronometrada con la maduración de la maquinaria invasora del merozoito. Aunque la cuestión recién se vislumbra, se presume que los antígenos SERAs, conforman un grupo de proteasas que allanan el escape del parásito. Miembros de una familia de nueve proteínas provistas de un dominio catalítico putativo cuasi-papaína, las proteínas SERA son sintetizadas durante la maduración del trofozoito y transportadas al lumen de la vacuola parasitófora al final de la esquizogonia. Al menos dos de ellas SERA5 y -6, se consideran importantes, especialmente SERA5 cuyo procesamiento y activación catalítica coincide con el egreso del parásito. Parte del complejo de fragmentos derivados del procesamiento de SERA5 se asocia a la superficie del merozoito. Los anticuerpos a SERA5 obstaculizan la ruptura de los esquizontes,

despliegan funciones como ADCI y concuerdan con la inmunidad clínica. SERA5 ha sido objeto de pruebas de vacunación en fases I y II.

La IAPAN, la respuesta de anticuerpos contra antígenos de los merozoitos y los antígenos vacunales

El análisis de la respuesta inmunitaria contra los EE de *P. falciparum* en distintas zonas endémicas, demuestra que la exposición a la transmisión conlleva progresivamente inmunidad clínica y antiparasitaria y un repertorio de anticuerpos IgG contra los EE. Especificidades por antígenos como AMA1, MSP1, MSP2, MS-P3 y GLURP son segregadas independientemente en tenor y subclase con la tendencia de los anti-AMA1 a la polarización a IgG1, en niños y adultos y los anti- MSP2 hacia IgG3. Los anticuerpos a GLURP son mayoritariamente IgG1 e IgG3, la mayor afinidad de los IgG1 por la GLURP/RO y los IgG3 por GLURP/RI/RII. MSP3 con epítomos B para anticuerpos IgG1 e IgG3 y sesgo en algunas zonas endémicas a IgG3. Al parecer, favorecen y contribuyen independientemente a la inmunidad clínica los anticuerpos IgG1 anti-AMA1 y anti-GLURP-RO e IgG3 anti- MSP2 (alelo 3D7) y anti- MSP3. Los anticuerpos IgG3 contra GLURP (RO) y MSP2, aunque de vida más corta que los IgG1, son más eficientes en la eliminación de la parasitemia. Los patrones relativos de subclases y especificidad los anticuerpos, posiblemente responden al tipo de transmisión. Con todo, aun bajo condiciones comparables de exposición, los asintomáticos y portadores de parasitemias bajas, serían aquellos cuyo sistema inmunitario encamina la subclase adecuada a un mayor número de antígenos. El ejercicio protector no es exclusivo de los anticuerpos, cada vez hay más indicios de la intervención de las células T más allá de su rol de ayudadoras de las células B. Pues posiblemente activan respuestas Th1, que potencian los mecanismos efectores mediados por anticuerpos.

El liderazgo de las vacunas putativas contra los EE de *P. falciparum* reposa en varias proteínas de los merozoitos, que hacen parte de su membrana de superficie o de los organelos del aparato apical. La relación definitiva de todas estas proteínas con el beneficio protector es para todas o casi todas, incierta. Las investigaciones inmuno-epidemiológicas han girado en torno a la valoración y relación de los perfiles de anticuerpos con la inmunidad clínica o a la densidad de la carga parasitaria, junto a la conmutación de respuestas específicas con la edad y el grado de exposición a la transmisión. Un problema

fundamental ha sido la falta de testafierros de protección que guíen la selección de los antígenos y el desconocimiento, para una mayoría, de la funcionalidad correspondiente. La estimulación de AIC, apreciada por algún tiempo como presunto testimonio de protección, es considerada actualmente un indicador controversial.

Los antígenos variables de la superficie del eritrocito infectado y la inmunidad

Biomasa parasitaria elevada y secuestro de los eritrocitos infectados (EI) en el lecho vascular conforman el dúo avieso de la Malaria severa. El secuestro ocurre porque los EI expresan sobre su superficie celular adhesinas parasitarias, afines por varios receptores de las células humanas. Los tres tipos de adhesión más importantes son: a) al lecho vascular o citoaderencia, b) a eritrocitos no infectados para formar rosetas y c) a las plaquetas. A este trío se suma un tipo particular, especializado y muy pernicioso, la adhesión a los sincitiotrofoblastos, causante del secuestro de los parásitos en la placenta y en consecuencia de la temida Malaria placentaria.

Una de las adhesinas principales es la proteína 1 de la membrana de superficie del eritrocito PfEMP1, una familia de antígenos superficiales variables (VSA). Las proteínas PfEMP1 son codificadas por los genes var. Contienen regiones extracelulares provistas de dominios en tandas ricos en cisteína, cuasi ligandos de Duffy (DBL), regiones inter-dominio ricas en cisteína (CIDR) y dominios C2. Los genes var incluyen tres grupos: A, B y C, basados en relaciones funcionales y clínicas. El genoma del parásito alberga un repertorio de unas 60 variantes, expresadas singularmente en cada EI y la posibilidad de conmutar a una nueva variante con cada ciclo de multiplicación asexual.

Las variantes de PfEMP1, (codificadas por los grupos B y C) son afines al receptor CD36 expresado en las células endoteliales, epiteliales, macrófagos, monocitos, precursores de eritrocitos, plaquetas y adipositos. La adhesión a CD36 es común para los aislados del parásito de distintas zonas geográficas. El grupo B de los genes var, codifica también variantes de PfEMP1 afines a ICAM1, miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, expresado en las células endoteliales y en los leucocitos. CD36 e ICAM1 favorecen y refuerzan la adhesión estática del EI.

Algunas variantes codificadas por el tipo A de los genes var, portan dominios afines por varios receptores de los eritrocitos (Receptor 1 del complemento, símiles del heparán sulfato y los grupos sanguíneos A y B), dando lugar a rosetas continentales de eritrocitos sanos e infectados. Correlativas de Malaria severa, estas variantes son aun más peligrosas cuando fomentan la adhesión de las rosetas al endotelio, vía heparán sulfato. Por su afinidad por azúcares de los grupos sanguíneos A y B, forman grandes rosetas con eritrocitos no infectados A, B y AB, considerados un factor de riesgo para el síndrome de Malaria severa.

Los anticuerpos IgG anti-VSA revierten o bloquean la cito-adherencia *in vitro* en relaciones específicas de aislado. Son correlativos de inmunidad clínica y de una inmunidad específica de variante que protege contra la Malaria severa. De allí que los VSA son candidatos vacunales.

Una variante muy importante de PfEMP1 es VAR2CSA, singularmente estructurada es presuntamente responsable del secuestro de los parásitos en la placenta al facilitar por su adhesión a los receptores de condroitina sulfatada (CSA), en la superficie de los sincitiotrofoblastos. Intensamente investigada hoy en demanda de una vacuna protectora contra el paludismo placentario.

Consideraciones finales

Sucintamente revisamos algunas particularidades de la inmunidad adquirida contra el paludismo por *P. falciparum*. Juzgada ésta conforme a su relación con la merogonia eritrocítica. La influencia de la edad del individuo, los niveles de transmisión, el polimorfismo del parásito y los antígenos expresados en los estadios eritrocíticos son temas interrelacionados. Existen grandes deficiencias en la comprensión de los mecanismos inmunitarios que interceptan el desarrollo eritrocítico del parásito. Se reconoce la importancia de la respuesta humoral, pero hay cada vez más evidencia de la función reguladora de la respuesta celular. Posiblemente, hemos asistido al final de un enfoque en la caracterización de los antígenos relevantes a la inmunidad antipalúdica. Pronto a ser substituido por otro fundamentado en conocimientos más profundos derivados de los avances de la genómica y proteómica.

El retorno de la estrategia de erradicación, impone reflexiones sobre las vacunaciones antipalúdicas, sobretodo si la meta es aminorar la morbilidad. No obstante, la contención inmunitaria del desarrollo eritrocíti-

co del parásito, posiblemente se mantendrá en la agenda como opción de prevención, ante el suceso posible de resistencia a los fármacos e insecticidas desplegados actualmente.

Figura 13.1

Tendencia del patrón de Malaria severa (...), episodios clínicos (- -) y parasitemia (—) según edad, en regiones africanas con alta transmisión de *Plasmodium falciparum*

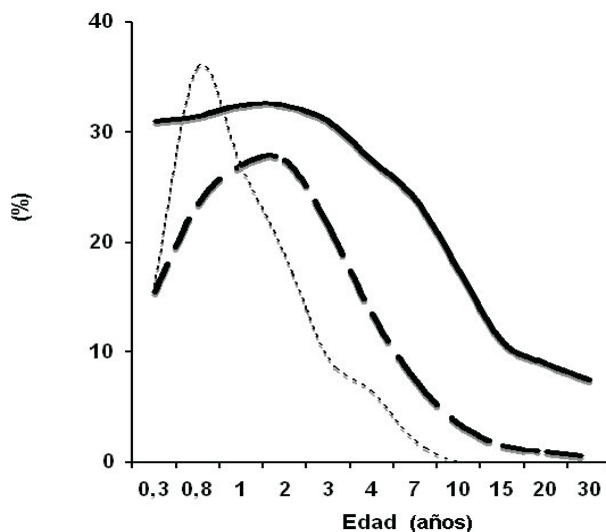
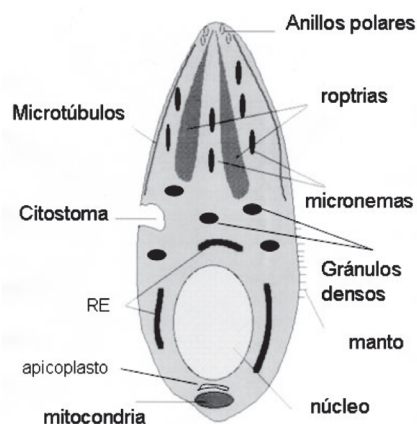


Figura 13.2

El merozoito de *Plasmodium falciparum* y sus antígenos principales



Antígenos de la superficie del merozoito

MSP (1,2,4,5,10), ancladas por GPI

MSP3, 6, 7, 9
GLURP
SERA

Antígenos de los micronemas

AMA1, EBA175, 140, 181

Antígenos de las roptrias

RAP1,2,3

El merozoito de *Plasmodium falciparum* y sus antígenos principales. En el aparato apical se encuentran organelos (roptrias, micronemas) que intervienen en la invasión del eritrocito. El merozoito posee además los gránulos densos y un apicoplasto. Varias de las proteínas de la superficie del merozoito y de estos organelos tienen potencial vacunal. Las proteínas de la superficie del merozoito pueden estar ancladas por GPI o asociadas a otras proteínas con este anclaje.

REFERENCIAS

- Collins W. & Jeffery G. A. (1999). Retrospective examination of sporozoite- and trophozoite-induced infections with *Plasmodium falciparum*: development of parasitologic and clinical immunity during primary infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61, 4-19.
- Crompton P. D., Miura K., Traore B., Kayentao K., Ongoiba A., Weiss G., Doumbo S., et al., (2009) *In vitro* Growth Inhibitory Activity and Malaria Risk in a Cohort Study in Mali. *Infection and Immunity*, Nov 16. [Epub ahead of print]. doi:10.1128/IAI.00960-09.
- Doolan DL, Mu X., Unal B., Sundaresh S., Hirst S., Valdez C., Randall A, et al. (2008) Profiling humoral immune responses to *P. falciparum* infection with protein microarrays *Proteomics*, 8, 4680-4694.
- Greenwood B. & Targett G. Review Article (2009) Do we still need a Malaria vaccine? *Parasite Immunology*, 31, 582–586.
- James G. Beeson J. G., Osier F. H. & Engwerda C. R. (2008). Recent insights into humoral and cellular immune responses against Malaria. Review. *Trends in Parasitology*, 24, 578-584.
- Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, de Carvalho ME, Curado I. & Coura JR. (2009). Age-Dependent Acquisition of Protective Immunity to Malaria in Riverine Populations of the Amazon Basin of Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80, 452–459.
- McCallum1 F. J., Persson K. E., Mugenyi C. K., Fowkes F. J., Simpson J. A., Richards J. S., Williams T. N., et al. (2008) Acquisition of Growth-Inhibitory Antibodies against Blood-Stage *Plasmodium falciparum*. *Plos One*, 3, e3571.
- Moormann A. M. (2009). How might infant and paediatric immune responses influence Malaria vaccine efficacy? Review Article. *Parasite Immunology*, 31, 547–559.

- Nnaemeka C., Iriemenam N. C., Khirelsied A. H., Nasr A., ElGhazali G, Giha HA, Elhassan TM., et al. (2009). Antibody responses to a panel of *Plasmodium falciparum* Malaria blood-stage antigens in relation to clinical disease outcome in Sudan. *Vaccine*, 27, 62-71.
- Okiro E. A., Taiar A., Reyburn H., Idro R., Berkley J. A. & Snow R. W. (2009) Age patterns of severe paediatric Malaria and their relationship to *Plasmodium falciparum* transmission intensity. *Malaria Journal*, 8, 4.
- Richards J. S. & Beeson J. G. (2009) The future for blood-stage vaccines against Malaria. Review. *Immunology and Cell Biology*, 87, 377-390.
- Stanisic D. I., Richards J. S., McCallum F. J., Michon P, King C. L., Schoepflin S., Gilson P. R., et al. (2009). Immunoglobulin G subclass-specific responses against *Plasmodium falciparum* merozoite antigens are associated with control of parasitemia and protection from symptomatic illness. *Infection and Immunity*, 77, 1165-1174.
- Susan K. Pierce SK. & Miller LH. (2009). World Malaria Day 2009: What Malaria Knows about the Immune System That Immunologists Still Do Not. *Journal of Immunology*, 182, 5171-5177.
- Syafruddin D., Krisin, Asih P, Sekartuti, M. Dewi RM, Coutrier F, Rozy IE, Susanti Al., et al. (2009). Seasonal prevalence of Malaria in West Sumba district, Indonesia. *Malaria Journal* 8, 8.
- Torres KJ, Clark EH, Hernández JN, Soto-Cornejo CE, 1, Gamboa D. & LeeHBranch O. (2008). Antibody response dynamics to the *Plasmodium falciparum* conserved vaccine candidate antigen, merozoite surface protein-1 C-terminal 19kD (MSP1-19kD), in Peruvians exposed to hypoendemic Malaria transmisión. *Malaria Journal*, 7, 173.
- Verra F, Mangano VD. & Modiano D. (2009). Genetics of susceptibility to *Plasmodium falciparum*: from classical Malaria resistance genes towards genome-wide association studies. Review Article. *Parasite Immunology*, 31, 234-253.

14. DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LA MALARIA

Oscar Noya G. y John Ossenkopp

Introducción

La Malaria continúa siendo la principal enfermedad parasitaria a nivel mundial en base a su alta morbilidad y mortalidad. Se estiman unas 500 millones de personas infectadas de las cuales se hallan 300 millones enfermas y unos 2 millones fallecen anualmente. Sin duda es el continente africano el más afectado, en donde predomina el parasitismo por *Plasmodium falciparum*. En el resto de los continentes, *P. vivax* es la especie predominante, quien a pesar de su casi nula letalidad, causa una alta morbilidad en algunas regiones. Otras especies presentes en el Viejo Mundo son *P. ovale* y más recientemente *P. knowlesi*, una especie propia de monos *Rhesus* y que hoy en día representa el 70% de las infecciones maláricas en Tailandia, Filipinas y Singapur.

En América solo circulan tres especies que son en orden de frecuencia: *P. vivax*, *P. falciparum* y *P. Malariae*, cuyo patrón clínico en las etapas iniciales de la enfermedad puede ser semejante. La ausencia de infección por *P. vivax*, en los países del África occidental subsahariana, obedece a la selección de población que no expresan el grupo sanguíneo Duffy, receptor eritrocítico para el reconocimiento por los merozoítos de esa especie. Asimismo existe una alta frecuencia de personas portadoras de hemoglobinopatías (anemia de células falciformes por HbS, alfa-Talasemia, HbF, etc), enzimopatías (deficiencia de G6PDH, óxido nítrico sintetasa 2, etc) y alteraciones de la estructura de los eritrocitos (esferocitosis) que determinan grados variables de resistencia a las distintas especies de plasmodios. La mayor virulencia de *P. falciparum* sobre *P. vivax*, estriba en varios factores presentes en la primera especie: invade todo tipo de eritrocitos, mientras *P. vivax*, solo reticulocitos, que sumado a una mayor producción de merozoítos durante la esquizogonia eritrocítica (36 vs 24) y a su adhesión a endotelios, que evita su paso y destrucción a nivel esplénico, condicionan parasitemias más elevadas; adicionalmente *P. vivax* dispone de un receptor único en el eritrocito, mientras *P. falciparum* utiliza al menos 4 receptores (glicoforinas A, C y D y ácido siálico) garantizando una mayor capacidad de invasión; al fijarse a endotelios ("knobs") y adherir eritrocitos sanos a su alrededor (fenómeno de rosetas), bloquean la circulación sanguínea y en consecuencia, condicionan una mayor hipoxia tisular y

una mayor acidosis metabólica. Finalmente, *P. falciparum* exhibe una mayor plasticidad genética que le permite mutar y adquirir rápidamente resistencia a diferentes antimaláricos.

En términos de evolución de la enfermedad, la Malaria puede tener un curso agudo o crónico, muy dependiente de la especie que la causa. *Plasmodium falciparum* habitualmente tiene un curso agresivo y agudo en las poblaciones no inmunes, sin embargo en poblaciones africanas y algunas poblaciones americanas particulares (amerindios, mineros, etc.) en zonas hiper y holoendémicas, puede tener un curso crónico, como resultado de reinfecciones frecuentes que condicionan el desarrollo de una inmunidad protectora. Las manifestaciones clínicas de la Malaria dependen en gran medida del estado inmunológico previo del paciente. En áreas con intensa transmisión malárica de *Plasmodium falciparum*, se presentan casos de Malaria severa solo en los primeros años, siendo mucho menos frecuente al progresar los años; la parasitemia asintomática es común en adultos, conocida como premunición. Esta condición, se diagnostica cada vez con mayor frecuencia debido a la utilización de las herramientas moleculares, llegando a encontrarse prevalencias hasta de un 33% en áreas de Colombia. En nuestro país se ha determinado su presencia en el Edo. Sucre, donde su prevalencia fue del 8%. Hallazgos típicos en zonas de alta transmisión malárica, es anemia severa y esplenomegalia. En zonas de transmisión inestable no hiperendémica, la Malaria severa se presenta en niños mayores, encontrándose mayor proporción de Malaria cerebral como manifestación predominante. En zonas con patrones de transmisión esporádica, que ocurre igual que en viajeros a zonas endémicas no inmunes, las manifestaciones clínicas incluso severas se presentan a cualquier edad. En las infecciones por *P. vivax* o *P. Malariae*, no ocurren las manifestaciones de Malaria severa, pero la infección aguda en pacientes no inmunes puede ser seria y debilitante.

El período de incubación de Malaria por *P. vivax* y *P. falciparum* es de aproximadamente 2 semanas. Ocasionalmente puede haber períodos de incubación más cortos. También períodos prolongados, sobretodo en pacientes que recibieron quimioprofilaxis antimalárica parcialmente efectiva. El período prepatente se refiere al lapso entre la infección y la evidencia diagnóstica de hemoparásitos en sangre. En *P. vivax* es de 10 a 17 días, en *P. falciparum* es de 6 a 12 días y en *P. malariae* es de 28 a 30 días. En Malaria por *P. vivax* la inmunidad

produce una gran diferencia entre el período prepatente y el período de incubación (tarda más en presentar síntomas).

El patrón clínico no es uniforme en las diferentes especies de plasmodios, de allí que es indispensable establecer el diagnóstico diferencial con otras patologías infecciosas (dengue, mononucleosis, leishmaniasis visceral, fiebres hemorrágicas, Enfermedad de Chagas en su fase aguda, etc) y no infecciosas, dependiendo de la localización geográfica y grupos en riesgo (etnias, edad, ocupación, género, embarazo, etc.) Los síntomas clásicos son: episodios de fiebre intermitente precedida de escalofríos y seguida de sudoración profusa, cefalea, malestar general, astenia, anorexia, náuseas y vómitos y entre los signos clínicos destacan la palidez, hepatoesplenomegalia y la hipotensión (Tabla 3, Noya Oscar, datos no publicados). Clásicamente se ha descrito que la periodicidad de la fiebre es cada 48 horas en *P. falciparum* (Fiebre Terciana Maligna) y *P. vivax* (Fiebre Terciana Benigna) y cada 72 horas en *P. malariae* (fiebre cuartana), sin embargo, al inicio de la enfermedad no necesariamente se presenta este patrón, hasta tanto no ocurre la sincronización de los parásitos de la fase esquizogónica eritrocítica, que habitualmente es más tardía en *P. falciparum*. El patrón inicial en esta última especie, con frecuencia corresponde a episodios febriles de tipo séptico remitente.

A pesar que hasta ahora los portadores asintomáticos se asociaban a habitantes de áreas hiper y holoendémicas, hoy en día gracias a la implementación de técnicas de biología molecular como PCR, se ha logrado detectar altas prevalencias de este grupo de pacientes en distintos países de América Latina, que pudieran representar tres veces la frecuencia de los casos sintomáticos (Pabón, 2004).

Manifestaciones clínicas

La tríada clásica de Malaria consiste en Acceso malárico, Anemia y Hepatoesplenomegalia. El acceso malárico está constituido por tres fases. Fase fría caracterizada por escalofríos, cefalea, mialgias, náuseas y vómitos. Fase caliente con fiebre intensa. Fase húmeda que resulta de la sudoración extrema por la defervescencia de la fiebre. Estos síntomas coinciden con la ruptura de los glóbulos rojos parasitados, que dependiendo de la especie puede ser cada tercer día (Fiebre Terciana) o cada cuarto día (Fiebre Cuartana).

P. vivax tiende a sincronizar rápidamente y presentar síntomas más severos precozmente, que *P. Malariae*, mientras que *P. falciparum* es impredecible.

La aparición de la fiebre (conocida como densidad pirogénica) depende de la carga parasitaria y la inmunidad del paciente, pues se requiere una mayor cantidad de parásitos para estar febril en pacientes inmunes. La densidad pirogénica en *P. vivax* es mucho menor que la de *P. falciparum*.

Puede asociarse hipotensión ortostática, con cansancio importante del paciente. Estos paroxismos son más frecuentes en Infecciones por *P. vivax* que *P. falciparum* o *P. Malariae*. Otras manifestaciones clínicas que puede estar presentes y prestar a confusión diagnóstica son el dolor abdominal, constipación o diarrea, con sospecha de gastroenteritis, al igual que tos y taquipnea simulando infección respiratoria (Tabla 14.1).

Malaria por *P. falciparum*

Esta especie presenta el período de incubación más corto y lo habitual es que sea de 7 a 14 días. El curso clínico puede ser relativamente benigno, pero en no inmunes puede tener una evolución rápida y fatal. Los síntomas habituales se presentan en la Tabla 14.1, sin embargo, destacan fiebre alta, cefalea, astenia progresiva, mialgias, dolor lumbar, malestar general, náuseas y vómitos y entre los hallazgos clínicos, palidez cutáneo-mucosa, hipotensión, hepatoesplenomegalia e ictericia.

Esta especie es la que puede ocasionar las complicaciones más graves.

Las manifestaciones clínicas de Malaria severa son:

- Postración
- Alteración de la conciencia
- Respiración acidótica y Distress respiratorio
- Convulsiones múltiples
- Colapso circulatorio
- Edema pulmonar
- Sangrado anormal
- Ictericia

Además de hallazgos paraclínicos como anemia severa, hemoglobinuria, hipoglicemia, acidosis, insuficiencia renal, lactacidemia, hiperparasitemia

(Cálculo de parasitemia: N° de parásitos/ μ L = N° de parásitos $\times$ 6000 leucocitos/ μ L / 200 leucocitos) (Tabla 14.2).

En adultos, la complicación más frecuente y temida es la Malaria cerebral que puede iniciarse con desorientación que evoluciona hasta el coma con o sin convulsiones y que habitualmente no deja secuelas. Durante el mismo existe un incremento de la glicólisis anaeróbica, con un flujo sanguíneo cerebral lento, con aumento de los niveles de lactato, asociado a la presencia de parásitos metabólicamente activos, con adherencia al endotelio vascular que altera la barrera hematoencefálica. Otro factor asociado son las citoquinas que aumentan niveles de óxido nítrico producido, macrófagos, neutrófilos y células endoteliales, actuando como neurotransmisor aberrante. Estos factores en conjunto se consideran entre otros los causantes de coma en la Malaria cerebral. Coma en Malaria, no es causada por aumento de la presión endocraneana. En Venezuela (Caballero y col., 1995) en una serie de 234 casos (32,20%) complicados de un total de 656 casos de Malaria estudiados, 165 casos (70,51%) fueron por *P. falciparum*, 23,6% por *P. vivax* y 6,41% por infecciones mixtas. Las complicaciones más frecuentes fueron: anemia severa en 99 casos (41,44%), Malaria cerebral (15,04%), desequilibrio hidroelectrolítico (9,38%), Insuficiencia Renal Aguda (IRA) (1,1%) y una mortalidad de 2,5%.

En niños, debe en forma inmediata descartarse hipoglicemia, que puede ser la causa del coma, siendo imprescindible descartar otras causas como meningitis y tétanos. Esta complicación, frecuentemente se asocia a la administración de quinina sin el adecuado seguimiento y compensación de la glicemia. En un 10% de los niños quedan secuelas neurológicas (hipotonía, retardo mental, hemiparesias, etc). Los niños presentan una mayor susceptibilidad desde los 6 meses hasta los 5 años de edad, en quienes la mortalidad es más elevada debido a complicaciones tales como: Malaria cerebral, anemia severa y acidosis metabólica. Uno de los criterios de severidad clínica en niños, pues de cierta forma indica indirectamente la carga parasitaria, es la proporción de neutrófilos con pigmento malárico (hemozoina) en su interior (Tabla 14.3). En niños africanos no infectados, pacientes asintomáti-

cos, con Malaria moderada y Malaria cerebral, presentan valores de frecuencia ascendente de 2,0%, 6,5%, 9,0% y 27% de los neutrófilos conteniendo pigmento malárico.

El edema pulmonar es otra de las complicaciones que deben ser corregidas tempranamente y en ocasiones es consecuencia de una administración excesiva de hidratación parenteral, caracterizándose por disnea, taquipnea y crepitantes.

La hemoglobinuria generalmente se asocia a hemólisis intravascular masiva por hiperparasitemia o medicamentosa (Primaquina entre otras) en personas con deficiencia de G6PDH.

La mayor susceptibilidad en el primer embarazo se ha explicado por la ausencia de anticuerpos anti-adhesión en la primigrávida que se ha expuesto por primera vez a una sub-población de parásitos maláricos que se adhieren exclusivamente a condroitín sulfato A (CSA) y a ácido hialurónico (AH) en la placenta. En los embarazos sucesivos va produciendo anticuerpos que neutralizan la adhesión de los glóbulos rojos parasitados al endotelio de la vasculatura endometrial. La hipoglucemia, la anemia severa y el edema pulmonar son las complicaciones más frecuentes, que ocasionan mortalidad materna, abortos, prematuros y recién nacidos de bajo peso.

El desarrollo de la resistencia de esta especie a los antimaláricos, inicialmente descrita por vez primera en Venezuela por el Dr. Silvio Maberti, para Pirimetamina y Cloroquina (Maberti, 1960), hoy se ha expandido en todas las áreas de transmisión a numerosas drogas, siendo la multiresistencia el problema más acuciante de la actualidad.

Malaria por *P. vivax*

El período de incubación es habitualmente de 12 a 20 días, sin embargo en países de clima templado puede superar el año.

Las manifestaciones clínicas en niños y adultos son similares a la Malaria causada por *P. falciparum*, sin embargo con una muy baja letalidad a pesar de poder cursar con una sintomatología muy florida e intensa (Tabla 14.1)). La trombocitopenia se presenta en aproximadamente el 50% de los pacientes, teniendo solo como complicación la ruptura esplénica en caso de contusiones abdominales. El distress

respiratorio es una de las complicaciones severas observadas en esta especie, pero infrecuente. Las recaídas con una periodicidad variable según el área geográfica (8 a 40 semanas), son uno de los inconvenientes más notables y de creciente frecuencia en la actualidad, debido al aumento de la resistencia a la Primaquina, única droga disponible con eficacia sobre los hipnozoítos y esquizontes hepáticos. Ya existen los primeros reportes de resistencia de esta especie a la Cloroquina, que continúa siendo la droga de elección.

Malaria por *P. Malariae*

Esta especie parasitaria de habitual curso benigno tiene un período de incubación habitual de 18 a 40 días, sin embargo se han descrito casos de hasta 50 años. Sus episodios febriles son de menor intensidad y ocurren cada 72 horas. Las recrudescencias pueden ser muy tardías y obedecen a bajas parasitemias habitualmente indetectables, que pueden surgir durante periodos de inmunosupresión de los pacientes (cáncer, quimioterapia, etc.). Debido a la cronicidad de esta infección, se ha descrito el desarrollo de síndrome nefrótico en algunos pacientes debido a la prolongada deposición de complejos inmunes en el glomérulo renal, siendo esta complicación más frecuente en menores de 15 años.

En las infecciones mixtas, *P. falciparum*, por lo general suprime a *P. vivax*, no manifestándose hasta semanas después. La coincidente infección reduce el riesgo de Malaria severa, reduce el grado de anemia y reduce el grado de portador de gametocitos de *P. falciparum*.

Esplenomegalia Malárica hiper-reactiva

Esta infrecuente complicación de la Malaria, se ha observado en ciertas regiones del planeta, entre las cuales se encuentran poblaciones amerindias venezolanas. Se caracteriza por ocurrir en áreas de moderada y alta endemidad con reinfecciones frecuentes, observándose que los pacientes desarrollan crecimiento progresivo del bazo (figura 14.1) y el hígado, con manifestaciones de hiperesplenismo (anemia, leucopenia y trombocitopenia), que pueden llevar a un cuadro de astenia progresiva y a la muerte por ruptura esplénica. En estos casos la parasitemia por lo general no es detectada, aunque principalmente causada por *P. vivax*. Este síndrome parece ser consecuencia de ausencia de regulación inmunológica, que trae como consecuencia

una excesiva producción de IgM, altos títulos de IgG e IgM antimaláricos, infiltración linfocitaria en sinusoides hepáticos y crioglobulinemia. La prolongada quimioprofilaxis antimalárica es la conducta indicada que lleva a la curación de estos pacientes.

Siempre hay que tener presente los términos de recaída y recrudesencia. Recaída resulta de la reactivación de los hipnozoítos que se encuentran en el hígado (solo en los casos de infección por *P. vivax* y *P. ovale*). Mientras que recrudesencia resulta de la exacerbación de parasitemias indetectables (*P. falciparum* y *P. Malariae*).

P. vivax y *P. Malariae*, con frecuencia presentan una evolución crónica, muy en particular en esta última especie en la que se han descrito casos de recrudesencia luego de 50 años de su última exposición en áreas de transmisión.

Diagnóstico diferencial

- Meningoencefalitis
- Epilepsia
- Fiebres hemorrágicas
- Fiebre amarilla
- Hepatitis
- Colangitis
- Fiebre inducida por drogas
- Leptospirosis
- Septicemia
- Enfermedad de Chagas en fase aguda
- Dengue
- Infección urinaria

Quimioterapia y quimioprofilaxis

La rápida expansión de la resistencia de los parásitos maláricos, en particular de *P. falciparum*, ha condicionado cambios frecuentes en los esquemas de tratamiento, que varían dependiendo de la susceptibilidad a los distintos medicamentos dependiendo del área geográfica (Tabla 14.4). De hecho, la rapidez de la expansión de la resistencia y en particular de la multiresistencia, ha condicionado que hoy en día, se recomienda el tratar a *P. falciparum*, simultáneamente con dos esquizotónicas eritrocíticos, uno de rápida acción y eliminación (quinina,

artesunato, etc) y otro de lenta eliminación (mefloquina, doxiclina, tetraciclina). En el caso de esta especie en Venezuela, se sugiere que las personas que se encuentren en las áreas endémicas deben concluir el tratamiento con Primaquina durante 3 días, a fin de eliminar los gametocitos circulantes y evitar la infección de los anofelinos.

En el caso de *P. vivax*, sigue utilizándose el esquema Cloroquina y Primaquina, sin embargo se ha ido incrementando la dosis de Primaquina, especialmente en caso del tratamiento de las recaídas, desde 0,25 hasta 0,50 mg/kg de peso, durante 14 días. Hay países que utilizan esquemas más cortos de hasta 7 días.

El esquema de tratamiento de *P. Malariae*, no ha variado, pues se sigue utilizando Cloroquina a la dosis de 25 mg/kg de peso en 3 días divididos en 10, 10 y 5, seguido de 3 días de Primaquina a la dosis de 0,25 mg/kg - peso.

Los esquemas terapéuticos para las diferentes especies parasitarias se encuentran detallados en la Tabla 5 y la definición y clasificación de resistencia a los antimaláricos se muestra en la Tabla 6.

La prevención de Malaria se sustenta en evitar el contacto hombre-vector a través de residir en viviendas protegidas con tela mosquitero en ventanas y puertas, rociadas con insecticidas residuales, uso de mosquiteros impregnados con piretroides en camas y hamacas, ropas adecuadas rociadas con repelentes, la eliminación de criaderos de anofelinos en las inmediaciones de la vivienda y el uso de quimiopprofilaxis. Sin embargo la quimiopprofilaxis al no ser inocua, dificulta el diagnóstico en caso de infección malárica y poder facilitar la generación de resistencia a los antimaláricos, debe restringirse a ciertas condiciones:

- Personas no inmunes en particular los grupos más susceptibles (turistas, soldados, mujeres embarazadas, niños, etc) que visiten áreas de moderada y alta transmisión por más de 15 días y en particular cuando haya dificultades de diagnóstico y tratamiento oportuno o incertidumbre de poder salir del área de transmisión.
- Viajes a áreas de predominio de *P. falciparum* y en particular en aquellas donde exista multiresistencia a los antimaláricos.

La quimioprolifaxis para todas las especies en áreas Cloroquino-sensible, se recomienda 2 tabletas de 250 mg una vez por semana, empezando al menos 2 semanas antes de entrar al área endémica y 4 a 6 semanas luego de salir de dicha área. En áreas Cloroquino-resistente (*P. f.*) se recomienda 1 tableta de Mefloquina de 250 mg semanal, durante el período antes señalado.

Tabla 14.1
Manifestaciones clínicas de la Malaria en
el estado Bolívar, Venezuela

Plasmodium falciparum (n = 32)

SÍNTOMAS	N (%)
Fiebre	29 (90,6)
Sudoración	29 (90,6)
Escalofríos	27 (84,4)
Cefalea	27 (84,4)
Malestar general	26 (81,3)
Mareos	25 (78,10)
Astenia	24 (75,21)
Náusea	21 (65,6)
Mialgias	20 (62,5)
Vómitos	20 (62,5)
Lumbalgia	17 (53,1)
Dolores abdom.	15 (46,9)
Orina colúrica	13 (40,6)
Diarrea	11 (34,4)
Artralgias	6 (18,8)
Anorexia	2 (6,3)
Confusión mental	2 (6,3)
Obnubilación	1 (3,1)

Plasmodium vivax (n = 33)

SÍNTOMAS	N (%)
Fiebre	32 (97)
Escalofríos	31 (93,9)
Sudoración	31 (93,9)
Astenia	24 (72,7)
Cefalea	24 (72,7)
Malestar general	22 (66,7)
Dolor abdominal	20 (60,6)
Mialgias	17 (51,5)
Mareos	16 (48,5)
Náusea	12 (36,4)
Vómitos	9 (27,3)
Orina colúrica	9 (27,3)
Artralgias	6 (18,2)
Diarrea	4 (12,1)
Tos	1 (3)

SIGNOS CLÍNICOS

Palidez	28 (87,5)
Hipotensión	20 (62,5)
Hepatomegalia	18 (56,3)
Fiebre	13 (40,6)
Dolor pal. Abd.	11 (34,4)
Dolor perc. Lum.	7 (21,9)
Deshidratación	5 (15,6)

SIGNOS CLÍNICOS

Palidez	30 (90,9)
Hepatomegalia	18 (34,5)
Esplenomegalia	12 (36,4)
Dolor palp. Abd.	9 (27,3)
Fiebre	5 (15,2)
Deshidratación	4 (12,1)
Roncus	1 (3)

Tabla 14.2

MALARIA SEVERA

1. Hiperparasitemia: >5% (250.000 parásitos/ μ L).
2. Malaria cerebral: deterioro de la conciencia (confusión, delirio, estupor o coma), convulsiones, alteraciones neurológicas focales o sistémicas, trastornos de conducta.
3. Anemia grave: hematocrito menor de 20%. Hb menor de 7 gr/dL
4. Ictericia.
5. Insuficiencia renal: > de 400 mL/día de orina creatina sérica > 3,0mg/dL.
6. Hipertermia: temperatura rectal > 39 °C.
7. Colapso circulatorio: shock, hipotensión.
8. Otros: alteraciones hidroelectrolíticas, vómitos.

Tabla 14.3
Diferencia del paludismo agudo severo por
P. falciparum entre niños y adultos

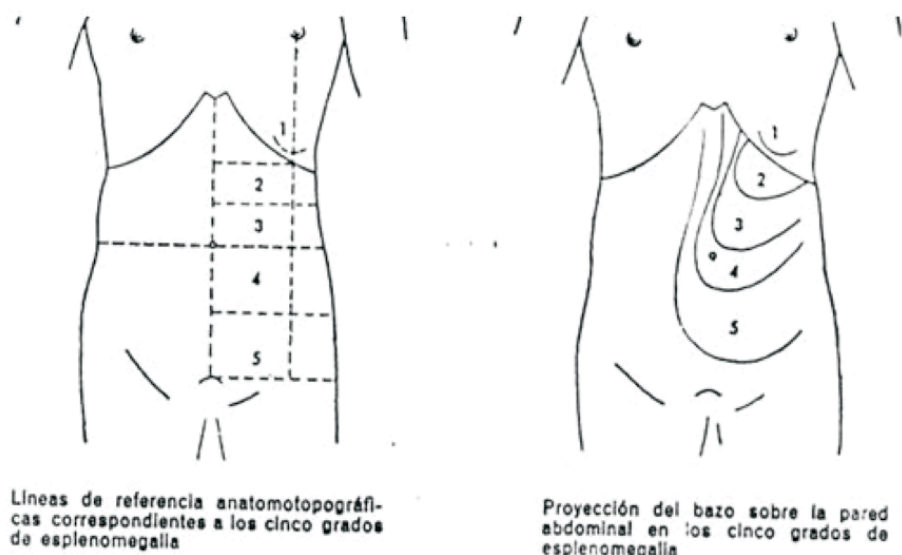
	Niños	Adultos
Duración de los síntomas antes de la gravedad	Corta (1 a 2 días)	Media (< de 2 días)
Convulsiones	Frecuente	Menos frecuente
Ictericia	Raro	Frecuente
Parasitemia inicial	Elevada	Variable
Hipoglicemia	Frecuente	Raro
Insuficiencia renal	Raro	Frecuente
Edema pulmonar	Raro	Frecuente
Duración del estadio de coma bajo tratamiento	Breve (1 a 2 días)	Larga (2 a 4 días)

Tabla 14.4
Grado de resistencia de parásitos hemáticos Asexuales
(*Plasmodium falciparum*) en pacientes tratados con drogas
esquizonticidas

Respuesta	Símbolo Recomendado	Evidencia
Sensible	S	Eliminación de parásitos hemáticos asexuales a los siete (07) días de iniciado el tratamiento, sin recrudescencia subsecuente.
	RI	Eliminación de parásitos asexuales hemáticos, como en el caso sensible, seguido de recrudencia.
Resistente	RII	Reducción marcada de parásitos hemáticos asexuales, sin eliminación.
	RIII	Sin reducción marcada de parásitos hemáticos asexuales.

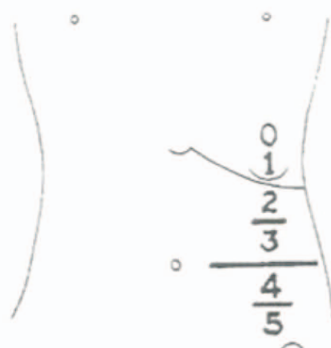
Fuente: WHO, 1973.

Figura 14.1
Clasificación de los grados de Esplenomegalia Palpable
según Hackett



Grado de Esplenomegalia	Descripción
0= Bazo normal, que no puede palparse ni en inspiración profunda	
1= Bazo palpable solamente en inspiración profunda o por lo menos algo más profunda que la normal	
2= Bazo palpable en la respiración normal pero cuya proyección, medida a lo largo de la línea mamilar izquierda, no desciende por debajo de una línea horizontal equidistante del reborde costal y del ombligo	
3= Bazo que se palpa por debajo de una línea horizontal equidistante del reborde costal y del ombligo, pero no por debajo de otra línea horizontal trazada a la altura de este último	
4= Bazo que se palpa por debajo del nivel del ombligo pero no por debajo de una línea horizontal equidistante de este último y de la sínfisis del pubis	
5= Bazo que se palpa por debajo de la línea limitativa inferior del grado 4.	

CLASIFICACION DE LOS GRADOS DE ESPLENOMEGALIA SEGÚN BOYD



- 0 = bazo normal o no palpable (Bazo "negativo").
 - 1 = bazo palpable sólo cuando el sujeto inspira profundamente.
 - 2 = bazos palpables sin la ayuda del sujeto, que no pasan el punto medio entre el reborde costal y una línea horizontal a través del ombligo.
 - 3 = bazos que se proyectan más allá del punto medio anterior, hasta el nivel del ombligo, pero no más allá de él.
 - 4 = bazos por debajo del nivel umbilical, pero que no sobrepasen el punto medio de su distancia a la línea de la sínfisis del pubis.
 - 5 = todos los bazos más grandes que los anteriores.
- El índice de BOYD es uno de los métodos utilizados para establecer la endenmicidad a nivel poblacional de la malaria.

REFERENCIAS

- Amodu O., Adeyemo A., Olumese P. and Gbadeqesin R. (1998). Intra-leucocytic Malaria pigment and clinical severity of Malaria in children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **92**: 54-56.
- Caballero B., Peña M., Rodríguez F. and Sandoval M. (1995). Complicaciones de la Malaria en adultos. Hospital Ruiz y Páez. Ciudad Bolívar. *Bol. Ven. Infectol.* **5**: 1988-1994.
- Cucunubá Z., Guerra A., Rahirant S., Alonso J., Cortés L. and Nicholls S. (2008) Asymptomatic *Plasmodium spp.* Infection in Tierralta, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **103**: 668-673.
- Davis T. M. E, Krishna S, Looareesuwan S, et al. (1990). Erythrocyte sequestration and anaemia in severe falciparum Malaria. Analysis of acute changes in venous haematocrit using a simple mathematical model. *J. Clin. Invest.* **865**: 793-800.
- Jaime Torres, Oscar Noya, Alejandro Mondolfi, Carmelina Peceño and Carlos Botto (1988). Hyperreactive Malarial splenomegaly in Venezuela. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* **39**:11-14.
- Luxemburger C., Kyaw Ley Thew, White N. J., et al. (1996). The epidemiology of Malaria in a Karen population on the western border of Thailand. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **90**: 105-111.
- Luxemburger C., Ricci F., Nosten F., Raimond D., Saw Bathet, White N. J. (1997). The epidemiology of severe Malaria in an area of low transmission in Thailand. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **91**: 256-262.
- Maberti S. (1960). Desarrollo de resistencia a la Pirimetamina. Presentación de 15 casos estudiados en Trujillo, Venezuela. *Arch. Ven. Med. Trop. Parasitol. Méd.* **III**: 239-259.
- McCutchan T., Piper R. and Makler M. (2008). Use of Malaria diagnostic test to identify *Plasmodium knowlesi* infection. *Emerg. Infect. Dis.* **14**: 1750-1752.

- Meyer M. (2003). Chemoresistance in falciparum Malaria. Trends Parasitol. **19**: 432-5.
- Newton C. R., Hien T. T. and White N. J. (2000). Cerebral Malaria. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry **69**: 433-441.
- Nguyen P., Day N., Pram T., Ferguson D. and White N. (1995). Intra-leucocytic Malaria pigment and prognosis in severe Malaria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. **89**: 200-204.
- Oon Tek Ng, Eng E., Cheng Ch, Piao J., Lee Ch., Pei S., et al. (2008). Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. Emerg. Infect. Dis. **14**: 814-816.
- Pabón, R. (2004). *Evaluación comparativa de los métodos inmunocromatográficos y moleculares (PCR) en la detección de asintomáticos con Plasmodium vivax en el Municipio Cajigal del estado Sucre, Venezuela*. Tesis de Maestría. Master Internacional en Enfermedades Parasitarias Tropicales, Valencia, España. p: 58.
- Price R. N. Nosten F., Luxemburger C., et al. (1999). Risk factors for gametocyte carriage in uncomplicated falciparum Malaria. Am. J. Trop. Med. Hyg. **60**: 1019-1023.
- Sandoval M. (1997). Clínica de la Malaria. Gac. Méd. Caracas. **105**: 27-29.
- Warrell D. A., White N. J., Veall N., et al. (1988). Cerebral Anaerobic glycolysis and reduced cerebral oxygen transport in human cerebral Malaria. Lancet **ii**: 534-538.
- World Health Organization. (1990). Control of Tropical Diseases. Severe and complicated Malaria. 2nd Ed. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **84 (Suppl 2)**: 1-65.

15. MALARIA Y EMBARAZO

Nelly Hernández y Leopoldo Villegas

Introducción

La Malaria durante el embarazo está asociada con efectos dañinos en la madre y en el feto. A principio del siglo 21, treinta millones de mujeres embarazadas vivían en zonas de riesgo de Malaria, produciéndose hasta 200.000 muertes neonatales por año a consecuencia de la enfermedad en el embarazo (World Health Organization, 2000b).

El embarazo hace disminuir la inmunidad de la mujer y la hace más susceptible a numerosas complicaciones causadas por la Malaria, como Malaria cerebral, insuficiencia renal, hipoglucemia, edema pulmonar y colapso circulatorio. Además de las manifestaciones clínicas ya descritas, las embarazadas presentan un riesgo sobreañadido de abortos, mortalidad, parto prematuro e insuficiencia ponderal fetal. Las embarazadas son particularmente susceptibles a formas graves de Malaria que rara vez ocurren en otros adultos que viven en zonas donde la Malaria es endémica. La Malaria predispone a toxemia gravídica con preclampsia y eclampsia, las parasitemias pueden ser hasta 10 veces más altas que en pacientes no embarazadas (World Health Organization, 2006); en la placenta hay secuestro y desarrollo de los parásitos con obstrucción de la microcirculación e interferencia de la nutrición del feto (fundamentalmente en infecciones por *Plasmodium falciparum*).

Definición

La Malaria durante el embarazo se define como la infección por parásitos del género *Plasmodium spp.* detectada durante el embarazo, el parto o el puerperio temprano (<28 días). Esta puede afectar a la madre, el feto o ambos y sus efectos pueden ser directos e indirectos.

Especies parasitarias

1. Las especies de *Plasmodium spp.* que infectan a la mujer embarazada no difieren de las que afectan a la población en general (*P. falciparum* - *P. vivax* - *P. Malariae* – *P. ovale*). Se ha descrito que *P. falciparum*, en todas las zonas endémicas, presenta: mayor parasitemia

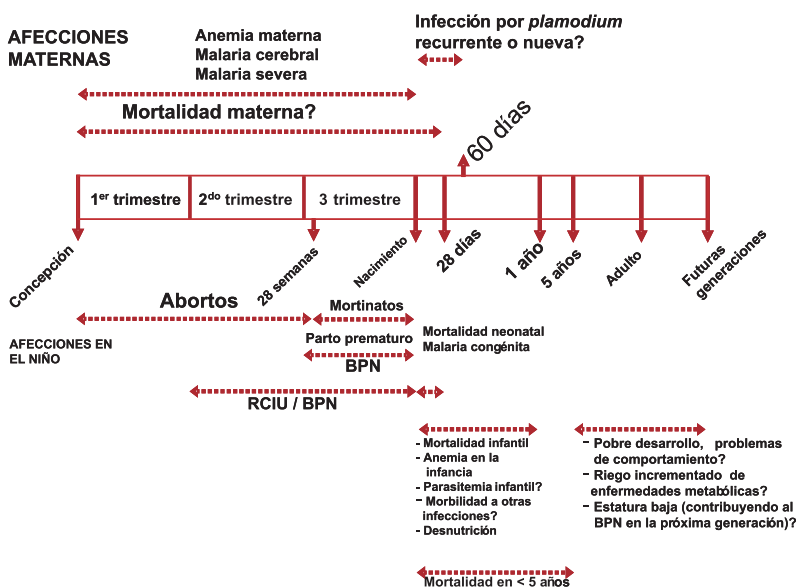
placentaria que periférica, niños de bajo peso al nacer (BPN= peso al nacer <2500 gramos), Malaria congénita, evolución hacia la anemia severa y/o mortalidad materna y la fármaco-resistencia dificulta el tratamiento. En infecciones por *P. vivax* durante el embarazo, se ha descrito BPN, anemia moderada, Malaria congénita y en la mayoría de los países permanece sensible a la cloroquina (Nosten y col., 1999; World Health Organization, 2006). Existe muy poca información sobre infecciones por *P. Malariae* y *P. ovale* durante el embarazo.

Espectro clínico de la Malaria en el embarazo

Existen diferencias en la presentación clínica de la enfermedad según el grado de inmunidad adquirido por las mujeres al momento de quedar embarazadas, y por lo tanto dependen del nivel de endemicidad de la Malaria o escenario epidemiológico en el que viven (figura 15.1); sin embargo, en todos los niveles de transmisión los efectos maternos en términos de morbilidad y mortalidad, son más frecuentes en primigrávidas jóvenes (Desai, 2007; Brabin, 1991). y el principal efecto en el niño es la presencia de BPN (Newman y col., 2003; Luxemburger y col., 2001).

Figura 15.1

Efecto de la Malaria en el embarazo en la salud de las madres, los recién nacidos, lactantes y los niños. RCIU=retardo del crecimiento intrauterino BPN=bajo peso al nacer



Fuente: Desai M, et al. (2007), modificada.

Áreas de alta transmisión, estable

La mayoría de las publicaciones científicas están basadas en estudios realizados en el África Sub-sahariana donde la especie de *Plasmodium* que predomina es *P. falciparum*. En estos escenarios, es frecuente que las embarazadas con Malaria estén asintomáticas, o desarrollen anemia durante el embarazo; metanálisis de ensayos con tratamiento profiláctico antimalárico o tratamiento preventivo intermitente (TPI), sugieren que se reduce el riesgo de anemia severa en un 38% (Guyatt y Snow, 2001).

En las zonas de alta transmisión malárica en donde las mujeres están expuestas con mayor frecuencia a infecciones prenatales pudiendo adquirir una inmunidad para prevenir la mayoría de los episodios febriles que causan parto prematuro, el retardo del crecimiento intrauterino (RCIU) es la causa del BPN en los niños (Garner y Gulmezoglu, 2006). Las embarazadas con Malaria placentaria al momento del parto duplican el riesgo de recién nacidos con BPN (Brabin y Rogerson, 2001), y esto a su vez está asociado con un incremento de la mortalidad infantil. Las revisiones sistemáticas de ensayos controlados aleatorios han demostrado el éxito de la prevención de la Malaria en el embarazo entre las primi y secundigrávidas (paucigrávidas) con profilaxis antimalárica, TPI o mosquiteros tratados con insecticida, dando lugar a importantes reducciones en la mortalidad perinatal (27%) (Guyatt y Snow, 2001) y abortos espontáneos y mortinatos (33%) (Guyatt y Snow, 2004).

Áreas de transmisión baja, inestable o estacionaria

Las infecciones en áreas de baja transmisión de Malaria, donde las mujeres tienen poca inmunidad adquirida, se cree más probable que produzcan síntomas, enfermedad grave y la muerte de la madre o del feto. Sorprendentemente, el porcentaje global de las muertes maternas atribuidas a la Malaria a partir de causas directas e indirectas en zonas de baja transmisión fuera de África (0,6–12,5%) no difiere sustancialmente de la estimación obtenida para las zonas de alta transmisión (0,5–23,0%) (Gamble y col., 2006; Brabin y Verhoeff, 2002).

Malaria durante el embarazo en Venezuela

La Malaria durante el embarazo ha sido descrita en el país frecuentemente como casos aislados (Kumar y col., 2007), revisión de

casuística hospitalaria (Maberti, 1960; Gethea y Uzcátegui, 1995; Veliz y col., 2003) o en estudios de campo de base comunitaria (Sánchez y col., 2003). Los efectos nocivos de la Malaria en el embarazo fueron descritos en los estados Bolívar (Gethea y Uzcátegui, 1995) (epidemia 1988-1991, Municipios Sifontes y Roscio) y Sucre (Veliz y col., 2003) (2000-2002). En estos estudios, se reportaron diferentes prevalencias de partos prematuros, anemia, bajo peso al nacer, mortinatos y mortalidad materna.

Manejo terapéutico de las embarazadas con Malaria

Ante la sospecha de Malaria en una mujer embarazada, basado en el diagnóstico epidemiológico y/o clínico, con confirmación parasitológica, lo más importante en el manejo es:

- Administrar antipiréticos cada 6 horas para prevenir las crisis febriles que puedan desencadenar un parto prematuro y/o aborto. Se busca evitar las contracciones uterinas que se desencadenan por la liberación de citoquinas producidas en el proceso febril.
- Comenzar el tratamiento antimalárico acorde con la especie parasitaria y presentación clínica de la enfermedad (complicada o no complicada).
- No se deben usar durante todo el embarazo los siguientes fármacos: tetraciclina, doxiciclina, primaquina, y halofantrina; y en el primer trimestre el artesunato y la mefloquina.
- En caso de episodios durante el primer trimestre (especialmente *P. falciparum*), se recomienda la hospitalización y monitoreo del tratamiento antimalárico con quinina y clindamicina.
- En Venezuela, las pautas de tratamiento del Ministerio del Poder Popular para la Salud (Villegas y col., 2005) establece que en las infecciones por *P. vivax*, la cloroquina es el medicamento de elección (25mg por kilogramo de peso repartidos en 3 días) seguidos de 2 tabletas de cloroquina, como unidosis semanal, hasta culminar el embarazo. Esto para evitar recaídas que se pueden presentar por los hipnozoítos hepáticos.
- Las infecciones por *P. falciparum* durante el segundo y tercer trimestre se tratan con combinaciones terapéuticas con derivados de la artemisinina.
- La Malaria severa en Venezuela, independientemente de la especie causante, se trata con quinina endovenosa o artemether intramuscular. En caso de usar la quinina endovenosa, se recomienda la

administración del tratamiento con bolos intravenosos de dextrosa al 10% o al 5%; con estricta vigilancia de la glicemia en sangre periférica debido al efecto hipoglicemiante de la quinina.

- En el momento del parto, en lo posible hacer gota gruesa y extendido de: sangre placentaria y sangre periférica de la mama, además de la toma de muestra de sangre periférica del bebé.
- La Malaria congénita se describe más frecuentes en aquellas mujeres embarazadas con episodios maláricos en el momento del parto.

REFERENCIAS

- Brabin B., Rogerson SJ. The epidemiology and outcomes of maternal Malaria. In: Duff y E, Fried M, eds. *Malaria in pregnancy: deadly parasite, susceptible host*. New York: Taylor & Francis, **2001**: 27–52.
- Brabin B., Verhoeff F. The contribution of Malaria. In: Maclean AB, Nielson J, eds. *Maternal morbidity and mortality*. London: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, **2002**: 65–78.
- Brabin, B. (1991). An assessment of low birthweight risk in primiparae as an indicator of Malaria control in pregnancy. *International Journal of Epidemiology*, **20(1)**: 276 – 283.
- Desai M., Ter Kuile FO, Nosten F., McGready R., Asamo K., Brabin B., *et al.* (2007). Epidemiology and burden of Malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis*. Feb; **7(2)**: 93-104. Review.
- Gamble C., Ekwaru JP, Ter Kuile FO. (2006). Insecticide-treated nets for preventing Malaria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*; **2**: CD003755.
- Garner P., Gulmezoglu AM. (2006). Drugs for preventing Malaria in pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev*; **4**: CD000169.
- Gethea A., Uzcátegui O. (1995). Paludismo y embarazo. *Revista de Ginecología y Obstetricia de Venezuela*; **55 (1)**: 43-5.

- Guyatt HL, Snow RW. (2004). Impact of Malaria during pregnancy on low birth weight in sub-Saharan Africa. *Clin Microbiol Rev*; **17**: 760–69.
- Guyatt HL, Snow RW. (2001). Malaria in pregnancy as an indirect cause of infant mortality in sub-Saharan Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; **95**: 569–76.
- Kumar A., Valecha N., Jain T, Dash AP. (2007). Burden of Malaria in India: retrospective and prospective view. *Am J Trop Med Hyg. Dec*; **77(6 Suppl)**: 69-78. Review.
- Luxemburger C., McGready R., Kham A., *et al.* (2001). Effects of Malaria during pregnancy on infant mortality in an area of low Malaria transmission. *Am J Epidemiol*; **154**: 459–65.
- Maberti S. Desarrollo de la Resistencia a la pirimetamina: presentación de 15 casos estudiados en el estado Trujillo, Venezuela. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica*, Vol. III, No. 2, Dic **1960**: 239-259.
- Ministerio del Poder Popular para la Salud, Dirección de Salud Ambiental, Pauta Terapéutica para Malaria circular N° 00035, DGSA-Maracay, 10 ago 2004.
- Newman RD, Hailemariam A., Jimma D., *et al.* (2003). Burden of Malaria during pregnancy in areas of stable and unstable transmission in Ethiopia during a nonepidemic year. *J Infect Dis*; **187**: 1765–72.
- Nosten F., McGready R., Simpson JA, *et al.* (1999). Effects of *Plasmodium vivax* Malaria in pregnancy. *Lancet*; **354**: 546–49.
- Sánchez E., Vargas M., Piccolo, Colina R., Arria M., Rodríguez AJ. (2003). Malaria y embarazo: estudio clínico en un hospital general de Sucre, 2000-2002. *Boletín Venezolano de Infectología* **14 (1)**: 35-6.
- Véliz F., Richard M., Peterson L., Girón M., Guevara M., Villegas L. (2003). Malaria y embarazo durante la epidemia malárica 1988-1991 en el eje sur del estado Bolívar. *Boletín Venezolano de Infectología*; **14 (1)**: 45.

Villegas L.; Gouveia, D.; López E.; Gómez E.; Hernández N.; Salazar B. (2004). Malaria during Pregnancy in the Km 88, indigenous-mining area of the Bolivar state, Venezuela. 54rd Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Washington-USA, 10-15. December 2005.

World Health Organization (2000b). WHO Expert Committee on Malaria: Twentieth Report, WHO Technical Report Series No. 892.

World Health Organization. (2006). Guidelines for the treatment of Malaria.



16. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Albina Wide, Jacinta Capaldo, Noraida Zerpa y Rosalba Pabón

El diagnóstico de la Malaria puede ser convencionalmente dividido en clínico, epidemiológico y de laboratorio, que a su vez se clasifica en métodos de diagnóstico parasitológico, inmunológico y de biología molecular.

El aspecto más importante en el diagnóstico clínico son los síntomas clásicos de la Malaria, pero estos pueden estar alterados por el uso de medicamentos o por la inmunidad adquirida, de ahí la importancia de una cuidadosa historia clínica enfatizando el riesgo epidemiológico o riesgos de exposición, por vía transfusional o parenteral para confirmar con el diagnóstico de laboratorio. A continuación se describen los principales métodos de diagnóstico de laboratorio.

16.1.- Diagnóstico parasitológico

La gota gruesa y extendido de sangre fue introducida hace más de 100 años por Romanowsky y posteriormente Ross le introduce variaciones aumentando la concentración de sangre y deshemoglobinizando, dando así origen a la gota gruesa (Field y col., 1963). La gota gruesa y el extendido realizados en una misma lámina permanecen como prueba de elección en el diagnóstico de la Malaria (OMS, 1988; Bruce-Chwatt, 1986; Ferreira y Ávila, 2001). Este método tiene una sensibilidad de 10-20 y 100 parásitos/ μ L en gota gruesa y extendido respectivamente, además permite la identificación de la especie y el estadio de desarrollo del parásito (figuras 16.1.7. a 16.1.9.); suministra información sobre la viabilidad del parásito identificado e incluso permite la cuantificación de los parásitos (Bruce-Chwatt, 1986) (Tabla 16.1.1.). El principal problema de este método parasitológico es el tiempo invertido en su realización, lo cual cobra importancia en zonas de alta transmisión donde el microscopista debe observar hasta 100 láminas en un lapso de tiempo corto (Ferreira y Ávila, 2001). Por otro lado, además de un buen microscopio, se requiere experiencia en la interpretación de los resultados, particularmente con bajas parasitemias; otra desventaja es la pérdida de material en la deshemoglobinización de la gota gruesa. Estudios previos han demostrado que durante la coloración de la gota gruesa ocurre una pérdida del 66% de los trofozoitos y de 80-90% de los gametocitos (Dowling & Shute, 1966), esto

es importante en parasitemias muy bajas. Además, en *P. falciparum*, los parásitos pueden estar secuestrados a nivel endotelial y no siempre estar presentes en sangre periférica. A fin de solventar las limitaciones de la gota gruesa se han desarrollado diferentes métodos: microscopía con colorantes fluorescentes, donde se tiñen los ácidos nucleicos de los parásitos, facilitando y requiriendo menor tiempo para su visualización; los más utilizados son el naranja de acridina y el benzotocarboxipurina (Spielman y col., 1988; Makler y col., 1991; Kawamoto & Billingsley 1992; Makler y col., 1998) de éstos el de mayor aplicación y ampliamente evaluado es el Quantitative Buffy Coat (QBC), basado en la tinción con naranja de acridina de una muestra centrifugada en capilares especiales a los cuales se les añade un flotador especial que permite crear una monocapa de células sanguíneas y de hemoparásitos contra la pared del capilar; así los parásitos y las células nucleadas toman el colorante el cual fluoresce cuando es examinado bajo la luz ultravioleta. El principal inconveniente de este ensayo es el costo que implica el uso del microscopio de fluorescencia. Comparado el QBC con la gota gruesa se encontró que cerca del 10% de infecciones detectadas por QBC®, no fueron detectadas en la gota gruesa (Spielman y col., 1988); estudios posteriores registraron una sensibilidad de 70% comparada con un 92% de la gota gruesa en estudios de campo, sin embargo cuando fue usado en muestras de pacientes hospitalizados el QBC® detectó hasta 3 parásitos/ μL (Rickman y col., 1989).

En las figuras 16.1.1. a 16.1.6. se muestra la forma correcta de la toma de sangre y elaboración de la gota gruesa y extendido. En la tabla 16.1.2. se describen las características morfológicas de las diferentes especies de parásitos.

Procedimiento para la toma de muestra en el diagnóstico parasitológico de Malaria

Para el diagnóstico parasitológico de la Malaria se prepara una gota gruesa y extendido en el mismo porta-objeto. La gota gruesa sirve para detectar si hay o no parásitos maláricos. El extendido sirve para hacer el diagnóstico de especie y además para identificar la lámina.

Materiales para la toma de muestra

- Láminas limpias
- Lancetas estériles
- Etanol al 70%
- Algodón
- Lápiz de grafito
- Formulario de registro
- Bolígrafo

Toma de muestra de sangre

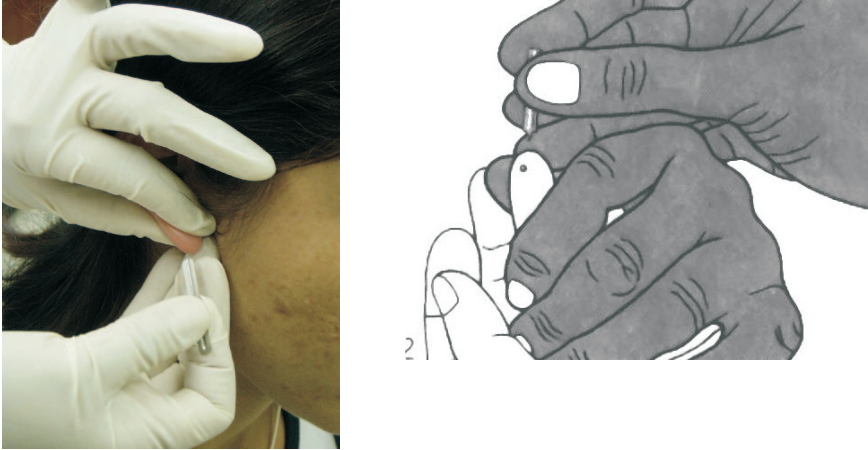
-Limpiar el lóbulo de la oreja (o la yema del dedo medio de la mano izquierda) con un algodón ligeramente embebido en alcohol y secar el lóbulo de la oreja con algodón seco. Frotar ligeramente el lóbulo de la oreja para estimular la circulación, de alguna manera anestesia el área a pinchar. Las ventajas de tomar la muestra de la oreja son: menos dolor por lo que hay aceptación de la población, es más limpia, por lo que hay menos artefactos que en el dedo y menos posibilidades de infección, ya que las manos frecuentemente por el trabajo que realizan se ensucian en la gente de las áreas maláricas.

Figura 16.1.1



-Puncionar (pinchar) el lóbulo de la oreja (o la yema del dedo) con movimiento rápido, apretar ligeramente el lóbulo, descartar la primera gota de sangre, con algodón seco.

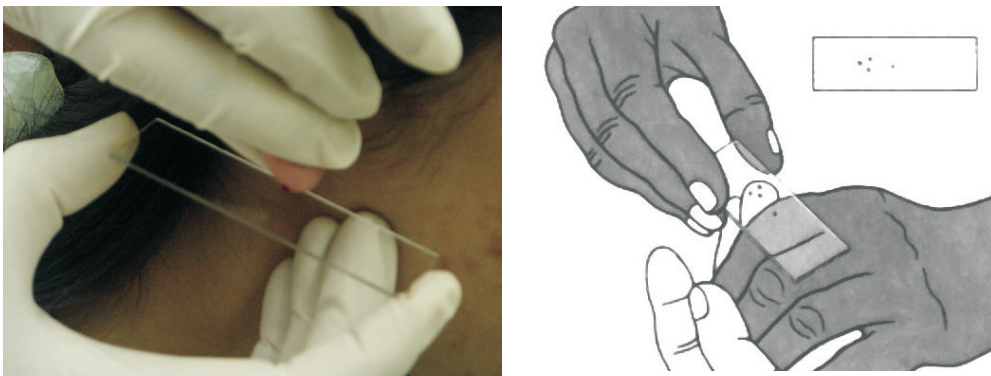
Figura 16.1.2



-Apretar suavemente el lóbulo (o dedo) y depositar una pequeña gota de sangre en el centro de la lámina. Esta gota se utiliza para el extendido.

-Apretar nuevamente para extraer más sangre y depositar en la lámina dos o tres gotas, para realizar la gota gruesa. Limpiar y secar el exceso de sangre en la oreja con algodón limpio.

Figura 16.1.3



Procedimiento para realizar el extendido y la gota gruesa de sangre

Extendido de sangre

-Colocar la lámina sobre una superficie plana y firme o sujetarla entre los dedos pulgar e índice.

-Aplicar los bordes de otra lámina limpia sobre la gota pequeña, de tal manera que la sangre se extienda a lo largo de ésta, manteniendo un ángulo de 45° .

-Deslizar la lámina extensora sobre la primera.

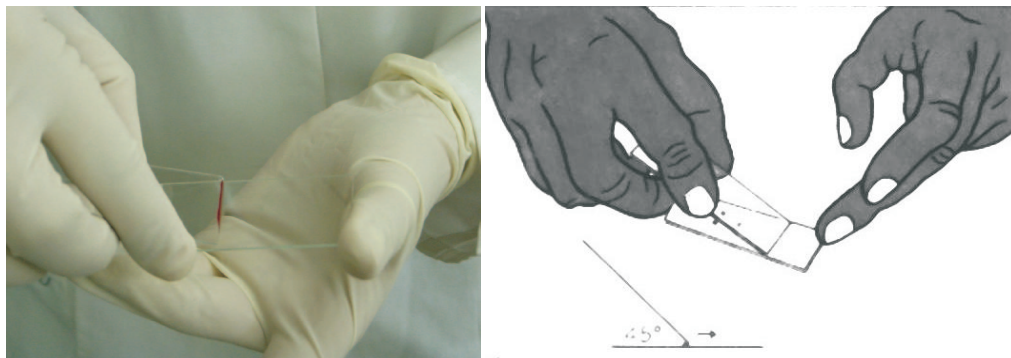
Es importante que durante la extensión de la sangre las dos láminas estén en contacto regular.

Para la gota gruesa

-Utilizar un ángulo de la lámina extensora, mezclando rápidamente y en forma circular las gotas de sangre, para desfibrarla.

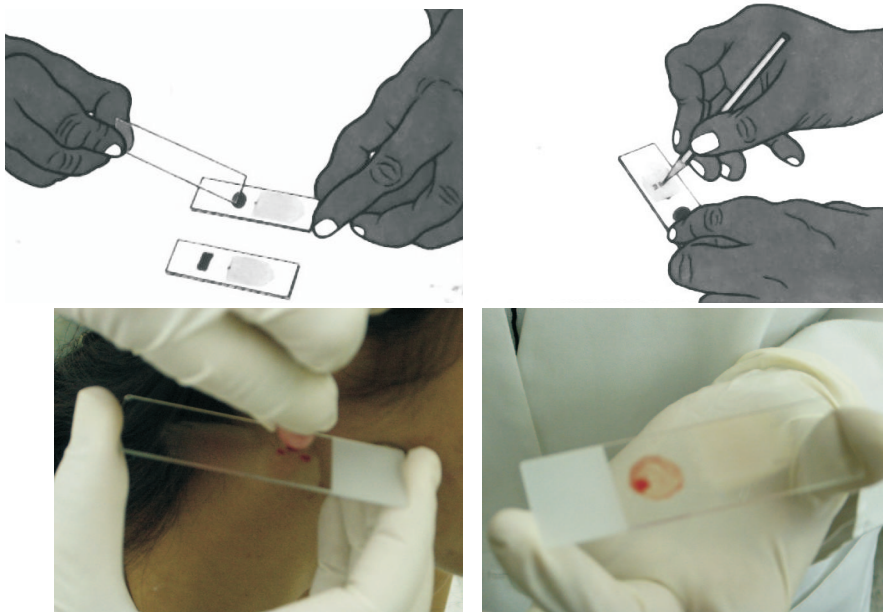
-Dejar secar la gota gruesa en posición horizontal al abrigo de moscas, polvo y calor extremo.

Figura 16.1.4



Identificación de las muestras

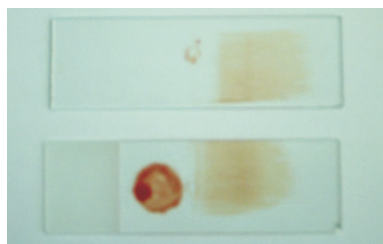
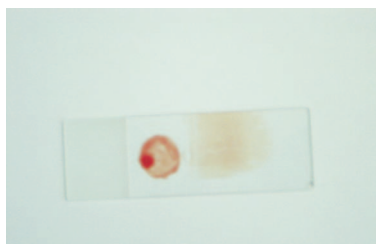
-Cuando la preparación esté seca, escribir sobre el extendido, con lápiz de grafito la fecha, el código del visitador, el microscopista y nombre del paciente.



Modelo de una preparación de gota gruesa y extendido de sangre correctamente realizada e identificada.

Figura 16.1.5

Para enviar la muestra al laboratorio de referencia, envolver la lámina seca en la ficha clínica del paciente.



Fuente: Tomado de Recomendaciones de la Secretaria de la OMS para el diagnóstico de la Malaria.

Coloración de extendido y gota gruesa (Coloración de Giemsa Modificada)

Reactivos y materiales

- * Amortiguador fosfato pH 6,8 (50mM)
- * Colorante Giemsa, marca Merck o Riedel – de Haën
- * Metanol
- * Láminas portaobjetos con gota gruesa y extendido
- * Lámina de vidrio para soporte (8x 20cm)
- * Aplicador de madera
- * Vaso para dilución

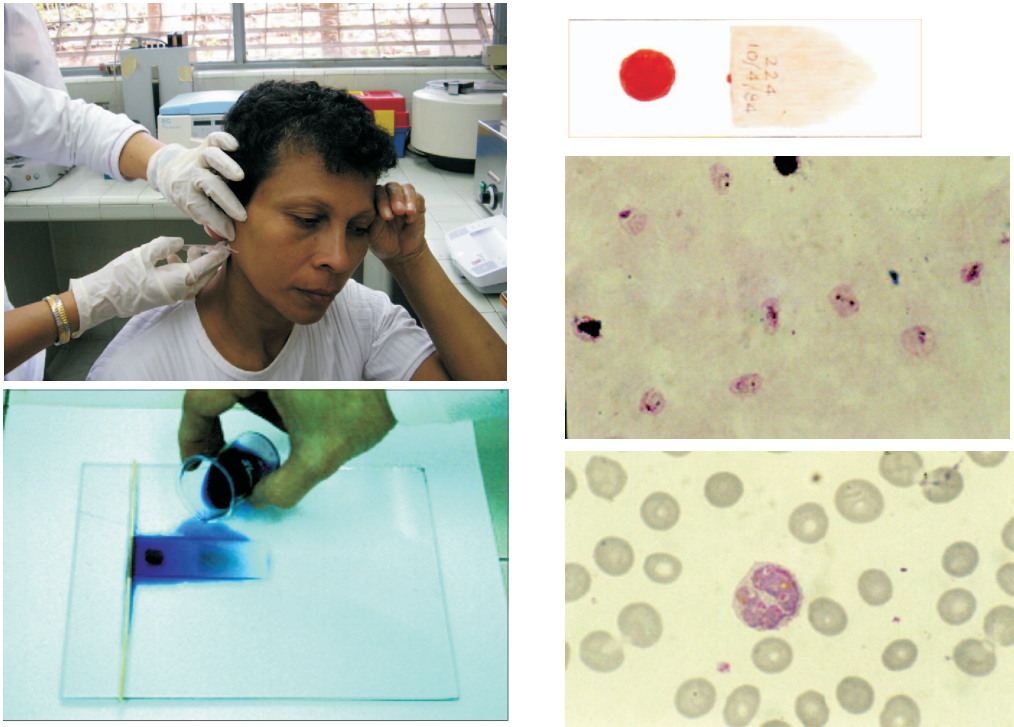
Preparación del amortiguador fosfato 50mm ph 6,8

NaH_2PO_4 3,45 g.
 Na_2HPO_4 3,55 g.
 NaN_3 0,02% (p/v)
 H_2O destilada cantidad suficiente para un litro

Procedimiento

- * Se fija el extendido con Metanol.
- * Se deshemoglobina la gota gruesa, introduciéndola en agua destilada o con la punta de una lámina porta-objeto realizando movimientos circulares.
- * Preparar el colorante de Giemsa a una dilución 1:10 (3 a 4 gotas de colorante por 1 ml de amortiguador) utilizando 3 mL de Buffer por cada lámina y colocar esta dilución en el espacio que queda entre la lámina portaobjeto invertida y la lámina para soporte. Dejar actuar el colorante por 20-25 minutos.
- * Enjuagar con agua de chorro, levantar la lámina portaobjeto y dejar secar al aire libre.
- * Examinar la lámina en el microscopio con objetivo de 100X.
- * Revisar primero la gota gruesa debido a que hay mayor volumen de sangre que permite detectar con mayor facilidad los parásitos. Luego, examinar el extendido para realizar diagnóstico de especie, ya que en éste los parásitos están intactos dentro del glóbulo rojo y permite ver su morfología y su efecto sobre él.

Figura 16.1.6
Método de Gota gruesa y extendido



Fuente: Centro para Estudios sobre la Malaria - SA IAE "Dr. Arnoldo Gabaldón".

Tabla 16.1.1
Gota gruesa y extendido de sangre teñidos con Giemsa.
Ventajas y desventajas

	GOTA GRUESA	EXTENDIDO
ÁREA DE SANGRE SOBRE LA LÁMINA PORTA-OBJETO	50 –90 mm ²	250 – 450mm ²
VOLUMEN DE SANGRE REQUERIDO	3 –5 µL	1 µL
FACTOR DE CONCENTRACIÓN CELULAR	20 – 30	1
MUESTRA DE SANGRE	NO FIJADAS	FIJADAS
PÉRDIDA DE LEUCOCITOS Y PARÁSITOS DURANTE LA TINCIÓN	*8% LEUCOCITOS *20% PARÁSITOS	NINGUNA
MORFOLOGÍA DE LOS PARÁSITOS	ALTERADA	NO ALTERADA
ARTEFACTOS	MUCHOS	POCOS
TIEMPO DE EXAMINACIÓN (APROXIMADO)	100 campos / 5- 10min	200-300 campos / 20-35 min.
LÍMITE DE SENSIBILIDAD	10/par/µL de sangre (0,0001%)	100/par/µL de sangre (0,001%)

Clave para diferenciar las tres especies más comunes de parásitos maláricos

Extendido

1. Ausencia de estadíos intermedios (ni trofozoítos ameboides ni esquizontes). Generalmente se observan trofozoítos anulares (localizadas en la periferia del eritrocito o “accolé” binucleados; pequeños frecuentemente más de uno por eritrocito) y/o gametocitos en forma de media luna.....***Plasmodium falciparum***.
2. Presencia de estadíos intermedios (trofozoítos ameboides y esquizontes).....***Plasmodium vivax* o *Malariae***.
 - Glóbulos rojos hipertrofiados y pálidos; trofozoítos de bordes irregulares, pigmento malárico fino; gránulo de Schüffner..... ***P. vivax***
 - Glóbulos rojos de tamaño y color normal; pigmento malárico grueso; citoplasma compacto; formas en bandas; ausencia de granulaciones.....
.....***P. Malariae***.

Gota gruesa

1. Ausencia de estadíos intermedios generalmente sólo trofozoítos anulares y/o gametocitos en forma de media luna.....
.....***P. falciparum***.
2. Presencia de estadíos intermedios
.....***P. vivax* o *P. Malariae***.
 - Trofozoítos de citoplasma difuso e irregular..... ***P. vivax***.
 - Trofozoítos de citoplasma compacto.....***P. Malariae***.

Nota: Los gránulos de Schüffner no están siempre presentes en infecciones por ***P. vivax***. Los gametocitos en forma de “media luna” no están siempre presentes en infecciones por *P. falciparum*.

Las formas en banda no están siempre presentes en infecciones por ***P. Malariae***.

Tabla 16.1.2
Características de los plasmodios

Características	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. Malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Eritrocitos infectados hipertrofiados	NO	SI	NO	SI
Eritrocitos infectados ovales e irregulares	NO	NO	NO	SI
Eritrocitos infectados pálidos	NO	SI	NO	SI
Eritrocitos infectados con gránulos Schüffner	NO	SI	NO	SI
Eritrocitos infectados, infección múltiple	SI	RARO	NO	NO
Parásitos: Se ven todos los estadios	RARO	SI	SI	SI
Se ven sólo anillos y/o gametocitos	SI	NO	NO	NO
Formas de Aplique (accolé)	SI	NO	RARO	NO
Gránulos de cromatina doble	SI	NO	RARO	NO
Gametocitos en media luna	SI	NO	NO	NO
Formas en banda	NO	NO	SI	NO
# de merozoítos / esquinzonte	16-36	12-24	06-12	08-12

Tabla 16.1.3
Características de los plasmodios

Características	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. Malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Edad de los GRP	Jóvenes y maduros	Reticulocitos y GR jóvenes	GR maduros	Reticulocitos y GR jóvenes
Hipertrofia del GRP	NO	SI	NO	SI
Granulaciones	Manchas de Maurer	Schüffner	Ziemann	Schüffner
Hiperparasitismo	Frecuente	Rara	Muy rara	Muy rara
Estadios eritrocíticos en sangre periférica	Anillos y gametocitos	Todos	Todos	Todos
Macro y Microgametocitos	Media luna	Redondos	Redondos	Redondos
# de merozoítos por esquinzoite eritrocítico	16-36	12-24	06-12	06-12
Hipnozoítos hepáticos	NO	SI	NO	SI
"Knobs" (Protuberancias)	SI	NO	SI	NO
Esquizogonia	En capilares de los órganos profundos	Sangre periférica	Sangre periférica	Sangre periférica
Duración del ciclo eritrocítico	48 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	48 HORAS
# de merozoítos por esquizontes maduro (ciclo EE)	40.000	10.000	12.000	15.000
Receptores en glóbulos rojos	Glicoforina A y B	Grupo Duffy	ND	ND
Recaídas / Recrudescencia	Recrudescencia	Recaída	Recrudescencia	Recaída

Métodos de recuento de parásitos de *Plasmodium* spp en gota gruesa

Parásitos por μL

El siguiente método es práctico y bastante preciso. Se basa en el número de parásitos presentes por μL de sangre. En la gota gruesa se cuentan los parásitos con relación al número predeterminado de leucocitos.

Por regla general se toma un promedio de 6.000 leucocitos por μL , ya que este valor representa el promedio normal en la población, y a pesar de las imprecisiones causadas por las variaciones en el número de leucocitos de los individuos normales y las variaciones en caso de enfermedad, permiten hacer comparaciones bastantes exactas.

Antes de dar un resultado negativo se examina en la gota gruesa el equivalente a 0,25 μL de sangre (aproximadamente 100 campos, utilizando un ocular de 7X y un objetivo de inmersión de 100X). En caso que la muestra sea positiva contar los parásitos y leucocitos como sigue a continuación:

1. Se necesitan dos contadores mecánicos individuales o un contador múltiple, para hacer por separado los recuentos de parásitos y leucocitos.
2. Si después de haber contado 200 leucocitos, se han identificado 10 o más parásitos, se consignará el resultado en el impreso indicando número de parásitos por 200 leucocitos.
3. Si después de haber contado 200 leucocitos, se han identificado 9 parásitos o menos, se proseguirá al recuento hasta 500 leucocitos y se registrará el número de parásitos por 500 leucocitos.

Lo ideal es realizar de forma rutinaria el recuento parasitario contando 500 leucocitos, ya que el resultado es más exacto, y más práctico, y así no tener diferentes criterios en cada muestra examinada.

4. En cada caso el recuento de parásitos en relación con el recuento de leucocitos puede expresarse como el número de parásitos

por μL , (=parasitemia), mediante la siguiente fórmula matemática:

$$\text{N}^\circ \text{ de parásitos}/\mu\text{L} = \frac{\text{N}^\circ \text{ parásitos} \times 6000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L}}{200 \text{ leucocitos}}$$

Esto significa que si se cuentan 200 leucocitos el N° de parásitos se multiplica por 30, si se cuentan 500 leucocitos el N° de parásitos se multiplica por 12.

5. En la práctica ordinaria se incluyen en el recuento todas las formas presentes, tanto las formas sexuales como las asexuadas, debido a que en ***P. vivax***, ***P. Malariae*** y ***P. ovale*** rara vez es posible diferenciar los gametocitos de las formas asexuadas. En *P. falciparum* a veces se realiza un recuento separado de gametocitos, pero en la determinación de la parasitemia no es necesario diferenciar las diferentes estadíos parasitarios.
6. La identificación de las especies parasitarias se determina en el extendido.

Sistema de cruces

Se trata de un método más simplificado de recuento de parásitos en las preparaciones de gota gruesa. Por medio de una clave de una a cuatro cruces se indica el recuento relativo de parásitos del siguiente modo:

- +: 1-10 parásitos por 100 campos de gota gruesa
- ++: 11-100 parásitos por 100 campos de gota gruesa
- +++: 1-10 parásitos por 1 campo de gota gruesa
- ++++: más de 10 parásitos por 1 campo de gota gruesa

Este sistema suele usarse cuando no es posible hacer el recuento por μL de sangre, que es el método preferible.

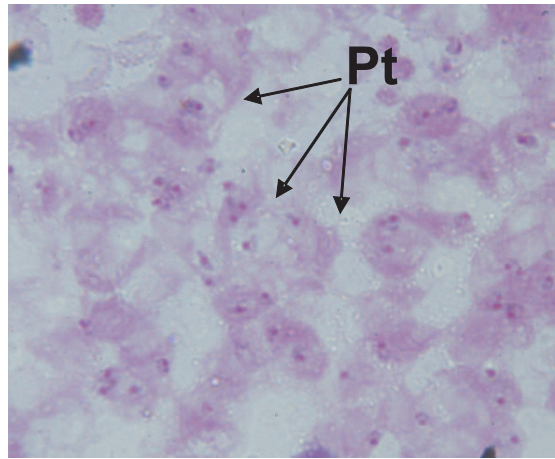
Cálculo del porcentaje de la parasitemia en extendido

El porcentaje de la parasitemia se calcula contando 2000 eritrocitos por extendido y se reporta como el número de parásitos en 100 eritrocitos.

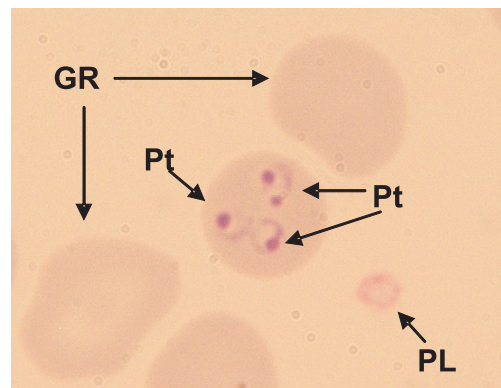
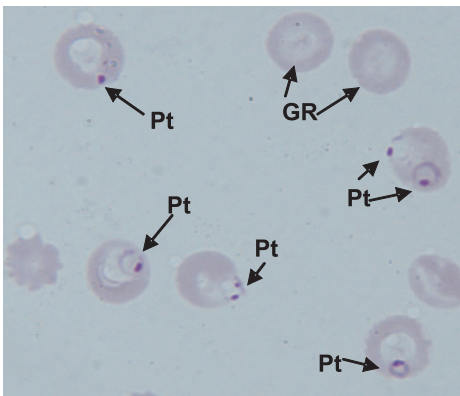
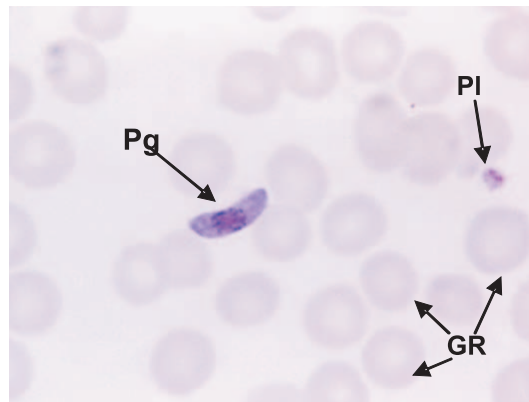
Se deben contar aquellos campos de aproximadamente 100 eritrocitos, donde los glóbulos rojos se encuentren separados. Dichos campos se hallan en la cola del extendido. El número de campos a contar deben ser de aproximadamente veinte.

La principal limitación del cálculo de la parasitemia en el extendido de sangre, estriba en el hecho que la distribución de los eritrocitos infectados no es homogénea, pues la mayoría de ellos se encuentran en los rebordes del extendido y a partir del tercio medio hacia el tercio final (cola) mismo. No así en la gota gruesa, en el cual tiende a haber una distribución homogénea. Además, la densidad de parásitos es significativamente mayor.

Figura 16.1.7
Plasmodium falciparum



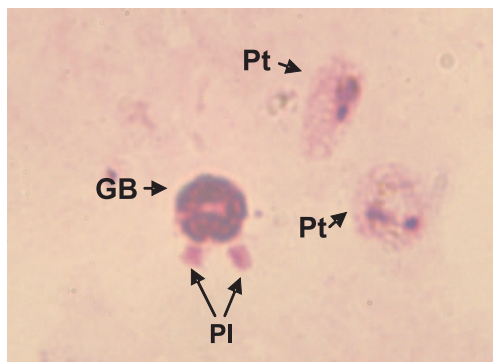
GOTA GRUESA



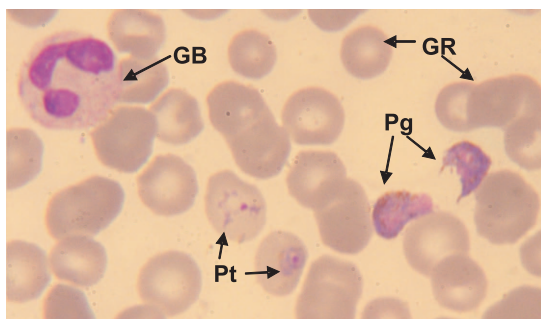
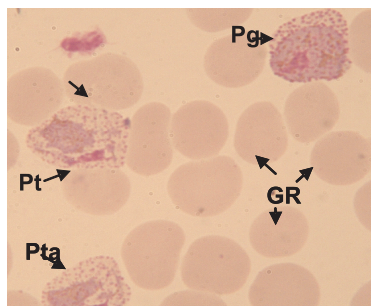
Extendidos

GR: Glóbulo rojo no infectado. **PL:** Plaqueta. **Pt:** Trofozoítos anula-
res o anillos. **Pg:** Gametocito

Figura 16.1.8
Plasmodium vivax



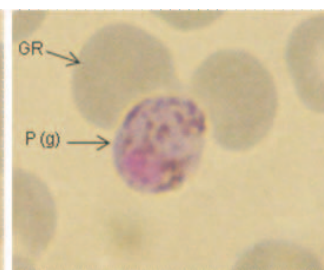
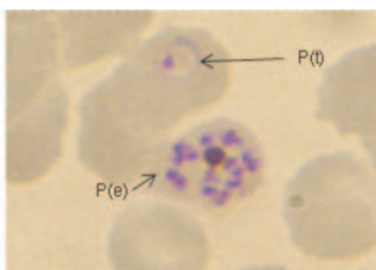
GOTA GRUESA



Extendidos

GB: Glóbulo blanco. **GR:** Glóbulo rojo no infectado. **PL:** Plaqueta.
Pt: Trofozoíto anular. **Pta:** Trofozoíto ameboides. **Pg:** gametocito

Figura 16.1.9
Plasmodium Malariae



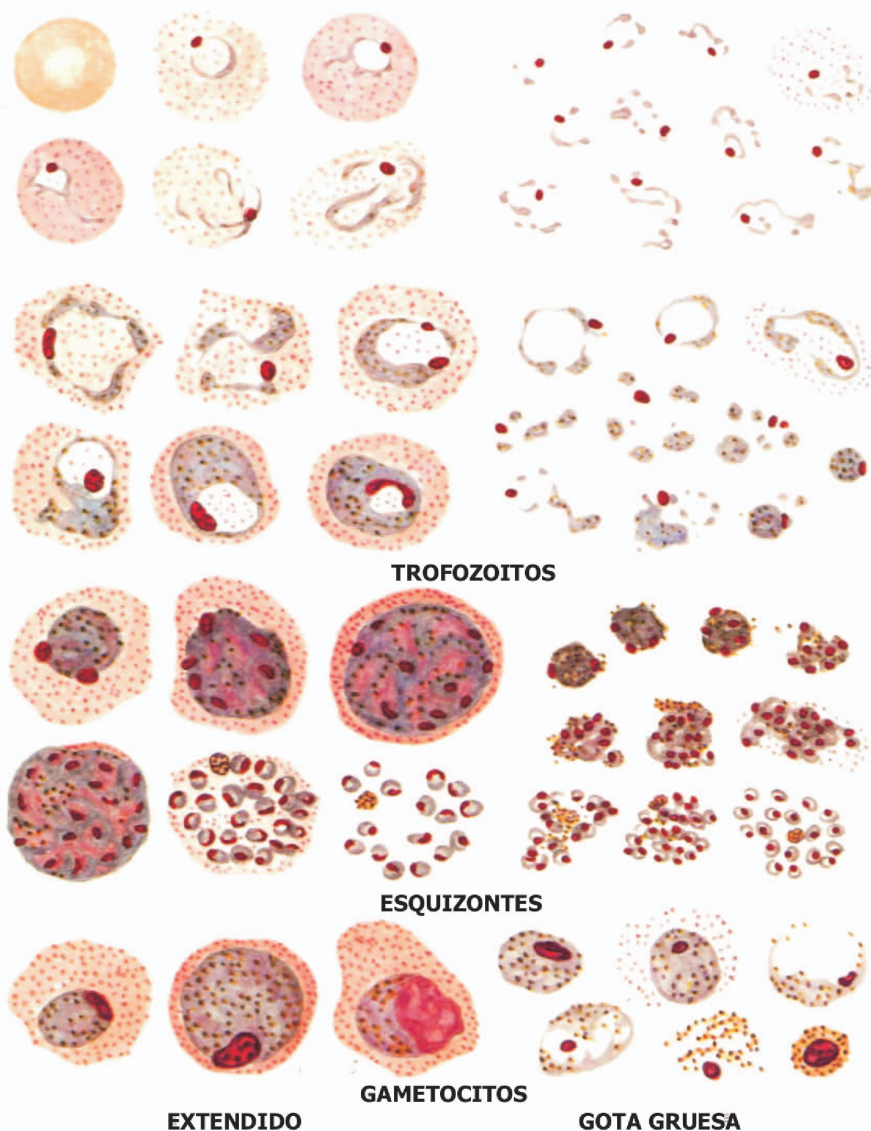
Extendidos

GR: Glóbulo rojo no infectado. **P(t):** Trofozoíto anular. **P(g):** Game-
tocito. **P(b):** Trofozoíto ameboides en Banda. **P(e):** Esquizonte seg-
mentado.

Figura 16.1.10



SECRETARIA DE LA OMS PARA LA COORDINACION DEL ADIESTRAMIENTO ANTIPALUDICO EN ASIA Y EL PACIFICO



Plasmodium vivax

MEDIOS AUXILIARES PARA EL DIAGNOSTICO DEL PALUDISMO HUMANO 2

ASPECTO DE LAS FASES DEL PARASITO EN LAS MUESTRAS DE SANGRE (EXTENSION Y GOTA GRUESA) TEÑIDAS CON GIEMSA
(Ilustración original de Yap Loy Fong)

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 1985.

Plasmodium vivax

Morfología

1. Trofozoíto joven Tiene forma aparente de anillos con núcleo grueso, el cual puede estar en la parte central o periférica. El círculo citoplasmático del anillo es grueso y grande y teñido de azul, con una vacuola definida, ocupa alrededor de 1/3 del glóbulo rojo.

2. Trofozoíto mediano Núcleo más grande, citoplasma más abundante y presenta una o varias vacuolas más pequeñas, las ramificaciones citoplasmáticas son abundantes y netas e indican los movimientos ameboides característicos del crecimiento. Se perciben gránulos de pigmento marrón-amarillento (pigmento malárico) que crecen con la edad del parásito, el cual ocupa $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ del glóbulo rojo.

3. Trofozoítos maduros Núcleo grande situado en la periferia del parásito, citoplasma compacto de contorno irregular o definido, pigmento color marrón-oro (pigmento malárico). Se tiñe más intensamente, ocupa la totalidad del eritrocito hipertrofiado.

4. Esquizonte pre-segmentado (inmaduro) Núcleo dividido, de forma irregular, el citoplasma conserva el aspecto de los trofozoítos adultos y el pigmento muestra tendencia a colectarse en partes del citoplasma.

5. Esquizontes segmentados (maduro) De 12 a 21 merozoítos, compuestos de un punto de cromatina y una porción de citoplasma, el pigmento se concentra en 1 a 2 masas definidas, hecho que denota que la segmentación ya se ha completado.

6. Macrogametocito Citoplasma azul oscuro, sin vacuolas, con una coloración homogénea. Núcleo pequeño, compacto, rojo oscuro, rodeado frecuentemente de un halo claro y generalmente excéntrico. Pigmento marrón, más oscuro que en el microgametocito, distribuido por todo el citoplasma, más abundante y de gránulos mayores que en los trofozoítos maduros.

7. Microgametocito Núcleo grande de cromatina difusa, granulosa de color rojo pálido o rosado, situado en el centro del parásito y rodeado en un área vesicular clara. Algunas veces la forma del núcleo

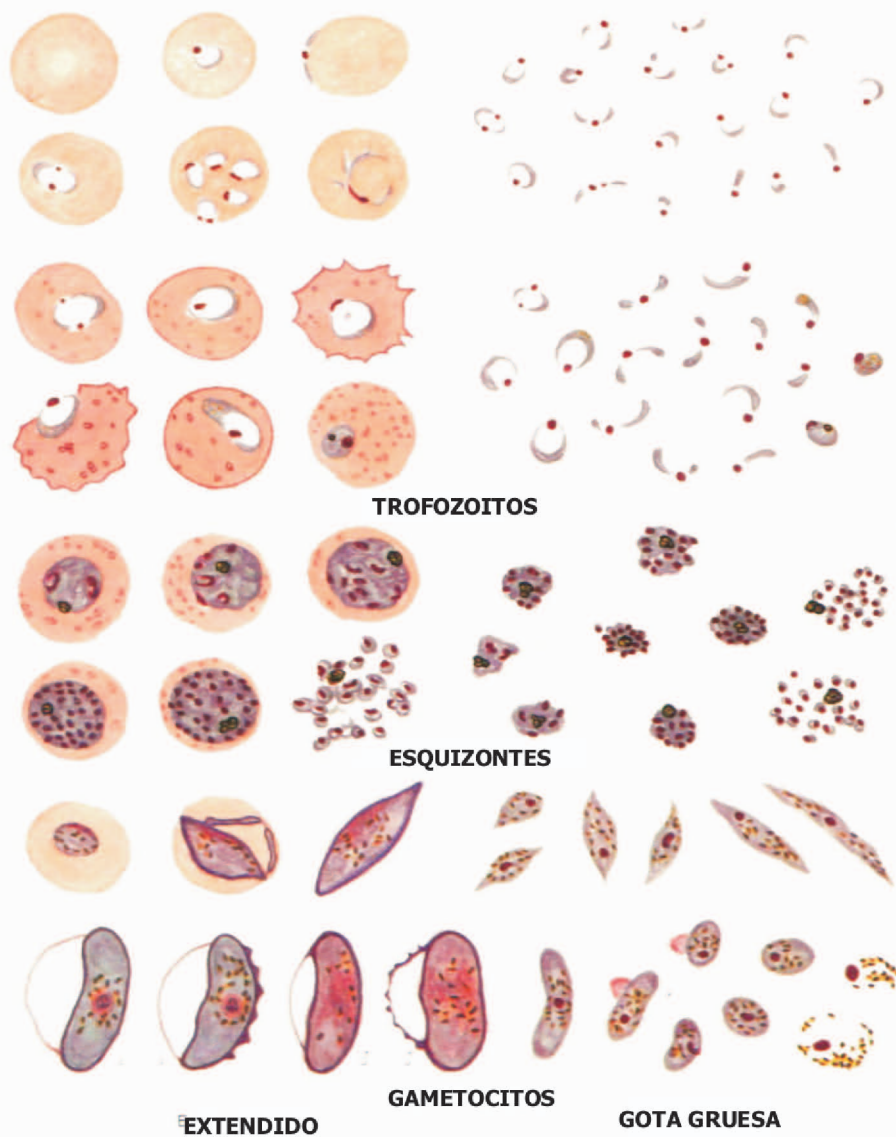
es estelar, en huso, o en banda a través del citoplasma, el cual se presenta azul pálido, gris rosado o casi incoloro. Pigmento marrón –amarillento, menos oscuro que el macrogametocito, distribuido por todo el citoplasma, menos abundante que en el anterior, pero más abundante que en el trofozoíto.

8. Eritrocito infectado Hipertrofiado, agrandado, de forma irregular. Gránulos redondos rosados (granulaciones de Schüffner) presentes en la mayoría de los eritrocitos parasitados de trofozoítos medianos en adelante. Estas granulaciones representan colecciones de antígenos parasitarios, ubicadas en excavaciones en la superficie del eritrocito. Raramente se pueden presentar infecciones múltiples. El parásito tiene afinidad por los reticulocitos.

Figura 16.1.11



SECRETARIA DE LA OMS PARA LA COORDINACION DEL ADIESTRAMIENTO
ANTIPALUDICO EN ASIA Y EL PACIFICO



Plasmodium falciparum

MEDIOS AUXILIARES PARA EL DIAGNOSTICO DEL PALUDISMO HUMANO 1

ASPECTO DE LAS FASES DEL PARASITO EN LAS MUESTRAS DE SANGRE
(EXTENSION Y GOTA GRUESA) TEÑIDAS CON GIEMSA
(Ilustración original de Yap Loy Fong)

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 1985.

Plasmodium falciparum

1. Trofozoíto joven Forma de anillo, con uno o dos puntos cromáticos pequeños, que se proyectan hacia afuera y que pueden estar en un mismo lado o en los lados opuestos. Citoplasma delgado, filiforme. Las situaciones marginales del parásito, las formas en cometa las formas en puentes son muy frecuentes. En general es mucho más pequeño que las otras especies, algunas veces el núcleo es central en el anillo o se observan como línea azul, atravesando el eritrocito con núcleo central. Las infecciones múltiples se producen frecuentemente. Llenan apenas 1/6 del eritrocito.

2. Trofozoítos medianos En algunas láminas pueden observarse trofozoítos de este tipo mantienen la forma anterior, el núcleo y el citoplasma aumentan hasta alcanzar el tamaño de los anillos de *P. vivax*. Escasos gránulos de pigmento de tinte amarillento. Solamente circulan en sangre periférica, trofozoítos jóvenes y gametocitos. Otras formas eritrocíticas se multiplican en capilares internos de vísceras y encéfalo.

3. Macrogametocitos Forma de banana, salchicha o media luna, con los extremos más agudos que en el microgametocito, núcleo situado en el centro del parásito o ligeramente hacia uno de los polos, citoplasma más azules que el microgametocito, pigmento concentrado alrededor del núcleo, más oscuro que en el microgametocito.

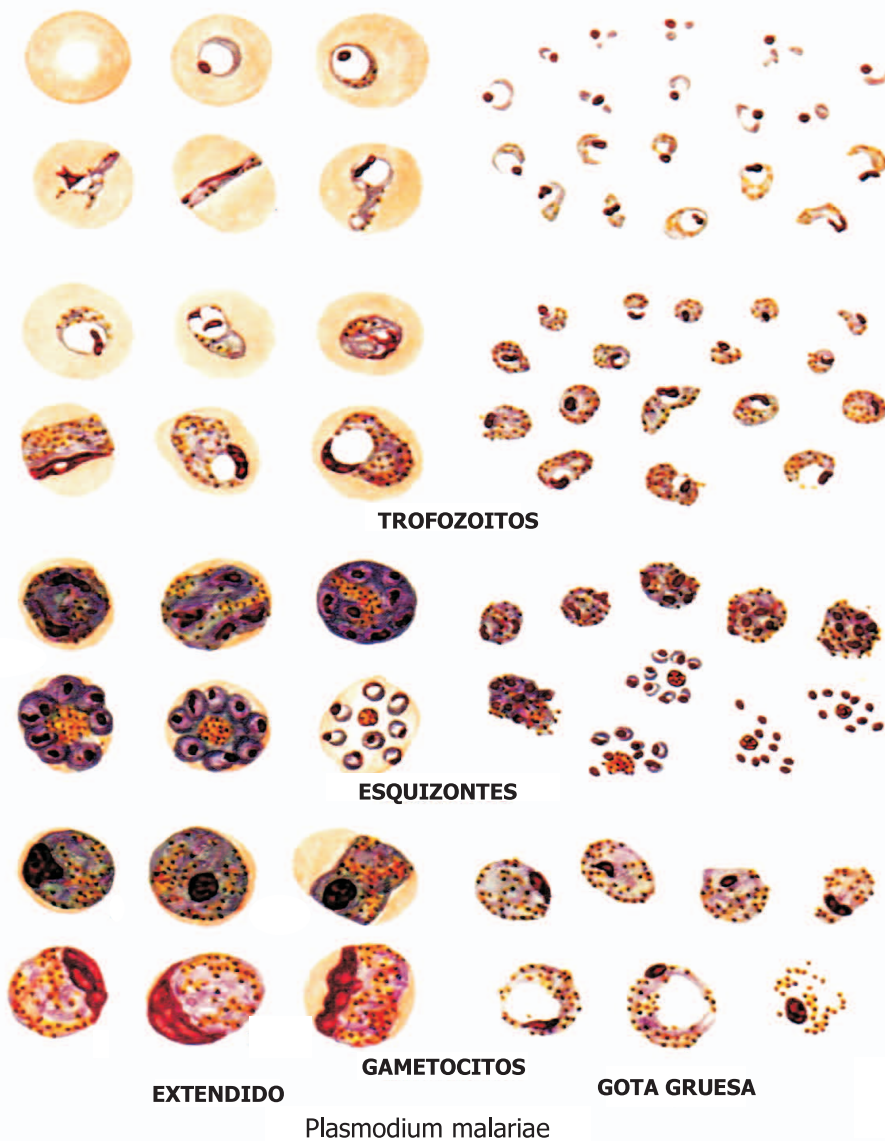
4. Microgametocitos También en forma de banana, con sus extremos redondeados, núcleo difuso, rosado pálido, citoplasma menos coloreado, de color azul grisáceo o rosado, pigmento en forma de gránulos y bastoncitos, agrupados en los dos cuartos centrales del parásito.

5. Eritrocito infectado Tamaño normal, gránulos de Maurer presentes, los cuales son más grandes, menos abundantes que los de Schüffner. Los gránulos de Maurer representan antígenos parasitarios en la superficie del eritrocito. Este presenta protrusiones en su superficie ("Knobs") las cuales se han tratado de relacionar con la adhesividad aumentada del eritrocito por el lecho vascular. La infección múltiple por trofozoítos jóvenes es frecuente.

Figura 16.1.12



SECRETARIA DE LA OMS PARA LA COORDINACION DEL ADIESTRAMIENTO
ANTIPALUDICO EN ASIA Y EL PACIFICO



MEDIOS AUXILIARES PARA EL DIAGNOSTICO DEL PALUDISMO HUMANO 4

ASPECTO DE LAS FASES DEL PARASITO EN LAS MUESTRAS DE SANGRE
(EXTENSION Y GOTA GRUESA) TEÑIDAS CON GIEMSA

(Ilustración original de Yap Loy Fong)

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 1985.

Plasmodium Malariae

1. Trofozoíto joven Forma de anillo con núcleo grueso. Círculo citoplásmico más pequeño, más grueso y más teñido. Llenan $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{3}$ del eritrocito.

2. Trofozoíto mediano Núcleo redondo, alargado o semicircular, El citoplasma de forma redondeada, angular u oval, compacto, de bordes irregulares, rodeado de pequeñas vacuolas, a veces ausentes, frecuentemente tienen formas de una banda a través del eritrocito. Gránulos de pigmento de color marrón que pueden agruparse en la periferia o en la orilla opuesta al núcleo. Pigmento más oscuro y gránulos grandes.

3. Trofozoítos maduros Núcleo a menudo alargado, contornos poco netos, citoplasma denso, compacto de contorno más irregulares que en los medianos, de forma redondeada, oblonga o en banda. Gránulos del pigmento oscuro, con tendencia a agruparse en la periferia. Casi llena el eritrocito.

4. Esquizonte pre-segmentado (inmaduro) Semejantes a los de *P. vivax*, pero el parásito es más pequeño, con menos divisiones de la cromatina cuando se acerca la segmentación y el pigmento se colecta más tardíamente.

5. Esquizontes: (maduro) De 6 a 12 merozoítos, generalmente de 8 a 10 agrupados. Pigmento central. El parásito llena el glóbulo de tamaño normal.

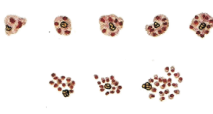
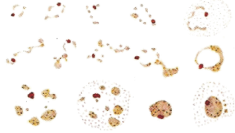
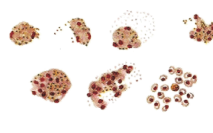
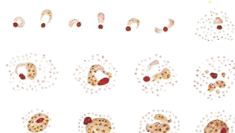
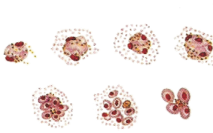
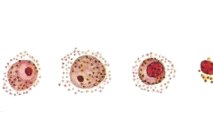
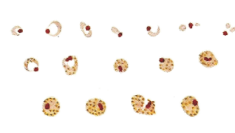
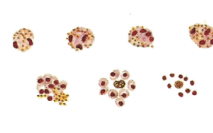
6. Macrogametocitos Núcleo y citoplasma como *P. vivax*, contorno circular u ovoide. Pigmento abundante, marrón oscuro, grueso, más abundante y prominente que en los trofozoítos maduros.

7. Microgametocitos Parecido a los *P. vivax*, excepto en tamaño, pues son más pequeños, casi llenan al glóbulo rojo.

Tabla 16.1.4



SECRETARIA DE LA OMS PARA LA COORDINACION DEL
ADIENTRAMIENTO ANTIPALUDICO EN ASIA Y EL PACIFICO

Especie		Fase del parásito en la sangre periférica		
		Trofozoito	Esquizonte	Gametocito
<i>Plasmodium falciparum</i>	En general se ven gametocitos maduros y/o trofozoitos jóvenes y en crecimiento.	 <i>Tamaño:</i> pequeño a medio; <i>número:</i> a menudo numerosos; <i>forma:</i> formas en anillo y en coma frecuentes; <i>cromatina:</i> a menudo dos manchas; <i>citoplasma:</i> regular, fino a carnoso; <i>formas maduras:</i> presentes a veces en el paludismo grave, compactas con pigmento en forma de masa o de algunos granos gruesos.	 En general asociada a numerosas formas jóvenes en anillo. <i>Tamaño:</i> pequeño, compacto; <i>número:</i> pocos, intracelulares, generalmente en el paludismo grave; <i>formas maduras:</i> 12-30 o más merozoitos en racimo compacto; <i>pigmento:</i> masa oscura única.	 Son infrecuentes las formas inmaduras de extremos puntiagudos. <i>Formas maduras:</i> redondeadas o en forma de banana; <i>cromatina:</i> masa única, bien definida; <i>pigmento:</i> disperso, grueso, riciforme; a veces hay un corpúsculo de extrusión rosado. A menudo se ven formas erosionadas que sólo tienen cromatina y pigmento.
<i>P. vivax</i>	Se ven todas las fases: punteado de Schüffner en el "fantasma" de los hematíes huéspedes, especialmente en el borde de la extensión.	 <i>Tamaño:</i> pequeño a grande; <i>número:</i> pocos o moderadamente numerosos; <i>forma:</i> a menudo anillo roto o formas irregulares; <i>cromatina:</i> única, a veces dos; <i>citoplasma:</i> irregular o fragmentado; <i>formas maduras:</i> compactas, densas; <i>pigmento:</i> disperso, fino.	 <i>Tamaño:</i> grande; <i>número:</i> pocos o moderadamente numerosos; <i>formas maduras:</i> 12-24 merozoitos, en general 16, en racimo irregular; <i>pigmento:</i> masa poco compacta.	 Las formas inmaduras son difíciles de distinguir de los trofozoitos maduros. <i>Formas maduras:</i> redondas, grandes; <i>cromatina:</i> única, bien definida; <i>pigmento:</i> disperso, fino. Hay formas erosionadas con poco citoplasma o sin citoplasma y solamente con cromatina y pigmento.
<i>P. ovale</i>	Se ven todas las fases: punteado de Schüffner muy visible en los "fantasmas" de los hematíes huéspedes, especialmente en el borde de la extensión.	 <i>Tamaño:</i> puede ser menor que en <i>P. vivax</i>; <i>número:</i> generalmente pocos; <i>forma:</i> anillo a formas redondeadas, compactas; <i>cromatina:</i> única, prominente; <i>citoplasma:</i> bastante regular, carnoso; <i>pigmento:</i> disperso, grueso.	 <i>Tamaño:</i> bastante parecido a <i>P. malariae</i>; <i>número:</i> pocos; <i>formas maduras:</i> 4-12 merozoitos, generalmente 8, en racimo poco compacto; <i>pigmento:</i> masa concentrada.	 Las formas inmaduras son difíciles de distinguir de los trofozoitos maduros. <i>Formas maduras:</i> redondas, pueden ser más pequeñas que las de <i>P. vivax</i>; <i>cromatina:</i> única, bien definida; <i>pigmento:</i> disperso, grueso. Hay formas erosionadas con cromatina y pigmento solamente.
<i>P. malariae</i>	Se ven todas las fases.	 <i>Tamaño:</i> pequeño; <i>número:</i> generalmente pocos; <i>forma:</i> de anillo a redondeada, formas compactas; <i>cromatina:</i> única, grande; <i>citoplasma:</i> regular, denso; <i>pigmento:</i> disperso, abundante, con un tinte amarillento en las formas más viejas.	 <i>Tamaño:</i> pequeño, compacto; <i>número:</i> generalmente pocos; <i>formas maduras:</i> 6-12 merozoitos, generalmente 8, en racimo poco compacto; algunos parecen carecer de citoplasma; <i>pigmento:</i> concentrado.	 Las formas inmaduras y algunas de las maduras son difíciles de distinguir de los trofozoitos maduros. <i>Formas maduras:</i> redondas, compactas; <i>cromatina:</i> única, bien definida; <i>pigmento:</i> disperso, grueso, a veces distribuido periféricamente. Hay formas erosionadas con cromatina y pigmento solamente.

MEDIOS AUXILIARES PARA EL DIAGNOSTICO DEL PALUDISMO HUMANO 8

IDENTIFICACION DE ESPECIES DE PARASITOS DEL PALUDISMO
EN LAS MUESTRAS DE SANGRE EN GOTA GRUESA TEÑIDAS CON GIEMSA
(Ilustración original de Yap Loy Fong)

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 1985.

16.2. Diagnóstico inmunológico

Los métodos inmunológicos desarrollados hasta ahora en el diagnóstico de la Malaria, tienen como propósito detectar anticuerpos contra el parásito, así como identificar antígenos circulantes del mismo. Una variedad de métodos serológicos han sido evaluados tales como la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), el Inmunoensayo Enzimático (ELISA) y la Hemaglutinación Indirecta (HAI); estos detectan anticuerpos, por lo tanto no pueden distinguir entre una infección actual o pasada. Su aplicación en el manejo y tratamiento del paciente es limitada; sin embargo tienen gran utilidad en estudios epidemiológicos. La IFI utiliza como fuente de antígeno parásitos obtenidos de pacientes infectados o de cultivos *in vitro* de *P. falciparum*, fijados a una lámina porta-objeto y posteriormente revelados con un anticuerpo fluorescente, previo tratamiento con el suero problema (Voller y Draper, 1982). El método de ELISA es el principal método de rutina serodiagnóstico ya que es relativamente fácil, tiene utilidad en estudios epidemiológicos y puede utilizarse en el despistaje de Malaria en los bancos de sangre en áreas endémicas (Bruce-Chwatt, 1986; Contreras y col., 1999).

Para la prueba de ELISA se usa habitualmente antígeno soluble, preparado a partir de estadíos asexuales de *P. falciparum*, generalmente obtenidos a partir de cultivos *in vitro* (Trager y Jensen, 1976), que cubren la placa de microtitulación. Una vez que se enfrenta el suero problema, se añade el conjugado anti-IgG o anti-IgM humanos y se revela una reacción enzima-sustrato; tiene como ventajas adicionales el poder procesarse gran número de muestras y ser cuantitativo al registrarse el grado de reacción en un espectrofotómetro. Por otro lado, pueden utilizarse como antígenos péptidos sintéticos o antígenos recombinantes como MSP-1 o CSP (Del Giudice y col., 1987; Riley y col., 1992); estos estudios permiten determinar el papel de los antígenos de plasmodios como blanco en la inmunidad protectora (Hommel y Gilles, 2005).

En contraste con los métodos que detectan anticuerpos, los que determinan la presencia de antígeno evidencian infección activa. El antígeno ideal sería aquel que no persista después que desaparezca la parasitemia, debe estar en alta concentración en la sangre y otros fluidos corporales y ser especie específico; por otro lado el ensayo debería ser fácil de realizar, de interpretar y por ende adaptable a condiciones de campo (Hommel y Gilles, 2005). Muchos métodos poseen

una o varias de estas características tales como ensayos competitivos de ELISA y RIA sin poder aplicarse bajo condiciones de campo. Recientemente, se han introducidos los ensayos inmunocromatográficos de diagnóstico rápido basados en la captura de antígeno circulante utilizando anticuerpos inmovilizados sobre una membrana de prueba (nitrocelulosa), los cuales pueden tener aplicación en el campo, especialmente en áreas de difícil acceso (Moody, 2002; Pérez y col., 2007). Estas pruebas rápidas como Parasigh® , Quorum®, e ICT® (Figuras 16.2.1. y 16.2.2.) se basan en la detección de la proteína HRP-2, la cual es una molécula exclusiva de *P. falciparum* (Howard y col., 1986, Rock y col., 1987). La PfHRP- 2 es una proteína soluble que expresan los trofozoitos y los gametocitos inmaduros, más no los gametocitos maduros, es detectada en el sobrenadante de cultivos *in vitro* ya que una cantidad importante es liberada en los cultivos cuando se rompen los esquizontes (Howard y col., 1986, Rock y col., 1987).

Estas técnicas han sido ampliamente evaluadas y en general tienen una sensibilidad superior al 90% en parasitemias superiores a 100 parásitos/ μ L y una especificidad por encima del 90%. Las primeras pruebas basadas en la HRP-2 registraron falsos positivos para muestras positivas de factor reumatoide, pues este factor se ligaba al anticuerpo de captura (Bartoloni y col., 1998a, 1998b), este problema se solventó al utilizar un anticuerpo tipo IgM en lugar de IgG; sin embargo la HRP-2 se libera a la circulación y permanece en ausencia de parasitemia luego del tratamiento antimalárico, lo cual se considera una limitación para usarla como prueba control de respuesta terapéutica.

En las evaluaciones de estas pruebas se ha encontrado que la sensibilidad del ICT para *P. falciparum* varía entre 87,8% y 100% y para *P. vivax* fluctúa de 29% a 100%, de acuerdo a si las parasitemias son menores o mayores de 500 parásitos/ μ L. La especificidad se encuentra entre 84,5% y 98.1% para *P. falciparum*, y entre 94,8% y 100% para *P. vivax* (Singh y col., 1997; Tjitra y col., 1999; Jelinek, 2001; Mendoza y col., 2007). Resultados en nuestro laboratorio registraron una sensibilidad de 96,3% para *P. vivax* en los estudios llevados a cabo en el Edo. Sucre y una sensibilidad de 81% para *P. vivax* y del 51,9% para *P. falciparum* en el Estado Amazonas; la variación en la sensibilidad dependió de la densidad parasitaria (Pabón y col., 2007) (Tabla 16.2.1.).

El ensayo OptiMAL® desarrollado por Flow Inc (figuras 16.2.1. y 16.2.2.), está basado en la detección de la deshidrogenasa láctica (de

los parásitos que infectan al hombre (pLDH)) en sangre total. La pLDH es una enzima soluble de la vía glicolítica que es expresada en altas concentraciones en todos los estadios sanguíneos del parásito (Vander y col., 1990) y se diferencia de la LDH humana (LDH) porque utiliza como cofactor el dinucleótido 3-acetil-piridin-adenina (APAD), un análogo de la nicotiamida dinucleótido (NAD) en la interconversión de lactato a piruvato. La diferenciación de los parásitos de la Malaria está basada en las diferencias antigénicas entre las isoformas de la LDH. El ensayo usa dos anticuerpos monoclonales adheridos a una tira (uno específico para la LDH de *P. falciparum* y el otro que reconoce una LDH común a las cuatro especies de plasmodios que infectan al hombre) y como anticuerpo de captura anticuerpos anti-LDH de *Plasmodium spp.* acoplados a microvesículas coloreadas en la copa de reacción (conjugado).

Las muestras de sangre que contengan pLDH reaccionan primero con el anticuerpo unido con las microvesículas (conteniendo oro coloidal), posteriormente este complejo asciende por capilaridad sobre la tira de papel donde es capturada por el anticuerpo monoclonal fijo y la reacción se evidencia por una precipitación coloreada sobre el papel. Estudios realizados con esta prueba han demostrado una sensibilidad de 66,7%-94% y 88%-94,7% y una especificidad de 100 y 99,4% para *P. vivax* y *P. falciparum* respectivamente (Palmer y col., 1998; Mendoza y col., 2007). Otros autores reportaron una sensibilidad aproximada de 96% detectando infecciones por debajo de 200 parásitos/ μ L (Piper y col., 1999). Resultados obtenidos en nuestro laboratorio con muestras procedentes del Edo. Bolívar evidenciaron una sensibilidad de 100 % para *P. vivax* y de 88,5% para *P. falciparum*. La sensibilidad de esta prueba disminuye con parasitemias de 300 parásitos o menos por μ L de sangre (Zerpa y col., 2008) (Tabla 16.2.1.).

Tabla 16.2.1
Evaluación de los ensayos rápidos para diagnóstico de Malaria
en Venezuela

	ÁREAS DE ESTUDIO	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	VPP (%)	VPN (%)	Kappa
OptiMAL®	Edos. Bolívar y Sucre	94,6	100,0	100,0	97,5	0,86
ICT NOW P.f./P.v.	Edo. Amazonas	92,0	100,0	100,0	90,2	0,85
	Edos. Amazonas y Sucre	81,4	100,0	100,0	74,3	0,75

Fuente: Pabón y col., 2007; Zerpa y col., 2008

Figura 16.2.1

MÉTODOS INMUCROMATOGRAFICOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE *PLASMODIUM*

FUNDAMENTO

PARASIGHT[®] DETECCIÓN DE LA
PROTEÍNA HRP-II DE
P.falciparum

QUORUM^{RTM} DETECCIÓN DE LA
PROTEÍNA HRP-II DE
P.falciparum

OptiMAL[®] DETECCIÓN DE LA
LACTATO
DESHIDROGENASA
DE *Plasmodium* spp.

LDH MUESTRA ●●●

ICT[®] DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA HRP-II DE *P. f* y otro Ag común a
P. v, *P. m*, *P. o*, *P. f*

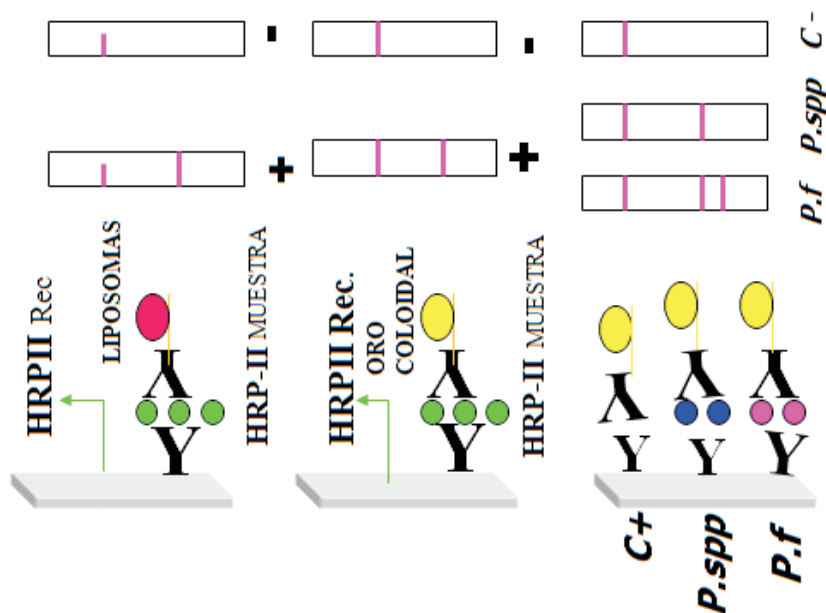
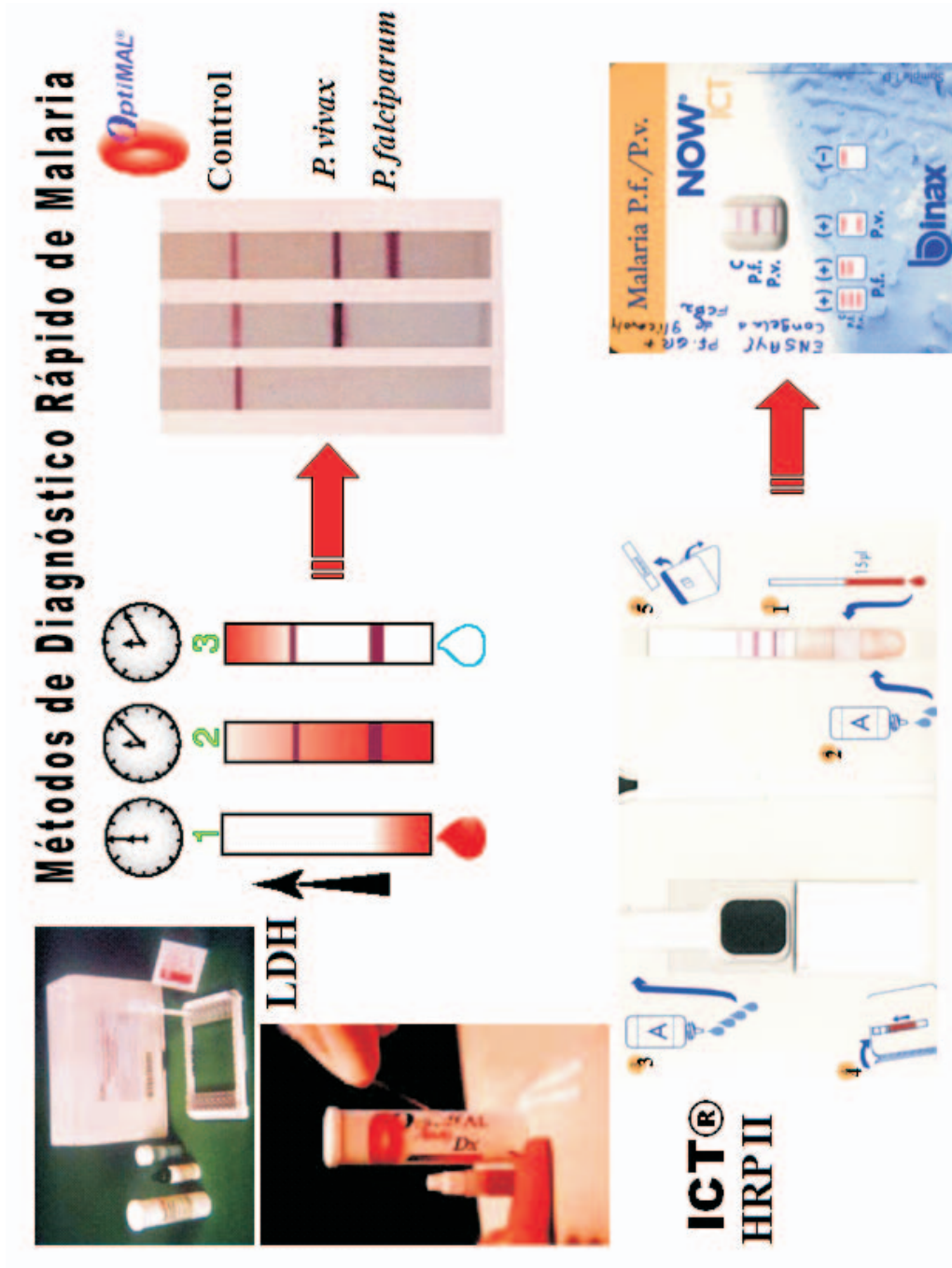


Figura 16.2.2



16.3. Diagnóstico por biología molecular

La tecnología basada en los ácidos nucleicos ofrece el potencial de mayor sensibilidad para la detección de parásitos en sangre. Dos aproximaciones han sido probadas, las pruebas de hibridación con sondas de ADN o ARN y la amplificación de secuencias específicas de los genes del parásito por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés). En las pruebas de hibridación una secuencia del ácido nucleico (oligonucleótidos) es sintetizada y marcada con ^{32}P radioactivo o con reactivos colorimétricos no radiactivos. Esta sonda es utilizada para detectar los ácidos nucleicos parasitarios, utilizando el hecho que secuencias complementarias hibridarán. Por otro lado, se amplifican secuencias específicas de los genes del parásito por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR es un método enzimático que permite replicar *in vitro* un fragmento de ADN preseleccionado. Este proceso de amplificación se lleva a cabo con dos primers (A y B) oligodesoxinucleótidos sintéticos, una polimerasa de ADN termoestable y 4 desoxirribonucleósidos trifosfato que actúan como templado de ADN. El primer (A) se aparea con la hebra 3' al final del segmento, mientras que el segundo primer (B) se aparea con la hebra en el extremo 5'. Este proceso ocurre en tres etapas (figura 16.3.1.).

Desnaturalización separación de las cadenas de ADN por ruptura de los puentes de hidrógeno por calentamiento y enfriamiento.

Alineación unión de los iniciadores o primers al molde de ADN de los templados de la hebra simple.

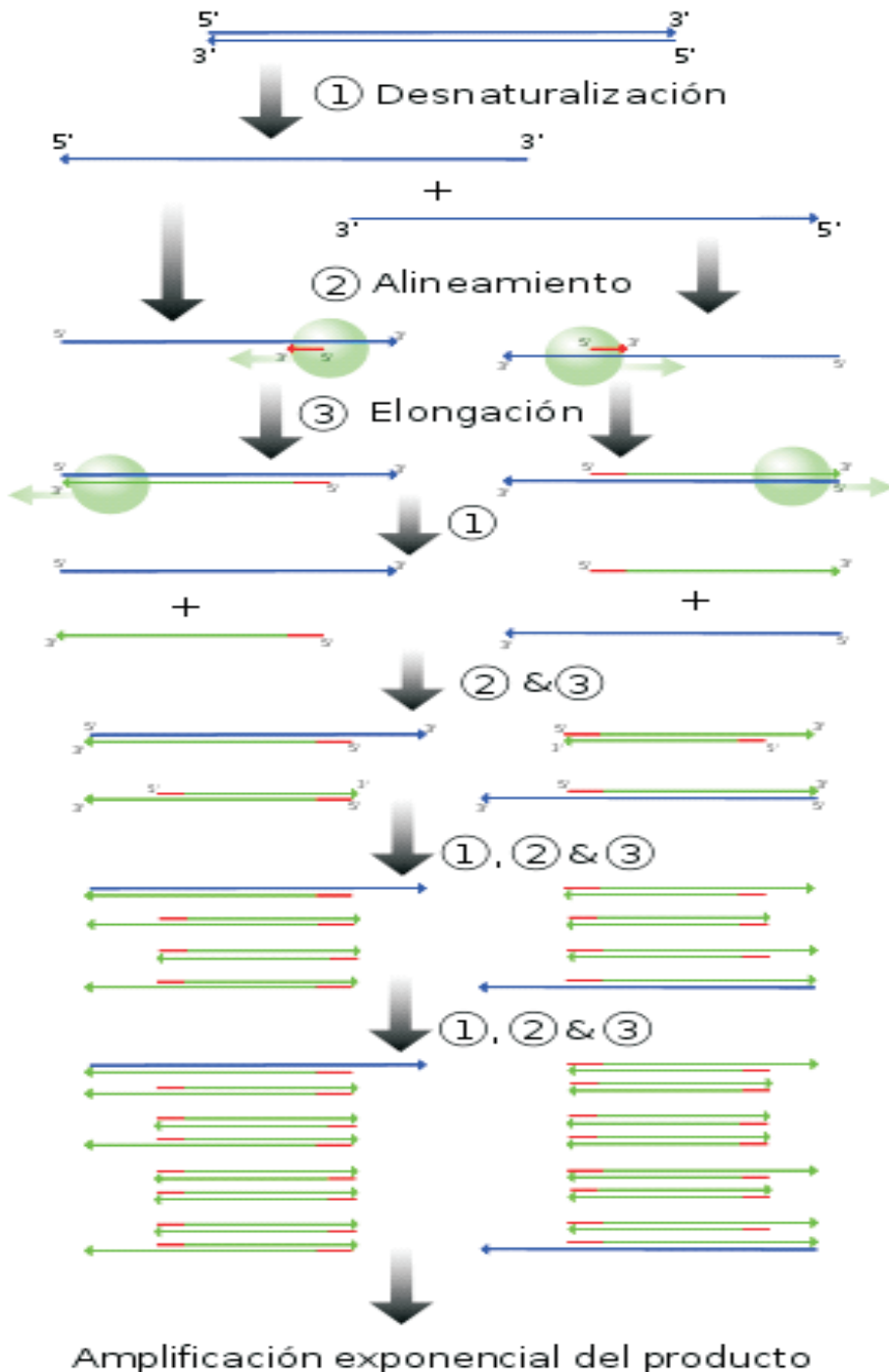
Extensión síntesis de la nueva cadena de ADN por medio de la acción de la ADN polimerasa que extiende los primers en su extremo 3' terminal, produciéndose la reacción en cadena, repitiéndose mediante ciclos de 30 a 35 veces, dando como resultado una síntesis exponencial de copias del segmento específico que se unió a los primers (Eckert, 1990; Brown, 1991).

Las copias de la secuencia blanco pueden ser detectadas mediante sondas internas o analizados en geles de electroforesis, como muestra la figura 16.3.2. De esta manera se pueden diagnosticar pequeñas cantidades de un parásito, lo que le da una alta sensibilidad a la prueba (Mullis, 1990). La ventaja principal de esta prueba es que puede detectar 2,5 a 10 parásitos/ μL de sangre (Barker y col., 1992;

Snounou y col., 1993a, 1993b; Tirashopon y col., 1994; Roper y col., 1996), lo cual corresponde a una sensibilidad 10 veces mayor que la gota gruesa manteniendo una especificidad del 100%. Investigaciones realizadas por nuestro equipo de laboratorio en comunidades del Estado Sucre en la detección de portadores asintomáticos por *Plasmodium* spp., se encontró una prevalencia de 8% de infecciones asintomáticas mediante la técnica por PCR en comparación con 1,33% por gota gruesa y extendido y OptiMAL® (Pabón, 2004).

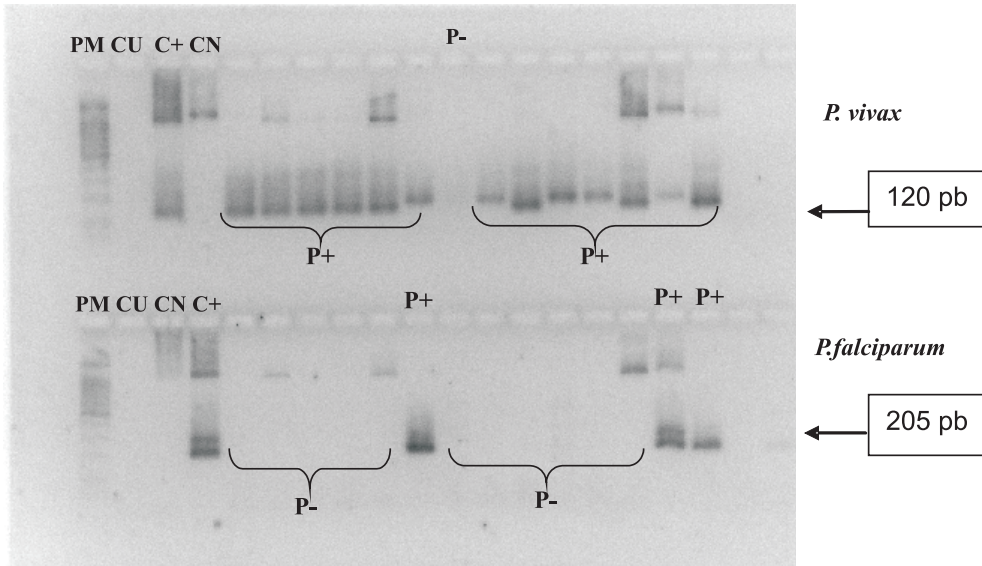
Protocolos basados en el PCR han demostrado que es el ensayo más apropiado para detectar infecciones con bajas parasitemias, por su alta sensibilidad y especificidad, y para caracterizar genéticamente a los parásitos del género *Plasmodium*; sin embargo, son pruebas difíciles de realizar bajo condiciones de campo, ya que requieren de equipos y reactivos costosos, de personal calificado y exigen la manipulación adecuada de la muestra para evitar la contaminación con ADN exógeno y la introducción de inhibidores de la reacción. De allí que esta metodología presente dificultades para ser utilizada en el campo, pero puede ser de gran utilidad en laboratorios de referencia, en estudios relacionados con la detección de infecciones ocultas, en el seguimiento de la parasitemia en los ensayos de evaluación de la fármaco-sensibilidad y en la vigilancia epidemiológica de mutaciones específicas relacionadas con la resistencia a drogas.

Figura 16.3.1
Esquema de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR



Fuente: Tomado de http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n_en_cadena_de_la_polimerasa

Figura 16.3.2
Resultados del diagnóstico de Malaria por PCR



PM: Marcador de Peso Molecular
CU: Control Universal.
CN: Control Negativo.
C+: Control Positivo.
P-: Paciente Negativo.
P+: Paciente Positivo.

17. TRATAMIENTO DE LA MALARIA

- 17.1. Pauta Nacional según la Dirección de Salud Ambiental del Ministerio del Poder Popular para la Salud.**
- 17.2. Tablas de tratamiento y dosificación exacta por peso** (Proyecto RAVREDA, Leopoldo Villegas. Recopilación de Albina Wide y Oscar Noya G.).
- 17.3. Evaluación de sensibilidad a los medicamentos antimaláricos y clasificación del grado de resistencia** (Albina Wide).

17.1 Circular N°. 00019

16 Mayo 2007

**Dirección General de Salud Ambiental, Ministerio del Poder
Popular para la Salud**

ASUNTO: COORD. EPIDEMIOLOGÍA DE LA MALARIA

REF: PAUTA NACIONAL DE TRATAMIENTOS ANTIMALÁRICOS

ENVIADO A: DIRECTORES REGIONALES DE SALUD, DIRECTORES DE
SALUD AMBIENTAL
JEFES DE SERVICIOS DE ENDEMIAS RURALES

La Malaria es la enfermedad parasitaria más importante en el mundo, debido a su amplia distribución geográfica, morbilidad, mortalidad e impacto socio-económico que produce en los países afectados. En Venezuela presenta letalidad baja, no así la morbilidad la cual es muy elevada, ocasionando repercusiones significativas en la salud y en los aspectos socio-económicos.

Desde hace más de diez años, la cloroquina sustituyó a la sulfadoxina-pirimetamina en el tratamiento de *P. falciparum* y junto a la primaquina fueron los medicamentos de primera línea empleados en el tratamiento de las infecciones para todas las especies de Malaria en el país. El hallazgo de "cepas" de *P. falciparum* resistentes a los medicamentos antimaláricos, llevó a plantear la necesidad de realizar pruebas "in vivo" de medicamentos, manteniendo monitoreo, a fin de evaluar cambios de esquemas de tratamiento de esta parasitosis, hacia drogas alternativas diferentes a la cloroquina.

Para ello se realizó a nivel continental un proyecto de investigación denominado Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a las Drogas Antimaláricas (RAVREDA), que en Venezuela se efectuó en los estados: Sucre, Bolívar y Amazonas, considerando como criterios: un umbral superior de fracasos clínicos sobre el cual es necesario cambiar el medicamento en estudio, mayor a 25% y un umbral inferior de fracasos clínicos por debajo del cual se acepta mantener el uso del medicamento, menor a 10%. Planteándose la evaluación de: cloroquina, derivados de la artemisinina, mefloquina y lumefantrina contra *P. falciparum*, y, cloroquina y primaquina para *P. vivax*.

Los resultados confirmaron que para los tres estados existe una sensibilidad superior al 90% de *P. vivax* al tratamiento con cloroquina. En cuanto a *P. falciparum*, los niveles de resistencia a la cloroquina son elevados en los estados Bolívar y Amazonas. También se detectó un nivel bajo de resistencia a la quinina para *P. falciparum*, que si bien este nivel no es suficiente para descartar dicha droga en la terapéutica, si lo es el grado de dificultad en cuanto a la “adherencia” de los pacientes al esquema terapéutico con ella, motivado principalmente a que debe ser administrada varias veces al día durante un número relativamente prolongado de días.

De acuerdo a estos resultados, la Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio del Poder Popular para La Salud se mantiene indicando a las Direcciones Regionales de Salud y homólogos de las diferentes entidades federales del país, esquemas de tratamiento de primera, segunda línea y tercera línea para *P. falciparum*; estas dos últimas serán usados cuando: a) luego de un recuento parasitario inicial, a las 48 horas de instaurada la terapéutica de primera línea, la parasitemia no desaparece o no disminuye en una proporción inferior a 75% de la inicial. b) En pacientes a quienes los fármacos de los esquemas de primera línea les produzcan efectos adversos (nauseas, vómitos, diarrea, trastornos neuropsiquiátricos, cardiotóxicos y /o reacciones dermatológicas severas) que contraindiquen su empleo. c) Aparición de recidiva de la enfermedad en un lapso de tiempo inferior al tiempo de vida media de los medicamentos de primera (10 a 30 días).

Cumpliendo con su carácter normativo y rector, esta Dirección General remite los esquemas terapéuticos antimaláricos e indica agregar primaquina en los esquemas de tratamiento para la Malaria, medicamento de comprobada acción gametocitocida, para garantizar la eliminación rápida de esta forma evolutiva de los parásitos en los pacientes, recordando que son los gametocitos la forma infectante para los mosquitos y es a través de estos como se mantiene la transmisión. Aunado al efecto preventivo de las recidivas (recaídas) a *P. vivax*.

La vía de administración de las drogas en la Malaria no complicada es la vía oral (VO).

Tratamiento general para las infecciones de Malaria en todo el territorio nacional

I.- Tratamiento general para las infecciones de Malaria no complicada

Infección por *Plasmodium vivax*; Combinación de cloroquina y primaquina

Cloroquina: dosis total 25 mg base por Kg peso, para administrar en tres (3) días.

Primaquina: dosis total 3,5 mg base por Kg peso, para administrar en catorce (14) días consecutivos, a razón de 0,25 mg /Kg/ Peso por 14 días.

Medicamento	N° días	Días		
		Día 1	Día 2	Día 3
Cloroquina	3	10 mg/Kg peso	10 mg/Kg peso	5 mg/Kg peso
Primaquina	14	0,25 mg/Kg peso	0,25 mg/Kg peso	Hasta el día 14: 0,25 mg/Kg peso/ día

En ningún caso se empleará primaquina en embarazadas ni en menores de 6 meses.

Infección por *Plasmodium falciparum*

Primera línea

Se indica como pauta terapéutica de **primera línea** para infecciones por ***P. falciparum*** la combinación de artesunato de sodio, mefloquina clorhidrato y primaquina:

Artesunato de sodio: dosis total 12 mg por Kg peso, para administrar en tres (3) días.

Mefloquina clorhidrato: dosis total 25 mg por kg peso, para administrar en dos (2) días.

Primaquina: dosis única total 0,75 mg base por kg peso, para administrar en una sola toma en un solo día.

Tabla para la aplicación de la pauta terapéutica de primera línea para infecciones por ***P. falciparum***:

Medicamento	N° días	Días		
		Día 1	Día 2	Día 3
Artesunato	3	4 mg/kg peso	4 mg/kg peso	4 mg/kg peso
Mefloquina	2	--	15 mg/kg peso	10 mg/kg peso
Primaquina	1	0,75 mg/kg peso	--	--

Segunda Línea

Se indica como pauta terapéutica de segunda línea para infecciones por *P. falciparum*:

Combinación de ARTEMETHER + LUMEFANTRINA (Coartem, Lu-marten ®)

En mujeres embarazadas o que estén lactando y presenten infecciones de Malaria, está contraindicado el uso de la lumenfantrina, primaquina y doxiciclina.

La dosificación por Kg peso, es calculada sobre la base de rangos de peso, de acuerdo a tablas de orientación para facilitar su administración, tal como la que se muestra a continuación:

Peso en Kg	N° de tabletas por dosis Cada 12 Horas por tres días	Tabletas conteniendo por dosis: Artemether (A) + Lumefantrina (L)
Menores de 10 Kg	No recomendado	0
10 Kg – 14 Kg	1	20 mg A + 120 mg L
15 Kg – 24 Kg	2	40 mg A + 240 mg L
25 Kg – 34 Kg	3	60 mg A + 360 mg L
Mayores de 35 Kg	4	80 mg A + 480 mg L



Medicamento	Nº Días	Días
		Día 1 al Día 7
Quinina	7	10 mg/kg peso/dosis cada 8 horas
Clindamicina	7	5 mg/kg peso cada 8 horas
Primaquina	1	0,75 mg/Kg peso dosis única

○ la combinación:

Se agregará **primaquina** al cuarto día de tratamiento como DOSIS ÚNICA TOTAL de 0,75 mg base por Kg peso, para administrar en una sola toma, en un solo día.

Tercera Línea

Se indica como pauta terapéutica de **Tercera Línea**, para infecciones por ***P. falciparum***:

Medicamento	Nº Días	Días
		Día 1 al Día 7
Quinina	7	10 mg/kg peso/dosis cada 8 horas
Doxiciclina	7	4 mg/kg peso / dosis única diaria
Primaquina	1	0,75 mg/Kg peso dosis única

Tratamiento para Malaria no complicada en mujeres embarazadas y en lactantes menores de seis (6) meses

Infección por *Plasmodium vivax*:

Medicamento	N° días	Días		
		Día 1	Día 2	Día 3
Cloroquina	3	10 mg/kg peso	10 mg/kg peso	5 mg/kg peso

En ningún caso se empleará primaquina en embarazadas ni en menores de 6 meses

Infección por ***Plasmodium falciparum***: Se indica como pauta terapéutica para infecciones por ***P. falciparum*** en mujeres embarazadas (según edad de gestación), en casos de sospecha de embarazo y en lactantes menores de seis (6) meses de edad o con peso inferior a 6 Kg. En embarazadas la elección de las drogas se hará de acuerdo a los trimestres de embarazo tal como se indican en la tabla y en los lactantes menores de seis (6) meses se seleccionarán los medicamentos y dosis de manera similar a las embarazadas del primer trimestre:

Trimestre	Medicamento	N° días	Días			
			Día 1	Día 2	Día 3	Día 4-7
Primer Trimestre	Quinina + Clindamicina Vía Oral	7	10 mg/kg peso c/8 h	10 mg/kg peso c/8 h	10 mg/kg peso c/8 h	10 mg/kg peso c/8 h
		7	5 mg/kg peso c/8 h	5 mg/kg peso c/8 h	5 mg/kg peso c/8 h	5 mg/kg peso c/8 h
Segundo y Tercer Trimestre	Artesunato + Mefloquina	3	4 mg/kg peso	4 mg/kg peso	4 mg/kg Peso	—
		2		4 mg/kg peso	10 mg/kg Peso	—

En **mujeres que estén lactando** y presenten infecciones de Malaria, no está contraindicado el uso de **artesanato y mefloquina**. Por tal motivo, pueden indicarse en estas pacientes los esquemas terapéuticos descritos, a las dosis recomendadas. Situación contraria en el caso de la **lumefantrina** y la **doxiclina**, las cuales están contraindicadas.



Infección por ***Plasmodium Malariae***, pauta terapéutica:

Medicamento	N° días	Días			
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4º-7º
Cloroquina	3	10 mg/kg peso	10 mg/kg peso	5 mg/kg peso	--
Primaquina	7	0,5 mg/kg peso	0,5 mg/kg peso	0,5 mg/kg peso	0,5 mg/kg peso

Infecciones mixtas por ***Plasmodium falciparum*** y ***Plasmodium vivax***; pauta terapéutica:

Se indica como pauta terapéutica de **primera línea** para infecciones mixtas por ***Plasmodium falciparum*** y ***Plasmodium vivax*** la pauta terapéutica la combinación de artesunato de sodio, mefloquina clorhidrato y primaquina:

Artesunato de sodio: dosis total 12 mg por Kg peso, para administrar en tres (3) días.

Mefloquina clorhidrato: dosis total 25 mg por Kg peso, para administrar en dos (2) días.

Primaquina: dosis total para administrar durante 14 días: 3,5 mg por kg peso, a razón de 0,25 mg base por kg peso, para administrar en una sola toma diaria durante 14 días.

Dosificación según la tabla siguiente:

Medicamento	N° días	Días			
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4º-14º
Artesunato	3	4 mg/kg peso	4 mg/kg peso	4 mg/kg peso	--
Mefloquina	2	--	15 mg/kg peso	10 mg/kg peso	--
Primaquina	14	0,25 mg/kg peso	0,25 mg/kg peso	0,25 mg/kg peso	0,25 mg/kg peso

II.- Pacientes con Malaria grave y/o complicada

En la mayoría de los casos, para todas las especies en Venezuela, la Malaria aparece en presentaciones clínicas que no requieren hos-

pitalización y por tanto la quimioterapia específica se administra de forma ambulatoria. Sin embargo, cuando aparezcan signos y síntomas diferentes a los cuadros clínicos clásicos, que hagan pensar en algún compromiso de las áreas neurológicas, respiratorias, renales gástricas y hemodinámicas principalmente, la conducta inmediata debe ser la hospitalización de los pacientes para efectuárseles una minuciosa y continua vigilancia de los signos vitales y hemodinámicos, pues en pocas horas estos pueden alterarse con complicaciones tales, que ocasionen la muerte de no ser corregidas a tiempo.

De allí que el mantenimiento de las funciones metabólicas generales es tan importante como la instauración inmediata de la quimioterapia específica. Por ello, la estabilización del estado general de los pacientes debe hacerse simultáneo a la administración del tratamiento específico y **son los médicos tratantes: intensivistas, internistas, pediatras, infectólogos, gineco-obstetras y demás especialistas, los que adecuarán las conductas terapéuticas individualizadas a cada caso.**

Se debe tener siempre presente que la Malaria causante de complicaciones que pueden poner en peligro la vida de los pacientes mayormente es a la especie *P. falciparum*. Sin embargo el paludismo por *P. vivax* puede ser mortal en pacientes, bien sea por ruptura espontánea o traumática del bazo, complicaciones respiratorias y en aquellos afectados por anemia grave y/o con enfermedades metabólicas de base, especialmente en debilitados y mal nutridos. El paludismo por transfusión sanguínea, en todas las especies de Malaria, puede resultar letal en pacientes con trastornos inmunológicos.

Infección grave o complicada por ***Plasmodium falciparum***:

Esquema 1: Diclorhidrato de Quinina

- a) 20 mg de sal/kg, dosis de ataque, en suero salino glucosado al 5%, administrados en perfusión intravenosa durante 4 horas.
- b) A las 8 horas después de iniciada la dosis de ataque, administrar dosis de mantenimiento de diclorhidrato quinina (10 mg/kg en suero salino glucosado a la dilución antes mencionada) por perfusión intravenosa durante 4 horas. Esta dosis de mantenimiento deberá repetirse cada 8 horas, calculadas a partir del comienzo de la perfusión precedente (por ej., a las 8 h., las 16 h., las 24 h.), hasta que el paciente tolere la vía oral, manteniendo el tratamiento por ocho (8) días.

Consideraciones especiales referentes al fármaco

- 1) En los pacientes que necesiten más de 48 horas de terapia parenteral, redúzcase la dosis de mantenimiento de quinina luego del segundo día de tratamiento continuo (es decir a 5 mg de sal/kg cada 8 horas).
- 2) Las dosis diarias totales de sal de quinina intravenosa serían: Día 0 (primer día de tratamiento): 30 a 40 mg/kg. Día 1 (segundo día de tratamiento): 30 mg/kg. Día 2 y siguientes: 15 mg/kg.
- 3) No suele ser necesario administrar quinina intravenosa más de 4 ó 5 días. Puede ser más cómodo administrar la quinina por perfusión continua. (La dosificación de gota a gota no debe pasar de 5 mg/kg por hora). Una vez que los pacientes mejoren sus condiciones médicas generales y toleren la vía oral, se indicará sulfato de quinina a razón de 10 mg/kg cada 8 horas, hasta completar como mínimo 8 días de terapia con quinina por cualquier vía (endovenosa y oral). Debe indicarse además, medicamentos protectores de la mucosa gástrica.
- 4) No debe administrarse dosis de ataque a los enfermos que hayan recibido quinina o quinidina en las 24 horas precedentes, o mefloquina en los 7 días precedentes.
- 5) La hipoglicemia es una importante manifestación clínica de la Malaria, esta puede exacerbarse con la administración de la quinina vía endovenosa; por lo tanto: la vigilancia continua de la glicemia es primordial (recomendable cada 4 horas como mínimo).
- 6) Las soluciones parenterales preparadas con quinina, deben protegerse de la luz solar.

Esquema 2: artemether

- a) Día 0 (Primer día): 3,2 mg/kg, como dosis de ataque, administrado por vía intramuscular.
- b) Días 1, 2, 3 y 4 (del segundo al quinto día), 1,6 mg/kg por día, vía intramuscular.

Consideraciones especiales referentes al fármaco

- 1) Es recomendable aplicar las dosis intramusculares diarias totales, fraccionadas en dos regiones corporales distintas al mismo tiempo (Por Ejem. Ambos glúteos o cara anterior de ambos muslos).
- 2) En pacientes con shock hipovolémico o en los que se sospeche alguna deficiencia en la perfusión tisular, se debe elegir la aplicación en varias áreas prefiriéndose la cara anterior de los muslos.

Infección grave o complicada por *Plasmodium vivax*:

En los casos de infecciones complicadas a *P. vivax*, los antimaláricos indicados son los mismos que para las complicadas a *P. falciparum* y en igual dosificación. Cuando los pacientes mejoren sus condiciones físicas generales y toleren la vía oral, se agregará 3,5 mg por Kg peso de primaquina vía oral, a distribuir en 7 días.

Consideraciones generales del manejo de pacientes con Malaria Grave o Complicada:

- 1) Debe mantenerse una estricta vigilancia de las funciones metabólicas generales, esta es tan importante como la instauración inmediata de la quimioterapia específica. Por ello, las medidas generales de mantenimiento del estado general de los pacientes deben aplicarse simultáneas a la administración del tratamiento específico adecuándose las conductas terapéuticas individualizadas a cada caso, de acuerdo a la clínica de los pacientes.
- 2) La hipoglicemia es una importante manifestación clínica de la Malaria, por lo tanto la vigilancia de la glicemia es primordial, especialmente en mujeres embarazadas.
- 3) La gran mayoría de los fármacos antimaláricos administrados por vía oral son irritantes de la mucosa gástrica. Por lo tanto habrá pacientes quienes siendo inicialmente catalogados de padecer una Malaria no complicada, presentarán luego emesis epigastralgias y otros síntomas gastrointestinales. Protectores gástricos deben ser indicados al inicio de la terapéutica antimalárica y antieméticos, de ser necesarios.
- 4) Es importante además, el monitoreo diario de la parasitemia, para valorar la respuesta a los fármacos antimaláricos.

La presente circular sustituye las anteriores, referidas a terapéutica antimalárica.

Dra. Vilma del Valle Pacheco Amaro
Directora General (e) de Salud Ambiental
Gaceta Oficial N°. 39.261 de fecha 10/09/09
Resolución N°. 231 de fecha 09/09/09

17.2 Tratamiento (Proyecto RAVREDA)

Esquema terapeutico por peso para el tratamiento de la Malaria no complicada en Venezuela

A. Tratamiento de la Malaria a *P. vivax*

Cloroquina :25 mg/kg-peso por 3 días divididos en 10,10 y 5 mg/kg-p
Primaquina : 0,25 mg/kg- peso por 14 días

B. Tratamiento de la Malaria por *P. falciparum*

Primera línea

Artesunato : 12 mg/kg-peso dividido en tres dosis (tres días)
4 mg/kg-p D0,D1 y D2 y
Mefloquina: 15 - 25 mg/kg-peso dividido en dos dosis (2 días)
15 mg/kg-peso D1 y 10 mg/kg de peso D2

Segunda línea

Quinina : 10 mg/kg-peso/dosis cada 8 horas por 3 días
y
Doxiciclina (3 días)
Clindamicina (5 días)

Quinina 10 mg/kg-peso/dosis cada 8 horas por 7 días
y
Tetraciclina (7 días)

B.1.-Malaria Severa

Quinina

Adultos: 20mg/Kg-p (droga base) diluída en 500 mL de solución glucosada administrada en 3-4 horas. Luego repetir 10 mg/Kg-p cada 8 horas.

Niños: 8,2 mg/-p/v.o. cada 8 horas por 7-10 días (equivale a 10 mg de sulfato de quinina).

Artesunato

Niños y adultos: 3,2 mg/Kg-p/i.v. - i.m. primer día seguido por 1,6 mg/Kg-p día por 5-7 días.

Mefloquina

Adultos: 25 mg/Kg-p en una sola dosis sin superar 1250 mg/día.

Dosis de Primaquina

Primaquina: Presentación tabletas de 5 y 15 mg

Dosis: 0,3 mg/kg-peso/día por 14 días (*P. vivax*)

Peso en Kg-p	Tabletas 5 mg	Tabletas 15 mg
5 a 14,9	1	
15 a 26,9	1 1/2	
27 a 38,9		1
39 a 80,9		1 1/2
61 a 104,9		2
105 a 120,9		2 1/2

Para *Plasmodium vivax* el tratamiento con primaquina es de 14 días, mientras que:

para *P. falciparum* y *P. Malariae* será solo de 1 día

para *P. falciparum* y *P. Malariae* será solo de 1 día

Dosis de cloroquina

La tableta de Cloroquina (fosfato) contiene 150 mg de cloroquina base. La suspension de (50mg/mL) se prepara macerando una tableta de fosfato de cloroquina y disolviéndola en 3 mL de agua. La dosis total es de 25 mg/kg de peso, administrado en 3 días así: 10, 10 m y 5 mg/kg-p.

Tableta de Cloroquina en mg base 150

Suspension de Cloroquina a concentracion en mg/mL de 50

Peso Kg-p	Dosis Total 25mg/Kg-p	Volúmen de suspensión en mL	Día 1 10mg/Kg-p	Día 2 10 mg/Kg-p	Día 3 5 mg/Kg-p
5	125	2,5	1	1	0,50
6	150	3	1,2	1,2	0,60
7	175	3,5	1,4	1,4	0,70
8	200	4	1,6	1,6	0,80
9	225	4,5	1,8	1,8	0,90
10	250	5	2	2	1,00
11	275	5,5	2,2	2,2	1,10
12	300	6	2,4	2,4	1,20
13	325	6,5	2,6	2,6	1,30
14	350	7	2,8	2,8	1,40

Peso Kg-p	Dosis Total 25mg/Kg-p	Número total de Tabletas	Día 1 10mg/Kg-p	Día 2 10 mg/Kg-p	Día 3 5 mg/Kg-p
15	375	2,5	1	1	½
16	400	2,5	1	1	½
17	425	3	1 ¼	1	½
18	450	3	1 ¼	1	½
19	475	3	1 ¼	1	½
20	500	3,5	1 ½	1 ½	½
21	525	3,5	1 ½	1 ½	½
22	550	3,5	1 ½	1 ½	½
23	575	4	1 ½	1 ½	1
24	600	4	1 ½	1 ½	1
25	625	4	1 ½	1 ½	1
26	650	4,5	1 ¾	1 ¾	1
27	675	4,5	1 ¾	1 ¾	1
28	700	4,5	1 ¾	1 ¾	1
29	725	5	2	2	1
30	750	5	2	2	1
31	775	5	2	2	1
32	800	5,5	2 ¼	2 ¼	1
33	825	5,5	2 ¼	2 ¼	1

Peso Kg-p	Dosis Total 25mg/Kg-p	Número total de Tabletas	Día 1 10mg/Kg-p	Día 2 10 mg/Kg-p	Día 3 5 mg/Kg-p
34	850	5.5	2 ¼	2 ¼	1 ¼
35	875	6.0	2 ¼	2 ¼	1 ½
36	900	6.0	2 ¼	2 ¼	1 ½
37	925	6.0	2 ¼	2 ¼	1 ½
38	950	6,5	2 ½	2 ½	1 ½
39	975	6,5	2 ½	2 ½	1 ½
40	1000	6,5	2 ½	2 ½	1 ½
41	1025	7	3	3	1
42	1050	7	3	3	1
43	1075	7	3	3	1
44	1100	7,5	3	3	1 ½
45	1125	7,5	3	3	1 ½
46	1150	7,5	3	3	1 ½
47	1175	8	3 ¼	3 ¼	1 ½
48	1200	8	3 ¼	3 ¼	1 ½
49	1225	8	3 ¼	3 ¼	1 ½
50	1250	8,5	3 ½	3 ½	1 ½
51	1275	8,5	3 ½	3 ½	1 ½
52	1300	8,5	3 ½	3 ½	1 ½
53	1325	9	3 ½	3 ½	2
54	1350	9	3 ½	3 ½	2
55	1375	9	3 ½	3 ½	2
56	1400	9,5	3 ¾	3 ¾	2
57	1425	9,5	3 ¾	3 ¾	2
58	1450	9,5	3 ¾	3 ¾	2
59	1475	10	4	4	2
60	1500	10	4	4	2
61	1525	10	4	4	2
62	1550	10,5	4 ¼	4 ¼	2
63	1575	10,5	4 ¼	4 ¼	2
64	1600	10,5	4 ¼	4 ¼	2
65	1625	11	4 ½	4 ½	2
66	1650	11	4 ½	4 ½	2
67	1675	11	4 ½	4 ½	2
68	1700	11,5	4 ½	4 ½	2 ½
69	1725	11,5	4 ½	4 ½	2 ½
70	1750	11,5	4 ½	4 ½	2 ½
71	1775	12	4 ¾	4 ¾	2 ½

72	1800	12	4 $\frac{3}{4}$	4 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
73	1825	12	4 $\frac{3}{4}$	4 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
74	1850	12,5	5	5	2 $\frac{1}{2}$
75	1875	12,5	5	5	2 $\frac{1}{2}$
76	1900	12,5	5	5	2 $\frac{1}{2}$
77	1925	13	5 $\frac{1}{4}$	5 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{1}{2}$

Peso Kg-p	Dosis Total 25mg/Kg-p	Número total de Tabletas	Día 1 10mg/Kg-p	Día 2 10 mg/Kg-p	Día 3 5 mg/Kg-p
78	1950	13	5 $\frac{1}{4}$	5 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
79	1975	13	5 $\frac{1}{4}$	5 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
80	2000	13,5	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
81	2025	13,5	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
82	2050	13,5	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
83	2075	14	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	3
84	2100	14	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	3
85	2125	14	5 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	3
86	2150	14,5	5 $\frac{3}{4}$	5 $\frac{3}{4}$	3
87	2175	14,5	5 $\frac{3}{4}$	5 $\frac{3}{4}$	3
88	2200	14,5	5 $\frac{3}{4}$	5 $\frac{3}{4}$	3
89	2225	15	6	6	3
90	2250	15	6	6	3
91	2275	15	6	6	3
92	2300	15,5	6 $\frac{1}{4}$	6 $\frac{1}{4}$	3
93	2325	15,5	6 $\frac{1}{4}$	6 $\frac{1}{4}$	3
94	2350	15,5	6 $\frac{1}{4}$	6 $\frac{1}{4}$	3
95	2375	16	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3
96	2400	16	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3
97	2425	16	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3
98	2450	16,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$
99	2475	16,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$
100	2500	16,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$
101	2525	17	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4
102	2550	17	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4
103	2575	17	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4
104	2600	17,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$
105	2625	17,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$
106	2650	17,5	6 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$
107	2675	18	7	7	4
108	2700	18	7	7	4

109	2725	18	7	7	4
110	2750	18,5	7	7	4 ½
111	2775	18,5	7	7	4 ½
112	2800	18,5	7	7	4 ½
113	2825	19	7	7	5
114	2850	19	7	7	5
115	2875	19	7	7	5
116	2900	19,5	7	7	5 ½
117	2925	19,5	7	7	5 ½
118	2950	19,5	7	7	5 ½
119	2975	20	7	7	6
120	3000	20	7	7	6

Para el tratamiento de la Malaria por *P. falciparum*

Mefloquina: 1 tableta contiene en mg 250

La dosis total es de 25 mg/kg de peso, administrado en dosis : 1er día (15 mg/kg de peso).

2do día (10 mg/kg de peso)

Dosis total de
mefloquina por kg-p
de peso
25

1ra. dosis en
mg/kg-p
15

2da. dosis en
mg/kg-p
10

Peso en Kg-p	Dosis Total 25 mg/kg-p	Dosis total de Tableta(s)	1ra. dosis 15 mg/kg-p peso Tableta	2da. dosis 10 mg/kg-p peso Tableta
10	250	1	½	½
11	275	1	½	½
12	300	1 ¼	¾	½
13	325	1 ¼	¾	½
14	350	1 ½	1	½
15	375	1 ½	1	½
16	400	1 ½	1	½
17	425	1 ¾	1	¾
18	450	1 ¾	1	¾
19	475	2	1 ¼	¾
20	500	2	1 ¼	¾
21	525	2	1 ¼	¾

22	550	2 ¼	1 ¼	1
23	575	2 ¼	1 ¼	1
24	600	2 ½	1 ½	1
25	625	2 ½	1 ½	1
26	650	2 ½	1 ½	1
27	675	2 ¾	1 ½	1 ¼
28	700	2 ¾	1 ½	1 ¼
29	725	3	1 ¾	1 ¼
30	750	3	1 ¾	1 ¼
31	775	3	1 ¾	1 ¼
32	800	3 ¼	2	1 ¼
33	825	3 ¼	2	1 ¼
34	850	3 ½	2	1 ½
35	875	3 ½	2	1 ½
36	900	3 ½	2	1 ½
37	925	3 ¾	2 ¼	1 ½
38	950	3 ¾	2 ¼	1 ½
39	975	4	2 ½	1 ½
40	1000	4	2 ½	1 ½
41	1025	4	2 ½	1 ½
42	1050	4 ¼	2 ½	1 ¾
43	1075	4 ¼	2 ½	1 ¾

Peso en Kg-p	Dosis Total 25 mg/kg-p	Dosis total de Tableta(s)	1ra dosis 15 mg/kg-p peso Tableta	2da dosis 10 mg/kg-p peso Tableta
44	1100	4 ½	2 ¾	1 ¾
45	1125	4 ½	2 ¾	1 ¾
46	1150	4 ½	2 ¾	1 ¾
47	1175	4 ¾	3	1 ¾
48	1200	4 ¾	3	1 ¾
49	1225	5	3	2
50	1250	5	3	2
51	1275	5	3	2
52	1300	5 ¼	3	2 ¼
53	1325	5 ¼	3	2 ¼
54	1350	5 ½	3 ¼	2 ¼
55	1375	5 ½	3 ¼	2 ¼
56	1400	5 ½	3 ¼	2 ¼

57	1425	5 $\frac{3}{4}$	3 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{4}$
58	1450	6	3 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
59	1475	6	3 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
60	1500	6	3 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
61	1525	6	3 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
62	1550	6 $\frac{1}{4}$	3 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
63	1575	6 $\frac{1}{4}$	3 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{2}$
64	1600	6 $\frac{1}{2}$	4	2 $\frac{1}{2}$
65	1625	6 $\frac{1}{2}$	4	2 $\frac{1}{2}$
66	1650	6 $\frac{1}{2}$	4	2 $\frac{1}{2}$
67	1675	6 $\frac{3}{4}$	4	2 $\frac{3}{4}$
68	1700	6 $\frac{3}{4}$	4	2 $\frac{3}{4}$
69	1725	7	4 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{3}{4}$
70	1750	7	4 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{3}{4}$
71	1775	7	4 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{3}{4}$
72	1800	7 $\frac{1}{4}$	4 $\frac{1}{4}$	3
73	1825	7 $\frac{1}{4}$	4 $\frac{1}{4}$	3
74	1850	7 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$	3
75	1875	7 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$	3
76	1900	7 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$	3
77	1925	7 $\frac{3}{4}$	4 $\frac{3}{4}$	3
78	1950	7 $\frac{3}{4}$	4 $\frac{3}{4}$	3
79	1975	8	4 $\frac{3}{4}$	3 $\frac{1}{4}$
80	2000	8	4 $\frac{3}{4}$	3 $\frac{1}{4}$

Peso en Kg-p	Dosis Total 25 mg/kg-p	Dosis total de Tableta(s)	1ra dosis 15 mg/kg-p peso Tableta	2da dosis 10 mg/kg-p peso Tableta
81	2025	8	4 $\frac{3}{4}$	3 $\frac{1}{4}$
82	2050	8 $\frac{1}{4}$	5	3 $\frac{1}{4}$
83	2075	8 $\frac{1}{4}$	5	3 $\frac{1}{4}$
84	2100	8 $\frac{1}{2}$	5	3 $\frac{1}{2}$
85	2125	8 $\frac{1}{2}$	5	3 $\frac{1}{2}$
86	2150	8 $\frac{1}{2}$	5	3 $\frac{1}{2}$
87	2175	8 $\frac{3}{4}$	5 $\frac{1}{4}$	3 $\frac{1}{2}$
88	2200	8 $\frac{3}{4}$	5 $\frac{1}{4}$	3 $\frac{1}{2}$
89	2225	9	5 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$
90	2250	9	5 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$
91	2275	9	5 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$

92	2300	9 ¼	5 ½	3 ¾
93	2325	9 ¼	5 ½	3 ¾
94	2350	9 ½	5 ¾	3 ¾
95	2375	9 ½	5 ¾	3 ¾
96	2400	9 ½	5 ¾	3 ¾
97	2425	9 ¾	5 ¾	4
98	2450	9 ¾	5 ¾	4
99	2475	10	6	4
100	2500	10	6	4
101	2525	10	6	4
102	2525	10	6	4
103	2575	10 ¼	6¼	4
104	2600	10 ¼	6¼	4
105	2625	10 ½	6 ½	4
106	2650	10 ½	6 ½	4
107	2675	10 ¾	6 ¾	4
108	2700	10 ¾	6 ¾	4
109	2725	11	7	4
110	2750	11	7	4
111	2775	11	7	4
112	2800	11	7	4
113	2825	11 ¼	7	4 ¼
114	2850	11 ¼	7	4 ¼
115	2875	11 ½	7	4 ½
116	2900	11 ½	7	4 ½
117	2925	11 ¾	7	4 ¾
118	2950	11 ¾	7	4 ¾
119	2975	12	7	5
120	3000	12	7	5

Dosis de Artesunato

La tableta de artesunato es de 100 mg

La dosis total es de 12 mg/kg de peso

Administrado en 3 días, cada dosis de 4 mg/Kg de peso

Peso en Kg-p	Dosis Total 12mg/kg-p	Dosis Total en Tabletas	1ra Dosis 4mg/kg-p en tableta	2da Dosis 4mg/kg-p en tableta	3ra Dosis 4mg/kg-p en tableta
10	120	1½	½	½	½
11	132	1½	½	½	½
12	144	1½	½	½	½
13	156	1½	½	½	½
14	168	1¾	½	½	½
15	180	1¾	½	½	½
16	192	2	¾	¾	¾
17	204	2	¾	¾	¾
18	216	2¼	¾	¾	¾
19	228	2¼	¾	¾	¾
20	240	2½	¾	¾	¾
21	252	2½	¾	¾	¾
22	264	2¾	1	1	1
23	276	2¾	1	1	1
24	288	3	1	1	1
25	300	3	1	1	1
26	312	3	1	1	1
27	324	3¼	1	1	1
28	336	3¼	1	1	1
29	348	3½	1¼	1¼	1¼
30	360	3½	1¼	1¼	1¼
31	372	3¾	1¼	1¼	1¼
32	384	3¾	1¼	1¼	1¼
33	396	4	1¼	1¼	1¼
34	408	4	1¼	1¼	1¼
35	420	4¼	1½	1½	1½
36	432	4¼	1½	1½	1½
37	444	4½	1½	1½	1½
38	456	4½	1½	1½	1½
39	468	4¾	1½	1½	1½
40	480	4¾	1½	1½	1½
41	492	5	1¾	1¾	1¾
42	504	5	1¾	1¾	1¾
43	516	5¼	1¾	1¾	1¾
44	528	5¼	1¾	1¾	1¾
45	540	5½	1¾	1¾	1¾
46	552	5½	1¾	1¾	1¾

47	564	5¾	2	2	2
48	576	5¾	2	2	2
49	588	6	2	2	2
50	600	6	2	2	2

Peso en Kg-p	Dosis Total 12mg/kg-p	Dosis Total en Tabletas	1ra Dosis 4mg/kg-p en tableta	2da Dosis 4mg/kg-p en tableta	3ra Dosis 4mg/kg-p en tableta
51	612	6	2	2	2
52	624	6¼	2	2	2
53	636	6¼	2	2	2
54	648	6½	2¼	2¼	2¼
55	660	6½	2¼	2¼	2¼
56	672	6¾	2¼	2¼	2¼
57	684	6¾	2¼	2¼	2¼
58	696	7	2¼	2¼	2¼
59	708	7	2¼	2¼	2¼
60	720	7¼	2½	2½	2½
61	732	7¼	2½	2½	2½
62	744	7½	2½	2½	2½
63	756	7½	2½	2½	2½
64	768	7¾	2½	2½	2½
65	780	7¾	2½	2½	2½
66	792	8	2¾	2¾	2¾
67	804	8	2¾	2¾	2¾
68	816	8¼	2¾	2¾	2¾
69	828	8¼	2¾	2¾	2¾
70	840	8½	2¾	2¾	2¾
71	852	8½	2¾	2¾	2¾
72	864	8¾	3	3	3
73	876	8¾	3	3	3
74	888	9	3	3	3
75	900	9	3	3	3
76	912	9	3	3	3
77	924	9¼	3	3	3
78	936	9¼	3	3	3
79	948	9½	3¼	3¼	3¼

80	960	9½	3¼	3¼	3¼
81	972	9¾	3¼	3¼	3¼
82	984	9¾	3¼	3¼	3¼
83	996	10	3¼	3¼	3¼
84	1008	10	3¼	3¼	3¼
85	1020	10¼	3½	3½	3½
86	1032	10¼	3½	3½	3½
87	1044	10½	3½	3½	3½
88	1056	10½	3½	3½	3½
89	1068	10¾	3½	3½	3½
90	1080	10¾	3½	3½	3½
91	1092	11	3¾	3¾	3¾
92	1104	11	3¾	3¾	3¾
93	1116	11¼	3¾	3¾	3¾
94	1128	11¼	3¾	3¾	3¾
95	1140	11½	3¾	3¾	3¾
96	1152	11½	3¾	3¾	3¾
97	1164	11¾	4	4	4
98	1176	11¾	4	4	4
99	1188	12	4	4	4
100	1200	12	4	4	4

Peso en Kg-p	Dosis Total 12mg/kg-p	Dosis Total en Tabletas	1ra Dosis 4mg/kg-p en tableta	2da Dosis 4mg/kg-p en tableta	3ra Dosis 4mg/kg-p en tableta
101	1212	12	4	4	4
102	1224	12¼	4	4	4¼
103	1236	12¼	4	4	4¼
104	1248	12½	4¼	4¼	4
105	1260	12½	4¼	4¼	4
106	1272	12¾	4¼	4¼	4¼
107	1284	12¾	4¼	4¼	4¼
108	1296	13	5	5	3
109	1308	13	5	5	3
110	1320	13¼	5	5	3¼
111	1332	13¼	5	5	3¼
112	1344	13½	5	5	3½
113	1356	13½	5	5	3½



114	1368	13¾	5	5	3¾
115	1380	13¾	5	5	3¾
116	1392	14	5	5	4
117	1404	14	5	5	4
118	1416	14	5	5	4
119	1428	14¼	5	5	4¼
120	1440	14¼	5	5	4¼

17.3. Evaluación de sensibilidad de medicamentos

Antimaláricos

Albina Wide V.

Lineamientos propuestos en una reunión técnica sobre la estandarización del uso de pruebas *in vitro* en el contexto de la Red Amazónica de la Vigilancia de la Resistencia a los Antimaláricos (RAVREDA-AMI). OPS/DPC/CD/M/390/06.

Estrategias para evaluar la resistencia de los plasmodios a antimaláricos

La resistencia a los medicamentos se define como la aptitud de los parásitos de una cepa o aislado para sobrevivir o multiplicarse a pesar de la administración y de la absorción de un medicamento en dosis iguales o superiores a las que se prescriben habitualmente, pero comprendidas dentro de los límites de tolerancia del enfermo. La forma del medicamento que es activa contra el parásito debe llegar a éste o a los eritrocitos infectados durante el tiempo necesario para que cumpla su acción normal, OMS, 1982.

La aparición y dispersión de aislados de plasmodios resistentes a diferentes antimaláricos es una de las limitantes del éxito de los programas de control de Malaria.

Herramientas para evaluar resistencia de los parásitos plasmodios a los antimaláricos

1. Estudios *in vivo*
2. Estudios *in vitro*
3. Biología molecular: Detectar mutaciones en genes asociados con resistencia a drogas contra Plasmodium

Según la OMS, la prueba estándar para determinar el grado de sensibilidad o resistencia de *Plasmodium* spp. a los esquizotomicidas circulantes es el procedimiento *in vivo*. La valoración *in vivo* quizás refleje mejor la respuesta real del enfermo al fármaco, pero puede ser influenciada por variables que quedan fuera de control, como la absorción gastrointestinal y los cambios en la absorción producidos por la dieta y los fármacos, el grado de inmunidad del paciente o la participación de cepas o aislados de *Plasmodium* spp que expresen genes de resistencia. Otros posibles aspectos implicados son las parasitosis gastro-

intestinales asociadas y la degradación del fármaco en metabolitos sin efecto parasitocida, como la desetilcloroquina y la bidesetilcloroquina.

El monitoreo (ensayos *in vivo*) brinda información actualizada sobre la eficacia del tratamiento antimalárico y es la base fundamental para la toma de decisiones en la política de antimaláricos. Aún cuando tiene la ventaja de emplear una Metodología fácil de seguir, tiene algunas limitaciones:

Dificultades en áreas de baja transmisión que conlleva a la pérdida de pacientes durante el seguimiento.

No siempre es aplicable para la evaluación de nuevos medicamentos.

La evaluación de medicamentos con tiempos de vida media largos, requiere período de tiempo considerables, lo cual se relaciona con pérdidas en el seguimiento.

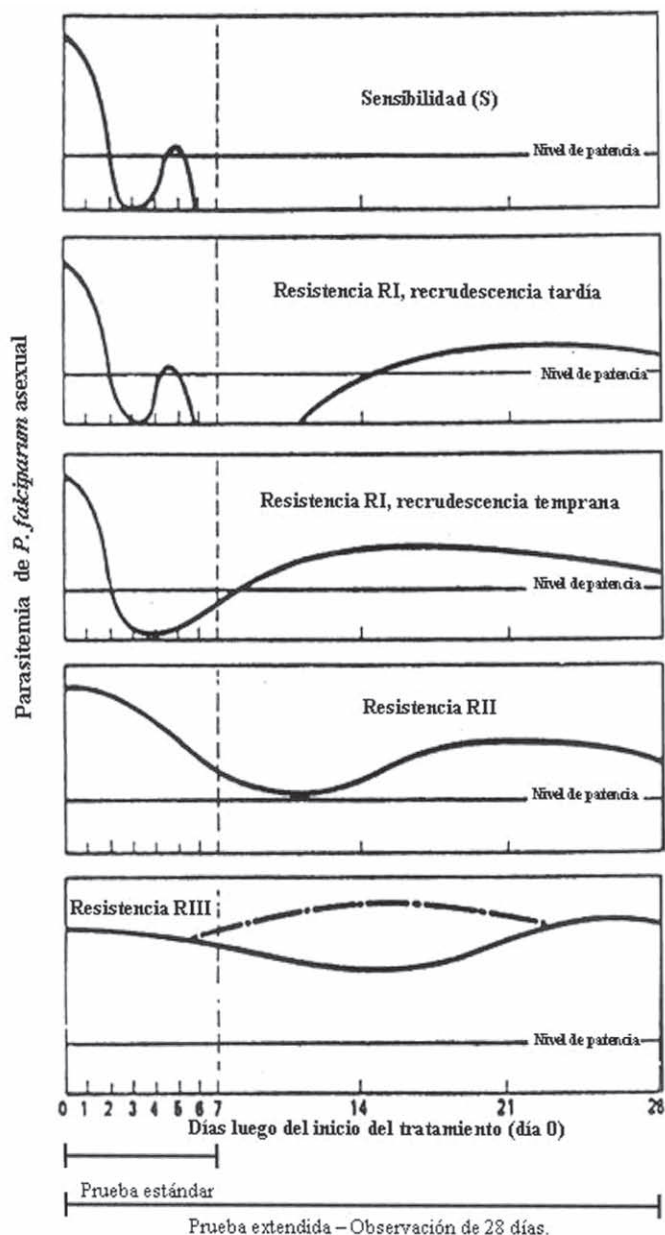
Posibilidad de reinfección en áreas de moderada y alta transmisión.

Falsa sensación de seguridad en áreas de baja transmisión.

Otras variables de confusión, como el consumo de productos con propiedades antimaláricas de uso frecuente en algunas áreas (infusiones de plantas) o condiciones patológicas asociadas (diarreas, vómitos, alcoholismo) que pudieran afectar la confiabilidad del estudio.

Figura 17.3

Prueba de campo de la OMS para la respuesta del paraíso de Malaria a la cloroquina. El diagrama muestra el grado de respuesta comprendido entre sensibilidad y alta resistencia. Cloroquina administrada por vial oral a la dosis de 25 mg/kg (MOS, 1973)



- - - - Parasitemia patente puede reaparecer al día 5 en el caso de cepas sensibles (S), sin embargo, está ausente en el día 8 y a partir de éste.
- . - - Puede haber incremento en la parasitemia en la Resistencia RIII.

Nótese que no es posible distinguir entre Sensibilidad (S) y Resistencia RIII en la prueba estándar (7 días).

Fuente: Tomado de Bruce-Chwall L. 1986 Essential Malariology. William Heinemann Medical Books Ltd. Londres: 241

Estudios *in vivo*

Seguimiento parasitológico y clínico de los pacientes sometidos al tratamiento antimalárico, durante los días 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28.

CLASIFICACIÓN GENERAL DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA

Fracaso precoz del tratamiento

- * Signos de peligro o paludismo grave los días 1 o 2
- * Mayor parasitemia el día 2 que el recuento del día 0
- * Parasitemia del día 3 >25% que el recuento del día 0

Fracaso tardío del tratamiento

- * Signos de peligro o paludismo grave después del día 3
- * Regreso no programado del paciente debido a deterioro clínico en presencia de parasitemia
- * Presencia de parasitemia de la misma especie que el día 0 en las visitas programadas para los días 7, 14, 21 ó 28

Respuesta clínica adecuada

El paciente no presenta ninguno de los criterios anteriores y se confirma la eliminación del parásito durante el período de seguimiento.

Sin embargo, otros métodos de detección de la resistencia pueden ser usados como complemento de los estudios *in vivo* en un sistema de farmacovigilancia “ayudando a clarificar el panorama completo” (World Health Organization, 2001). Estos métodos son las pruebas de susceptibilidad *in vitro* y el uso de marcadores moleculares. La implementación de un sistema de vigilancia con una visión preventiva, que advierta oportunamente sobre la aparición o diseminación de cepas o aislados resistentes debe necesariamente incluir las pruebas *in vitro* como complemento de las evaluaciones de eficacia, si bien se reconoce que por sí solas no son concluyentes para la toma de decisiones sobre cambios en la política de medicamentos antimaláricos.

Objetivos del uso de las pruebas *in vitro* en la vigilancia de la resistencia

Los hallazgos de las evaluaciones de susceptibilidad a los antimaláricos *in vitro* deben complementar la información sobre eficacia terapéutica obtenida mediante los estudios *in vivo*, ya que proveen información útil para establecer tendencias y cuando sus resultados son

positivos, generalmente preceden a la aparición de resistencia *in vivo*. Los siguientes factores hacen de estas pruebas adecuadas para llenar vacíos metodológicos y logísticos dejados en el sistema de vigilancia por las evaluaciones *in vivo*, brindando información de gran utilidad para tomar decisiones con respecto a la política de antimaláricos:

- Evalúa la resistencia independiente del efecto de la inmunidad y factores farmacodinámicos.
- Evalúa independientemente los componentes de los esquemas en uso o medicamentos ya retirados.
- Tienen menos limitaciones de inclusión de pacientes que los estudios *in vivo*, especialmente porque no tienen que garantizar el seguimiento de pacientes, ni tienen que satisfacer otras exigencias éticas de los ensayos clínicos.

Con base a dichas ventajas complementarias de las pruebas *in vitro*, puede identificarse básicamente dos objetivos fundamentales para su utilización como complemento a las evaluaciones de eficacia en el marco de un sistema de farmacovigilancia de la resistencia.

1.- Orientar decisiones sobre cambios en los esquemas terapéuticos: Monitoreo de la resistencia a los antimaláricos en uso.

Las pruebas *in vitro* constituyen un sistema de alarma sobre la emergencia de la resistencia, y pueden servir para explorar o monitorear periódicamente el problema de la resistencia en condiciones donde logísticamente es inviable realizar evaluaciones *in vivo* básicamente por dificultades para el seguimiento de un número apropiado de pacientes (baja transmisión, inseguridad, inestabilidad de la población), situación que es frecuente en algunas áreas de los países amazónicos que han limitado en algunas ocasiones el monitoreo de la resistencia.

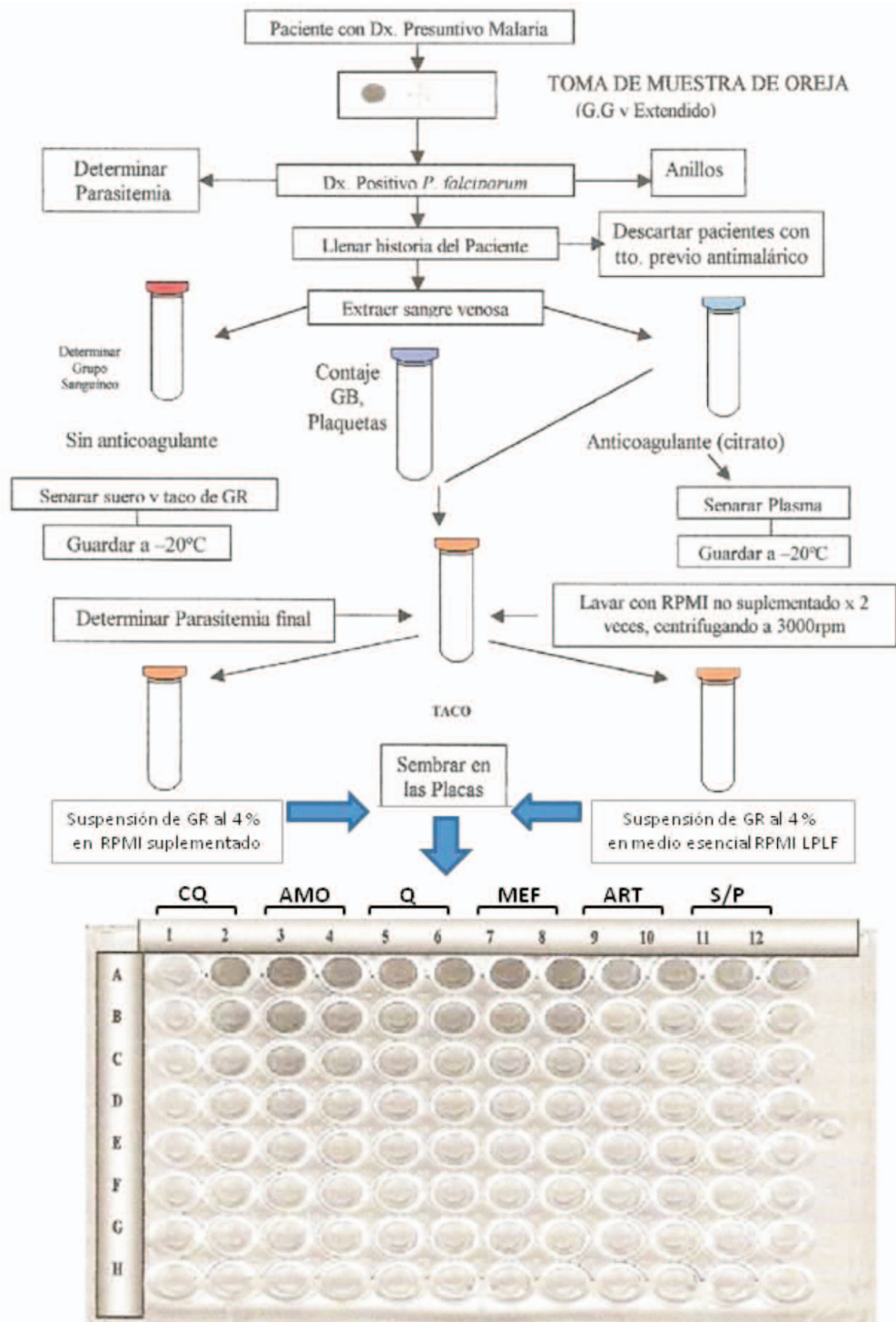
2.- Evaluar el impacto de la política de medicamentos antimaláricos.

Las pruebas *in vitro*, al permitir el registro de variaciones temporales y espaciales en la susceptibilidad, constituyen una herramienta de gran importancia para evaluar el efecto que las políticas tengan

En este sentido el reporte de una consulta técnica de la OMS realizada en Ginebra en diciembre de 2001 señaló: "... Las pruebas *in vitro* pueden ser usadas para la vigilancia de la resistencia a los medicamentos a nivel de un país o de una región y no deben ser usadas para diagnósticos individuales. Debe establecerse una relación entre los programas de control y de investigación para facilitar dicho sistema. Hay la necesidad de estandarizar la metodología, especialmente los procedimientos de cultivo y la presentación de los resultados. Un sistema de control de calidad debe ser establecido y debe incluir cepas de referencia..." (World Health Organization, 2001).

2.2. Los marcadores genéticos permiten diferenciar entre recrudescencia y reinfección y correlacionan la existencia de mutaciones con datos de resistencia obtenidos *in vivo* e *in vitro*. Así cambios en genes y codones del parásito que coinciden con la resistencia a los distintos tipos de droga, Ejemplo el gen *pfmdr 1* y *pfcr1* para la cloroquina y *pfmdr 1* para la artemisinina.

Figura 17.3.3
Protocolo para evaluar la susceptibilidad de antimaláricos
ensayos *in vitro*



REFERENCIAS

- Organización Panamericana de la Salud. 2003. Informe de la Situación de los Programas de Malaria en las Américas. CD44/INF/3
- Moore, D.V. & Lanier, S.R. 1961. Observations on two Plasmodium infections with an abnormal response to chloroquine. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 10: 5-9.
- World Health Organization. 2001. Monitoring AntiMalarial Drug Resistance. WHO/CDS/CSR/EPH/2002.17. Geneva: WHO.
- Noedl, H. *et al.* Malaria drug-sensitivity testing new assays, new perspectives. Trends Parasitol. Vol 19 No 4. 2003. 175 – 81.
- World Health Organization. 1994. Políticas sobre Medicamentos Antimaláricos: Necesidades de información, tratamiento de la Malaria no complicada y manejo de la Malaria en el embarazo. Informe de una reunión de consulta. Ginebra, (WHO/MAL/94,1070).
- World Health Organization (1996) Assessment of therapeutic efficacy of antiMalarial drugs for uncomplicated falciparum Malaria in areas with intense transmission. WHO/MAL/96.1077.
- World Health Organization (2002) Monitoring antiMalarial drug resistance. Report of a WHO consultation, WHO/CDS/CSR/EPH/2002.17.

18. ENTOMOLOGÍA EN MALARIA

Jorge Moreno

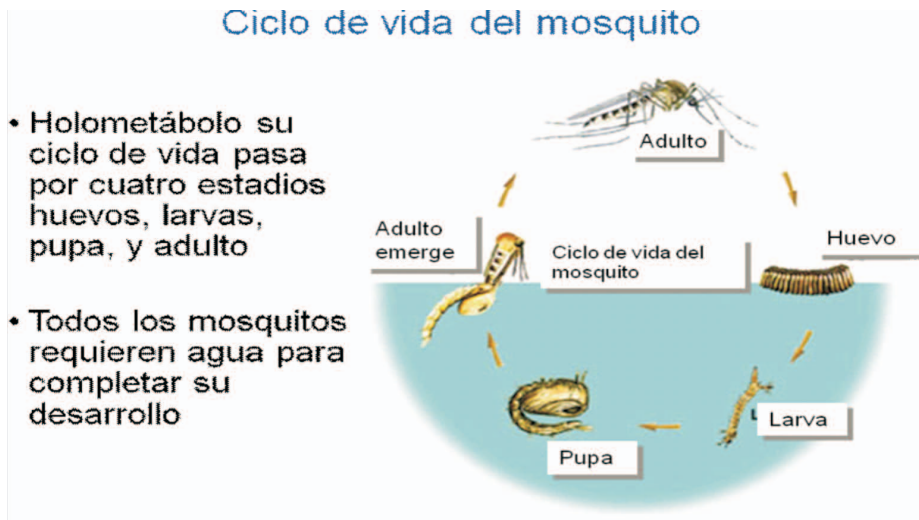
18.1. Biología de los mosquitos

El paludismo se transmite al ser humano a través de mosquitos hembras del género *Anopheles*. Sólo las hembras son hematófagas, el mosquito macho se alimenta de jugos de plantas y de néctar, no de sangre, por consiguiente, no transmite la enfermedad. Aunque las hembras de casi todas las especies de mosquitos son hematófagas obligadas, es decir que se alimentan de sangre de vertebrados, afortunadamente solo unas cuantas especies son vectoras de enfermedades al hombre, entre ellas algunas especies de anofelinos que son vectoras de Malaria.

En el mundo hay reportadas 484 especies de mosquitos del género *Anopheles* divididas en seis subgéneros (Harbach 2004). Según Navarro (1996), en Venezuela se han identificado 36 especies de *Anopheles*, número al cual posteriormente se le agregaron tres nuevas especies (Tabla 18.1.1) (Moreno y Rubio-Palis, 2003, Rubio-Palis y Moreno 2003); No obstante, según la última revisión realizada por Rubio-Palis (2005), en Venezuela hay reportadas 41 especies válidas de mosquitos del género *Anopheles*, de las cuales sólo unas pocas están involucradas en la transmisión de Malaria en diferentes regiones del país (Osborn *et al.* 2004). Esto es debido a que la mayoría de las especies prefieren ingerir sangre de animales, y raramente pican al hombre, por lo que la probabilidad de que transmitan el paludismo a los seres humanos es muy baja. A la facultad de picar animales se le llama “zoofilia”, y al hábito de picar personas se le conoce como “antropofilia”; sólo los mosquitos muy antropofílicos, entre los cuales se incluyen muy pocas especies, son buenos vectores de Malaria. Al respecto Gabaldón (1963) afirma que todas las especies de anofelino que pican al hombre deben ser predominantemente zoofilas, y que la antropofilia en estas especies no sería más que una cualidad incidental. Rubio-Palis *et al.* (1994) determinaron el grado de antropofilia para siete especies de anofelinos en el occidente de Venezuela por medio del Índice de Sangre Humana (ISH), es decir la proporción de mosquitos encontrados positivos a sangre humana en una muestra por medio de pruebas de ELISA, encontrando valores similares en cuanto a la tendencia de alimentarse de humanos o ganado en la mayoría de ellas.

Los mosquitos son animales ovíparos, como la mayoría de los insectos; es decir, nacen a partir de un huevo. Estos insectos son holometábolos, su ciclo biológico consta de cuatro fases o estadios distintos, en orden sucesivo los mosquitos pasan por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto (figura 18.1.1). La hembra adulta inmediatamente después de emerger de la pupa es copulada por el macho, inmediatamente busca un hospedero, animal o humano, para ingerir una comida sanguínea necesaria para desarrollar los huevos, actividad que bebe repetir cada tres o cuatro días aproximadamente. Al periodo que transcurre entre la ingesta sanguínea y la oviposición se le conoce con el nombre de ciclo gonadotrófico. La longitud del ciclo gonadotrófico es un factor crítico en la determinación de la capacidad vectorial de una especie o población de mosquitos, y su duración esta ligada a la frecuencia de alimentación y a la temperatura (Rubio-Palis, 1994; Rua; 2005; Elizondo-Quiroga y col., 2006).

Figura 18.1.1
Ciclo de vida del mosquito



Después de tres o cuatro días de maduración, la hembra de anofelino pone los huevos en la superficie del agua, en lotes de 100 a 200, o incluso más, hay diferencias entre especies de anofelino en el número de huevos puestos. Los huevos de anofelino son puestos individualmente y están provistos de flotadores laterales que les permiten flotar en la superficie del agua, donde se agrupan formando figuras geométricas (Figura 18.1.2). A diferencia de los culicinos, los huevos de anofelino son puestos individualmente en depósitos de aguas estancadas preferi-

blemente limpias y poco contaminadas. Los huevos pueden ser depositados en lugares que van desde pequeños hoyos, como la huella de un animal, hasta grandes lagunas. Algunas especies prefieren poner sus huevos en aguas con corriente, tales como los márgenes de quebradas y ríos, protegidos por acúmulos de detritos. Cada especie de anofelino tiene lugares preferidos para poner sus huevos, la selección del sitio de oviposición es altamente específica y puede estar influenciada por la disponibilidad de alimento, presencia de depredadores y luz solar (Bond, 2005). Una hembra de anofelino puede poner huevos durante toda su vida, llegando a poner dos o tres veces en este tiempo. En condiciones óptimas, en estado natural, una hembra de mosquito puede vivir de dos a tres semanas.

Figura 18.1.2

Huevo de anofelino, note los flotadores laterales. Los huevos de anofelinos son puestos individualmente formando figuras geométricas



Fuente: Tomado de www.cdc.gov/Malaria/biology/mosquito/index.htm#images el 23/02/09

Al cabo de dos o tres días emergen las larvas de mosquitos, las cuales atraviesan por cuatro fases o instares, denominados primero, segundo, tercer y cuarto instar respectivamente. Las larvas de anofelinos viven inmediatamente debajo de la superficie del agua, adheridas a esta en posición horizontal gracias a la tensión superficial, donde se alimentan de partículas sólidas suspendidas y microorganismos (figura 18.3) La duración del estadio larval puede durar alrededor de ocho a doce días, dependiendo de varios factores, tales como la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento. En condiciones de laboratorio la duración de la fase larval ha sido calculada en alrededor de 16 y 17 días para *An. aquasalis* y *An. albimanus* respectivamente (Delgado, 1998; Zerpa y col., 1998).



Figura 18.1.3
Larva de anofelino flotando en el agua.
Note la posición paralela a la superficie del agua



Fuente: Tomado de <http://www.cdc.gov/Malaria/biology/mosquito/index.htm#images> el 23/02/09.

Cuando alcanza su máximo desarrollo, la larva de cuarto instar deja de comer, y luego de una muda, se transforma en un organismo móvil en forma de “coma” llamado pupa, fase que dura dos o tres días y durante la cual no se alimenta (figura 18.1.4). Durante esta fase el mosquito sufre su mayor metamorfosis, dentro de la pupa acuática se forma y emerge un mosquito adulto, macho o hembra, capaz de volar. Al cabo de la fase de pupa, ésta se detiene inmóvil en la superficie del agua, y sufre una hendidura en la zona dorsal del exoesqueleto llamada ecdisis, por donde emerge el mosquito adulto llamado imago. Al emerger, el mosquito se detiene unos minutos sobre la superficie del agua, infla su cuerpo y alas con aire y sale volando. Por lo general, este es un fenómeno que se da con grandes números de mosquitos al mismo tiempo, en una cohorte los machos emergen primero y se mantienen volando sobre el criadero, en espera de las hembras, las cuales son copuladas e inseminadas al momento de emerger. Después de fertilizadas las hembra salen busca de su primera comida sanguínea para madurar los huevos, repitiéndose de esta manera el ciclo.

Figura 18.1.4
Pupa de anofelino flotando en la superficie del agua



Fuente: Tomado de <http://www.cdc.gov/Malaria/biology/mosquito/index.htm#images> el 23/02/09

La mayor parte de los anofelinos pican durante la noche, algunos lo hacen mayoritariamente durante las primeras horas de la noche, a la caída del sol, otros pican durante toda la noche en un patrón irregular

o a media noche, y otro grupo de especies se caracterizan por picar al amanecer. Algunas pocas especies, en algunos lugares pican durante el día, esto suele suceder donde las densidades son muy elevadas y las condiciones ambientales propicias. La hora de picada, es un carácter poblacional de gran importancia epidemiológica, que se manifiesta en patrones de conducta bien definidos, genéticamente regulados y variables entre especies y poblaciones de mosquitos. Este patrón de actividad de picada se cuantifica en una curva de actividad de picada que se construye a partir de la proporción de mosquitos colectados por hora, en colectas de mosquitos realizadas durante toda la noche. En Belice, Achee y col. (2005) encontraron que *An. darlingi* pica durante toda la noche con un pico predominante a las primeras horas, mientras que *An. albimanus* mostró un patrón bimodal con dos picos uno predominante al anochecer y otro menor al amanecer, igualmente *An. pseudopunctipennis* exhibió un pico antes de la medianoche y otro similar al amanecer.

Otro carácter en el comportamiento de gran importancia desde el punto de vista del control, y que también es regulado genéticamente en las poblaciones de mosquitos, lo constituye el ambiente donde éstos se alimentan. Algunas especies de anofelino entran a las viviendas humanas para picar, otras lo hacen solo en el exterior. A la cualidad de picar dentro de la vivienda se le denomina “endofagia”, al picar afuera se le denomina “exofagia”. Un buen ejemplo de la caracterización tanto de la curva de actividad de picada como de los hábitos de búsqueda de hospedero lo ofrece el trabajo realizado por Rubio-Palis (1992) en el cual describió ambos comportamientos para *An. rangeli*, *An. strodei* y *An. neomaculipalpus* en el occidente de Venezuela. Asimismo, Brochero et al. (2006) en Colombia evaluaron la abundancia de seis especies de anofelinos dentro y fuera del domicilio encontrando una fuerte tendencia exofágica en por lo menos tres de ellas.

Tanto el patrón de actividad de picada como los hábitos de búsqueda de hospedero de la mayoría de las especies vectoras de Malaria ha sido bien caracterizado en el Venezuela (Rubio-Palis, 1992; Rubio-Palis y Curtis, 1992; Rubio-Palis, 2000; Moreno y col., 2007). Luego de hacer una ingesta de sangre, el anofelino debe reposar, para eliminar el exceso de líquido. Este reposo puede hacerse en el interior de la vivienda, sobre la pared o los muebles de la casa; o el mosquito puede volar inmediatamente a reposar fuera de la vivienda, en la vegetación circundante. Al hábito de reposar dentro de la vivienda se le conoce

como “endofilia”, y al reposar fuera se llama “exofilia”. Estas características de las especies y poblaciones de mosquitos son muy importantes para el control. Un aspecto bien importante del comportamiento de búsqueda de alimento y reposo, es éste que puede ser cambiado en la población de mosquitos debido a la segregación genética causada por efecto del insecticida rociado dentro de las viviendas. Este fenómeno fue descrito tempranamente por Gabaldón (1963) en lo que él llamo resistencia de comportamiento.

Tabla 18.1.1
Especies de *Anopheles* presentes en Venezuela agrupadas
por subgénero

Subgénero *Anopheles* (12)

eiseni, pseudopunctipennis, matogrosensis, mediopunctatus, neomaculipalpus, peryassuipunctimacula, apicimacula, calderoni, costai, forattinii, guarao

Subgénero *Nyssorhynchus* (13)

Sección *Albimanus*

albimanus, aquasalis, benarrochi, nuneztovari, oswaldoi, rangeli, strodei, triannulatus.

Sección *Argyritarsis*

argyritarsis, marajoara, braziliensis, darlingi.

Sección *Myzorhynchella*

parvus

Subgénero *kerteszia* (11)

auyantepuiensis, bambusicolus, bellator, boliviensis, cruzii, gonzalezrinconesi, homunculus, lepidotus, neivai, pholidotus, rollai.

Subgénero *Lophopodomyia* (2) *squamifemur, vargasi.*

Subgénero *Stethomyia* (3) *kompi, nimbus, thomasi.*

REFERENCIAS

- Achee NI, Grieco Jp, Rejmankova E, Andre Rg, Vanziel E, Polanco J, et al. (2005). Biting pattern and seasonal densities of *Anopheles* mosquitoes in the Cayo District, Belize, Central America with emphasis on *An. darlingi*. *J Vector Ecology*, **31**: 45-57.
- Bond Jg. Arredondo-Jiménez Ji, Rodríguez Mh, Quiroz-Martinez H, Williams T. (2005). Oviposition habitat selection for a predator refuge and food source in a mosquito. *Ecological Entomology* **30**: 255-263.
- Brochero H., Pareja Px, Ortiz G., Olano Va. (2006). Sitios de cría y actividad de picadura de especies de *Anopheles* en el municipio de Cimitarra, Santander, Colombia. *Biomedica*, **26**: 269-277.
- Delgado Np. (1998). Parámetros demográficos de la fases inmadura de *Anopheles aquasalis* Curry 1932 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. *Bol. Entomol Venezol.* **13**: 27-43.
- Elizondo-Quiroga A., Flores-Suarez A., Elizondo-Quiroga D., Ponce-Garcia G, Blitvich Bj, et al. (2006). Gonotrophic cycle and survivorship of *Culex quinquefasciatus* (Diptera-Culicidae) using sticky ovitrap in Monterrey, Northeastern México. *J Am Mosq Cont Assoc*, **22**: 10-14.
- Gabaldón A. (1963). El control de vectores para el control de la Malaria. *Bol. Dir. Malariol. San Amb.*, **3**: 198-210.
- Harbach Re. (2004). The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Entomol. Research*, **94**: 537-553.
- Moreno J., Rubio-Palis Y., Paez E., Pérez E. y Sánchez V. (2007). Abundance, biting behavior and parous rate of anopheline mosquito species in relation to Malaria incidence in gold-mining areas in southern Venezuela. *Med & Vet Entomol* **21**: 339-349.
- Moreno J., Rubio-Palis Y. (2003). Primer reporte de *Anopheles* (*Anopheles*) *costai* y *A. forattinii* (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Entomotropica* **18**: 211-213.

- Navarro Cjc. (1996). Actualización taxonómica de la tribu Anophelini de Venezuela, con nueva clave para la identificación de larvas de 4to. estadio. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35**: 25-43.
- Osborn Fr, Rubio-Palis Y., Herrera M., Figuera A., Moreno Je. (2004). Caracterización de los vectores de Malaria en Venezuela, *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **44**: 77-92.
- Rua Gl, Quiñonez Ml, Velez Id, Zuluaga Js, Rojas W, Povedag, Ruiz D. (2005). laboratory estimation of the effects of increasing temperatures on the duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **100**: 515-520.
- Rubio-Palis Y. y Moreno J., (2003). Primer reporte de *Anopheles (Anopheles) calderoni* (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Entomotrópica* **18**: 159-161.
- Rubio-Palis Y., Curtis Cf, Gonzáles C, Wirtz Ra. (1994). Host choice of anopheline mosquitoes in a Malaria endemic area of western Venezuela. *Med. Vet. Entomol.* **8**: 275-280.
- Rubio-Palis Y., Curtis Cf. (1992). Biting and resting behavior of *anopheles* in western Venezuela and implications for control of Malaria transmission. *Med. Vet. Entomol.* **6**: 325-334.
- Rubio-Palis Y., Moreno J. (2003). Primer reporte de *Anopheles (Anopheles) calderoni* (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Entomotrópica* **18**: 159-161.
- Rubio-Palis Y. (1992). Abundancia y actividad hematofágica de *Anopheles rangeli*, *An. strodei* y *An. neomaculipalpus* en el occidente de Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. y San. Amb.*, **32**: 56-67.
- Rubio-Palis Y. (1994). Variation of the vectorial capacity of some *anophelines* in western Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* **50**: 420-424.
- Rubio-Palis Y. (2000). *Anopheles (Nyssorhynchus)* de Venezuela taxonomía, bionomía, ecología e importancia médica. Publicación de la Escuela de Malariología y Saneamiento Ambiental "Dr. Arnoldo Gabaldón" Maracay, Venezuela. 120 p.

Rubio-Palis Y. (2005). Situación actual de la subfamilia *Anophelinae* (Diptera: *Culicidae*) en Venezuela. *Bol. Malariol. San. Amb.* **45**: 1-10.

Rubio-Palis Y. (2005). Situación actual de la subfamilia *Anophelinae* (Diptera: *Culicidae*) en Venezuela. *Bol. Malariol. San. Amb.* **45**: 1-10.

Zerpa N., Moreno J., Gonzáles R. J. & Noya O. (1998). Colonization and laboratory maintenance of *Anopheles albimanus* Wiedemann in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, **40**: 173-176.

19. CICLO ESPOROGÓNICO DEL GÉNERO *Plasmodium*

Jorge Moreno

Los parásitos causantes de la Malaria son protozoarios pertenecientes a la familia *Plasmodiidae* de la clase Sporozoea del phylum Apicomplexa (Levine y col., 1980). Esta familia comprende varios parásitos intracelulares que se encuentran en la sangre de reptiles, aves y mamíferos (Garnham, 1966; Bruce-Chwatt, 1980), dentro de esta familia el género *Plasmodium* se encuentra dividido en 10 subgéneros que agrupan a varias decenas de especies (Garnham, 1966), de las cuales solo cuatro afectan al hombre (Tabla 19.1). Este género se caracteriza por presentar un ciclo esquizogónico de reproducción asexual intraeritrocítico en el hospedador vertebrado y un ciclo esporogónico de reproducción sexual en el hospedador invertebrado, el mosquito.

El ciclo esporogónico de *Plasmodium* (figura 19.1) comienza en el momento en que un mosquito hembra pica a una persona o animal infectado y absorbe las formas sexuales del parásito, micro y macrogametocito, macho y hembra respectivamente (1). Junto con las formas sexuales son ingurgitadas las formas asexuales, trofozoitos y esquizontes, las cuales son destruidas por las enzimas digestivas del mosquito. En el estómago medio del mosquito, los gametocitos aumentan por lo menos tres veces su tamaño y rompen el eritrocito, saliendo de él, lo cual da comienzo a la gametogénesis que da origen a los gametos de ambos sexos, micro y macrogameto.

Gametogénesis. El microgametocito, al escapar de la célula hospedera y en presencia de los elementos macromoleculares precursores adecuados, sufre rápidos cambios nucleares y citoplasmáticos que dan origen a ocho anoxemas que promueven en el microgametocito el proceso de exflagelación (2) (Sinden y col., 1996). Este proceso ocurre durante los 8 a 10 minutos siguientes a la ruptura del eritrocito y esta acompañado de tres divisiones endomitóticas sucesivas, precedidas de una muy rápida replicación del genoma a 8C. De esta manera se originan ocho microgametos en forma de flagelo, cada uno con una carga genómica haploide completa, los cuales se desprenden del cuerpo celular y se desplazan activamente en busca de un macrogameto dentro del contenido estomacal del mosquito. Cada macrogametocito al salir del eritrocito hospedero, sufre un proceso de maduración que puede durar varias horas, que conlleva una serie de cambios mole-

culares, la mayoría de ellos indetectables, lo cual da origen a un macrogameto. No obstante, el macrogameto puede ser fecundado a los pocos minutos de su formación (Sinden y col., 1996).

Formación de los oocinetos. Inmediatamente después de la gametogénesis ocurre la fecundación, que tiene lugar cuando un microgameto encuentra un macrogameto y lo fecunda. La fertilización comienza con la fusión de los núcleos de ambos gametocitos y usualmente es completada dentro de la primera hora de desarrollo dentro del estómago del mosquito. Como resultado de la fecundación se forma un huevo o cigoto diploide, móvil y vermiforme llamado oocineto (3). Durante este período, en un lapso de 5 a 9 horas, ocurren la primera y segunda división meiótica del genoma diploide (Sinden y col., 1996). El oocineto se traslada activamente hasta el epitelio estomacal del mosquito y lo traspasa, para enquistarse en la cara externa del estómago por debajo de la lámina basal, protegido del contacto directo con el hemocele, dando inicio a la fase de ooquiste (4). El proceso, desde el momento de la fecundación hasta el momento en que el oocineto se enquista en el hemocele del mosquito, ocupa un lapso de tiempo variable, que puede durar aproximadamente de 12 a 36 horas, dependiendo de las especies de mosquito y plasmodio involucradas, ya que este es un proceso altamente especie-específico (Ponnudurai y col., 1988).

Formación de los ooquistes: Una vez que el oocineto logra atravesar la pared epitelial del estómago del mosquito, se enquista en su cara externa, en el hemocele, por debajo de la lámina basal y se transforma en un ooquiste sésil y vegetativo. A partir de este momento comienza un proceso de crecimiento y maduración, que culmina con la formación de esporozoitos en la superficie del ooquiste, el cual tiene una duración variable dependiendo de la temperatura y de la especie de Plasmodium. En el caso de *P. vivax* tiene una duración de 10 días aproximadamente y en el caso de *P. falciparum*, esta duración es de 14 días más o menos.

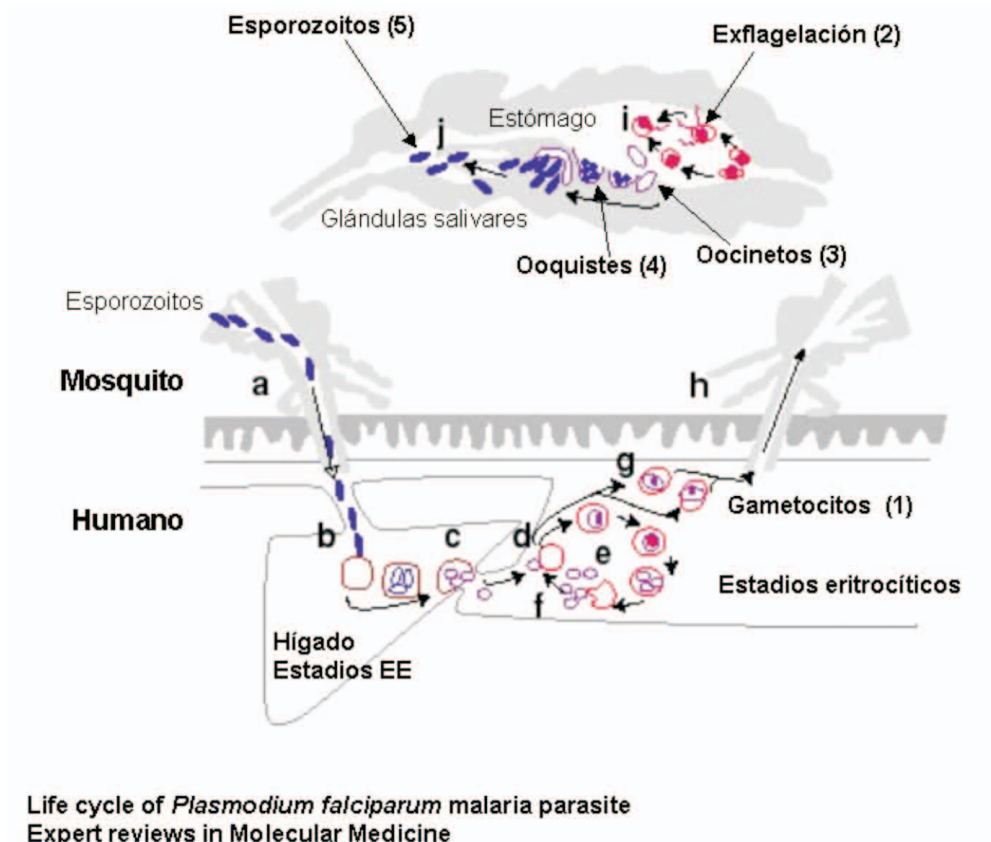
Formación de los esporozoitos: Después de varios días de maduración, en los ooquistes que logran evadir el sistema inmunológico del mosquito, se forman los esporozoitos, en número que varía según la especie de plasmodio de uno a varios miles por ooquiste. Al término de esta fase, los esporozoitos son liberados por poros que se forman en la pared del ooquiste e invaden todo el hemocele del mosquito, aunque algunos autores sugieren alguna forma de tropismo en los esporozoi-

tos que los impulsa hacia las glándulas salivares (5) (Rosenberg, 1985; Miller y Lehane, 1993). Al entrar en contacto con las glándulas salivares, los esporozoitos se anclan y penetran a la porción distal de los lóbulos laterales de la glándula, lo que resulta en la acumulación de esporozoitos maduros en el conducto salival. Una proteína de superficie llamada TRAP (thrombospondin-related anonymous protein) esta involucrada en la locomoción del esporozoito, mientras que otra proteína llamada MAEBL (membrane antigen erythrocyte binding-like protein) media en el reconocimiento y penetración de la glándula salival, descubrimientos recientes sugieren que hay moléculas de carbohidratos específicos en la superficie de las glándulas salivales que funcionan como receptores de los esporozoitos (Steinbuechel y Matuschewski, 2009; Mueller y col., 2010).

Tabla 19.1
Sistemática del género Plasmodium

Subgénero	Especie tipo	Vertebrado	Vector
Plasmodium	<i>Malariae</i>	Hombre-primates	<i>Anopheles</i> spp.
Laverania	<i>falciparum</i>	Hombre-primates	<i>Anopheles</i> spp.
Vinckeia	<i>bubalis</i>	Antílopes, Roedores y otros	<i>Anopheles</i> spp.
Haemamoeba	<i>relictum</i>	Aves	<i>Culex</i> spp.
Giovannolaia	<i>circumflexum</i>	Aves	<i>Culex</i> , <i>Aedes</i> , <i>Aedeomyias</i> .
Novyella	<i>vaughani</i>	Aves	Culicinos
Huffia	<i>elongatum</i>	Aves	Culicinos
Sauramoeba	<i>agamae</i>	Reptiles	
Cairinia	<i>minasense</i>	Reptiles	
Ophidiela	<i>wenyoni</i>	Serpientes	

Figura19.1
Ciclo biológico de *Plasmodium spp.*



a.- La infección en humanos por *Plasmodium spp* se inicia cuando el mosquito *Anopheles spp.* infectado al ingerir la sangre inocula los esporozoitos a la circulación periférica.

b.- En minutos, estos esporozoitos invaden los hepatocitos del hígado y en aproximadamente una semana, se lleva a cabo la multiplicación asexual, produciéndose miles de la forma de merozoitos.

c.- Cuando los hepatocitos infectados se rompen, los merozoitos son liberados a la circulación periférica.

d.- Los merozoitos invaden los glóbulos rojo.

e.- Completan otra ronda de multiplicación entre 48-72 h, con una producción de 16-20 merozoítos adicionales por glóbulo rojo, lo cual consume hemoglobina en el proceso.

f.- Los merozoítos liberados invaden glóbulos rojos adicionales y se lleva a cabo el ciclo. Se plantea que esta liberación sincrónica de merozoítos son los responsables de los períodos febriles de la Malaria.

g.- Algunos merozoítos que invaden no se dividen, pero se diferencian en formas sexuales masculina (microgametocito) y femenina (macrogametocito).

h.- Las formas sexuales son ingeridas del torrente sanguíneo durante la alimentación del mosquito *Anopheles* spp.

i.- y se fertilizan en el estómago medio para formar cigotos. Estos cigotos se diferencian en formas móviles, llamados oocinetos, migran a través de la pared del estómago del mosquito y se dividen hasta formar los ooquistes en la pared externa del estómago para formar miles de esporozoítos.

j.- Los esporozoitos infectantes son liberados dentro del hemocelo y se dirigen hacia las glándulas salivales, donde permanecen a la espera de otra ingesta de sangre hasta completar el ciclo de vida.

REFERENCIAS RECOMENDADAS

- Bruce-Chwatt L. J. (1980). Essential malariology. First ed. Williams Heinemann Medical Books Ltd. London, 354 p.
- Garnham P. C. C. (1966). Malaria parasites and other haemosporidia. Blackwell Scientific Publications. Oxford, pp. 1003-1016.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., *et al.* (1980). A newly revised classification of Protozoa. J. Protozool., **27(1)**: 37-58.
- Miller N. Y Lehan M. J. (1993). Peritrophic membranes, cell surface molecules and parasite tropisms within arthropod vectors. Parasitology Today, **9(2)**: 45-50.
- Mueller A-K, Kohlhepp F., Hammerschmid C., Michel K. (2010). Invasion of mosquito salivary glands by Malaria parasites: Prerequisites and defense strategies, International Journal for Parasitology, doi: 10.1016/j.ijpara.2010.05.005.
- Ponnudurai T., Billingsley P.F. Y Rudin W. (1988). Differential infectivity of Plasmodium for mosquitoes. Parasitology Today, **4(11)**: 319-321.
- Rosenberg R. (1985). Inability of Plasmodium knowlesi sporozoites to invade *Anopheles freeborni* salivary glands. Am. J. Trop. Med. Hyg., **34(4)**: 687-691.
- Steinbuechel Y Matuschewski. (2009). Role for Plasmodium sporozoite-specific transmembrane protein S6 in parasite motility and efficient Malaria transmission. Cellular Microbiology 11, 279-288.
- Sinden R. E., Butcher G. A., Billker O. y Fleck S. L. (1996). Regulation of infectivity of Plasmodium to the mosquito vector. Advances in Parasitol. 38, 54-117.

20. ECOLOGÍA DE LAS LARVAS DE ANOFELINOS

Jorge Moreno

La relación de las larvas de *Anopheles* con la vegetación acuática ha sido bien documentada. Una de las cosas que se ha logrado demostrar es la relación de dependencia de las larvas de *Anopheles* con su hábitat y los factores ambientales (Rejmankova, y col., 1991), así como el efecto controlador que ejerce la vegetación acuática sobre ellas (Rejmankova y col., 1993). Muchos estudios han logrado determinar una interesante asociación entre las especies de *Anopheles* y varios géneros de plantas acuáticas presentes en los criaderos, entre las cuales sobresalen las hidrofítas *Lemna*, *Utricularia*, *Mayaca*, *Salvinia*, *Eleocharis*, *Pistia*, *Eichhornia* y alga verde filamentosa (Moreno y col., 2000). Esta asociación se da fundamentalmente en criaderos expuestos a la luz solar, particularmente con las especies de anofelinos que pudieran eventualmente estar implicadas en la transmisión de Malaria, como son *An. darlingi* y *An. marajoara*. Por otro lado, se ha determinado que la dinámica poblacional de las especies de *Anopheles* es regulada por las variaciones estacionales de la vegetación (Savage, y col., 1990; Manguin y col., 1996), las cuales a su vez son afectadas por las precipitaciones (Berti y col., 1998), lo cual hace que exista una estrecha relación de especificidad entre los criaderos y las especies de anofelinos.

Principales tipos de criaderos de anofelinos en Venezuela

Río: El criadero tipo río, está constituido por nichos que se forman en los grandes ríos por acumulación de detrito y vegetación en las orillas, en represas formadas por troncos caídos y otros sitios donde la corriente se hace más lenta y permite el anclaje de estos materiales. La vegetación dominante en estos nichos es del tipo flotante debido a la gran profundidad que presentan. Está representada por *Eichhornia crassipes* y *Pistia stratiotes*, que son la base del sistema. En estos nichos se acumula detrito y material sólido en suspensión que proporciona alimento y refugio a las larvas de mosquito. Son de carácter temporal, pues dependen de las fluctuaciones del nivel del río. En estos criaderos se puede coleccionar *An. triannulatus*, *An. darlingi*, y en menor cantidad *An. marajoara*.

Quebrada o arroyo: El criadero tipo arroyo está representado por corrientes de agua de origen natural con ancho y profundidad variable, cuyo caudal depende de la época del año y de las precipitaciones. Por lo general son muy angostos, de 3 m o menos y corriente moderada a rápida. Se caracterizan por presentar aguas cristalinas sobre un fondo arenoso o franco-limoso no muy profundo, profusamente sombreados. Al igual que los ríos las larvas de anofelinos se encuentran en los márgenes entre acúmulos de detritos y raíces, que le ofrecen refugio y alimento, generalmente a la sombra. La abundancia de anofelinos en estos criaderos es baja pero la diversidad es elevada. La especie más abundante y frecuente en este tipo de criadero es *Chagasia bathana*, frecuentemente acompañada de *An. squamifemur*. Las larvas del subgénero *Anopheles* también son frecuentes en éstos, siendo particularmente abundante *An. mediopunctatus* y *An. neomaculipalpus*. También es muy abundante en estos criaderos *An. oswaldoi* pudiendo ser hallado con menor frecuencia *An. darlingi*.

Laguna: Las lagunas de origen natural en su mayoría se originan del desbordamiento o embalse de arroyos y caños en las depresiones naturales del terreno. Se caracterizan por estar parcialmente sombreadas, con agua clara y abundante detrito y materia orgánica, estancadas o de corriente muy lenta. Estas lagunas son ricas en vegetación hidrofita sumergida, flotante y emergente, destacando entre las plantas dominantes los géneros *Mayaca*, *Utricularia* y alga verde filamentosa; entre las emergentes destacan los géneros *Eleocharis* y *Nymphaea* y *Ludwigia*. La población anofelina y culicina es abundante en estos criaderos. La especie anofelina más abundante es *An. triannulatus* seguida de *An. marajoara*. En menor magnitud se encuentran *An. oswaldoi*, *An. darlingi* y ocasionalmente *An. braziliensis*.

Pastizal: Como su nombre lo indica son pastizales inundados caracterizados por ocupar grandes extensiones de poca profundidad y estar totalmente expuestos a la luz solar. Por lo general están densamente cubiertos casi en su totalidad de una única especie vegetal hidrófila, enraizada dominante. Las especies más comunes pertenecen a las Gramíneas, siendo el género *Eleocharis* muy frecuente. Están cubiertos por una lámina de agua clara, estancada, en la cual abundan elementos en descomposición y detrito, así como Algas Verdes Filamentosas. En esto criaderos se pueden hallar con mucha frecuencia y con relativa abundancia *An. truannulatus* y *An. marajoara*, siendo el criadero típico para *An. braziliensis*.

Pantano arbustivo: El pantano arbustivo está formado por extensos humedales sobre terrenos saturados de agua en el piso de la selva, con un fondo de turba, por lo general profusamente sombreados con vegetación arbustiva. La mayoría carece de vegetación hidrofita, pero en algunos claros pueden estar presentes plantas de los géneros *Mayaca*, *Utricularia* y *Alga Verde Filamentosa*, y donde la iluminación lo permite gramíneas y *Eleocharis*. Son aguas estancadas, turbias, color ámbar, con abundante detritus y material sólido en suspensión. Estos criaderos resultan positivos a *An. triannulatus*, *An. oswaldoi*, *An. darlingi* y algunas especies del subgénero *Anopheles*, entre las cuales destacan *An. punctimacula* y *An. mediopunctatus*.

Charcas: Otro criadero de gran importancia epidemiológica, por su vinculación a la actividad humana, son las charcas. Estos son pozos o lagunas de tamaño variable, que puede ir de unos pocos metros a varios kilómetros de extensión, originados por la socavación del terreno por causa de la actividad antropica. Son lagunas inducidas de aguas estancadas y bordes irregulares, ubicados en áreas ampliamente deforestadas, a pleno sol. El agua por lo general es turbia, en algunos pocos casos cristalina, con diferentes grados de colonización vegetal. La vegetación acuática es dominada por halofitas como las gramíneas e hidrofitas como *Eleocharis*, *Mayaca*, *Utricularia*, *Nymphaea* y alga verde filamentosa. La especie anofelina dominante en estos criaderos es *An. triannulatus*, seguida en orden de magnitud por *An. marajoara*, *An. oswaldoi* y *An. darlingi*.

REFERENCIAS

- Berti J., González J., Vanegas C. Guzmán H. & Amarista J. (1998). Fluctuaciones estacionales de la densidad larvaria de *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald 1901 (Diptera: Culicidae) en dos ríos de Santa Fe, estado Sucre, Venezuela. *Bol. Entomol. Venez.* **13**: 1-15.
- Manguin S., Robert D. R., Peyton E.L., Rejmankova E. & Pecor J. (1996). Characterization of *Anopheles pseudopunctipennis* larval habitats. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* **12**: 619-626.
- Moreno J., Rubio-Palis Y., Acevedo P. (2000). Identificación de criaderos de anofelinos en un área endémica del estado Bolívar, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **40**: 21-30.
- Moreno J., Rubio-Palis Y. (2003). Primer reporte de *Anopheles* (*Anopheles*) *costai* y *A. forattinii* (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Entomotrópica* **18**: 211-213.
- Rejmankova E., Savage H.M., Rejmánek M., Arredondo-Jiménez J.I. & Robert D.R. (1991). Multivariate analysis of relationships between habitats, environmental factors and occurrence of anopheline mosquito larvae *Anopheles albimanus* and *A. pseudopunctipennis* in southern Chiapas, México. *J. Appl. Ecol.* **28**: 827-841.
- Rejmankova E., Robert D.R., Harbach R.E., Pecor J., Peyton E.El., Manguin S., et al. (1993). Environmental and regional determinants of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) larval distribution in Belize, Central America. *Environ. Entomol.* **22**: 978-992.
- Savage H. M., Rejmankova E., Arredondo-Jimenez J.I., Robert D.R. & Rodriguez M. H. (1990). Limnological and botanical characterization of larval habitats for two primary Malarial vectors, *Anopheles albimanus* and *Anopheles pseudopunctipennis*, in coastal areas of Chiapas state, Mexico. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* **6**: 612-620.

21. VECTORES PRINCIPALES DE LA MALARIA EN VENEZUELA

Jorge Moreno

Los principales vectores de Malaria en Venezuela pertenecen casi todos al subgénero *Nyssorhynchus*, que es un subgénero estrictamente neotropical, cuyas especies están restringidas a la región meridional del continente americano (Harbach, 2004). No obstante, algunas especies de los subgéneros *Anopheles* y *Kertessia* también han sido involucradas en la transmisión de Malaria en algunos países de América y en Venezuela, particularmente en las ecoregiones costa y piedemonte (Rubio-Palis y Zimmerman, 1997).

***Anopheles darlingi* Root** es vector principal de Malaria en la cuenca amazónica y es la más antropofílica y endofílica de todas las especies amazónicas (Zimmerman 1992; Rosa-Freitas y col., 1998; Lounibos y Conn, 2000). En Venezuela esta especie tenía una amplia distribución geográfica que abarcaba casi todo el país, pero en el presente se le encuentra solo en los llanos y bosques bajos interiores en altitudes siempre menores a los 500msnm (figura 21.1), y es responsable de la transmisión de Malaria en el foco meridional de Malaria en Venezuela, el cual abarca los estados Bolívar y Amazonas (Rubio-Palis y col., 1999; Osborn y col., 2004). Esta especie es considerada, la más eficiente vectora de Malaria de la región neotropical (Zimmerman, 1992; Rubio-Palis y Zimmerman, 1997; Lounibos y Conn, 2000). Según Charlwood (1996) donde *An. darlingi* está presente es la principal o única especie vectora de Malaria humana. Esta especie es responsable de mantener la transmisión en las áreas selváticas de Bolivia, Perú, Colombia, Venezuela, Guyana, Surinam y la mayor parte de Brasil (Lounibos y Conn, 2000). Asimismo, es causante del único foco de Malaria hiperendémico descrito en Venezuela (Torres y col., 1988). Recientemente su papel vectorial ha sido confirmado en el municipio Sifontes del estado Bolívar, principal foco de Malaria de Venezuela, donde ha sido hallado infectado naturalmente a tasas elevadas (Moreno y col., 2007).

En general *An. darlingi* presenta un patrón de actividad de picada bien variable a lo largo de su distribución geográfica en el continente, lo cual parece ser debido a un alto grado de heterogeneidad poblacional (Rozendal, 1987; Rosa Freitas y col., 1992). En la Guyana Francesa pica uniformemente durante toda la noche (Girod y col., 2008), mientras que en Belice parece tener un patrón crepuscular con una

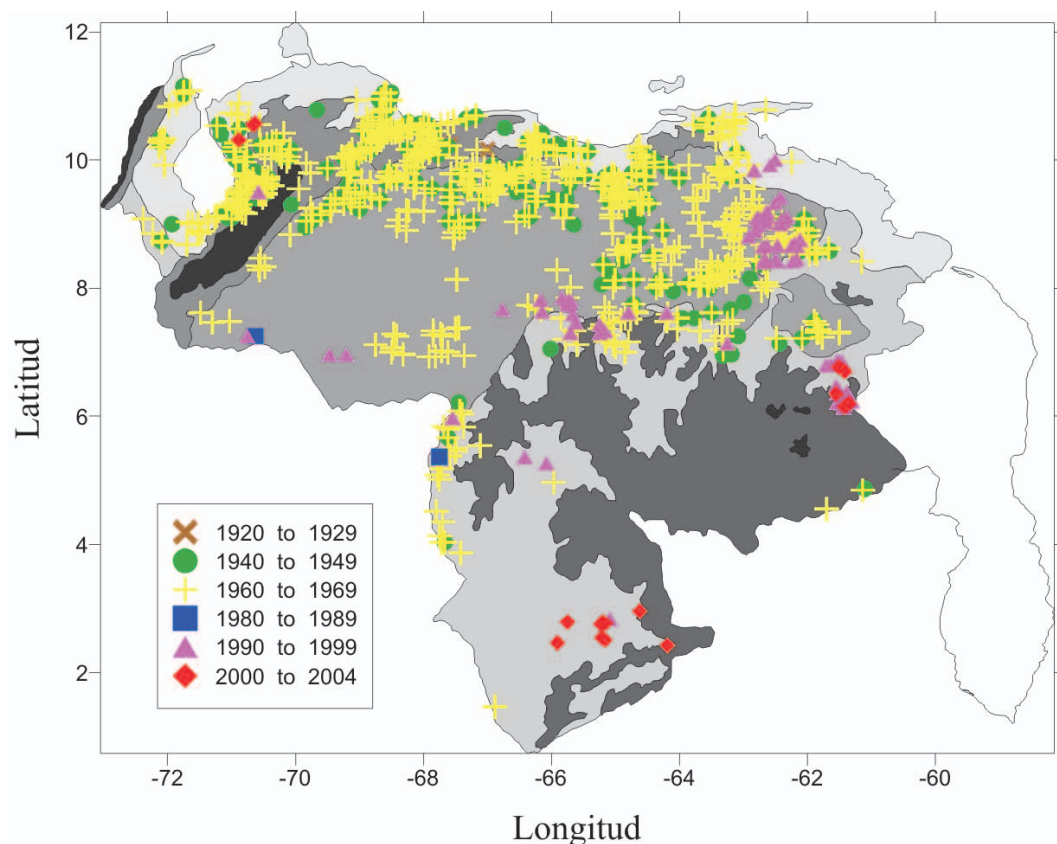
alta tasa de picada a primeras horas de la noche que va decreciendo paulatinamente (Achee y col., 2005). En Perú el patrón varía de una localidad a otra, con picos al anochecer, a medianoche y al amanecer, uno o dos picos durante la noche (León y col., 2003). En Venezuela, al igual que en Brasil, se ha observado un patrón de actividad bastante variable entre localidades, en el estado Bolívar esta especie pica dentro y fuera de las casas durante toda la noche (Moreno y col., 2007).

Una de las característica predominante en las poblaciones de esta especie a lo largo de su distribución geográfica y que ha sido reportada en varios estudios es la baja densidad (Roberts y col., 1987; Tadei y col., 1998; Soares y col., 2003). Sobre este tema Charlwood (1996) afirma que el ciclo poblacional anual de *An. darlingi* depende de la combinación de una compleja serie de factores, tales como el ciclo anual de lluvias y la disponibilidad de criaderos adecuados, entre otros, pero que en general, el tamaño de las poblaciones de *An. darlingi* es pequeño. No obstante, la densidad relativa de *An. darlingi* puede mostrar grandes variaciones estacionales o geográficas, que en mucho casos pueden ser atribuibles a las actividades humanas (Lounibos y Conn, 2000; Tadei y col., 1998). En Brasil Tadei y Dutary Thatcher (2000) reportan tasas de picada que van desde 0.13 hasta 53 mosquitos hombre hora (MHH), mientras que en dos provincias del Departamento de Loreto, Perú, se han reportado tasas de picada de 1349 y 1443 mosquitos por hombre noche (MHN) (Calderón y col., 1995). En Venezuela Rubio-Palis (1995) ha reportado tasas que van de 5.8 a 723 MHN en el lado occidental del estado Bolívar y Amazonas, mientras que Magris y col. (2007) reportaron una tasa de 40.1 MHN para la región hiperendémica del Alto, muy superior a la tasa de 6.1 MHN reportada por Moreno y col. (2007) para el oriente del estado Bolívar.

No obstante, las bajas tasas de picada usualmente registradas estas no constituyen un impedimento para mantener la transmisión de Malaria, ya que *An. darlingi* es un excelente vector incluso a muy bajas densidades (Tadei y col., 1998; Póvoa y col., 2003). En Venezuela se han reportado Tasas Entomológicas de inoculación (TEI) para esta especie en el estado Bolívar, de 2.21 picadas infectivas por persona por año (pipa) (Moreno y col., 2009). Una de las características que compensa las bajas densidades y hace a esta especie de anofelino tan eficiente como vector de Malaria es su elevado grado de endofagia, *An. darlingi* ha sido colectado en elevadas proporciones picando dentro de la

vivienda en Belice, Guyana Francesa, Brasil y Venezuela (Achee y col., 2005; Girod y col., 2008; Riberiro y col., 2007)

Figura 21.1
Distribución geográfica histórica de *An. darlingi* en Venezuela



***Anopheles marajoara* Galvão & Damásceno**

Clave para las ecoregiones:

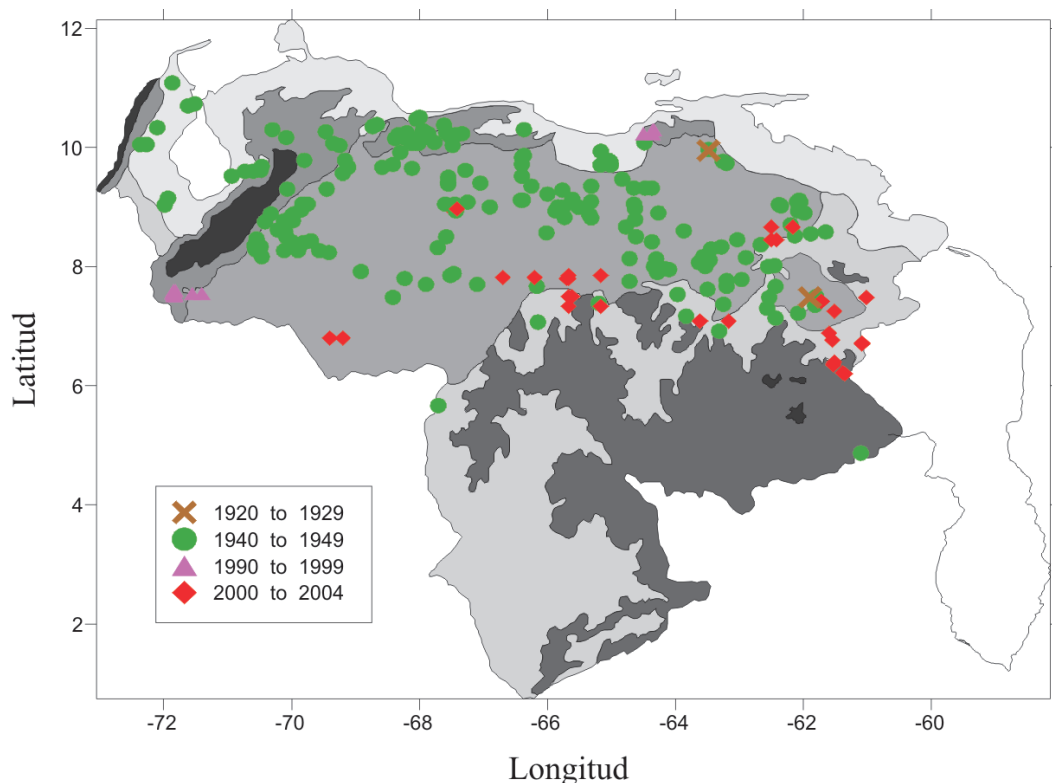
Costera , Piedemonte , Llanos , Sabanas altas , Bosque interior ,
Valles altos

Fuente: Tomado de Osborn y col., 2004

***Anopheles marajoara* Galvão & Damásceno.** La información existente sobre la bionomía y comportamiento de *An. marajoara* es escasa, debido a que la mayor parte de los estudios sobre la bionomía y comportamiento de *An. albitarsis* s.l. se hizo antes de que las cuatro especies del complejo *Albitarsis* fueran reconocidas (Conn et al. 2002). No obstante, resultados de investigaciones recientes muestran claramente que esta especie está jugando un importante papel como vector principal de Malaria en la región amazónica. Previamente, *An. albitarsis* s.l. (= *An. marajoara*) había sido colectada picando sobre cebos humanos en el occidente de Venezuela en un foco de Malaria donde el principal vector es *An. nuneztovari* (Rubio-Palis et al. 1992, Rubio-Palis 1994) y ha sido incriminado como vector principal en el norte de Brasil, reportándosele como un vector emergente de Malaria en esta región (Conn et al. 2002). En Venezuela esta especie tiene una amplia distribución en casi todo el territorio del país, estando presente en todas las ecoregiones excepto sabanas y valles altos (figura 21.2) (Osborn et al. 2004). Recientemente *An. marajoara* fue incriminada como vector de Malaria en oriente del estado Bolívar, donde comparte responsabilidad vectorial con *An. darlingi*, encontrándosele infectado naturalmente con *P. vivax* y *P. falciparum* (Moreno et al. 2005, 2007) La tasa de picada para esta especie en el estado Bolívar fue de 1,27 mosquitos/hombre/noche, mientras que la tasa entomológica fue de 1.25 picadas infectivas por persona por año (Moreno et al. 2009).

Esta es una especie que muestra un comportamiento de picada poco variable, marcadamente exofilico, con un patrón crepuscular, de intensa actividad durante las primeras horas de la noche, que va decayendo paulatinamente. Este patrón de picada ha demostrado ser bastante estable a lo largo de su distribución geográfica (Voorham 2002).

Figura 21.2
Distribución geográfica histórica de *An. marajoara* en
Venezuela

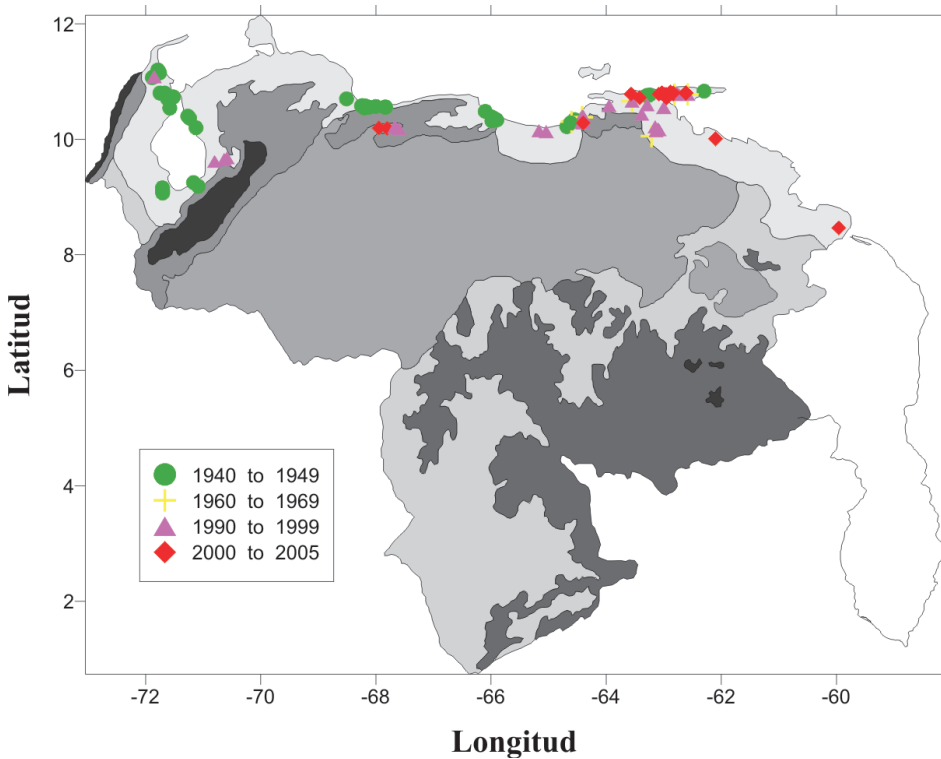


Fuente: Tomado de Osborn y col., 2004

***Anopheles aquasalis* Curry** es una especie restringida a la franja litoral del Atlántico desde Nicaragua hasta el estado de Sao Paulo en Brasil (Rubio-Palis, 2000). Es el principal vector de Malaria en el foco oriental de Venezuela, y es considerado vector en la franja norte costera que va desde Venezuela hasta Brasil, pasando por Guyana y varias islas del Caribe (Rubio-Palis, 2000; Rubio-Palis y Zimmerman, 1997). En Venezuela, según Osborn y col. (2004) la distribución geográfica de esta especie está restringida a la franja litoral que va de un extremo a otro del país, desde Guyana en el oriente hasta la península de la Goajira en occidente (figura 21.3). Esta es una especie que parece ser más zoofílica que antropofílica, de hábitos marcadamente exofílicos, que gusta reposar en la vegetación circundante a los domicilios humanos (Rubio-Palis, 2000; Flores Mendoza y Dean, 1993). Los adultos hembras de esta especie presentan hábitos alimenticios crepuscula-

res presentando mayor actividad hematofágica al atardecer (Faran, 1980). Los estadios inmaduros de *An. aquasalis* están asociados principalmente a aguas salobres y marismas, sin embargo también se les ha colectado en gran cantidad de criaderos de aguas dulces y salobres, total o parcialmente expuesto a la luz solar (Rubio-Palis, 2000; Faran, 1980; Berti y col., 1993).

Figura 21.3
Distribución geográfica histórica de *An. aquasalis* en Venezuela



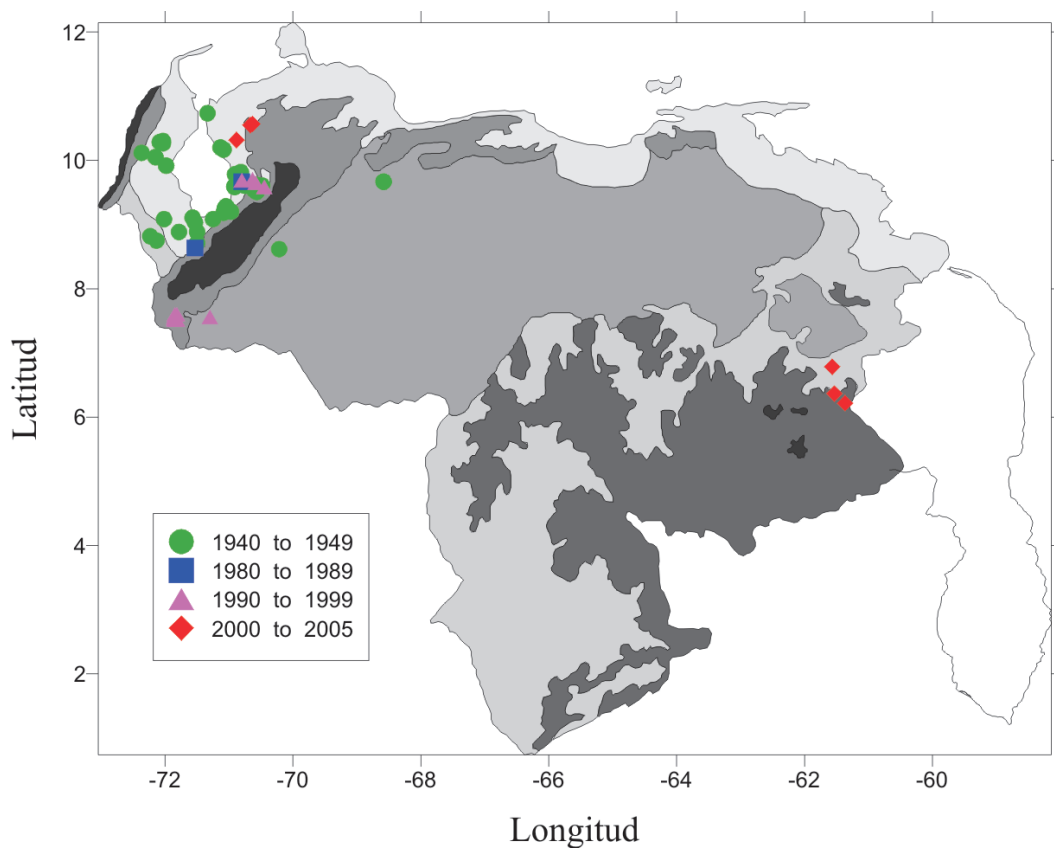
Clave para las ecoregiones:

Costera , Piedemonte , Llanos , Sabanas altas , Bosque interior , Valles altos

Fuente: Tomado de Osborn y col. 2004

***Anopheles nuneztovari* Gabaldón** es un importante vector de Malaria que se encuentra solamente en Sur América. Su límite norte lo constituye la porción este de Panamá, norte de Colombia, oeste de Venezuela y las Guyanas y al sur, se encuentra en el norte de Perú, Bolivia y en todos los estados de la Amazonía brasilera (Rubio-Palis, 2000). En Venezuela esta especie se encuentra distribuida en el occidente del país, al norte y al sur de la cordillera de Los Andes, desde la Sierra de Perijá en el estado Zulia en el punto más occidental, hasta el pie de monte andino al sur del Táchira y occidente de los llanos de Apure en la frontera con Colombia (Gabaldón, 1981) y el punto más oriental el estado Cojedes (figura 21.4). El área de distribución geográfica de la especie abarca ocho estados del país, ya que recientemente, además de los estado citados por Sutil (1980), se le ha encontrado en el estado Bolívar, al sur oriente de Venezuela (Moreno et al. 2004, Osborn y col., 2004) *Anopheles nuneztovari* es el principal vector de Malaria en el occidente de Venezuela y norte de Colombia (Rubio-Palis, 2000), además de estar involucrado en la transmisión en la costa pacífica colombiana (Fajardo y Alzate, 1987), Perú (Hayes y col., 1987), Surinam (Panday, 1977) y Brasil (Arruda y col., 1986; Póvoa y col., 2001; Tadei y col., 1998). Estudios realizados en el occidente venezolano han determinado que esta es una especie antropofílica, endo-exofágica y exofílica (Rubio-Palis y Curtis, 1992; Rubio-Palis y col., 1994) y con una elevada capacidad vectorial (Rubio-Palis, 1994).

Figura 21.4
Distribución geográfica histórica de *An. nuneztovari*
en Venezuela



Clave para las ecoregiones:

Costera (light gray), Piedemonte (medium gray), Llanos (dark gray), Sabanas altas (very dark gray), Bosque interior (light gray),
Valles altos (black)

Fuente: Tomado de Osborn y col., 2004

REFERENCIAS

- Achee NI, Grieco Jp, Rejmankova E, Andre Rg, Vanziel E, Polanco J, et al. (2005). Biting pattern and seasonal densities of *Anopheles* mosquitoes in the Cayo District, Belize, Central America with emphasis on *An. darlingi*. *J Vector Ecology*, **31**: 45-57.
- Arruda M., Carvalho Mb, Nussenzweig Rs, Maracic M., Ferreira Aw, Cochrane Ah. (1986). Potential vectors of Malaria and their different susceptibility to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in northern Brazil identified by immuno-assay. *Am J Trop Med Hyg* 35: 873-881.
- Berti J., Zimmerman R. & Amarista J. (1993). Spatial and temporal distribution of *anopheline* larvae in two malarious areas in Sucre, Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **88**: 353-362.
- Calderón G, Fernández R, Vallej. (1995). Especies de la fauna anofelina, su distribución y algunas consideraciones sobre su abundancia e infectividad en el Perú. *Rev. Perú Epidemiol.*, **8(1)**: 5-23.
- Charlwood Jd. (1996). Biological variation in *Anopheles darlingi* Root. *Mem Ints Oswaldo Cruz* 91:391-398.
- Conn Ja, Wilkerson Rc, Segura Mno, De Souza Rtl, Schlichting Cd, Wirtz Ra, et al. (2002). Emergence of a new neotropical Malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. *Am J Trop Med Hyg*, **66(1)**:18-22.
- Fajardo P, Alzate A. (1987). *Anopheles nuneztovari* como vector de Malaria en el bajo Calima, Buenaventura, Colombia. *Colombia Med* **18**: 14-18.
- Faran M.E. (1980). Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXXIV. A revision of the Albimanus Section of the subgenus Nyssorhynchus of *Anopheles*. *Cont. Am. Entomol. Inst.* **15**: 1-215.
- Flores-Mendoza C, Deane Lm. (1993). Where are the rest places of *Anopheles aquasalis* males?. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **88**: 501-502.

- Gabaldón A. (1981). *Anopheles nuneztovari*: importante vector y agente de Malaria refractaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **21**: 28-38.
- Girod R., Gaborit P., Carinci R., Issaly J., Fouque F. (2008). *Anopheles darlingi* bionomic and transmission of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium Malariae* in Amerindian villages of the Upper-Maroni Amazonian forest, French Guiana. *Mam Inst Oswaldo Cruz*, **103**: 702-710.
- Harbach Re. (2004). The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Entomol. Research*, **94**: 537-553.
- Hayes J., Calderón G., Falcón R., Zambrano V. (1987). Newly incriminated vectors of human Malaria parasites in Jinni Department, Perú. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **3**: 418-422.
- Leon Cw, Valle Tj, Naupay Or, Tineo Ve, Rosas Aa, Palomino Sm. (2003). Comportamiento estacional del *Anopheles* (Nyssorhynchus) *darlingi* Root 1926 en localidades de Loreto y Madre de Dios, Perú 1999-2000. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, **20**: 22-27.
- Lounibos Lp, Conn Je. (2000). Malaria vector heterogeneity in South America. *Am Entomologist* **46**: 237-248.
- Magris M., Rubio-Palis Y., Menares C, Villegas L. (2007). Vector bionomics and Malaria transmission in the Upper Orinoco river, Southern Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **102**: 303-311.
- Moreno J., Rubio-Palis Y. Sánchez V, Mariany D. (2004). Primer registro de *Anopheles* (Nyssorhynchus) *nuneztovari* Gabaldón, 1940 (Diptera: Culicidae) en el estado Bolívar, Venezuela y sus implicaciones eco-epidemiológicas. *Entomotrópica* 19(1)55-58.
- Moreno J., Rubio-Palis Y., Páez E., Pérez E., Sánchez V. y Vaccari E. (2005). *Anopheles* (Anopheles) *neomaculipalpus*: a new Malaria vector in the Amazon basin? *Med & Vet Entomol* **19**: 329-332.

- Moreno J., Rubio-Palis Y., Páez E, Pérez E. y Sánchez V. (2007). Abundance, biting behavior and parous rate of anopheline mosquito species in relation to Malaria incidence in gold-mining areas in southern Venezuela. *Med & Vet Entomol* **21**: 339-349.
- Osborn F., Rubio-Palis Y., Herrera M., Figuera A., Moreno J., (2004). Caracterización ecoregional de los vectores de Malaria en Venezuela. *Bol. Malariol. Salud. Amb.*, **44**: 77-92.
- Moreno Je, Rubio-Palis Y., Páez E., Pérez E., Sánchez V., Vaccari E. (2009). Malaria entomological inoculation rates in gold mining areas of southern Venezuela, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **104(5)**:764-768.
- Panday Rs. (1977). *Anopheles nuneztovari* and Malaria transmission in Surinam. *Mosq News* **37**:728-737.
- Povoa Mm, Conn Je, Schilichting Cd, Amaral Jcof, Segura Mno, Da Silva Anm, (2003). Malaria vectors, epidemiology, and re-emergence of *Anopheles darlingi* in Belem, Pará, Brazil. *J. Med. Entomol.* **40(4)**: 379-386.
- Póvoa M., Wirtz R., Lacerda R., Miles M., Warhurst D. (2001). Malaria vectors in the Municipality of Serra do Navio, state of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **96**: 179-184.
- Ribeiro G., Arruda M, D'almeida A., Wirtz R., Lounibos L., Zimmerman R. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in Brazilian Amazon. *Am. j. Trop. Med.*, **76**: 461-469.
- Roberts D., Alecrim W., Tavares A., Radke M.(1987). The house-frequenting, host-seeking and resting behavior on *Anopheles darlingi* in southeastern Brazil. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* **3(3)**: 433-441.
- Rosa-Freitas M., Lourenço-De-Oliveira R., Carvalho-Pintopinto C., Flores-Mendoza C., Silva-Do-Nascimento T. (1998). *Anopheline* species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to Malaria transmission. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.*, **93**: 651-655.
- Rosa-Freitas, Broomfield G., Priestman A., Milligan P, Momem H., Molyneux D. (1992). Cuticular Hydrocarbons, isoenzymes and beha-

- vior of three populations of *Anopheles darlingi* from Brazil. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* **8**: 357-366.
- Rozendaal J. (1987). Observations of the biting and behaviour of anophelines in the Surinam rainforest with species reference to *Anopheles darlingi* Root. *Cahiers ORSTOM, Serie Entomologie Médical et Parasitologie*, **25**: 33-43.
- Rubio-Palis Y., Curtis C., Gonzáles C., Wirtz R. (1994). Host choice of *Anopheline* mosquitoes in a Malaria endemic area of western Venezuela. *Med. Vet. Entomol.* **8**: 275-280.
- Rubio-Palis Y., Curtis C. (1992). Biting and resting behavior of anophelines in western Venezuela and implications for control of Malaria transmission. *Med. Vet. Entomol.* **6**: 325-334.
- Rubio-Palis Y., Guzmán H., Magris M. (1999). Evaluación de la eficiencia de trampas de luz vs cebo humano para capturar *Anopheles darlingi* Root. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **39**: 30-32.
- Rubio-Palis Y., Wirtz R., Curtis C. (1992). Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. *Acta Trop.* **52**: 167-174.
- Rubio-Palis Y. & Zimmerman R. H. (1997). Eco-regional classification of Malaria vectors in the neotropics. *J. Med. Entomol.* **34**: 499-510.
- Rubio-Palis Y. (1994). Variation of the vectorial capacity of some anophelines in western Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **50**: 420-424.
- Rubio-Palis Y. (1995). Observaciones sobre el patrón de actividad hematofágica del vector de la Malaria *Anopheles darlingi* en las poblaciones del sur de Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.*, **35**: 66-70.
- Rubio-Palis Y. (2000). *Anopheles (Nyssorhynchus) de Venezuela taxonomía, bionomía, ecología e importancia médica*. Publicación de la Escuela de Malariología y Saneamiento Ambiental "Dr. Arnoldo Gabaldón" Maracay, Venezuela. 120 p.

- Soares G., Alves F., Zieler H., Salcedo J., Durlacher R., Cunha R., et al. (2003). Seasonal Malaria transmission and variation of anopheline density in two distinct endemic areas in Brazilian Amazonia. *J. Med. Entomol.*, **40(5)**: 636-641.
- Sutil O. (1980). Enumeración histórica y geográfica de las especies de Culicidae de Venezuela ordenadas según su taxonomía. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **20**: 1-32.
- Tadei W, Thatcher B. (2000). Malaria vectors in the brazilian amazon: *Anopheles* of the subgenus Nyssorhynchus. *Rev. Inst. Med. Trop. S Paulo*, **42**: 87-94.
- Tadei W., Thatcher B., Santos J., Scarpassa V., Rodríguez I., Rafael M. (1998). Ecologic observations on anopheline vectors of Malaria in the Brazilian Amazon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **59**: 325-335.
- Torres J., Noya O., Mondolfi A., Peceño C., Botto C. (1988). Hyperreactive Malarial splenomegaly in Venezuela. *Amer. J. Trp. Med. Hyg.*, **28**: 927-932.
- Voorham J. (2002). Intra-population plasticity of *Anopheles darlingi* (Diptera, Culicidae) biting activity patterns in the state of Amapá, Brazil. *Rev. Saúde Pública*, **36(1)**: 75-80.
- Zimmerman Rh. (1992). Ecology of Malaria vectors in the Americas and future and direction. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **87**: 371-383.

22. CONTROL DE LOS MOSQUITOS CON INSECTICIDAS. BIOENSAYOS DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS INSECTICIDAS QUÍMICOS

Dra. Darjaniva Molina de Fernández

Las estrategias para controlar las poblaciones de insectos vectores de Malaria, dentro del contexto del Manejo Integrado, se basan en diferentes tipos de control: natural, físico, etológico, biológico, bioquímico y químico; este último, se fundamenta en la utilización de insecticidas que a dosis recomendadas ocasionan mortalidad en los individuos de la población expuesta. La absorción se da a través del tegumento, por ingestión o inhalación, transitando tejidos hasta incorporarse a la hemolinfa. Un insecticida se define como el agente químico utilizado para matar insectos, de allí que su uso es la estrategia más frecuentemente utilizada para el control de vectores y la más segura en caso de epidemias. El control de la Malaria en amplia escala se hizo posible sólo después de la introducción de insecticidas de acción residual como el DDT (Gabaldón, 1963) y en el tiempo ha seguido dependiendo básicamente de diferentes formas de control químico (Nájera y Zaim, 2002). En Venezuela, el Programa de Control de Malaria ha incluido principalmente: el rociamiento intradomiciliario con insecticidas de acción residual, rociamiento espacial con insecticidas en las áreas urbanas de zonas endémicas, en ambos casos se han utilizado insecticidas organofosforados como fenitrothion, malathion y pirimifos metil y/o insecticidas piretroides como deltametrina y lambda-cialotrina en diferentes tipos de formulaciones. Así también en menor escala muy puntualmente se han usado mosquiteros tratados con insecticidas piretroides y se han aplicado larvicidas biológicos como *Bacillus thuringiensis israelensis* y *Bacillus sphaericus*.

Los insecticidas usados en Salud pública, además de su actividad letal sobre los vectores, también deben cumplir requisitos de seguridad, por ser utilizados en ambientes urbanos y rurales donde habitan las personas; por ello el operario debe conocer del efecto, de su toxicidad en humanos y de su composición a fin de que sean bien manejados y se pueda contar con la efectividad de las pocas moléculas permitidas. Ahora bien, todos los insecticidas por su modo de acción de alguna forma modifican en los insectos la señalización de las células nerviosas interfiriendo en la sinapsis, bien sea por unión de la enzima acetilcolinesterasa (organofosforados y carbamatos) o en los canales de sodio (DDT y piretroides), no reconociendo el sitio de acción. Además hay

otros factores, como la penetración y/o el metabolismo que pueden modular la selectividad así como también cambios en su comportamiento (Saume, 1992).

Los organofosforados son el grupo más importante de insecticidas usados en el control de vectores de Malaria, además tienen un amplio rango de uso, formas de acción y formulaciones, sus estructuras están formadas básicamente por fosfatos, fosfonatos y fosforotionatos entre otros; por otro lado, los piretroides como insecticidas orgánico sintéticos, se consideran los insecticidas con mayor actividad biológica. Mientras que a nivel de campo se recomiendan dosis de kg/ha para los organoclorados, organofosforados y carbámicos, para los piretroides sintéticos se recomiendan dosis de gr/ha y además éstos están constituidos por moléculas que se biodegradan más rápidamente que los demás insecticidas, estos factores los hace menos contaminantes.

En tal sentido, cuando se implementa el uso de insecticidas como estrategia de control vectorial es fundamental monitorear periódicamente la susceptibilidad de los vectores a los insecticidas en la zona de aplicación y actualizar estudios sobre la bionomía y el comportamiento de los vectores, cuyas características permitan que entren en contacto con los insecticidas, conviene considerar que estas pueden variar con el tiempo, con la época del año sequía o invierno, ya que el vector puede desarrollar resistencia o un comportamiento de evasión como resultado de una exposición continua a estos químicos.

Aunque son pocos los insecticidas permitidos para ser usados en ambientes públicos y las fracciones que se colocan son pocas en relación a las cantidades aplicadas en forma general, muchas especies de importancia médica han desarrollado resistencia a uno o más insecticidas (IRAC 2006). El desarrollo de resistencia es un proceso dinámico y complejo y depende de muchos factores. Más comúnmente, cuando la frecuencia de insectos resistentes en una población de vectores aumenta, la eficacia de los tratamientos disminuye al punto donde el insecticida debe ser reemplazado por otro. Casi todos los insecticidas usados en salud pública también son usados en agricultura por lo que los vectores que habitan ecosistemas agrícolas pueden estar expuestos a los mismos compuestos y desarrollar resistencia (Georghiou y col., 1972). Este fenómeno es de particular relevancia para vectores de Malaria y se ha reportado para *Anopheles albimanus* de América Central y en América del Sur en Colombia y en Venezuela en las especies *An.*

albimanus, *An. aquasalis* (Molina et al. 1997; y *An. marajoara* (Molina y col., 2007; Fonseca, 2008).

Es común para una población de mosquitos vectores de Malaria estar expuesta durante las distintas etapas de desarrollo a insecticidas (ej. piretroides) en la fase larval a través de rociados aplicados en agricultura y luego en la fase adulta recibir la presión de diferentes insecticidas organosintéticos a través de los programas de control de vectores. Por lo que, la presión de selección ejercida sobre los vectores varía enormemente con el tipo de aplicación y la fracción de la población de vectores que se ha expuesto realmente, contribuyendo a cambios en la susceptibilidad de los vectores a los insecticidas (Nájera y Zaim, 2002).

También, han sido usados insecticidas masivamente en forma de rociamiento intradomiciliario, causando impacto sobre las especies vectoras las cuales reposan dentro de la vivienda, esta característica de las poblaciones de mosquitos es muy importante para el control. Esos son llamados vectores endofílicos, los más peligrosos debido al estrecho contacto con humanos. Fue reportado por Gabaldón (1963) en poblaciones de mosquitos de Venezuela cambios de comportamiento, en búsqueda de alimento y reposo debido a la segregación genética causada por efecto del insecticida rociado dentro de las viviendas, este fenómeno lo llamo resistencia de comportamiento.

En consecuencia, la resistencia es reconocida como la selección de una característica heredable en una población de insectos que resulta de la repetida falla de un producto insecticida a proveer el nivel esperado de control, cuando su uso era recomendado (IRAC, 2006). De acuerdo a esto, diferencias en susceptibilidad aparente en bioensayos de laboratorio puede no necesariamente constituir resistencia si la diferencia no resulta en un cambio del efecto del insecticida en el campo. La resistencia en términos comparativos relaciona poblaciones resistentes a una población normal más susceptible. La presencia del fenómeno no implica que sea imposible el control de poblaciones resistentes o de prevenir la transmisión de la enfermedad, o que las especies sean imposibles de controlar.

Así un solo reporte de resistencia a un insecticida no significa que el compuesto no es útil dentro de una región local o globalmente. Se señalan como factores principales de su evolución elementos genéticos, biológicos y operacionales, donde los únicos factibles de manipulación

por el hombre son los operacionales (Ghiorgiou, 1977; Hemingway y Ranson, 2000). Por tal motivo, la evaluación de la susceptibilidad a insecticidas en los mosquitos, es un paso esencial en la planificación y evaluación epidemiológica de los programas de control.

Dado a que la Malaria, es una enfermedad focal y la transmisión depende principalmente de las condiciones ambientales locales, algunos autores estiman que el perímetro para ejercer el control puede ser de aproximadamente 10 Km o un poco más, ya que las características ecológicas, epidemiológicas y entomológicas pueden variar drásticamente dentro de una pequeña región (Rubio –Palis, 2000). Es así, como las medidas de control que pretendan reducir la transmisión deben ser adaptadas a las condiciones locales. Entre los factores más importantes a considerar se cita: la evaluación del nivel de susceptibilidad y/o resistencia de los mosquitos a los insecticidas a fin de poder monitorear en el tiempo la resistencia y la eficacia a nivel de campo. Este proceso se basa en la aplicación del bioensayo el cual se define en forma general como cualquier experimento en que se mida la relación estímulo –respuesta.

Existen BIOENSAYOS específicos y estandarizados como:

- **Susceptibilidad en mosquitos adultos a insecticidas KIT de la OMS.** Fundamentado en la exposición de los mosquitos a papeles impregnados con insecticidas a dosis diagnósticas en tiempos determinados pre establecidas para géneros y/o especies, obtenidas en laboratorios referenciales en diferentes regiones del mundo, utilizando un Kit producido por dicha organización y con criterios definidos en cuanto a categorización de cepas susceptibles, resistentes o en verificación, sobre la base de los porcentajes de mortalidad (WHO,1992).
- **Botellas tratadas con insecticidas del CDC** que tiene la capacidad de detectar el fenómeno de la resistencia y determinar dosis diagnósticas a nivel local por especie, permite además determinar a cualquiera de los diferentes mecanismos de resistencia bioquímicos o neurofisiológicos que estén presentes en los mosquitos con sus características particulares. El criterio de resistencia está definido por la determinación de un umbral de resistencia en comparación con una cepa susceptible de referencia o una cepa de

campo de comprobada susceptibilidad. (WHO, 1992; Brogdon y Mc Allister, 1998).

Ambas técnicas son pruebas biológicas que han sido validadas, con un objetivo común y con diferencias en cuanto a una serie de factores como rendimiento, operatividad, sencillez y manejo. Cada investigador es libre de realizar estudios de monitoreo de resistencia por alguna de ellas.

A continuación se desarrollará la técnica de las botellas tratadas del CDC.

22.1. Trabajo Práctico

Objetivo

- Identificar los niveles de susceptibilidad a insecticidas de poblaciones de adultos de Anofelinos colectadas en áreas endémicas para Malaria, mediante pruebas biológicas.

Materiales y métodos

Indicador biológico: mosquitos adultos anofelinos de la especie de importancia a nivel local, colectadas reposando en establos o sobre animales, en el domicilio y/o peridomicilio de la vivienda.

Unidades experimentales: 7 Botellas de vidrio de 250 ml tipo Wheaton. De estas, 5 tratadas con soluciones cetónicas de Insecticidas Grado técnico y 2 botellas similares pero solo tratadas con acetona usadas como testigo (figura 22.1).

Instrumentos de laboratorio: capturadores de vidrio (rectos y curvos), cápsulas de Petri, estiletes, linternas, cronómetro, termohigrómetro, Lupa estereoscópica, pipetas volumétricas.

Insecticidas: Grado técnico.

Sinergistas: PBO (Butoxide Piperonyl) y DEF (S,S,S-) Tributyl tri fosfato
Solvente: acetona grado analítico.

Otros materiales: cavas de anime, vasos parafinados, algodón, tela tipo tul o doppiovello, tirro (1 pulg) , bandas de goma, lápices de grafito y formatos.

La preparación de soluciones y el tratado de las botellas se realiza siguiendo procedimiento de Brogdon y Macllister,(1998) a continuación se describe según la estandarización realizada en el laboratorio de Evaluación del Insecticidas del CEEESA IAES. (Figueroa y col., 2007; Cárdenas, 2008).

Preparación previa en condiciones de laboratorio

•Tratamiento de las botellas con insecticidas:

1. Agregue entre 1 y/o 1,5 ml de acetona a las botellas para permitir un recubrimiento total de éstas. Cerciórese de colocar la tapa a la botella para evitar que la acetona se escape y hasta su completa evaporación. Destape las botellas y colóquelas en un lugar seco y fresco (aproximadamente 1 hora).
2. Agregue entre 1 y 1,5 ml solución de insecticida con el que se va trabajar, coloque la tapa y apriete firmemente, a fin de que quede bien cerrada.
3. Remueva el producto químico con la acetona dentro de la botella de modo que el fondo quede revestido. Invierta la botella y gírela para cubrir el interior de la tapa. Coloque la botella de lado por un momento para permitir que el líquido interior se acumule por un instante. Rote suavemente la botella por sus lados de forma tal que todo su interior quede recubierto de la mezcla. Coloque la botella de lado y ruédela hacia delante y atrás por uno o dos minutos
4. Quite la tapa y continúe rodando la botella de lado hasta que se eliminen todas las muestras visibles de líquido en el interior de las botellas. Deje las botellas de lado y cubiertas con algo que las proteja de la luz (una toalla sirve para esto). Para mejores resultados en alta humedad, deje secar las botellas por 2 a 6 horas sin las tapas. Si esta en un clima seco, este tiempo puede ser considerablemente más corto, pero es buena idea dejarlas reposar por lo menos 2 horas antes de su uso.

5. Asegúrese de preparar las 2 botellas de control para cada ensayo. Siga los mismos pasos anteriores, pero no agregue ningún insecticida, con excepción de la acetona.

Si usted no utiliza las botellas en forma inmediata, póngales las tapas y colóquelas en un lugar oscuro (tal como un cajón). Dependiendo del insecticida usado pueden ser almacenadas de 12 horas a 5 días de esta forma. Si usted está inseguro de si una botella continúa efectiva, puede probarlas colocando algunos mosquitos susceptibles ya probados en la botella, de forma tal que si mueren en el tiempo ya previsto, entonces las botellas siguen siendo efectivas. Más de un lote de mosquitos puede ser evaluado en una botella por día. Si usted desea reutilizar la botella enseguida, el plan es dejar por poco rato (2 horas o más si es un clima húmedo) la botella desecándose, antes que se introduzcan más mosquitos.

Bioensayo

Determinación resistencia a insecticidas

1. Coloque de 15 a 20 mosquitos en cada botella. Utilice un número que usted pueda contar fácilmente y con exactitud mientras que los mosquitos vuelan en el interior de las botellas. Con la práctica puede utilizar tantos mosquitos como no los pierda de vista. Se trabaja lo mejor posible si se recogen todos los mosquitos en el capturador (a la vez) y se introducen en las botellas con un soplo de aire en forma apacible.

2. Examine las botellas para asegurarse que todos los mosquitos sobrevivieron al traspaso del capturador a éstas. Si usted encuentra uno o dos mosquitos lesionados, regístrelos, ya que necesitará suprimirlos de cada lectura sincronizada.

3. Utilizando un cronómetro registre los mosquitos muertos o vivos (los que sean más fáciles de contar) cada 15 minutos hasta que todos estén muertos o hasta 1,5 o 2 horas de transcurso. Usted puede decidir si prolongar el ensayo hasta 3 horas al trabajar con organofosforados, ya que estos insecticidas dura más tiempo para causar la mortalidad de los mosquitos.

4. Contar nuevamente el número total de mosquitos en cada botella y calcular el porcentaje de mortalidad para cada intervalo de 15 mi-

nutos. Sí aún quedan mosquitos volando en las botellas después del tiempo estipulado, puede que tenga que matarlos antes que pueda conseguir una cuenta exacta. Puede matarlos colocándolos en un congelador. Trace su porcentaje de mortalidad (eje Y) contra el tiempo (eje X) usando una escala de probabilidad para el porcentaje de mortalidad. (Ej. figura 22.2).

5. En el caso de que la mortalidad en el control se encuentre entre el 5 y 10 %, los datos de mortalidad de las botellas tratadas con insecticidas serán corregidos mediante la fórmula de Abbott (1925), si se excediera ese porcentaje se invalida la prueba.

Limpieza de las botellas

Cuando finalice con sus botellas o éstas ya están muy viejas para utilizarlas, triplique la aclaración con acetona y lávelas con agua jabonosa caliente. Colóquelas en un horno para secarse profundamente, antes de utilizarlas por siguiente oportunidad. Si esta inseguro de que las botellas quedaron completamente limpias, introduzca algunos mosquitos susceptibles en la botella después que las secó (si cuenta con una cepa referencial). No deben morir enseguida, si así sucediera lavar las botellas otra vez porque es signo de contaminación.

Interpretación de los datos de las botellas

Como todas las pruebas de resistencia a insecticidas, los datos de las pruebas biológicas de las botellas tratadas necesitan ser comparados a los datos de fuentes de la línea susceptible o baja obtenida de cepas de campo.

Un umbral de la resistencia para cada insecticida puede ser determinado dibujando una línea recta abajo del punto en el cual todos los mosquitos susceptibles de la colonia murieron. Si cualquiera de sus mosquitos sobrevivieron más allá de éste umbral, usted puede interpretar estos resultados alegando que éstos sobrevivientes representan esa proporción de la población quienes tienen algo que impide o retrasa al insecticida alcanzar el sitio blanco y actuar de esta forma, es decir tienen cierto grado de resistencia a ese determinado insecticida.

En el ejemplo que se presenta en la figura 22.3, todos los mosquitos que murieron antes de los 30 minutos a una concentración de insectici-

da $X \mu\text{g}/\text{botella}$ eran susceptibles. Cualquier mosquito de la misma especie que alcanzara sobrevivir más allá de los 30 minutos (Umbral de Resistencia), tendría cierto grado de resistencia a ése insecticida. Como es frecuente en anofelinos se hace difícil contar con cepas referencias susceptibles es válido tomar de comparación la cepa que resulte mas susceptible de un estudio sistemático realizado a nivel local como se presenta en la figura 22.2.

Los datos del tiempo de mortalidad obtenidos de los bioensayos son una medida del tiempo que requiere el insecticida para penetrar en el mosquito, y atravesar los distintos tejidos finos que intervienen en la ruta, conseguir el sitio blanco y actuar en ese sitio. Cualquier obstáculo (enzima, receptor proteico, etc.) que prevenga o retrase al compuesto de hacer su trabajo, estará contribuyendo a la resistencia a ese insecticida. Resulta mucho más fácil la detección de resistencia cuando se cuenta con cepas susceptibles referenciales, pero en estudios de Malaria esto resulta difícil y es necesario comparar con cepas de campo que se comparan en cuanto al nivel de susceptibilidad a insecticidas.

Bioensayos

Determinacion de mecanismos de resistencia *in vivo* con el uso de sinergistas

Un sinergista se define como un químico que mejora la efectividad de un ingrediente activo. Una de las ventajas de las pruebas biológicas de las botellas es que los sinergistas pueden ser agregados a las botellas (junto con el insecticida) si se encuentra la resistencia. Esto le ayudará a determinar cual mecanismo de resistencia es el que está actuando. El PBO (Butoxide Piperonyl) es un sinergista que elimina la actividad de las enzimas oxidasas y DEF (S,S,S-) elimina la actividad de las enzimas esterases. Si se realiza una prueba con el sinergista agregado al insecticida a una población con resistencia, esa población debe parecer nuevamente una población susceptible si el mecanismo estaba basado en un alto nivel a la enzima que el sinergista inhibe, tal y como se presenta en la figura 22.4.

En este sentido, se tomaron en consideración los siguientes parámetros:

- **Umbral de resistencia:** Estimado como el tiempo en el cual todos los mosquitos susceptibles de la colonia murieron y al evaluar cepas de campo permite categorizar una población de mosquitos resistentes siguiendo el método de Brogdon *et al.* 1998.
- **Dosis Diagnóstica:** Se define como la menor concentración del insecticida que normalmente ocasiona el mayor % de mortalidad entre los miembros de la población natural en el menor tiempo (Brogdon *et al.* 1998.).
- **Factor de sinergismo:** Coeficiente determinado por la división de los valores TL50 del insecticida solo entre TL50 de la mezcla insecticida-sinergista, cuyo valor mayor a 1 es indicativo de sinergismo, es decir, de la inhibición de la actividad enzimática por el sinergista (Vassena y col., 2000).

La caracterización de la resistencia en las especies vectoras permite implementar modelos para monitorear la resistencia a insecticidas como se presentan en la (figura 22.5) diseñado para el BIOENSAYO de la OMS pero perfectamente aplicable sin importar el tipo de prueba biológica aplicada.

Figura 22.1
Botella de vidrio de 250 ml tipo Wheaton con mosquitos expuestos



Figura 22.2

Representación gráfica de la tendencia de los datos tiempo-mortalidad en mosquitos adultos anofelinos de cuatro localidades distintas expuestos a un insecticida

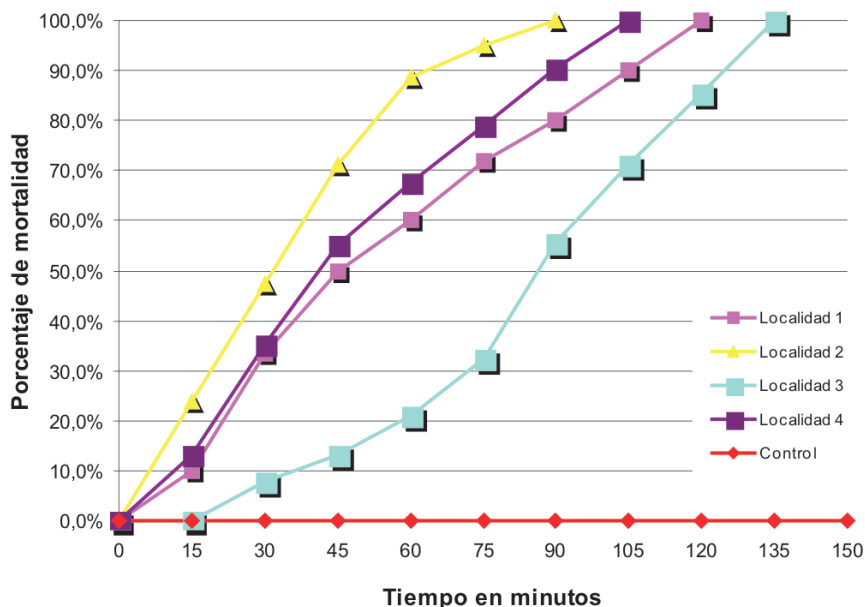


Figura 22.3

Tendencia de los datos tiempo-mortalidad en mosquitos anofelinos adultos expuestos a un insecticida y comparados con una cepa referencial susceptible

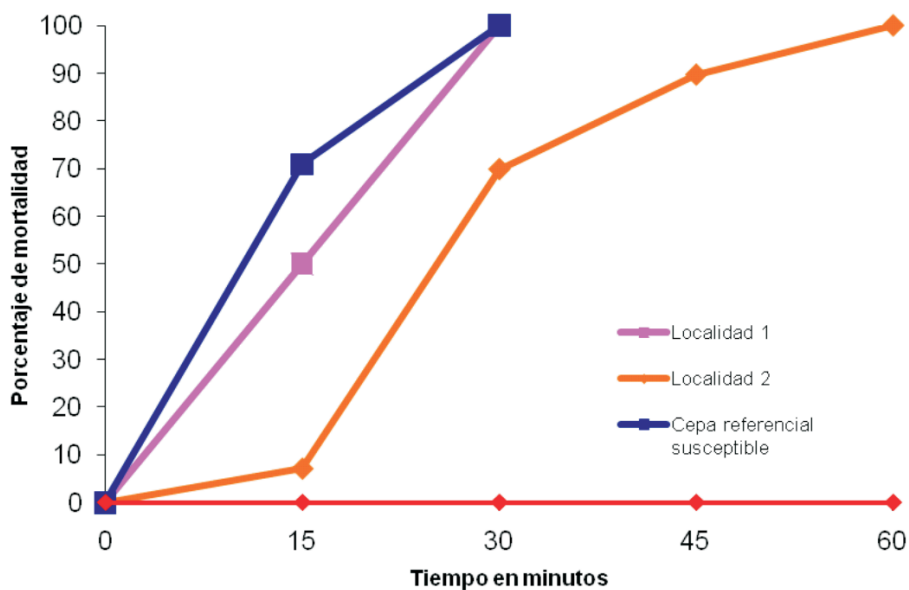


Figura 22.4

Tendencia de los datos tiempo-mortalidad en adultos de mosquitos expuestos a un insecticida con el sinergista Butóxido de Piperonilo

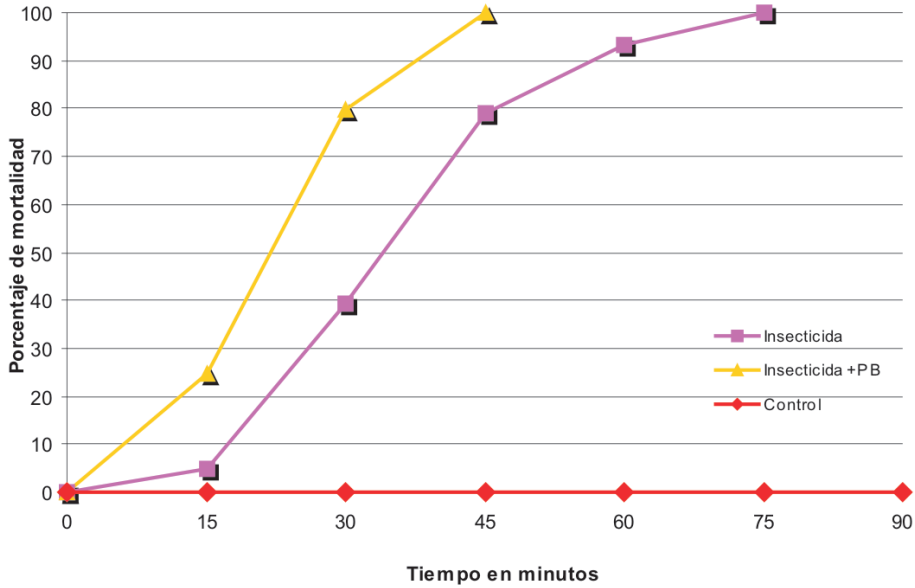
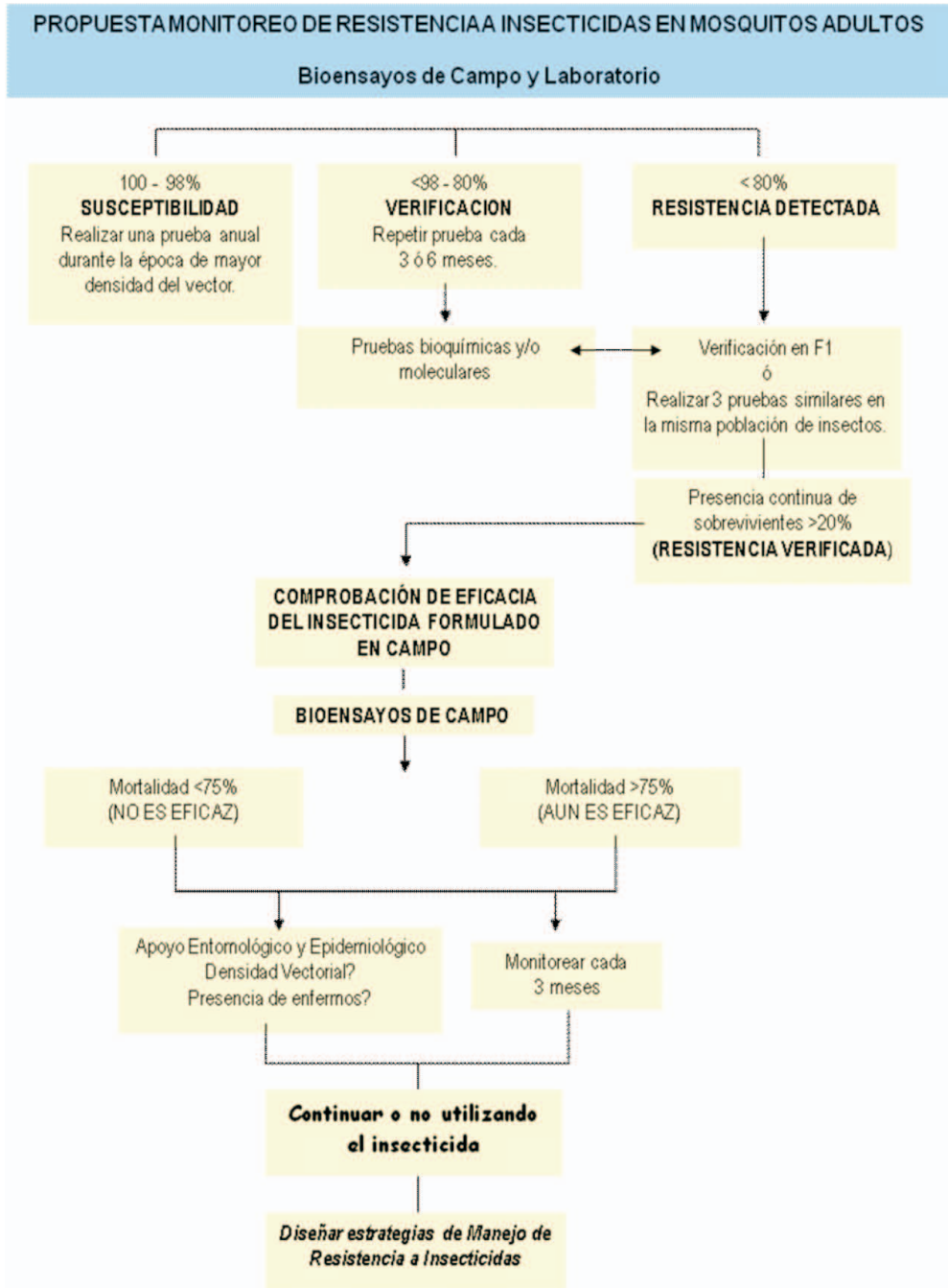


Figura 22.5



Fuente: Juan Bisset Lascano, Darjaniva Molina de Fernández, 1997.

Formato para recolección de datos

Bioensayos en botellas para evaluación de insecticidas

Números de mosquitos muertos por intervalos de tiempo

Número de ensayo: _____ Especie: _____ Género: _____

Insecticida: _____ Concentraciones: _____

Número de individuos por botella: _____ Localidad: _____

Temperatura: _____ Humedad relativa: _____ Código: _____

Operador: _____ Fecha: _____

C=		Tiempo de Exposición											
Nº de botella													
1													
2													
3													
4													
Control													

C=		Tiempo de Exposición											
Nº de botella													
1													
2													
3													
4													
Control													

C=		Tiempo de Exposición											
Nº de botella													
1													
2													
3													
4													
Control													
Total de mosquitos evaluados													

Tabla 22.1
Manual de procedimiento para cálculos de mezcla con diferentes insecticidas

INSECTICIDA: Deltametrina y Lambdacyalotrina
C.E. 2,5,% y 2,5,%
DOSIS 1,0 gra./Ha.

Equipos a Usar	Preparación de la Mezcla					Ejista tecnico del equipo		
	Conc.final a usar en grs. de i.a.(*) en%	cc del conc para preparar un litro de solución	cc de solvente por litro	Descarga de la boquilla cc/min.	Recorrido mts./min.	Solvente	Capacidad Lts.	Alcance del equipo
Pesado Termico Tifa ó 1200 y Dyna-Fog (**)	0.125 y 0.2	50 -80	950 - 920	1600 - 400	200	gasoil	400 - 200	100 - 40
Manual Termico Golden Eagle, Super Hawk y Puls Fog, Igeba	0,3	120	880	100	95	gasoil	4,8	30
Pesado U.L.V. Leco 1600, Piritrack, Maxi-pro1 (+)	1,7	680	320	120	200	gasoil	40 ó 60	100
pesado U.L.V. Maxi.pro-4 (++)	1,7	680	320	200	333,3	gasoil	40 ó 60	100
Manual U.L.V. Solo y Leco P-1	0,3	120	880	100	95	gasoil	8	30
Manual Termico Igaba TF 35	0,15	60	940	200	95	gasoil	4,8	30

MM/JGRM/LVCH/EB/cepl/pc.

(+) 12 Km/h. Promedio
(++) 20 Km/h promedio
(*) i.a. = Ingrediente Activo

(**) Equipo semipesado

Nota: Este producto debe ser utilizado solo con autorización de la Dirección de Control de Vectores, Reservorios y Fauna Nociva

Fuente: Circular N°. 00069 de fecha 14/12/2009. Dirección General de Salud Ambiental. Dirección de control de vectores, reservorios y faunas nocivas. Programa de Control de Malaria. MPPS. Venezuela.

Tabla 22.2
Manual de procedimiento para cálculos de mezcla con diferentes insecticidas

INSECTICIDA: rganoforador Pirimiphos Metil (Atelic) U.L.V. 50%
SOLVENTE: Gasoil

	Preparación de mezcla					Ajuste Tecnico del equipo		
	Dosis Grs/Ha	Conc.final a usar en grs. de i.a.(*) en % (p/v)	Capacidad del tanque del producto	Cantidad producto en cc	Cantidad solvente en cc	Descarga de la boquilla cc/minutos	Recorridos metros por minutos	Alcance del equipo/Mts.
Pesado - Termico Tifa 1200	50	6,25	200 - 400	125 cc	875cc	1600	200	100
Semipesado Dyna Fog (**)	50	6,7	200	134 cc	866cc	600	200	40
Manual Termico Golden Eagle, Super Hawk, Puls Fog, Igeba	50	14,25	4.8 - 5	285 cc	715cc	100	95	30
Pesado U.L.V. Leco, Piritrack, Maxi-Pro-1 (+)	50	50	40 - 60	1000	0	200	200	100
Pesado U.L.V. Maxi-Pro-4 (++)	50	50	60	1000	0	300	333,33	100
Manual - U.L.V. Solo y Leco P-1	50	14,25	4 y 8	285 cc	715cc	100	95	30
Manual Termico Igaba TF 35	50	7,13	5 lts.	142 cc	858 cc	200	95	30

(+) 12 Km/h promedio
(++) 20 Km/h promedio
(*) i.a. Ingrediente Activo

(**) Equipo Semipesado

100 Mts. Penetración

30 Mts. Penetración

40 Mts. Penetración

Fuente: Circular N°. 00069 de fecha 14/12/2009. Dirección General de Salud Ambiental. Dirección de control de vectores, reservorios y faunas nocivas. Programa de Control de Malaria. MPPS. Venezuela.

Tabla 22.3
Manual de procedimiento para cálculos de mezcla con diferentes insecticidas

INSECTICIDA: Organoforado Malathión U.L.V al 94%
SOLVENTE: Gasoil

Equipos a Usar	Preparación de mezcla					Ajuste Técnico del equipo		
	Dosis Grs/Ha	Conc.final a usar en grs. de i.a.(*) en % (p/v)	Capacidad del tanque del producto	Cantidad del producto en cc	Cantidad de solvente en cc	Descarga de la boquilla cc/minutos	Recorridos metros por minutos	Alcance del equipo/Mts.
Pesado - Termico Tifa 1200	36	4,5	200 - 400	48 cc	952 cc	1600	200	100
Semipesado Dyna Fog (**)	36	7,2	200	76 cc	924 cc	400	200	40
Manual Termico , Golden Eagle, Super Hawk, Puls Fog, Igeba	56,4	16,1	4,8	171 cc	829 cc	100	95	30
Pesado U.L.V. , Leco, Piritrak, Maxi-Pro-1 (+)	56,7	94	40 - 60	1000	0	120	200	100
Pesado U.U.L.V Maxi-Pro-4 (++)	62,4	94	60	1000	0	200	200	100
Manual - U.L.V. Solo y Leco P-1	56,4	16,1	4 y 8	171 cc	829 cc	100	95	30
Manual Termico Igaba TF 35	56,4	8,05	5 lts.	86 cc	914 cc	200	95	30

(++) 20 Km/h promedio 30 Mts. Penetración

(*) i.a. Ingrediente Activo 40 Mts. Penetración

Fuente: Circular N°. 00069 de fecha 14/12/2009. Dirección General de Salud Ambiental. Dirección de control de vectores, reservorios y faunas nocivas. Programa de Control de Malaria. MPPS. Venezuela.

Tabla 22.4
Manual de procedimiento para cálculos de mezcla con diferentes insecticidas

INSECTICIDA: Organoforado Fenitrothión U.L.V. . al 50%
SOLVENTE: Gasoil

Equipos a Usar	Preparación de mezcla					Ajuste Técnico del equipo		
	Dosis Grs/Ha	Conc.final a usar en grs. de i.a.(*) en % (p/v)	Capacidad del tanque del producto	Cantidad del producto en cc	Cantidad de solvente en cc	Descarga de la boquilla cc/minutos	Recorridos metros por minutos	Alcance del equipo/Mts.
Pesado - Termico Tifa 1200	30	3,75	200 - 400	75 cc	925 cc	1600	200	100
Semipesado Dyna Fog (**)	30	6	200	120 cc	880 cc	400	200	40
Manual Termico , Golden Eagle, Super Hawk, Puls Fog, Igeba	30	8,5	4,8 y 5	170 cc	830 cc	100	95	30
Pesado U.L.V. , Leco, Piritrak, Maxi-Pro-1 (+)	30	50	40 - 60	1000	0	120	200	100
Pesado U.U.L.V Maxi-Pro-4 (++)	30	50	60	1000	0	200	333,3	100
Manual - U.L.V. Solo y Leco P-1	30	8,5	4 y 8	170 cc	8830 cc	100	95	30
Manual Termico Igaba TF 35	30	4,25	5 lts.	85 cc	915 cc	200	95	30

(+) 12 Km/h promedio (***) Equipo Semipesado

100 Mts. Penetración

(++) 20 Km/h promedio 30 Mts. Penetración

(*) i.a. Ingrediente Activo 40 Mts. Penetración

Fuente: Circular N°. 00069 de fecha 14/12/2009. Dirección General de Salud Ambiental. Dirección de control de vectores, reservorios y faunas nocivas. Programa de Control de Malaria. MPPS. Venezuela.

REFERENCIAS RECOMENDADAS

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267.
- Brogdon W., McAllister J. C. (1998). Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **14**: 159-64.
- Bol. Dir. Malariol. San Amb., **3**: 198-210.
- Cárdenas R. (2008). *Resistencia a insecticidas en poblaciones de Aedes aegypti (l) y Anopheles nuneztovari en áreas endémicas del norte de Santander, Colombia*. Tesis de grado ULA, Trujillo, Venezuela pp109.
- Center for Diseases Control (CDC, Atlanta, USA). (2007). *Paludismo (Malaria)*. [en línea]. Disponible en <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades.htm>
- Figueroa Acosta L. E., Marín Álvarez M., Pérez Pinto E., Molina de Fernández D. (2006) Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua. *Bol Malariol. Sal Amb.* **46**: 39-47.
- Fonseca González I. (2008) *Estatus de la resistencia a insecticidas de los vectores primarios de Malaria y dengue en Antioquia, Choco, Norte de Santander y Putumayo, Colombia*. Tesis doctoral. Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Instituto de Biología Medellín. pp183.
- Gabaldón A. (1963). El control de vectores para el control de la Malaria.
- Gabaldón A. (1981). *Anopheles nuneztovari*: importante vector y agente de Malaria refractaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **21**: 28-38.
- Georghiou, GP. (1972) Seasonal escalation of organophosphorus and carbamate resistance in *Anopheles albimanus* by agricultural sprays. *Environmental entomology*, **2**: 369 -374.

Ghiorgiou, G.P & C.E. Taylor (1977) Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* **70**: 319-323

Hemingway J, Ranson H. (2000) Insecticide resistance in insects vectors of human disease. *Ann. Rev. Entomol.* **45**: 371- 91.

Insecticide Resistance Action Committee (IRAC, USA), (2006) *Prevention and management in vectors and pests of public health importance*. [en línea]. (Disponible en <http://www.irac-online.org>.)

Molina de Fernández D., Figueroa Acosta L. E., Pérez. (2007) Resistencia Múltiple a Insecticidas en *Anopheles marajoara* Galvao & Damasceno, 1942 en zonas agrícolas. *Salud & Desarrollo Social*; **3**: 19-29.

Molina de Fernández D., Saume F., Bisset J., Hidalgo O., Anaya W., González J. (1997), Establecimiento de la línea de susceptibilidad de la fase adulta de *Anopheles* spp. a insecticidas químicos. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **37**: 55-69.

Najera JA, Zaim M. (2002). Malaria Vector Control: Decisión making criteria and procedures for judicious use of insecticides. WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES), World Health Organization, Geneva.

Rubio-Palis Y. (2000) *Anopheles (Nyssorhynchus)* de Venezuela taxonomía, bionomía, ecología e importancia médica. Maracay, 120 p.

Saume, F. (1992). Introducción a la química y toxicología de insecticidas. Industria Gráfica Integral C. A. Maracay 212.

World Health Organization (1992). Vector resistance to Pesticides. Technical Report Series 818. WHO Expert Committee on vector Biology and Control pp58.

23. PRINCIPIOS EN EL CONTROL DE LA MALARIA

Oscar Noya G.

El control exitoso de la Malaria se basa en la integración de las medidas de educación sanitaria hacia la comunidad, orientadas a crear conciencia sobre la protección individual y aquellas medidas llevadas a cabo por los Programas del Ministerio del Poder Popular de la Salud (MPPS), dirigidas a actuar sobre los vectores y sobre el parásito. Estas medidas se resumen en la tabla 23.1. Sin embargo, las estrategias de control en Malaria, no pueden ser estáticas, en virtud de las capacidades adaptativas de los parásitos y los vectores a los medicamentos y a los insecticidas (Gabaldón, 1972).

Las actividades de educación sanitaria priorizan todo lo relativo a las medidas de protección individual que persiguen reducir en lo posible el contacto anofelino-hombre a través del uso de repelentes, insecticidas de uso casero y todas las barreras mecánicas, tales como el uso de mosquiteros para camas y hamacas, de telas mosquitero en ventanas y puertas de la vivienda. Asimismo, el cierre de todas las aberturas de la vivienda que impidan la entrada de vectores, todo ello dentro del concepto de "Vivienda Protegida o Vivienda Saludable". Esta última medida, es la más sustentable en el tiempo, la más amigable con el ambiente y debe ser de implementación obligatoria, en las áreas endémicas de Malaria y otras enfermedades metaxénicas. Aún en áreas de conocido exofilismo y exofagismo del vector, esta barrera mecánica obliga en primer lugar, que aquellos vectores que penetren a la vivienda, si la misma está rociada, impiden su salida y los vectores tengan que reposar en las paredes, matándolos o reduciendo su expectativa de vida y por ende, disminuyendo su capacidad de transmitir la Malaria ("intercepción de la Malaria") (Chagas, 1906). En las áreas de mayor exofilia y exofagismo de los anofelinos y muy especialmente en comunidades que tienen el hábito de permanecer en las tardes en los alrededores de la vivienda, coincidiendo con el inicio del período de picada de los anofelinos, es importante construir anexos laterales ("porches") protegidos con tela mosquitero, que minimicen la exposición a los vectores.

En aquellas áreas en las que las viviendas sean transitorias, como es el caso de los mineros o personal que van a residir temporalmente en esas áreas, tales topógrafos, turistas, de la industria maderera, mili-

tares, etc., se recomiendan como medidas de protección individual, el uso de mosquiteros de cama o de hamaca impregnados con insecticidas (permetrina, lambda cialotrina, deltametrina) (Alonso y col. 1993, Magris y col., 2007) y secundariamente, el uso de repelentes rociados sobre la piel y ropa e insecticidas y repelentes caseros ("espirales", dispositivos eléctricos con plaquitas).

En cuanto a las medidas que habitualmente lleva a cabo la Dirección de Salud Ambiental del Ministerio del Poder Popular para la Salud, están orientadas hacia el control de los vectores y de los parásitos malarícos. En cuanto al control de los vectores, las mismas se resumen en la tabla 23.1 y ellas son:

La manipulación ambiental, drenando y rellenando criaderos de anofelinos, disminuyendo la capacidad reproductiva de los vectores.

El uso de larvicidas químicos (Abate) y biológicos (*Bacillus thuringiensis* y *B. sphaericus*). Muy especialmente los biológicos, pues al ser específicos, no afectan el resto de la fauna de las áreas endémicas. Conjuntamente con la nebulización espacial con diferentes clases de insecticidas, tienen como objetivo fundamental disminuir la densidad de los vectores.

Los rociamientos intra y extradomiciliarios, que persiguen solo la eliminación de los vectores que se acercan a la vivienda o de disminuir su longevidad, impiden la progresión y conclusión del ciclo esporogónico de los plasmodios en el vector ("intercepción"). Con el fin de garantizar el éxito de estas medidas de control, el Dr. Gabaldón estableció que en el caso de los rociamientos intradomiciliarios con DDT, se debían cumplir las siguientes premisas, válidas aún hoy en día:

Completos: toda la vivienda

Suficientes: 2 grs. /m²

Totales: todas las viviendas de la comunidad

Regulares: cada 6 meses

Todavía está a nivel experimental el desarrollo de posibles "vacunas anti-vector", que actuarían al ingerir los anofelinos sangre de personas vacunadas conteniendo anticuerpos anti-mosquito, que son capaces de afectar la fisiología digestiva y de otros tejidos de los vectores, impidiendo su capacidad de transmitir la Malaria (Kaslow D. y col. 1994)

En relación a las medidas que actúan sobre los parásitos maláricos, se ha enfocado al tratamiento con medicamentos esquizonticidas hemáticos, tisulares y gametocidas, capaces de destruir al parásito y evitar su transmisión y que fueran reseñados en los capítulos 14 y 17. La quimiopprofilaxis, no está contemplada dentro de las pautas de la Dirección de Salud Ambiental del MPPS, sin embargo, tiene sus indicaciones muy precisas ya descritas en el capítulo 17.

En cuanto a las vacunas antimaláricas, todavía están en fase experimental. Sin embargo hay avances importantes. Destacándose los resultados pioneros con la vacuna sintética SPf66, llevados a cabo por el Dr. Manuel Elkin Patarroyo de la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (Amador y col. 2005, Valero y col. 1993, Noya, y col. 1994), quien en la actualidad está trabajando con su grupo en el desarrollo de la vacuna de segunda generación, con el objeto de lograr mayores niveles de eficacia a los obtenidos por la SPf66.

Por todo lo antes señalado, se puede concluir, que sólo teniendo una estrategia integral en el control, acompañado de un programa permanente de vigilancia que monitoree los cambios etológicos, ecológicos y la susceptibilidad a los insecticidas, sumado a los estudios de susceptibilidad de los parásitos a los medicamentos antimaláricos, no se logrará mantener bajo control esta importante enfermedad. En ese sentido es válido el mensaje expresado por el Dr. Gabaldón en su conferencia "Problemas actuales del control y eliminación de la Malaria en América Latina" dictada en el VIII Congreso de la FLAP realizada en Guatemala en 1987 (Gabaldón, 1987) quien señaló: "En las últimas reuniones de Directores Nacionales de Servicios Antimaláricos de nuestras Repúblicas Latinoamericanas se ha hecho hincapié que en ellas lo que debe hacerse es control de la Malaria y se desecha la idea de erradicación. Sorprendentemente yo estoy de acuerdo con la primera aseveración, pero de ningún modo con la segunda. La primera debe significar solo la necesidad de detenernos a reflexionar. La segunda tiene un franco sabor a derrota y los verdaderos sanitaristas a quienes de verdad duela su país no la debe admitir. Es preciso tener presente que las batallas pueden perderse pero la guerra jamás, y que las pérdidas sufridas se deben mayormente a estrategias de generales acostumbrados a luchar en terrenos y climas distintos, las que inocentemente se adoptaron sin analizar con buen ánimo las introducidas por nuestras propias gentes".

Tabla 23.1
Principios en el control de la Malaria

<u>TIPO DE CONTROL</u>	<u>EFEECTO</u>
PROTECCIÓN INDIVIDUAL	
•Educación sanitaria •Repelentes personales •Mosquiteros de camas y hamacas •Ventanas y puertas con tela antimosquitos •Insecticidas y repelentes caseros	Reducción del contacto hombre-mosquito
CONTROL DE VECTORES	
•Manipulación ambiental •Larvicidas químicos y biológicos •Nebulización espacial •Rociamientos intradomiciliarios •Vacunas anti-vector *	Reducción de hábitos de reproducción Reducción de densidad de Vectores Reducción de la longevidad del vector
CONTROL ANTI-Plasmodium	
•Tratamiento de casos •Quimioprofilaxis •Vacunas anti-<i>Plasmodium</i> spp*	Eliminación de parásitos y prevención de transmisión
• Medidas de control en fase experimental	

REFERENCIAS

- Alonso P., Lindsay S., Armstrong Schellenberg J., Keita K., Gómez P., Shenton F. *et al.* (1993). A Malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **87 (Suppl. 2)**: 37-44.
- Amador R., Aponte J., Patarroyo M. (2005). Development and field-testing of the synthetic SPf66 Malaria vaccine. *Malaria Vaccine Development: A Multi-Immune Response Approach*. Ed. Stephen Hoffman, Washington, USA. Chapter **9**: 229-248.
- Chagas C. (1906). *Brazil-Médico*. Anno XX, num **41**: 419-422.
- Gabaldón A. (1972). Difficulties confronting Malaria eradication. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **21**: 634-639.
- Gabaldón A. (1987). *Problemas actuales del control y eliminación de la Malaria en América Latina*. Conferencia dictada en el VIII Congreso de la FLAP realizada en Guatemala en 1987. Material mimeografiado: 30 páginas.
- Kaslow D., Bathurst I., Lensen T., Ponnudurai T., Barr P., Keister D. (1994). *Saccharomyces cerevisiae* recombinant PFs25 adsorbed to alum elicits antibodies that block transmission of *Plasmodium falciparum*. *Infect. Immunity*, **62**: 557-565.
- Magris M., Rubio-Palis Y., Alexander M., Ruiz B., Galvan N., Frias B., *et al.* (2007). Community-randomized trial of lambda cialotrin treated hamac-nets for Malaria control in Yanomami communities in the Amazon region of Venezuela. *Trop. Med. & Intern. Health*. **12(3)**: 1-12.
- Noya O., Gabaldón Berti Y., Alarcón de Noya B., Borges R., Zerpa N., Urbáez J. D. *et al.* (1994). A population-based clinical trial with the SPf66 synthetic *Plasmodium falciparum* Malaria vaccine in Venezuela. *J. Infect. Dis.* **170 (2)**: 396 – 402.

Valero M. V., Amador L. R., Galindo C., Figueroa J., Bello M. S., Murillo L. A., et al. (1993). Vaccination with SPf66, a chemically synthesized vaccine, against *Plasmodium falciparum* Malaria in Colombia. The Lancet. **341 (8847)**: 705-710.

BIBLIOGRAFÍA

- Aché Rowbotton A. (2009). Métodos Epidemiológicos para el Control de la Malaria. Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios Dr. Arnoldo Gabaldón, Maracay-Venezuela. 78 pp.
- Alonso P., Lindsay S., Armstrong Schellenberg J., Keita K., Gómez P., Shenton F., *et al.* (1993). A Malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **87 (Suppl. 2)**: 37-44.
- Alonso P. L., Smith T., Armstrong Schellenberg J. R. M., Masanja H., Mwankusye S., Urassa H., *et al.* Randomised trial of efficacy of SPf66 vaccine against *Plasmodium falciparum* Malaria in children in southern Tanzania. *The Lancet.* **344**: 1175-1181.
- Alonso P. L., Smith T. A., Armstrong-Schellenberg J. R. M., Kitua A. Y., Masanja H., Hayes R., *et al.* (1996). Duration of Protection and Age-Dependence of the Effects of the SPf66 Malaria Vaccine in African Children Exposed to Intense Transmission of *Plasmodium falciparum*. *J. Infec. Dis.* **174**: 367-372.
- Alonso P. L., Sacarlal J., Aponte J. J., Leach A., Macete E., Milman J., Mandomando I., *et al.* (2004). Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* and disease in young African children: randomised controlled trial. *The Lancet.* **364 (9443)**: 14211-1420.
- Amador R., Aponte J. J. and Patarroyo M. E. (2005). Development and Field-Testing of the Synthetic SPf66 Malaria Vaccine. *Malaria Vaccine Development: A Multi-Immune Response Approach*. Edited by Stephen L. Hoffman, U.S.A. Chapter **9**: 229-248.
- Barker R. H., Banchongksorn T., Courval M. M., Suwonkerd W., Rimmwungtragoon K. and Wirth, D. R. (1992). A simple method to detect *Plasmodium falciparum* infection in human patients: a comparison of the DNA probe method to microscopic diagnosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **41**, 266-272 .

- Barrera R., Grillet M. E., Rangel Y., Berti J. and Aché A. (1999). Temporal and Spatial Patterns of Malaria Reinfection in Northeastern Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **61(5)**: 784-790.
- Bartoloni A., Sabatinelli G. and Benucci M. D. (1998). Performance of two rapid test for *Plasmodium falciparum* Malaria in patients rheumatoid factors. *New England J. Med.* **338 (15)**: 1075-1076.
- Bartoloni A., Strohmeyer M., Sabatinelli G., Benucci M., Serni U. and Paradisi F., (1998). False positive ParaSight-F test for Malaria in patients with rheumatoid factor. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **92**: 33-34.
- Baum J., Maier A. G., Good R. T., Simpson K. M. and Cowman A. F. (2005). Invasion by *P. falciparum* merozoites suggests a hierarchy of molecular interactions. *PLoS Pathog.* **1(4)**: e37.
- Bermúdez A., Cifuentes G., Guzmán F., Salazar L. M. and Patarroyo M. E. (2003). Immunogenicity and Protectivity of *Plasmodium falciparum* EBA-175 Peptide and Its Analog Its associated with -Helical Region Shortening and Displacement. *Biol. Chem.* **34**: 1443-1450.
- Boletín Epidemiológico Semanal* (2009). Archivo Unidad de Estadística/ Div. de Epidemiología. Semana **No 52**.
- Boletín Epidemiológico Semanal* (2010). Archivo Unidad de Estadística/ Div. de Epidemiología. Semana **No 21**.
- Bouma M. J. And DPhil C. D. (1997). Cycles of Malaria Associated With El Niño in Venezuela. *JAMA.* **278 (21)**: 1772-1774.
- Brown T. A. (1991). Essential Molecular Biology. A practical Approach. Series Editors: D. Rickwood and B. D. Hames. Oxford University Press, G. B. **Vol. II**: 185-207.
- Bruce-Chwatt L. J. (1986). Essential Malariology. Second Edition. William Heinemann Medical Books Ltd. London.
- Butcher G. (2008). Autoimmunity and Malaria. *Trends Parasitol.* **24 (7)**: 291-292.

- Carter R. And Mendis K. N. (2002). Evolutionary and Historical Aspects of the Burden of Malaria. Clin. Microb. Rev. **15 (4)**: 564-594.
- Chagas C. (1906). Brazil-Médico. Anno XX, **num 41**: 419-422.
- Clark I. A. and Schfield L. (2000). Pathogenesis of Malaria. Parasitol. Today. **16 (10)**: 451 – 454.
- Contreras C.E., Pance A., Marcano N., González N. and Bianco N. (1999). Detection of specific antibodies to Plasmodium falciparum in blood bank donors from Malaria-endemic and no-endemic areas of Venezuela. Am. J. Trop. Med. Hyg. **60(6)**: 948-53.
- Cooke B. M., Mohandas N. and Coppel R. L. (2001). The Malaria-infected red blood cell: structural and functional changes. Adv. Parasitol. **50**: 1-86.
- Cox F. E. G. (2010). History of the discovery of the Malaria parasites and their vectors. Parasite & Vectors. **3**: 5.
- Cubillos M., Salazar L. M., Torres L. and Patarroyo M. E. (2003). Protection against experimental P. falciparum Malaria is associated with short AMA-1 peptide analogue -helical structures. Biochimie **84**: 1181-1188.
- Cucunubá Z. M., Guerra A. P., Rahirant S. J., Rivera J. A., Cortés L. J. and Nicholls R. S. (2008). Asymptomatic Plasmodium spp. Infection in Tierralta, Colombia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. **103 (7)**: 668-673.
- Curtis C. F. and Lines J. D. (2000). Should DDT be Banned by International Treaty? Parasitol. Today. **16 (3)**: 119-121.
- D'Alessandro U., Leach A., Drakeley C. J., Bennett S., Olaleye B. O., Fegan G. W., et al. (1995). Efficacy trial of Malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. The lancet. **346**: 462-467.
- Del Giudice G., Engers H. D., Tougne Ch., Biro S. S. Weiss N., Verdini A. S., Antonello Pessi A., et al. (1987). Antibodies to the repetitive epitope of Plasmodium falciparum circumsporozoite protein in a

- rural Tanzanian community. A longitudinal study of 132 children .
AM. J. Trop. Med. Hyg. **36**: 203-212.
- Dowling M. and Shute G. (1966). A Comparative study of thick and thin blood films in the diagnosis of scanty Malaria parasitaemia.
Bull. Wld. Health. Org. **(34)**: 249-267.
- Eckert K. A. and Kunkel T. A. (1990). High fidelity DNA synthesis by the *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Nucleic Acid Res.* **18**: 3739-3744.
- Engers H. D. and Godal T. (1998). Malaria vaccine development: Current status. *Parasitol. Today.* **14 (2)**: 56-64.
- Espejo F., Bermúdez A., Torres E., Urquiza M., Rodríguez R., López Y. and Patarroyo M. E. (2004). Shortening and modifying the 1513 MSP-1 peptide's-helical region induces protection against Malaria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **315**: 418-427.
- Ferreira W. and Ávila S. L. M. (2001). *Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-inmunes*. 2ª Edicao. Editorial Guanabara Koogan Rio de Janeiro.
- Field Jhon , Sandosham A. A. and Yap Loy Fong. (1963). The microscopical diagnosis of human Malaria. Printed at the economy printers LTD. Kuala Lumpur. Part I. Second Edition.
- Gabaldón A. (1949). The Nation-wide campaign against Malaria in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **43(2)**: 113-164.
- Gabaldón A. (1972). Difficulties confronting Malaria eradication. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **21**: 634-639.
- Gabaldón A., García Martín G. y Sifontes R. (1975). Necesidades en el campo de la investigación del Programa Nacional de Erradicación y Control de la Malaria de Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **XV (6)**: 263-285.
- Gabaldón A. (1981). *Anopheles nuñeztovari*: importante vector y agente de Malaria refractaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **XXI (1)**: 28-38.

- García J. E., Puentes A. and Patarroyo M. E. (2006). Developmental biology of sporozoite-host interactions in *Plasmodium falciparum* Malaria: implications for vaccine design. Clin. Microbiol. Rev. **9(4)**: 686-707.
- Garraud O., Mahanty S. and Perraut R. (2003). Malaria-specific antibody subclasses in immune individuals: a key source of information for vaccine design. Trends Immunol. **24 (1)**: 30-35.
- Graves P., Gelband H. and Garner P. (1998). The SPf66 Malaria Vaccine: What is the Evidence for Efficacy? Parasitol. Today **14(6)**: 218.220.
- Greenwood B. M. (2008). Control to elimination: implications for Malaria research. Trends Parasitol. **24(10)**: 449-454.
- Hackett, L. W. *La medición del bazo en la Malaria*. Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública. [online]. dic. 1943, vol.2, no.4 [citado 22 Junio 2006], p.305-319. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=SI726-46341943000400001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1726-4634.
- Hay S. I., Smith David L. and Snow R. W. (2008). Measuring Malaria endemicity from intense to interrupted transmission. Lancet Infect. Dis. **8**: 369-378.
- Hommel M. and Guilles H. M. (2005). Malaria, Tapley & Wilson's. In: Microbiology and microbial infections. 10th edition. Volumen editors. Cox F. E., Kreeier J. P. Wakelin D. London 361-409.
- Hommel M. (2007). Morphology, biology and life cycle of Plasmodium parasites. Bull. Acad. Natl. Med. **191 (7)**: 1235 – 1245.
- Howard R. J., Uni S., Aikawa M., Aley S., Leech J. H., Wellems T. E., et al. (1986). Secretion of a Malarial histidine-rich protein (PfHRP2) from Plasmodium falciparum-infected erythrocytes. J. Cell Biol. **103**: 1269-1277.

<http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/Malaria.htm>.

<http://www.who.int/Malaria!>

Hviid L. and Barford L. (2008). Malaria Vaccines: immunity, models and monoclonal antibodies. *Trends Parasitol.* **24 (9)**: 392-395.

Jelinek T. (2001). Evaluation of a dipstick test for the rapid diagnosis of imported Malaria among patients presenting within the network. *Trop. Net. Europ. Scand. J. Infec. Dis.* 33(10) 752-754.

Kawamoto F. and Billingsley P. F. (1992). Rapid diagnosis of Malaria by fluorescence microscopy. *Parasitol. Today.* **8**: 69-71.

Knell A. J. (1991). Malaria. A publication of the Tropical Programme of the Wellcome Trust. Oxford University Press. Pp. 12-17.

Levine ND, Corliss JO, Cox FE, Deroux G., Grain J., Honigberg BM, et al. 1980. A newly revised classification of the protozoa. *J Protozool.* **27(1)**: 37-58.

Leach A., Drakeley C. J., D'Alessandro U., Fegan G. W., Bennett S., Ripley Ballou W., et al. (1995). A pilot safety and immunogenicity study of the Malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. *Parasite Immun.* **17**: 441-444.

Lozano J. M., Espejo F., Díaz D., Salazar L. M., Rodríguez J., Pinzón C., et al. (1998). Reduced amide pseudopeptide analogues of a Malaria peptide possess secondary structural elements responsible for induction of functional antibodies which react with native proteins expressed in *Plasmodium falciparum* erythrocyte stages. *J. Peptide Res.* **52**: 457-469.

Kaslow D., Bathurst I., Lensen T., Ponnudurai T., Barr P., Keister D. (1994). *Saccharomyces cerevisiae* recombinant PFs25 adsorbed to alum elicits antibodies that block transmission of *Plasmodium falciparum*. *Infect. Immunity*, **62**: 557-565.

Knell A. J. (1991). Malaria. A Publication of the Tropical Programme of the Wellcome Trust.

Maberti S. (1960). Desarrollo de Resistencia a la Pirimetamina. *Arch. Ven. Med. Trop. Parasitol. Med.* III **(2)**: 239 -259.

- Magris M., Rubio-Palis Y., Alexander M., Ruiz B., Galvan N., Frias B., et al. (2007). Community-randomized trial of lambda cialotrin treated hamac-nets for Malaria control in Yanomami communities in the Amazon region of Venezuela. *Trop. Med. & Intern. Health.* **12(3)**: 1-12.
- Makler M. T, Ries L. K., Ries J., Horton R. J. and Hinrichs D. J. (1991). Detecction of Plasmodium falciparum infection with the fluorescent dye, benzothiacarboxypurine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **44**: 11- 16.
- Makler M. T., Palmer C. J. and Ager A. L. (1998). A review of practical techniques for the diagnosis of Malaria. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **92(4)**: 419-433.
- Martínez P., Suárez C. F., Cárdenas P. P. and Patarroyo M. E. (2004). Plasmodium vivax Duffy binding protein: a modular evolutionary proposal. *Parasitology.* **128**: 1-14.
- Mendis K., Sina B., Marchesini P. and Carter R. (2001). The neglected burden of Plasmodium vivax Malaria. *Am. J. Trop Med. Hyg.* **64(1,2)S**: 97-106.
- Menéndez C., Fleming A. F. and Alonso P. L. (2000). Malaria anaemia. *Parasitol. Today.* **16 (11)**: 469 – 476.
- Mendoza N. M., García M., Cortes L. J., Vela C., Erazo R., Pérez P., et al. (2007). Evaluación de dos pruebas rápidas [NOW® ICT Malaria Pf/Pv y OptiMAL®] para el diagnóstico de paludismo en Tuma-co, Colombia. *Biomédica* **27**: 57 – 580.
- Metzger W. G., Vivas-Martínez S., Rodríguez I., Gonçalves J., Bongard E., Fanello C. I., et al. (2008). Malaria diagnosis under field conditions in the Venezuelan Amazon. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **102**: 20-24.
- Miller L. H., Baruch D. I., Marsh K. and Doumbo O. K. (2002). The pathogenic basis of Malaria. *Nature.* **415 (6872)**: 673 – 679.
- Mullis, K. (1990). The unusual origin of Polimerase Chain Reaction. *Scientific American* **1**: 36-43.

- Noya O., Gabaldón Berti Y., Alarcón de Noya B., Borges R., Zerpa N., Urbáez J. D., et al. (1994). A population-based clinical trial with the SPf66 synthetic *Plasmodium falciparum* Malaria vaccine in Venezuela. *J. Infect. Dis.* **170 (2)**: 396 – 402.
- Ocampo M., Curtidor H., Vera R., Valbuena J. J., Rodríguez L. E., Puentes A., et al. (2004). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **315**: 319-329.
- OMS. (1988). Malaria Diagnosis: Memorandum from a WHO Meeting. *Bull. Wld. Health Org.* **66(5)**: 575-594.
- Oon Tek Ng, Eng Eong Ooi, Cheng Chuan Lee, Piao Jarrod Lee, Lee Ching Ng, et al. (2008). Naturally Acquired Human *Plasmodium knowlesi* Infection, Singapore. *Emerg. Infect. Dis. J. Home.* **14 (5)**: <http://www.cdc.gov/EID/content/14/5/814.htm>
- OPS (2001). Boletín Epidemiológico. Vol. 22 No 1.
- Pabón, R. (2004). Evaluación comparativa de los métodos inmunocromatográficos y moleculares (PCR) en la detección de asintomáticos con *Plasmodium vivax* en el Municipio Cajigal del Estado Sucre, Venezuela. Tesis de Maestría – Universitat de Valencia – España.
- Pabón R., Telo C., Wide A., Zerpa N., Capaldo J., Noda A., et al. (2007). Evaluación de la prueba NOW® ICT Pf/Pv para el diagnóstico de Malaria en Venezuela. *Bol. Malariol. San. Amb.* **47 (2)**: 169 -176.
- Palmer C. J., Lindo J. F., Klakala W., Quesad J., Kaminsky R. and Ager A. L. (1998). Evaluation of the OptiMAL® test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* Malaria. *J. Clin. Microbiol.* **36**: 203-206.
- Patarroyo M. E. (1989). El desarrollo de una vacuna antimalárica. *Trib. Méd.* **80**: 1-11.
- Paxton L., Slutsker L., Schultz L., Luby S., Meriwether R., Matson P. and Sulzer J. (1996). Imported Malaria in Montagnard refugees settling

- in North Carolina: Implications for preventions and control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **54(1)**: 54-57.
- Pérez H. A., Wide A., Bracho C. and Rosa M. (1995). *Plasmodium vivax*: detection of blood parasites using fluorochrome labelled monoclonal antibodies. *Parasite Immunol.* **17(6)**: 305-312.
- Pipper R., Lebras J., Wentworth L., Hunth-Cooke A. Houzé S., Chiodini P. and Makler M. (1999). Immunocapture diagnostic assays for Malaria using *Plasmodium lactate* dehydrogenase (pLDH). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60(1)**: 109-118.
- Pouniotis D. S., Proudfoot O., Minigo G., Hanley J. L. and Plebanski M. (2004). Malaria parasite interactions with the human host. *J. Postgrad Med.* **50(1)**: 30-34.
- Prugnolle F., Durand Patrick, Neel C., Ollomo B., Ayala F. J., Arnathau C., *et al.* (2010). African great apes are natural hosts of multiple related Malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *PNAS Early Edition.* 1-6.
- Remarque E. J., Faber B. W., Kocken C. H. M. and Thomas A. W. (2008). Apical membrane antigen 1: a Malaria vaccine candidate in review. *Trends Parasitol.* **24 (2)**: 74-84.
- Rey L. (2001). *Parasitología*. 3ra ed. Editora Guanabara Koogan S. A. Río de Janeiro, Brasil. Capítulo 28. Pp 371-385.
- Richie T. L. and Saul A. (2002). Progress and challenges for Malaria vaccines. *Nature.* **415 (6872)**: 694-701.
- Rickman L.S., Oberst R., Sangalang R., Chulay J.D., Long G.W., Cabanban A., *et al.* (1989). Rapid diagnosis of Malaria by acridine orange staining of centrifuged parasites. *The Lancet* **333 (8629)**: 68-71.
- Riley E. M., Allen S. J., Wheeler J. G., Blackman M. J., Bennett S., Takacs B., *et al.* (1992). Naturally acquired cellular and humoral responses to the major merozoite surface antigen (PfMSP1) of *Plasmodium falciparum* are associated with reduced Malaria morbidity. *Parasite Immunol.* **14 (#)**: 321-337.



- Ridley R. G. (2002). Medical need, scientific opportunity and the drive for antiMalarial drugs. *Nature*. **415 (6872)**: 686-693.
- Rocha C. L., Murillo L. A., Mora A. L., Rojas M., Franco L., Cote J., et al. (1992). Determination of the immunization Schedule for field trials with the synthetic Malaria vaccine SPf66. *Parasite Immun.* **14**: 95-109.
- Rock E. P., Marsh K., Saul S. J., Weelems, T. E., Taylor D. W., et al. (1987). Comparative analysis of the *Plasmodium falciparum* histidine-rich proteins HRP1, HRP2 and HRP3 in Malaria diagnosis of diverse origin. *Parasitol.* **95**: 209-227.
- Rodríguez L. E., Urquiza M., Ocampo M., Suárez J., Curtidor H., Guzmán F., et al. (2000). *Plasmodium falciparum* EBA-175 kDa protein peptides which bind to human red blood cells. *Parasitology*. **120**: 225-235.
- Rogers D. J., Randolph S. E., Snow R. W. and Hay S. I. (2002). Satellite imagery in the study and forecast of Malaria. *Nature*. **415 (6872)**: 710-715.
- Roper C., Elbasan I. M., Hviid L., Giha H., Richardson W., Babiker H., et al. (1996). Detection of very low level of *Plasmodium falciparum* using the Nested Polymerase Chain Reaction and a reassessment of the epidemiology of unstable Malaria in Sudan. *Am. Trop. Med. Hyg.* **54**: 325-331.
- Sempértegui F., Estrella B., Moscoso J., Piedraita C. L., Hernández D., Gaybor J., et al. (1994). Safety, immunogenicity and protective effect of the SPf66 Malaria synthetic vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in a randomized double-blind placebo-controlled field trial in an endemic area of Ecuador. *Vaccine*. **12 (4)**: 337-342.
- Sharma Y. D. (2005). Genetic alteration in drug resistance markers of *Plasmodium falciparum*. *Indian J. Med. Res.* **121(1)**: 13-22.
- Snow R. W., Craig M. and Marsh K. (1999). Estimating mortality, morbidity and disability due to Malaria among Africa's non-pregnant

population. Bull. WHO 77(8) 624-640.

- Snounou G., Viriyakosol S., Jarra W., Thaithong S. and Brown K. N. (1993a). Identification of the four human Malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. Mol. Biochem. Parasitol. **58**: 283-293.
- Snounou G., Viriyakosol S., Ping Z. X., Jarra W., Pinheiro L., Do Rosario V. E., et al. (1993b). High sensitivity of detection of human Malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. Mol. Biochem. Parasitol. **61 (2)**: 315-320.
- Spielman A., Perrone J. B., Tekleehaimanot A., Balcha F., Wardlaw S. C. and Levine R. (1988). Malaria diagnosis by direct observation of centrifuged samples of blood. Am. J. Trop. Med. Hyg. **39(4)**: 337-342.
- Singh N. Valecha N. and Sharma V. (1997). Malaria diagnosis by field workers using an immunocromatographic test. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **91**: 396-397.
- Tirasophon W., Rajkulchai P., Ponglikitmongkol M., Wilairat P., Boonsaeng V. and Panyim S. (1994). A highly sensitive rapid and simple polymerase chain reaction-based method to detect human Malaria (*Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*) in blood samples. Am. J. Trop. Med. Hyg. **51(3)**: 308-313.
- Tjitra E., Suprianto S., Dyer M., Curie B. and Anstey N. M. (1999). Field evaluation of the ICT Malaria Pf./P.v. immunocromatographic test for detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in patients with a presumptive clinical diagnosis of Malaria in eastern Indonesia. J. Clin. Microbiol. **37**: 2412-2417.
- Tripet F., Aboagye-Antwi F. and Hurd H. (2008). Ecological immunology of mosquito-Malaria interactions. Trends Parasitol. **24 (5)**: 219-227.
- Torres J. R., Pérez H., Postigo M. M. and Silva J. R. (1997). Acute non-cardiogenic lung injury in benign tertian Malaria. The Lancet. **350 (9070)**: 31-32.

Trager W. and Jensen J. B. (1976). Human Malaria parasites in continuous culture. *Science*. **193**: 673-675.

Valero M. V., Amador L. R., Galindo C., Figueroa J., Bello M. S., Murillo L. A., *et al.* (1993). Vaccination with SPf66, a chemically synthesised vaccine, against *Plasmodium falciparum* Malaria in Colombia. *The Lancet*. **341 (8847)**: 705-710.

Valero M. V., Amador R., Aponte J. J., Narvaez A., Galindo C., Silva Y., *et al.* (1996). Evaluation of SPf66 Malaria vaccine during a 22-month follow-up field trial in the Pacific coast of Colombia. *Vaccine*. **14 (15)**: 1466-1469.

Vander Jagt D. L., Hunsaker L. A. and Campos N. M. (1990). D- lactate production in erythrocytes with *Plasmodium falciparum*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **42**: 277-284.

Voller A. and Draper C. C. (1982). Immunodiagnosis and seroepidemiology of Malaria. *Br. Med. Bull.* **38**: 173-177.

WHO. (1973). Chemotherapy of Malaria and Resistance to AntiMalarials. Technical Report Series. **Nº 529**, p 30.

World Malaria report (2005) evaluable en <http://rbm.who.int/wmr2005>.

Zerpa, N., Pabón R., Wide A., Gavidia M., Medina M., Cáceres J. L., *et al.* (2008). Evaluation of the OptiMAL® test for diagnosis of Malaria in Venezuela. *Invest. Clín.* **49 (1)**: 93 -101.