

## DEMOSTRACIÓN DE RESISTENCIA AL DIFOSFATO DE CLOROQUINA POR CEPAS DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* INFECTANDO NATURALMENTE AL HOMBRE EN UN ÁREA DEL ESTADO BOLÍVAR, VENEZUELA

Gerardo A. GODOY, Gregorio VOLCÁN, Oscar MARENCO REALES,  
Ramón GUEVARA y Agustín TEXEIRA

### RESUMEN

El presente trabajo comprende el estudio de 14 pacientes infectados con *Plasmodium falciparum*, en los cuales fué posible demostrar que seis de ellos eran resistentes a la dosis reforzada de 40 mg/kg de peso de difosfato de cloroquina. Durante el estudio todos los pacientes permanecieron hospitalizados, se les hizo recuentos periódicos de la parasitemia y determinación cuantitativa de la eliminación de cloroquina por la orina. Los pacientes procedían de un área del Estado Bolívar y habían adquirido la infección en el Municipio Moitaco o en sus vecindades. La resistencia reportada por los Autores corresponde al grado I (RI).

### INTRODUCCION

A pesar de los adelantos logrados durante las dos últimas décadas en la lucha contra el paludismo humano, debemos aceptar que en el presente se encuentran planteados varios factores que interfieren notablemente en el progreso de los programas de control y erradicación de la malaria, pudiéndose citar entre ellos, los cambios en los hábitos de los vectores, resistencia a los insecticidas, viviendas rurales inadecuadas, áreas geográficas de difícil acceso y el apareamiento de cepas de *Plasmodium* resistentes a las drogas<sup>18, 19</sup>. El comportamiento de las especies de *Plasmodium* ante los medicamentos antimaláricos, ha sido objeto de numerosas observaciones clínicas, epidemiológicas y de experimentación básica, aspectos sobre los cuales la literatura científica recoge numerosas publicaciones<sup>1, 9, 13, 15</sup>. Cepas de especies de *Plasmodium* que parasitan al hombre, en distintas oportunidades se han encontrado resistentes a medicamentos, entre los cuales podemos citar la quinina, quinacrina, proguanida, pamaquina, primaquina, pirimetamina, clo-

roquina, sulfadiazina, etc.<sup>17</sup>. Dentro de esta nueva situación, la resistencia de cepas de *Plasmodium falciparum* a la cloroquina es la que ha despertado mayor interés, debido al amplio uso de la droga y a la gravedad de la infección a esta especie<sup>13</sup>.

Las primeras observaciones sobre la evolución clínica anormal frente a las drogas, en casos de paludismo a *P. falciparum*, ocurrieron en América Latina, considerándose que fué en 1959 cuando en Venezuela se demostraron los primeros casos<sup>5</sup>, apareciendo la primera publicación sobre resistencia a drogas antimaláricas, Pirimetamina en este caso, un año después<sup>8</sup>. En 1961, se publica el hallazgo clínico y la demostración experimental de paludismo producido por una cepa de *P. falciparum* resistente a la cloroquina<sup>11</sup>. A partir de ese año, se ha demostrado la existencia de infecciones a *P. falciparum* resistentes a la cloroquina, en muchos países de la América Latina y de Asia<sup>7, 12, 20</sup>, publicaciones que han sido el producto de

trabajos de campo, observaciones clínicas o de laboratorio.

Para el año de 1970 el paludismo en Venezuela había quedado reducido a dos sectores, escasamente poblados, uno en el área occidental y el otro en el área meridional; dentro de esta última área, se encontraban los Municipios de La Urbana, Caicara y Sta. Rosalía, así como también los de Sta. Elena y la Paragua, todos del Estado Bolívar; también se incluían en este sector del área meridional, algunos Municipios del Territorio Federal Amazonas y otros del Estado Apure, siendo el principal vector en toda el área el *Anopheles darlingi*<sup>6</sup>. En el Estado Bolívar el *P. falciparum* tenía una alta prevalencia en los Municipios de La Urbana, Caicara y Sta. Rosalía, mientras que en los de Sta. Elena y la Paragua, lo era el *P. vivax*<sup>6</sup>.

Como ejemplo de lo que ha ocurrido en el Estado Bolívar con respecto al problema de la malaria, tomaremos al Distrito Sucre, el cual comprende un área de 33.245 km<sup>2</sup>, con una población total para el año de 1971 de 7.689 habitantes. Este Distrito fué considerado en 1961, como un área en donde la malaria había sido erradicada, por no haberse presentado casos de paludismo durante los diez años anteriores. En el Municipio Moitaco (4.470 km<sup>2</sup> y con un total de 3.845 habitantes), uno de los Municipios del Distrito Sucre, ocurrieron los primeros casos de paludismo (17 en total) en 1970, todos los cuales fueron a *P. vivax*; en 1971 hubo 113 casos, de los cuales 100 fueron debidos a *P. vivax* y 13 a *P. falciparum*; en 1972, se demostraron 117, 53 de los cuales fueron a *P. vivax* y 64 a *P. falciparum*; hasta Septiembre de 1973, habían ocurrido 148 casos de los cuales solamente 16 habían sido a *P. vivax* y el resto, o sea 132, a *P. falciparum*; de 1970 a 1973 la incidencia parasitaria anual en ese Municipio había subido de 4.2 por mil a 42.7 por mil habitantes.

En el Municipio Moitaco, entre 1964 y 1969, todas las preparaciones microscópicas examinadas fueron negativas para especies del género *Plasmodium*; en 1970, *P. vivax* fué la única especie encontrada; en 1971 la fórmula parasitaria acusó un predominio de 84.4% por el *P. vivax*. En el año 1972 se invierte esta fórmula en favor de *P. falcipa-*

*rum* con un 51.3%, para llegar en Septiembre de 1973 hasta el 90%.

En los primeros meses de 1973 se tenía evidencia de que pacientes tratados ambulatoriamente por paludismo a *P. falciparum* se les demostraba semanas después la misma especie de parásito, no obstante haber recibido uno o más tratamientos ambulatorios con cloroquina u otras drogas antimaláricas.

Ante el incremento constante de casos de paludismo a *P. falciparum* en el Municipio Moitaco y el hallazgo de personas con gota gruesa positiva a repetición, no obstante las medidas de control, se consideró oportuno estudiar la posibilidad de que estuvieran ocurriendo infecciones a *P. falciparum* resistentes a la cloroquina. Por lo anterior se procedió a realizar un estudio, en el cual se investigó en condiciones controladas, la respuesta de infecciones a *P. falciparum* sometidas a tratamiento con dosis normalizadas y reforzadas de difosfato de cloroquina<sup>13</sup>.

#### MATERIAL Y METODOS

Se procedió a la localización de pacientes febriles o nó, con gota gruesa y frotis de sangre periférica positiva a *P. falciparum* en moradores del Municipio Moitaco, o en individuos que fueran visitantes asiduos u ocasionales de esa área o de sus vecindades. Los pacientes así localizados fueron hospitalizados, observandose medidas rigurosas para evitar reinfecciones.

A todos los pacientes, después de completada la historia clínica, se les tomaron muestras de sangre en número de tres, en láminas microscópicas, en cada una de las cuales se practicó gota gruesa y frotis. La gota gruesa se hizo con sangre periférica extraída con lanceta descartable, del pulpejo del dedo o de la oreja, procurando que la cantidad de sangre fuera de un volumen similar y que la preparación cubriera un área no mayor de 15 mm de diámetro. La gota gruesa de dos de las láminas, una vez secas y deshemoglobinizadas en agua destilada tamponada con solución de fosfatos 0.1 M, pH 7.2 (A.D.T.) durante 15 minutos, se colorearon con Giemsa durante 45 minutos. Los frotis de cada paciente, una vez fijados

en alcohol, fueron coloreados con Giemsa, en la misma forma que para la gota gruesa. El colorante de Giemsa se preparó usando una gota de solución de Giemsa, E. Merck (Alemania) por mililitro de A.D.T.. Al finalizar el tiempo de coloración, las preparaciones fueron lavadas durante diez minutos en dos cambios de A.D.T.. A cada paciente, a su ingreso, se le dió un número correlativo que se usó para numerar las preparaciones microscópicas.

Una vez coloreadas las láminas del día "0" de cada paciente, se procedió a hacer un recuento de formas asexuadas del parásito, presentes en la gota gruesa por cada 100 campos microscópicos, usando un objetivo de inmersión 100 X y ocular 12.51. Para calcular el número de estas formas por  $\text{cm}^3$  de sangre periférica se hicieron al mismo tiempo recuentos por cada 600 leucocitos; considerando que hay 600 leucocitos por cada  $0.1 \text{ mm}^3$  de sangre periférica, resulta fácil calcular el número de formas asexuadas por  $\text{mm}^3$  de sangre<sup>3</sup>. El examen parasitológico del frotis también se practicó con el propósito de identificar la especie de *Plasmodium* existente. El día "0", identificada la presencia de *P. falciparum* y verificado el recuento, se procedió a administrar por vía oral el difosfato de cloroquina, Bayer, lote 706. Las dosis usadas fueron dos, una dosis normalizada de 25 mg de difosfato de cloroquina base por kg de peso corporal<sup>13</sup>, administrada en tomas diarias durante tres días, en la forma siguiente: 10 mg de cloroquina por kg de peso corporal el primer día, 10 mg por kg de peso el segundo día y 5 mg por kg de peso el tercer día. Los pacientes que recrudescieron a pesar de la dosis normalizada, recibieron una segunda dosis de difosfato de cloroquina base, de 40 mg por kg de peso corporal, vía oral, distribuida en tomas diarias de 10 mg por kg de peso durante cuatro días<sup>13</sup>. La administración de la dosis reforzada de cloroquina se inició en los casos de recrudescencia solamente hasta que el *P. falciparum* fué claramente identificado en los frotis de sangre. Una vez confirmado en el estudio de los primeros pacientes la existencia de cepas tolerantes al difosfato de cloroquina, los poste-

riores pacientes admitidos fueron tratados de inicio con la dosis reforzada, con el propósito de reducir el número de días de observación. En los casos en que se demostró resistencia de *P. falciparum* al difosfato de cloroquina, los pacientes se trataron con Sulfametoxipiridazina y Pirimetamina<sup>10</sup>.

Las muestras de sangre se tomaron diariamente mientras se demostraron trofozoitos en sangre periférica; al negativizarse, las muestras fueron hechas cada segundo día. Cuando nuevamente se identificaron trofozoitos, las muestras de sangre se practicaron diariamente mientras los parásitos permanecieron demostrables y luego cada segundo día al hacerse los recuentos negativos y así sucesivamente.

También se colectaron muestras diarias de orina de la primera emisión, con la finalidad de determinar cuantitativamente la eliminación de cloroquina; la determinación se hizo por el método de WILSON & EDISON<sup>13</sup>. Todas las muestras se dejaron en refrigeración (8°C) hasta el momento en que se procesaron. A cada muestra de orina se le hicieron tres determinaciones, una a la muestra de orina pura, otra a una dilución de 1:5 de orina y una tercera a una dilución de 1:10. Estas diluciones se emplearon para evitar errores de lectura en la reacción debido a la coloración acentuada de algunas muestras. Antes de hacer las determinaciones, las muestras fueron calentadas y filtradas con el propósito de eliminar proteínas que pudieran estar presentes; luego se mantuvieron en el refrigerador hasta su uso. A un volumen de 5 ml de cada dilución de la orina se le agregaron 0.2 ml de reactivo Mayer-Tanret; los tubos fueron agitados y dejados en reposo durante un lapso de 10 a 15 minutos antes de hacerse la lectura. Cualitativamente las pruebas se consideraron positivas cuando después de un período de reposo, se desarrolló un color blanco apreciable. Para la prueba cuantitativa el contenido de los tubos con las diluciones de orina así tratadas se leyeron en un espectrofotómetro Coleman Junior II a 610 milimicrones de longitud de onda. La lectura del porcentaje de transmitancia registrado, se expresó en concentración de microgramos (mcg) de difosfato de cloroquina

por ml de orina, comparando las lecturas encontradas, con una curva patrón obtenida previamente con concentraciones conocidas de difosfato de cloroquina de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 50 mcg por ml.

Al inicio de la prueba se utilizó como testigo negativo una muestra de orina conocida, obtenida de una persona que no estaba recibiendo cloroquina. Las muestras de orina se identificaron en la misma forma que las muestras de sangre. Los datos obtenidos del examen y recuento parasitológico, así como los resultados de la investigación de eliminación de cloroquina por la orina se registraron diariamente. Todos los días se visitó a los pacientes hospitalizados, haciendo anotaciones periódicas de su evolución, registrando personalmente la curva térmica y administrando la cloroquina, la cual fué ingerida por los pacientes en presencia de uno de nosotros. Previamente se determinó que serían eliminados de este estudio a todos aquellos pacientes que presentarían intolerancia a la droga, así como también aquellos casos con densidad parasitaria excesivamente alta, estado general grave o con in-

fecciones mixtas. A cada uno de los pacientes se les levantó una historia epidemiológica procurando distinguir en ella el lugar probable de la infección y el lugar donde se presentaron los primeros síntomas.

## RESULTADOS

Durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre de 1973, pudimos observar un total de 14 pacientes, estudiados de acuerdo a las condiciones previamente establecidas. Sus edades oscilaron entre 10 y 40 años. Los pacientes permanecieron un tiempo mínimo de hospitalización de 29 días, a un máximo de 41. Los primeros once pacientes fueron estudiados y tratados con una dosis inicial normalizada de difosfato de cloroquina. Los pacientes 12, 13 y 14 no recibieron la dosis normalizada y su tratamiento se inició de una vez con la dosis reforzada. Siete de los primeros pacientes vivían en el Municipio Moitaco y los otros cuatro (los pacientes 3, 8, 9 y 10), en Municipios fronterizos y con lugar probable de infección en el área (Cuadro I, Fig. 1).

CUADRO I

Distribución de los casos estudiados según procedencia, sitio probable de infección y grado de respuesta a dosis normalizada y reforzada de difosfato de cloroquina

| N.º<br>Paciente | Procedencia  |             | Sitio probable de infección |             | S | T | S <sub>1</sub> | R |
|-----------------|--------------|-------------|-----------------------------|-------------|---|---|----------------|---|
|                 | Lugar        | Municipio   | Lugar                       | Municipio   |   |   |                |   |
| 1               | Paramanal    | Moitaco     | Guaigua                     | Moitaco     |   | + | +              |   |
| 2               | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   | + |                | + |
| 3               | C. Bolívar   | Bolívar     | Las Majadas                 | Las Majadas |   | + | +              |   |
| 4               | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   | + | +              |   |
| 5               | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   | + |                | + |
| 6               | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   | + |                | + |
| 7               | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   | + | +              |   |
| 8               | Maripa       | Maripa      | Maripa                      | Maripa      |   | + |                | + |
| 9               | La Esperanza | Bolívar     | La Esperanza                | Bolívar     |   | + |                | + |
| 10              | Pto. Salinas | Bolívar     | El Pegón (La Píña)          | Bolívar     |   |   | +              |   |
| 11              | Campo Alegre | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     | + |   |                |   |
| 12 *            | Tiquirito    | Las Majadas | Tiquirito                   | Las Majadas |   |   | +              |   |
| 13 *            | Tiquirito    | Las Majadas | Tiquirito                   | Las Majadas |   |   | +              |   |
| 14 *            | El Váquiro   | Moitaco     | El Váquiro                  | Moitaco     |   |   |                | + |

\* = Pacientes que recibieron de inicio la dosis reforzada de cloroquina.

S = Sensible a dosis de 25 mg de cloroquina por kg de peso.

T = Tolerante a dosis de 25 mg de cloroquina por kg de peso.

S<sub>1</sub> = Sensible a dosis de 40 mg de cloroquina por kg de peso.

R = Resistente a dosis de 40 mg de cloroquina (Resistencia Grado 1).

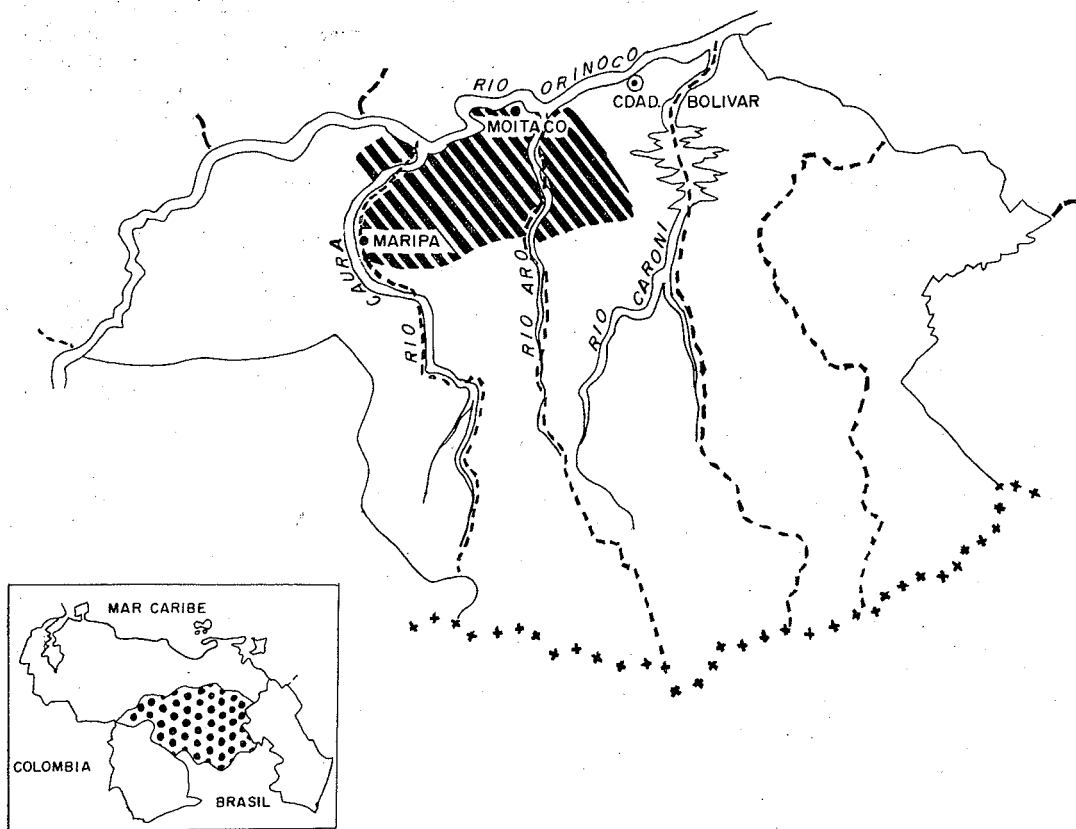


Fig. 1 — Mapa del Estado Bolívar, Venezuela, señalando la zona donde se demostró la existencia de *P. falciparum* resistente a la cloroquina.

En los once pacientes que recibieron la dosis normalizada de cloroquina, las formas asexuadas de *P. falciparum*, desaparecieron de la sangre periférica entre los 3 y los 10 días siguientes del tratamiento. Diez de ellos (los pacientes numerados del 1 al 10) recrudecieron, demostrándose trofozoitos de *P. falciparum* después de transcurrido un período de negativización de 4 a 19 días. El paciente número 11, una vez que se negativizó, permaneció sin presentar formas asexuadas en sangre, durante todo el período de observación (Cuadro II).

A los pacientes que recrudecieron, se les administró la dosis reforzada de difosfato de cloroquina, desapareciendo en todos ellos, bajo los efectos de la droga, las formas asexuadas de *P. falciparum* entre los 3 y 7 días

posteriores al inicio de la administración de esta dosis.

De estos pacientes, los Nos. 1, 3, 4, 7 y 10 continuaron con gota gruesa y frotis negativos hasta el último día de observación. No ocurrió lo mismo con los pacientes 2, 5, 6, 8, y 9, ya que en ellos fué posible identificar 12 a 19 días después de la negativización, trofozoitos de *P. falciparum* en sangre periférica (Cuadro II).

De los pacientes que fueron tratados de inicio con la dosis reforzada de difosfato de cloroquina (pacientes 12, 13 y 14), solamente recrudeció el número 14, diez días después de haberse negativizado. Como puede apreciarse en el Cuadro I, este paciente procedía del Municipio Moitaco.

GODOY, G. A.; VOLCAÑ, G.; MARENCO REALES, O.; GUEVARA, R. & TEXEIRA, A. — Demostración de resistencia al difosfato de cloroquina por cepas de *Plasmodium falciparum* infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:38-48, 1975.

CUADRO II  
 Respuesta parasitológica expresada en el  $\log_{10}$  del número de formas circulantes asexuadas de *P. falciparum* presentes por  $\text{mm}^3$  de sangre periférica en doce pacientes tratados con dosis normalizadas y reforzadas de difosfato de cloroquina y en dos que recibieron únicamente la dosis reforzada (pacientes 13 y 14)

| Días de observación | Número del paciente |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                     | 1                   | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   |
| 0                   | 3.19                | 2.65 | 3.58 | 3.64 | 4.11 | 4.05 | 2.68 | 3.82 | 4.09 | 3.59 | 3.40 | 1.70 | 2.86 | 3.92 |
| 1                   | 3.09                | 1.72 | 3.34 | 2.64 | 2.87 | 3.73 | 3.25 | 2.55 | 4.25 | 4.05 | 3.34 | 1.0  | 1.84 | 4.02 |
| 2                   | 2.15                | 1.46 | 2.27 | 1.95 | 2.54 | 2.80 | 2.30 | 2.30 | 3.22 | 3.20 | 2.01 | 1.0  | 1.70 | 3.36 |
| 3                   | 1.0                 | 0.3  | 1.14 |      | 1.00 |      |      |      | 2.35 | 2.10 | 1.78 |      |      | 2.63 |
| 4                   | 0.6                 |      |      |      |      |      |      |      | 2.02 | 1.54 |      |      |      |      |
| 5                   |                     |      |      |      |      |      |      |      | 2.21 |      |      |      |      |      |
| 6                   |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 7                   |                     |      |      |      |      |      |      |      | 1.78 |      |      |      |      |      |
| 8                   |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 9                   |                     |      |      |      |      |      |      |      | 1.81 |      |      |      |      |      |
| 10                  |                     |      |      |      |      |      |      |      | 1.65 |      |      |      |      |      |
| 11                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 12                  |                     |      |      |      |      | 3.30 | 1.30 |      |      |      |      |      |      |      |
| 13                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 1.3  |
| 14                  |                     |      | 1.30 |      |      | 3.88 | 1.60 |      |      |      |      |      |      |      |
| 15                  |                     |      | 3.14 |      |      | 3.82 |      | 2.61 | 2.81 |      |      |      |      |      |
| 16                  |                     |      | 3.05 |      | 1.0  | 4.07 | 3.00 |      | 3.18 |      |      |      |      | 1.79 |
| 17                  |                     | 2.14 | 4.26 |      |      | 3.11 | 2.98 | 3.84 | 4.01 |      |      |      |      | 2.43 |

GODOY, G. A.; VOLCAN, G.; MARENCO REALES, O.; GUEVARA, R. & TEXEIRA, A. — Demostración de resistencia al difosfato de cloroquina por cepas de *Plasmodium falciparum* infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:38-48, 1975.

CUADRO II (Continuación)

| Días de observación | Número del paciente |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
|---------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----|----|----|------|
|                     | 1                   | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11 | 12 | 13 | 14   |
| 18                  |                     | 3.0  | 4.15 |      | 3.49 | 2.04 | 2.66 | 3.81 | 2.34 |      |    |    |    | 2.84 |
| 19                  |                     | 3.12 | 2.55 |      | 4.01 | 2.17 | 2.17 | 2.52 | 1.70 |      |    |    |    | 3.55 |
| 20                  |                     | 2.01 | 2.08 |      | 4.7  | 1.90 | 1.84 |      |      |      |    |    |    | 1.74 |
| 21                  |                     |      | 2.27 | 2.20 | 2.92 | 1.0  | 1.0  | 1.0  |      |      |    |    |    | 1.10 |
| 22                  |                     |      |      | 2.80 | 1.0  |      |      |      |      |      |    |    |    | 1.10 |
| 23                  |                     | 1.36 | 2.62 | 1.0  |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 24                  | 0.47                |      |      | 3.08 |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 25                  | 2.50                |      |      | 3.21 |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 26                  | 2.88                |      |      | 2.30 |      |      |      |      |      | 3.41 |    |    |    |      |
| 27                  | 3.50                |      |      | 2.17 |      |      |      |      |      | 4.60 |    |    |    |      |
| 28                  | 3.43                |      |      |      |      |      |      |      |      | 3.18 |    |    |    |      |
| 29                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      | 2.66 |    |    |    |      |
| 30                  | 2.23                |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 31                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 32                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 33                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 34                  |                     |      |      |      |      | 1.30 |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 35                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 36                  |                     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |    |    |    |      |
| 37                  |                     |      |      |      | 1.47 | 2.23 |      | 1.70 |      |      |    |    |    |      |
| 38                  |                     |      |      |      | 2.14 | 2.41 |      | 2.25 |      |      |    |    |    |      |
| 39                  |                     |      |      |      | 2.68 | 2.86 |      |      | 2.37 |      |    |    |    |      |
| 40                  |                     | 1.0  |      |      | 3.20 | 1.30 |      |      |      |      |    |    |    | 3.60 |
| 41                  |                     | 1.6  |      |      | 3.11 | 1.25 |      |      |      |      |    |    |    | 3.23 |

GODOY, G. A.; VOLCAN, G.; MARENCO REALES, O.; GUEVARA, R. & TEXEIRA, A. — Demostración de resistencia al difosfato de cloroquina por cepas de *Plasmodium falciparum* infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:38-48, 1975.

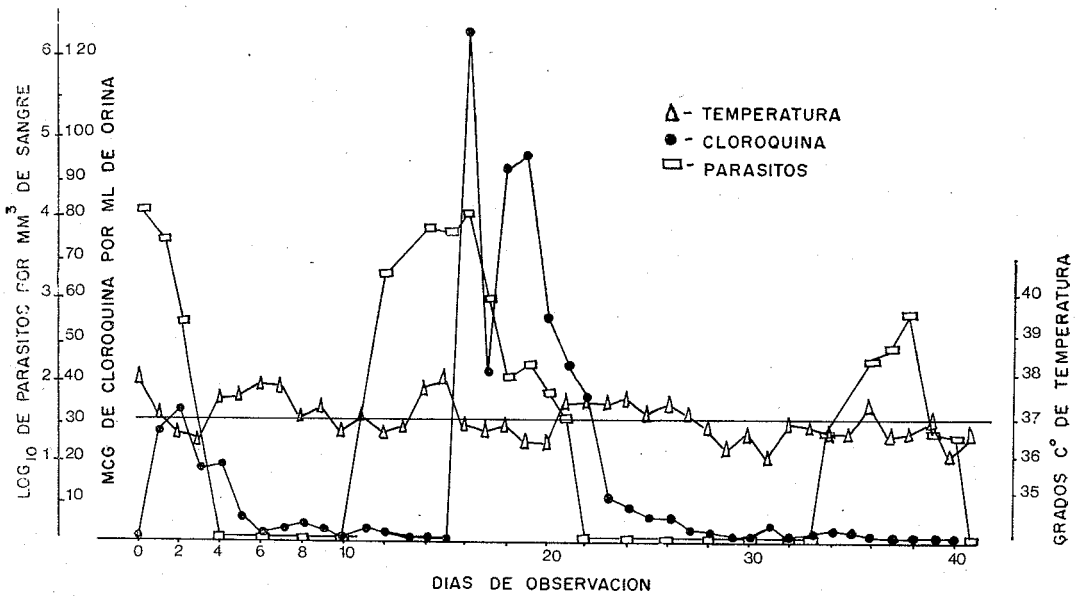


Fig. 2 — Representación gráfica de la correlación, durante el período de observación, de temperatura, parasitemia y eliminación de cloroquina correspondiente al paciente número 6.

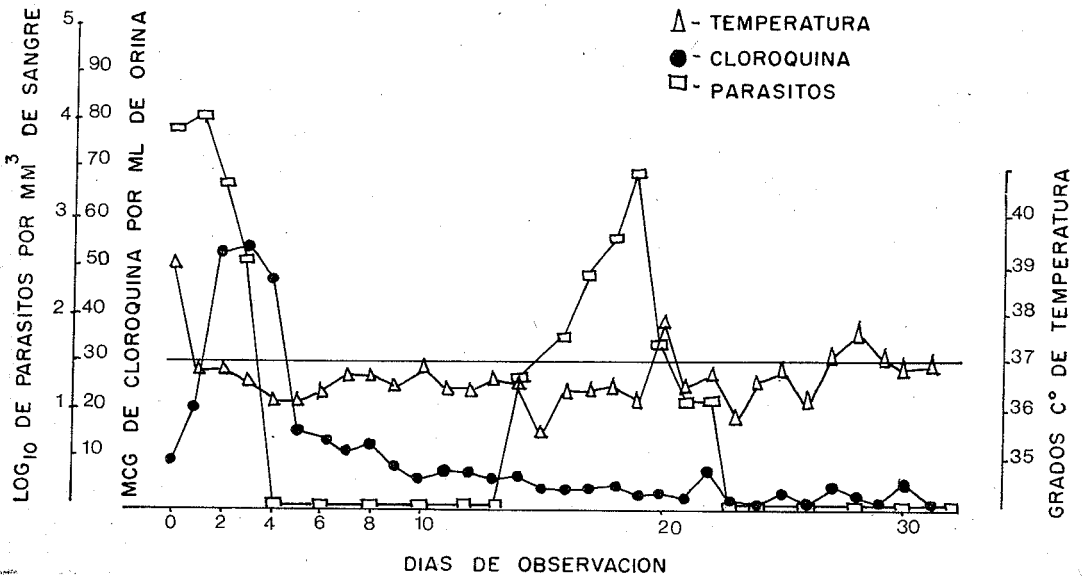


Fig. 3 — Representación gráfica de la correlación, durante el período de observación, de temperatura, parasitemia y eliminación de cloroquina, correspondiente al paciente número 14.



La eliminación promedio máxima de cloroquina fué de 69 mcg/ml de orina para los pacientes que recibieron la dosis normalizada y de 76 mcg/ml en aquellos a quienes se les administró la reforzada, cifras que equivalen a 6.9 mg y 7.6 mg de cloroquina por 100 ml de orina respectivamente. En ambos casos, los pacientes estuvieron eliminando cloroquina en forma apreciable durante un mínimo de siete días y un máximo de 25.

Las Figs. 2 y 3 pertenecientes a los pacientes No. 6 y No. 14 respectivamente, representan ejemplos gráficos de la relación, durante los días de estudio, de las curvas de eliminación de cloroquina en mcg/ml de orina con la curva de parasitemia en base al  $\log_{10}$  del número de formas asexuadas de *P. falciparum* por  $\text{mm}^3$  de sangre, en los pacientes que recrudecieron, a pesar de haber recibido la dosis reforzada de difosfato de cloroquina. En esos mismos cuadros se registró la curva térmica expresada en grados centígrados, observándose que, no obstante el discreto paralelismo apreciable con la curva parasitaria, aquella no ascendió a más de 38°C, aún en los periodos de mayor parasitemia.

Hay que señalar que en casi todos los casos se demostró la recrudecencia antes de que se presentaran los primeros síntomas. Es necesario aclarar que algunos pacientes desarrollaron accesos febriles con registro de 39 a 39,5°C, pero estos accesos ocurrieron en horas diferentes de aquellas en que cada mañana se tomó personalmente la temperatura oral que hemos usado en la elaboración de la curva térmica.

La curva de parasitemia permite apreciar de cloroquina por la orina del paciente No. 6 (Fig. 2), permite apreciar, además de los niveles, el tiempo de eliminación; la primera onda representa la respuesta correspondiente a la eliminación de la dosis normalizada y la segunda a la eliminación de la dosis reforzada. En el paciente No. 14 (Fig. 3), la única onda que se observa es la correspondiente a la eliminación de la dosis reforzada de cloroquina.

La curva de parasitemia permite apreciar la magnitud, la amplitud de las ondas y su

relación en el tiempo con la eliminación de cloroquina. En la Figura 2, se observan tres ondas de parasitemia, la primera correspondiente a la parasitemia en el inicio de la experiencia, la segunda a la primera recrudecencia después de la administración de dosis normalizada y la última a la segunda recrudecencia. En la Figura 3 solo se aprecian dos ondas, debido a que este paciente (No. 14), no recibió la dosis normalizada, de manera que la segunda onda corresponde a la recrudecencia posterior a la administración de la dosis reforzada. La evolución de la parasitemia en los 14 pacientes, se presenta en el Cuadro II.

#### DISCUSION

La información obtenida del análisis de los resultados del presente trabajo nos permiten afirmar que se ha demostrado, en seis distintas personas parasitadas con *P. falciparum*, la resistencia de esta especie de *Plasmodium* al difosfato de cloroquina; criterios internacionales<sup>14</sup>, han definido los conceptos básicos que se deben tomar en consideración para determinar el grado de resistencia de cepas de *P. falciparum*, los cuales refuerzan los elementos de juicio que sustentan el presente trabajo, ya que en base a ellos definimos los parámetros usados en él.

En todo momento el trabajo se realizó fuera del área en donde estaba ocurriendo la transmisión activa y los pacientes permanecieron recluidos en aislamiento, evitando cualquier exposición eventual a vectores de la malaria, con el propósito de eliminar la posibilidad de reinfección que pudiera dificultar la identificación de las recrudecencias. Igualmente se mantuvo vigilancia personal en la administración de la droga y determinaciones diarias de su excreción por la orina, sin demostrar intolerancia o inadecuada eliminación de la misma. A todo lo largo del período de observación se hizo un estudio parasitológico, para medir las modificaciones que pudiera sufrir el número aparecido eventualmente de las formas asexuadas en sangre periférica, durante y después de la administración del difosfato de cloroquina.

En estas condiciones fué posible demostrar que diez de los pacientes incluidos en este

estudio presentaron tolerancia a la dosis normalizada<sup>4, 13</sup>; en cinco de los que fueron tolerantes se demostró resistencia a la dosis reforzada y un sexto (el paciente No. 14), resistencia a la dosis reforzada.

El hecho de que todos estos pacientes mencionados anteriormente como resistentes (Cuadro I), se negativizaran transitoriamente durante un período posterior a la administración de la dosis reforzada (Cuadro I y II), indica el grado de resistencia, el cual corresponde al definido por la Organización Mundial de la Salud<sup>13</sup>, como resistencia grado I (RI).

El comportamiento de cepas de *P. falciparum* frente al difosfato de cloroquina y a otras drogas antimaláricas<sup>2, 16</sup>, representa un serio problema de estudio por sus implicaciones en el porvenir de muchos programas antimaláricos en desarrollo en diversas partes del mundo. La demostración de resistencia en seis pacientes domiciliados en un área geográfica del Estado Bolívar, confirmó la sospecha epidemiológica de que infecciones a cepas resistentes de *P. falciparum* estaban ocurriendo en el Municipio Moitaco y en áreas circunvecinas.

#### SUMMARY

#### *Chloroquine resistant strains of Plasmodium falciparum in Bolivar State, Venezuela*

The Authors report finding of chloroquine diphosphate resistant strains of *Plasmodium falciparum*, in six out of fourteen patients treated each one with a total dosis of 40 mcg/kg of body weight. The patients were hospitalized during the observation period, and several measures were taken to avoid reinfection. The *P. falciparum* malaria patients came from Moitaco district and its neighborhood, within the State of Bolívar, Venezuela. The degree of resistance was recorded as grade I.

#### REFERENCIAS

1. BRUCE-CHWATT, L.J. — Drug resistance in malaria parasites and the importance of this problem in malaria eradication. *Proc. 7<sup>th</sup> Int. Cong. Trop. Med. Malaria* (Rio de Janeiro) 5:126-127, 1963.

2. CLYDE, F.D. — The problem drug resistance malarie. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 736-743, 1972.
3. COMER, R.D.; YOUNG, M.; PORTER, J. A.; GAULD, J.R. & ERRIT, W. — Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria on the Pacific coast of Colombia. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 17:795-799, 1968.
4. DESOWITZ, R.S. — Antiparasite Chemotherapy. *Ann. Rev. Pharmacology* 11:357-368, 1971.
5. GABALDON, A. — Difficulties confronting malaria eradication. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 21:634-639, 1971.
6. GABALDON, A. — Resistencia a los parásitos maláricos a las drogas en Venezuela. Primer curso de Medicina Interna. Caracas, Venezuela. Mimeografiado, 22 p., 1971.
7. GARCIA-MARTIN, G. — Status of malaria eradication in the Americas. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 21:617-633, 1971.
8. MABERTI, S. — Desarrollo de Resistencia a la Pirimetamina. Presentación de 15 casos estudiados en Trujillo, Venezuela. *Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med.* 3:239-259, 1960.
9. McNAMARA, J.V.; RIECKMANN, K.H.; FRISCHER, H.; STOCKERT, T.A.; CARSON, P.E. & POWELL, R.D. — Acquired decrease in sensitivity to quinine observed during studies with a strain of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 61:386-395, 1967.
10. MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL — Quimioterapia en el programa de erradicación de la malaria. Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Maracay, Aragua, Venezuela, 1972.
11. MOORE, D.V. & NAD LANIER, J.E. — Observation on two *P. falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 10:5, 1961.
12. NEVES, J. & BRANDÃO MOURA, H. — Malária no hospital Carlos Chagas da Universidade Federal de Minas Gerais nos últimos 10 anos. Registro de 118 casos e considerações em torno do *Plasmodium falciparum* resistente a cloroquina. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14:126-130, 1972.
13. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD — Resistencia de los parásitos del paludismo a los medicamentos. *Ser. Inf. Tecn.* 296, 74 p., 1965.

---

GODOY, G. A.; VOLCÁN, G.; MARENCO REALES, O.; GUEVARA, R. & TEXEIRA, A. — Demonstración de resistencia al difosfato de cloroquina por cepas de *Plasmodium falciparum* infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:38-48, 1975.

---

14. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD — Quimioterapia del paludismo. *Ser. Inf. Tecn.* 375, 91 p., 1967.
15. PETERS, W. A. — Review of recent studies on chemotherapy and drug resistance in malaria parasites of birds and animals. *Trop. Dis. Bull.* 64:1145-1175, 1967.
16. PETERS, W. — Drug resistance in malaria, a perspective. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63:25-45, 1969.
17. POWELL, R. D. & TIGERTT, W. D. — Drug resistance of parasites causing human malaria. *Ann. Rev. Med.* 19:81-102, 1968.
18. SILVA, J. R. & LOPEZ, P. F. — Chloroquine and other 4-aminoquinolines resistance in *Plasmodium falciparum* in Brazil. *Proc. 7<sup>th</sup> Int. Cong. Trop. Med. Malaria* (Rio de Janeiro) 5:77-100, 1963.
19. THOMSON, P. E. — The challenge of drug-resistance malaria. *Amer. J. Med. Hyg.* 22:139-411, 1973.
20. WORLD HEALTH ORGANIZATION — Malaria eradication in 1970. *Chron.* 25:498-500, 1971.

---

Recebido para publicação em 15/7/1974.