



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Resistencia de las drogas antimaláricas en Bolivia

Arletta Añez Valdez

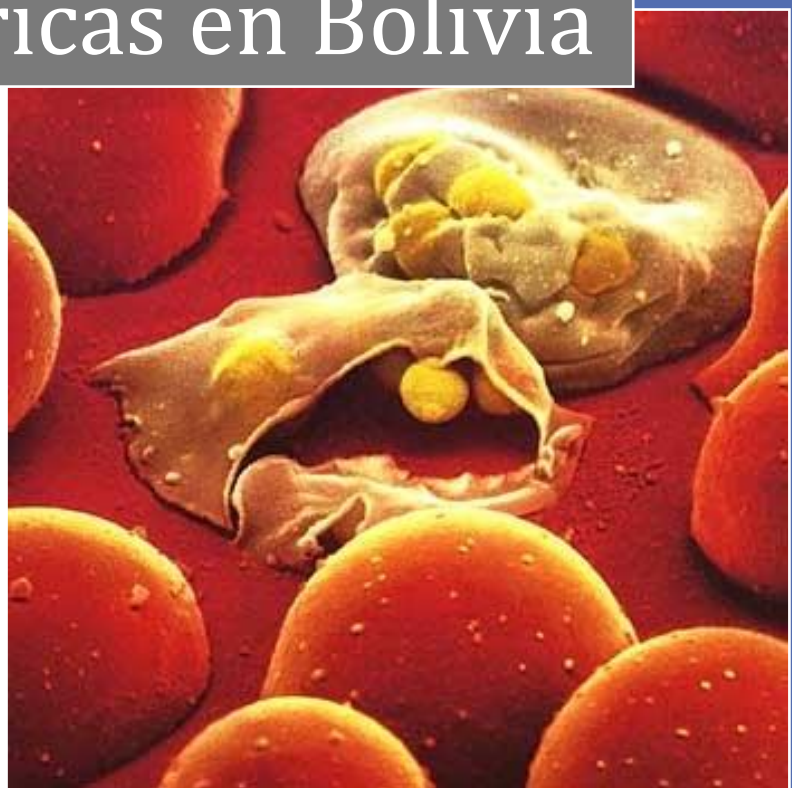


Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 3.0. Spain License.**

Resistencia de las drogas antimaláricas en Bolivia



Arletta Añez



Universitat de Barcelona
Facultat de Medicina
Programa de Doctorado Medicina

Universitat de Barcelona
Facultad de Medicina
Programa de Doctorado Medicina

LÍNEA: SALUD INTERNACIONAL

Grupo de investigación en epidemiología, salud pública i salud internacional

Memoria presentada por COMPENDIO DE ARTICULOS

Título: Resistencia de las drogas antimaláricas en Bolivia
Presentada por: Arletta Añez Valdez
Para optar al grado de Doctor por la Universitat de Barcelona

Visto bueno del director de la tesis
Dr. Carlos Ascaso Terrén
Universitat de Barcelona
Facultad de Medicina
Departamento de Salud Pública
Barcelona, 2016

Agradecimientos

Al Dr. Carlos Ascaso, por enseñarme a escribir y a publicar, por darme ánimos en los momentos más conflictivos de la tesis y por ser mi amigo.

Al Dr. Jorge Cuba, jefe del programa de malaria de la localidad de Riberalta, por estar abierto a todas las actividades que le he propuesto.

A mis amigos incondicionales del CONCAMYT, en especial a Cecilia Garnica y Manuel Moscoso, por hacer posible todos los trabajos de investigación.

Al equipo médico y paramédico de los servicios de salud La Unidad y Cesar Moscoso, de la localidad de Riberalta, por el apoyo en el reclutamiento de pacientes.

A la Iniciativa Amazónica contra la malaria y la red amazónica de vigilancia de la resistencia de drogas antimaláricas AMI/RAVREDA, por impulsar y financiar estudios de evaluación in vivo de eficacias de las drogas antimaláricas en latino america.

A la Organización Panamericana de la Salud oficina Bolivia, al Representante Fernando Leanes por su apoyo incondicional en el desarrollo de la tesis y en la lectura de tesis.

A mi familia y en especial a mi mamá y hermanas Roxana y Claudia, por entender mi locura y por cuidar a mi hija cuando yo redactaba la tesis.

Y a mi amada Valentina, por darme parte de sus horas de juego, para que yo pueda terminar la tesis.

Tabla de contenido

Glosario	6
INTRODUCCIÓN-.....	7
Aspectos Generales y epidemiológicos.....	7
Estrategia terapéutica del <i>P. vivax</i>	10
Resistencia	12
Mecanismos de resistencia de los antimaláricos.....	13
Distribución mundial de la resistencia	15
Esquema de tratamiento de la malaria en Bolivia.....	17
Farmacocinética y Farmacodinámica de la Cloroquina	18
Farmacocinética.....	19
Dosis de medicamentos en los niños	20
METODOLOGIA	23
HIPÓTESIS.....	28
-HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	28
OBJETIVOS.....	28
-OBJETIVO GENERAL	28
-OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	46
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFÍA.....	55

Glosario

AMI: Amazon Malaria Initiative

AR+LU: artemeter+lumefantrín

AS: artesunato

AS+AQ: artesunato+amodiaquina (AS+AQ)

ASC: área de superficie corporal,

CONCAMYT: Control de Calidad de Medicamentos y Tóxicos

CQ: cloroquina

CYP: citocromo P450,

DCQ: desitil cloroquina

DHA-P: dihydroartemisinín-piperaquina

DP: densidad parasitaria

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

FT: fracaso terapéutico

GM: gametocitos

HPLC: High-performance liquid chromatography

INLASA: Instituto Nacional de Laboratorios en Salud.

MEC Mínima concentración efectiva de la droga

MQ: mefloquina

MSyD: Ministerio de Salud y Deportes

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PAHOERC: PAHO Ethics Review Committee

PC: peso corporal

PCR: Polymerase Chain Reaction

PNCM: Programa Nacional de Control de la Malaria

PQ: primaquina

RAVREDA: Red Amazónica sobre la Vigilancia de la Resistencia de las drogas antimaláricas

SDx+PYR: sulfadoxima + pipermetamina.

USAID: *United States Agency for International Development*

VD: volumen de distribución

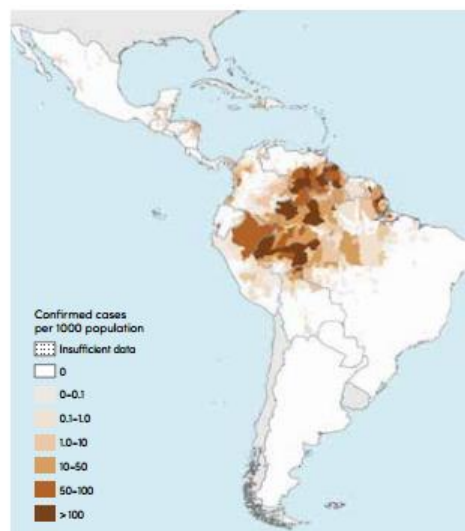
INTRODUCCIÓN-

Aspectos Generales y epidemiológicos

La malaria o paludismo es una enfermedad parasitaria que se transmite por la picadura de la hembra del mosquito "anófeles", según la Organización Mundial de la Salud causa más de un millón de muertes al año en el mundo. WHO 2015. Los parásitos causantes de la malaria, son inoculados en el huésped humano por un mosquito anofelino hembra durante su alimentación. Las cuatro especies principales de Plasmodium que infectan a los seres humanos son *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*

A pesar de la disminución de los casos de malaria a nivel mundial, la malaria por *P. vivax* continúa siendo un problema de salud pública. Se estima que esta forma de la malaria causó 13.8 millones de casos en todo el mundo en el 2015 y contribuyó con cerca de la mitad de todos los casos de malaria fuera de África. La mayoría de los casos de malaria por *P. vivax* ocurrieron en la Región de Asia sudoriental de la OMS (74%), seguida de la Región del Mediterráneo Oriental (11%) y la Región de África (10%). Se estima que más del 80% de los casos de malaria por *P. vivax* ocurren en tres países (Etiopía, India y Pakistán). Sin embargo *P. vivax* predomina en los países que son los principales candidatos para la eliminación de la malaria, la mayoría ubicados en la región de las Américas, donde contribuye con más del 70% del total de los casos. (Figura 1). WHO b 2015.

Figura 1 Casos de malaria por 1000 Habitantes año 2014

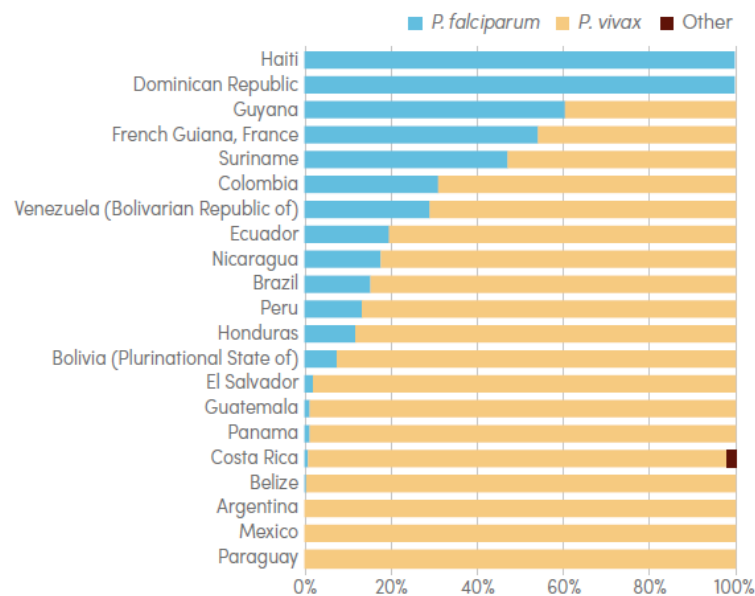


Data are only shown for countries and areas that had ongoing malaria transmission in year 2000

En la Región de las Américas, 21 millones de personas en 21 países y territorios se estima que están en riesgo de contraer malaria, (reportados con una incidencia > 1 por 1000 (Figura 2)). WHO b 2015.

Figura 2

Proporción de casos de malaria por *P. falciparum* y *P. vivax* 2010-2014 3n la región de las américas

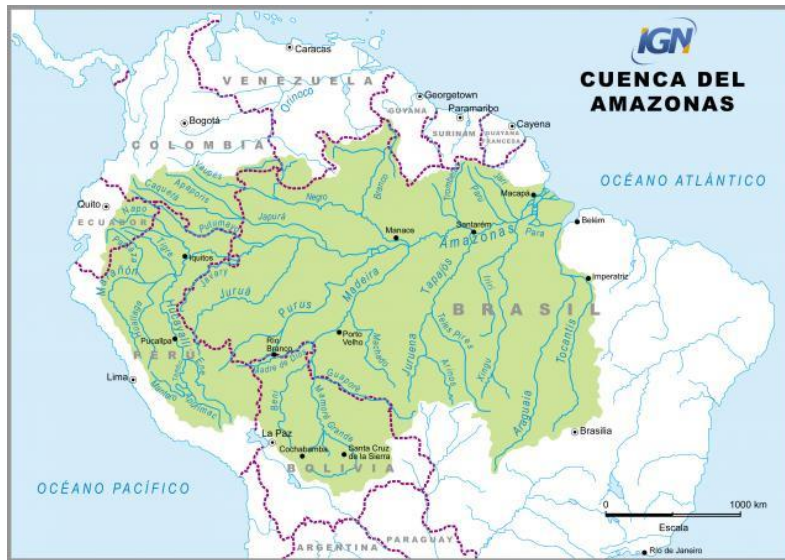


Fuente: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/wmr2015-profiles.pdf?ua=1>

Bolivia forma parte de la cuenca amazónica de Sudamérica, el departamento de Pando, los municipios de Riberalta y Guayaramerín del departamento del Beni, y el municipio de Ixiamas del Dpto. de La Paz, conforman norte amazónico de Bolivia, (Ver figura 3). Esta área geográfica limita al noreste con la región amazónica del Brasil y es una de las zonas de mayor endemicidad de malaria.

En Bolivia el 93% de los casos de malaria son atribuibles a *P. vivax*, por año se registran alrededor de 7000 nuevos casos distribuidos en 8 de los nueve departamentos, Bolivia es uno de los países que se encuentra en fase de control de la enfermedad ya que en los últimos años ha tenido un descenso significativo en comparación con el año 2000 (año con el que se miden los objetivos de desarrollo del milenio ODM). A pesar de ello, en los cuatro últimos años las estrategias de prevención y control de la malaria no han disminuido el número de casos. (Ver figura 4)

Figura 3 Cuenca de las amazonas

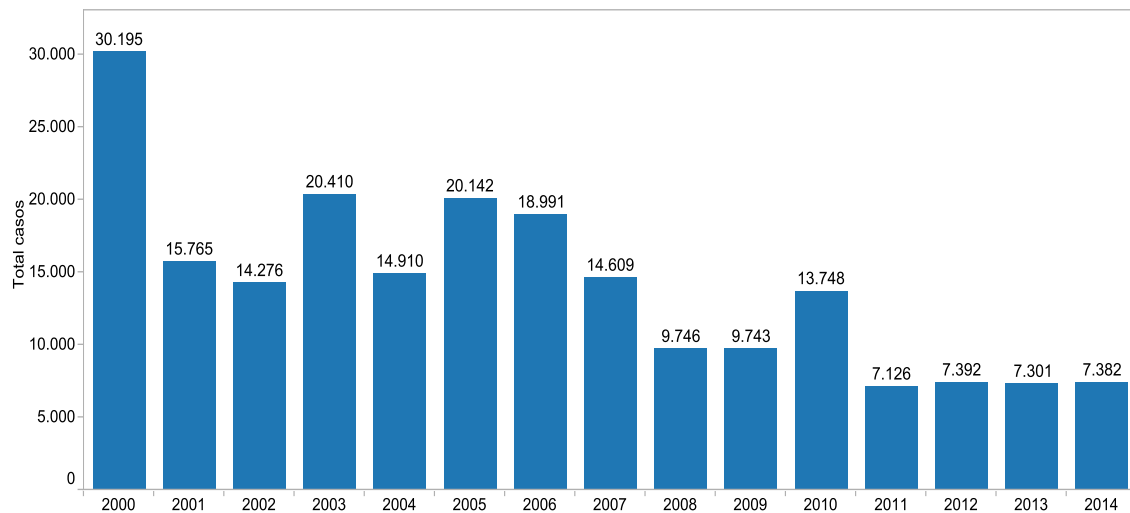


Fuente:

<https://www.google.com.bo/search?q=mapa+cuena+amazonas&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=5pjeUqUAa3LsASwxILwDw&ved=0CC4QsAQ&biw=1600&bih=732>

Figura 4

Casos autóctonos de malaria registrados en Bolivia por año 2000-2014



Estrategia terapéutica del *P. vivax*.

El ciclo de vida de los plasmodios define las estrategias terapéuticas. Los *Plasmodium* tienen un ciclo de vida complejo, marcada por formas de distinta morfología, función, ubicación, consecuencia clínica, y la susceptibilidad a agentes antipalúdicos.

En el caso particular del *P. vivax*, algunos esporozoitos inoculados, originan estadios latentes en las células hepáticas, llamados hiponozoitos, los que son causantes de las recaídas recurrentes, las recaídas pueden ocurrir en cualquier momento, semanas o años después del primer episodio de parasitemia y de la enfermedad clínica. El resto de los esporozoitos continúa con su ciclo asexual hepático y asexual sanguíneo, causando malaria clínica sintomática, luego pasan por el ciclo sexual donde se desarrollan los gametocitos; formas parasitarias infectantes de los mosquitos, Anopheles.

La transmisión del paludismo depende en gran parte de la producción de gametocitos infectados por los mosquitos del género Anopheles y del tiempo que permanecen en la sangre. [White 2008](#). Los gametocitos de *Plasmodium falciparum* hacen su aparición en un tiempo aproximado de 7 a 15 días, después de la picadura del vector, principalmente en la microcirculación de los tejidos profundos [Price et al.](#), [Talman et al 2004](#), mientras que los gametocitos de *Plasmodium vivax* aparecen en sangre periférica entre 2 y 3 días después de la picadura del vector, [Medis et al. 2001](#), [Mckenzie et al. 2002](#), [Bousema et al. 2011](#).

La aparición de los síntomas coincide con la primera ruptura de los glóbulos rojos y la liberación de merozoítos en la sangre, los mismos que liberan sustancias que estimulan al hipotálamo y ocasionan crisis febriles repentinas, cefalea y escalofríos, entre otros síntomas [Engwerda et al. 2005](#). Para interrumpir el ciclo de transmisión de la malaria es importante administrar el tratamiento específico inmediatamente iniciados los síntomas y antes del desarrollo de los gametocitos [Collins et al. 2003](#).

Actualmente la cloroquina por su costo y efectividad es el medicamento de elección contra los esquizontes sanguíneos de *P. vivax*, así también por su conocida actividad contra los gametocitos de *P. vivax*, sin embargo, la CQ no ejerce actividad esporonticida o actividad esquizonticida tisular, es decir no puede prevenir la aparición o eliminar hiponozoitos. La primaquina es la única droga disponible en el mercado con capacidad de eliminar estas formas parasitarias; sin embargo, sin la administración de la CQ no se podría prevenir la aparición ni eliminar las formas jóvenes del Plasmodium.

Cuando una parasitemia reaparece después del tratamiento esquizonticida sanguíneo como la CQ, podemos pensar en una recaída por los hipnozoitos, una reinfección por un mosquito, o un recrudecimiento de origen de parásitos en fase asexuales que sobrevivieron el tratamiento. La aparición de CQ resistentes a *P. vivax* se atribuye a la última posibilidad. [Baird 2004.](#)

La CQ persiste en el torrente sanguíneo durante un periodo promedio de 35 días después de la terapia inicial y en teoría impediría una parasitemia por recurrencia de recaídas, sin embargo, a los 35 días se encuentran con niveles de fármaco por debajo de la concentración mínima efectiva (MEC). Una recaída antes de 17 días es poco probable en los pacientes que sufren un ataque primario después de una breve exposición.

El principal metabolito de la cloroquina es la desetil cloroquina (DCQ) el cual también tiene actividad contra el parásito, es así que 70-90 ng/ml de CQ+DCQ en sangre es la MEC contra cepas sensibles de *P. vivax*, dosificado a través de la cromatografía líquida de alta resolución (siglas en inglés HPLC) en sangre total. [Baird 1997.](#)

Parasitemia recurrente dentro de los 35 días de tratamiento con ≥ 100 ng/ml de CQ+DCQ en sangre demuestra la resistencia a la CQ. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la evaluación de la eficacia terapéutica de la CQ para *P. vivax* debe tener una duración mínima de 28 días [WHO 2009.](#)

La cura se define como la eliminación de los parásitos causantes de la enfermedad, de esta manera se previene la progresión a la forma grave y la morbilidad adicional asociada al fracaso terapéutico. En la evaluación del tratamiento es necesario hacer un seguimiento de los pacientes durante un tiempo suficiente para determinar la curación. De manera individual el objetivo principal del tratamiento es curar la infección y reducir al máximo las complicaciones; mientras que, para la salud pública, el objetivo principal del tratamiento es el de reducir la transmisión de la infección, es decir, reducir el reservorio infeccioso y prevenir la aparición y propagación de resistencia a los medicamentos antimaláricos. [WHO 2015.](#)

Resistencia

La resistencia a un antimalárico se define como la capacidad de una cepa de plasmodios de sobrevivir o multiplicarse a pesar de la administración y la absorción adecuadas de un medicamento antimalárico en las dosis normalmente recomendadas. [WHO 2014](#).

La resistencia a un antimalárico no es necesariamente idéntica a un “fracaso terapéutico”; en el caso de la malaria este último consiste en no eliminar la parasitemia malarica o resolver los síntomas clínicos a pesar de la administración de un antimalárico. Así pues, mientras que la resistencia puede conducir al fracaso terapéutico, no todos los fracasos terapéuticos son la causa de la resistencia. El fracaso terapéutico también puede ser resultado de una dosificación incorrecta, problemas de supervisión del tratamiento (incumplimiento), calidad deficiente de los medicamentos, interacciones medicamentosas, problemas con la absorción de medicamentos, o diagnóstico erróneo del paciente. Teniendo en cuenta además que todos estos factores también pueden acelerar la propagación de una verdadera resistencia al exponer a los parásitos a niveles inadecuados del medicamento (niveles sub terapéuticos). [WHO 2014](#).

La resistencia a los antimaláricos aparece y se propaga debido a sus ventajas selectivas a la supervivencia de los parásitos en presencia de los antimaláricos a los cuales son resistentes. La presión selectiva muestra la intensidad y la magnitud del proceso de selección; en una población determinada de parásitos, la presión selectiva será mayor cuanto mayor sea la proporción de parásitos expuestos a concentraciones de un antimalárico que permitan la proliferación de parásitos resistentes y no susceptibles.

El uso generalizado e indiscriminado de antimaláricos ejerce una fuerte presión de selección en los parásitos desarrollen altos niveles de resistencia. Es posible prevenir esta resistencia, o desacelerar considerablemente su inicio, combinando antimaláricos con diferentes mecanismos de acción y procurando tasas de cura muy elevadas mediante una total adherencia a la posología correcta de los regímenes terapéuticos establecidos. [WHO 2015](#).

Inicialmente, con bajos niveles de resistencia y una prevalencia baja de malaria, la repercusión de la resistencia a los antimaláricos es insidiosa. Al comienzo de la resistencia desaparecen los síntomas iniciales de la infección y el paciente parece mejorar durante un período corto; sin embargo, los síntomas reaparecen (generalmente entre tres a seis semanas después del tratamiento), la anemia puede empeorar y hay una mayor

probabilidad de que el paciente sea portador de gametocitos (formas parasitarias que a su vez portan los genes que confieren resistencia). El paciente y el proveedor de tratamiento interpretan principalmente estas características tempranas de resistencia, como una reinfección recién contraída. A menos que en esta etapa se realicen ensayos clínicos del medicamento, la resistencia puede pasar desapercibida. A medida que esta empeora se acorta el intervalo entre infección primaria y recrudescencia; tiempo después los síntomas no desaparecen con el tratamiento y la incidencia de malaria probablemente aumente o se mantenga sin cambios aparentes en áreas de baja transmisión. [WHO 2015](#).

Mecanismos de resistencia de los antimaláricos

Existen dos aspectos a considerarse: el evento genético inicial que produce un mutante resistente, y el proceso posterior de selección en el cual la ventaja para la supervivencia en presencia del medicamento ineficaz conduce a la transmisión de los parásitos mutantes resistentes y, por lo tanto, a la propagación de resistencia.

Resistencia a los antimaláricos se produce generalmente como resultado de una rara mutación (o duplicaciones de genes) lo que se denomina “resistencia *novo*”, que confiere una ventaja de la supervivencia y su difusión a los parásitos. Los parásitos resistentes que estén presentes serán seleccionados si están expuestos a concentraciones “selectivas” (subterapéuticas) de medicamentos. “Selectiva” en este contexto significa una concentración de medicamentos que eliminará parásitos susceptibles, pero permitirá el crecimiento de la población de parásitos resistentes que, con el tiempo, se transmitirán a otras personas.

Dado que la resistencia *novo* surge aleatoriamente entre los plasmodios, los pacientes no inmunes infectados por un gran número de parásitos que reciban tratamiento inadecuado (sea por calidad deficiente de los medicamentos, observancia deficiente, vómitos de un tratamiento oral, o mala dosificación etc.) son una poderosa fuente de resistencia *novo*. Esto pone en relieve la importancia de una prescripción correcta, la buena observación de las pautas medicamentosas prescritas. [OPS 2011](#), [Barnes 2008](#).

La propagación ulterior de los plasmodios mutantes resistentes se ve facilitada por el uso generalizado de medicamentos con fases de eliminación largas. Estos proporcionan un “filtro selectivo”, permitiendo la infección por parásitos resistentes mientras la actividad antimalárica residual impide la infección por parásitos susceptibles. Los medicamentos de

eliminación lenta, como la mefloquina (semivida de eliminación terminal $[T_{1/2\beta}]$ de 2 a 3 semanas) o la cloroquina ($T_{1/2\beta}$ de 1 a 2 meses), permanecen en la sangre y proporcionan un filtro selectivo durante meses después de haber cesado la administración del medicamento. [OPS 2011](#).

Los fenómenos genéticos que confieren resistencia a los antimaláricos (manteniendo al mismo tiempo la viabilidad de los parásitos) son espontáneos y raros. Se cree que son independientes del medicamento. Los mecanismos de resistencia descritos son mutaciones en genes o cambios en el número de copias de genes relacionados con los medicamentos diana o bombas que afectan a las concentraciones intraparasitarias del medicamento. Un único evento genético puede ser todo lo que se requiera, o pueden ser necesarios sucesos múltiples no vinculados (epistasis). Los parásitos de la especie *P. falciparum* de Asia Sudoriental parecen tener constitucionalmente mayor propensión a desarrollar farmacorresistencia. [OPS 2011](#), [White 2004](#).

En las zonas de baja transmisión la mayoría de las infecciones palúdicas son sintomáticas con gran cantidad de parásitos circulantes, los que encuentran generalmente antimaláricos en concentraciones máximamente eficaces.

En las zonas de transmisión alta la mayoría de las infecciones son asintomáticas y las infecciones se contraen repetidamente a lo largo de la vida. En los primeros años de vida la malaria es sintomática y a veces mortal, pero posteriormente resulta cada vez más probable que sea asintomática. Esto refleja un estado de inmunidad imperfecta (pre munición) cuya infección está controlada, generalmente en niveles inferiores a los que causan síntomas. La tasa de adquisición de pre munición depende de la intensidad de transmisión. En lugares de transmisión intensa de malaria, las personas todavía reciben tratamientos antimaláricos a lo largo de su vida (a menudo inapropiadamente para otras infecciones febriles); pero gran parte de estos “tratamientos” no están relacionados con picos máximos de parasitemia, lo que reduce la probabilidad de selección de resistencia. [OPS 2011](#).

Mientras en las zonas de baja transmisión

En resumen, los factores que determinan la probabilidad de selección de resistencia *novo* a los antimaláricos son:

- 1) La proporción de todas las infecciones transmisibles expuestas al medicamento (presión de selección);
- 2) La frecuencia intrínseca con la cual ocurren los cambios genéticos

- 3) El costo de la aptitud del parásito asociado con el mecanismo de resistencia
- 4) El número de parásitos en el huésped humano que están expuestos a la droga
- 5) Las concentraciones de la droga a la que estos parásitos están expuestos (es decir, las dosis utilizadas y propiedades farmacocinéticas del fármaco antimalárico o drogas)
- 6) Las propiedades farmacodinámicas de los fármacos antipalúdicos
- 7) El grado de resistencia (el cambio en la relación concentración-efecto) que resulta de los cambios genéticos
- 8) El nivel de defensa del huésped (inmunidad inespecífica y específica)
- 9) La presencia simultánea en la sangre de otros antimaláricos o sustancias a las cuales el parásito no es resistente. [White 2004](#), [OPS 2011](#)

Y dentro de las principales causas de sub dosificación a nivel mundial tenemos la automedicación incorrecta, posología incorrecta, disponibilidad de medicamentos no controlados y uso de medicamentos de mala calidad adquiridos en tiendas o mercados no oficiales y administración incorrecta en el hogar. La infección aguda es la principal fuente de selección de resistencia de *novo*. [OPS 2011](#), [White 2004](#).

Los medicamentos de calidad garantizada, la prescripción correcta, envasados y las formas farmacéuticas óptimas, desempeñan la función central para prevenir la aparición de resistencia a los antimaláricos. [OPS 2011](#), [White 2004](#).

Distribución mundial de la resistencia

Resistencia a los medicamentos contra la malaria tiene implicaciones importantes para el control de la malaria y la salud pública mundial. Históricamente, la aparición de la cloroquina resistencia en los años 1970 y 1980. En el África la resistencia a la cloroquina fue asociada con el aumento de los ingresos hospitalarios y la mortalidad a nivel comunitario. La resistencia a los antimaláricos también fue asociada con un mayor riesgo de anemia y baja peso al nacer, y con epidemias de malaria y el aumento de la transmisión.

Mientras que los costos económicos son difíciles de cuantificar, el desarrollo y la propagación de la resistencia a los medicamentos antipalúdicos tienen significativamente aumento del costo global del control de la malaria en el tiempo, dado que los nuevos

medicamentos deben desarrollarse continuamente para reemplazar los actuales antimaláricos. Además, los pacientes para los que el tratamiento ha fracasado requieren repetidas consultas a los centros de salud para su diagnóstico y tratamiento, lo que resulta días de trabajo perdidos, ausencias escolares, y el aumento de los costos para el sistema de salud. [WHO b 2015](#).

La CQ ha sido la terapia de primera línea para la malaria por *P. vivax* y *P. falciparum* desde 1946 [Loeb et al 1946](#), [Most et al 1946](#), *Plasmodium falciparum* ha desarrollado resistencia a CQ en la década de 1950 [Wellens et al 2001](#), y en la actualidad se ha expandido por todo el mundo [Price et al 2001](#)., con excepción de centro américa y el caribe.

La primera descripción de la resistencia a la CQ en las infecciones por *P. vivax* fue registrada en Papua Nueva Guinea en 1989 [Schuurkamp et al.1992](#), en la misma Isla años después se registra la tasa más alta de [Sumawinata et al 2003](#) y [Baird et al. 1995](#). En América Latina los primeros casos de la resistencia a CQ en las infecciones por *P. vivax* fueron reportados en Guyana en 1996, [Phillips et al.1996](#).

Desde entonces los casos de fracaso terapéutico (TF) se han descrito en diferentes zonas del continente. Sin embargo, confirmada resistencia con la evaluación de los niveles séricos de CQ y su principal metabolito desetil cloroquina (CQ), fue reportada por [Ruebush et al. 2003](#) quienes confirmaron resistencia a CQ en las infecciones por *P. vivax* en 2 de 177 pacientes en la zona amazónica del Perú. [Santana Filho \(Carta al Editor 2007\)](#) informó parasitemia por encima del MEC de la droga en 11 de 109 pacientes en la zona amazónica de Brasil, aunque no se determinaron las concentraciones DCQ, [Márquez et al 2013](#) describieron la resistencia en 7 de cada 135 pacientes tratados con CQ + PQ en la misma región amazonia de Brasil.

En Bolivia la evaluación de la eficacia terapéutica de la CQ fue realizada en dos oportunidades anteriores; una en el 2003 en el municipio de Riberalta, reportando 15 % (9/57 casos) de la TF, lamentablemente no se han medido los niveles séricos de cloroquina, [Martínez et al. 2009](#). Otro estudio fue realizado en el año 2007 en los municipios de Riberalta, Guayaramerín y Yacuiba con una tasa de FT 6% (5/81); 10% (8/79) y 0%, (0/57) respectivamente, aunque los valores de CQ en sangre del día 7 del seguimiento demostraron que la MEC era la adecuada, los niveles sanguíneos CQ en el día 28 de la evaluación fueron menos de 100 ng / ml. [Añez et al](#), no pudiendo descartarse ni aceptarse resistencia.

Dentro de la política nacional de terapéutica malárica, debería iniciarse un cambio en los antimaláricos recomendados, si la falla terapéutica la causa una proporción total igual o mayor del 10% identificada mediante estudios en vivo de monitoreo de la eficacia terapéutica. La elección de un antimalárico nuevo o alternativo para utilizar a nivel de la salud pública dentro del contexto de las directrices nacionales de tratamiento, debe basarse en una tasa de cura promedio > 95%, evaluada mediante ensayos clínicos. [WHO 2015](#).

Sin embargo, se puede considerar otros factores, por ejemplo, la prevalencia y la distribución geográfica de los fracasos terapéuticos notificados; la insatisfacción de los proveedores de servicios de salud de los pacientes con el tratamiento; el contexto político y económico; y la disponibilidad e opciones asequibles al tratamiento generalmente ñutilizado. [OPS 2011](#) para saltarse esta regla.

Esquema de tratamiento de la malaria en Bolivia.

En Sud América todos los países han implementado tratamientos combinado con derivados del Artemisinina (TCA), para la terapia de malaria por *P. falciparum* y cloroquina + primaquina para la malaria por *P. vivax*.

En Bolivia se utiliza cloroquina + primaquina (CQ 25 mg/kg/3d y PQ 3.5 mg/kg/7d) como tratamiento de primera línea para el tratamiento de malaria por *P. vivax* desde principios de los 60, el cual se ha administrado a través de tablas por grupo etario a todos los pacientes mayores de un año con excepción de mujeres embarazadas a quienes se les administra solamente la cloroquina hasta el final del embarazo. (Ver figura 5).

El tratamiento es gratuito y esta prohibida la venta de estas como de otras drogas antimaláricas, con excepción de la cloroquina, la cual es expendida bajo receta médica para uso exclusivo de enfermedades reumatoideas. [WHO 2015](#).

Ver figura 5

Esquema de tratamiento de la malaria por *P. vivax* en Bolivia

TRATAMIENTO DE LA MALARIA POR <i>Plasmodium vivax</i>						
Dosis terapéutica CLOROQUINA Y PRIMAQUINA						
1 Cloroquina Fosfato : 10 mg/Kg peso /cada día los 2 primeros días y 5 mg/kg peso/día el 3er día (dosis total : 25 mg/kg peso)						
2 Primaquina : 0,5 mg/Kg peso/cada día por 7 días (dosis total : 3,5 mg/Kg peso)						
Edad	Rangos de Peso (Kg) ¹	NÚMERO DE TABLETAS POR DÍA				
		CLOROQUINA ⊕			PRIMAQUINA ⊕	
		Tabletas de 250 (150 mg base)			Tab. 5 mg	Tab. 15 mg
		1 ^{er} Día	2 ^{do} Día	3 ^{er} Día	1 ^{er} al 7 ^{mo} Día	
RN- 2 meses	3,3 - 6	1/4	1/4	1/4	No administrar	
3-5 meses	6,1 - 7,5	1/2	1/2	1/4	No administrar	
6-12 meses	7,6 - 10	1/2	1/2	1/4	1	1/4
2-3 años	11 - 14	1	1	1/2	1 1/2	1/2
4-5 años	15 - 18	1	1	1/2	2	1/2
6-7 años	19- 23	1 1/2	1 1/2	1	2	3/4
8-10 años	24 - 33	2	2	1	3	1
11-12 años	34 - 42	3	3	1 1/2	4	1 1/2
13-14 años	43-54	3	3	1 1/2	5	1 1/2
≥ 15 años	55 - ≥ 60	4	4	2	6	2
Se deberá usar la primaquina según la presentación con la que se disponga de 5 ó 15 mg de acuerdo como se indica en las columnas de primaquina.						

Fuente: Cartilla de tratamiento de la malaria en Bolivia 2011

Farmacocinética y Farmacodinámica de la Cloroquina

El primer tratamiento de seres humanos con CQ ocurrió en 1936 en cuatro pacientes con sífilis en Dusseldorf, Alemania, con diagnóstico de *P. vivax* [Coatney et al 1963](#). Ha sido considerada en un principio demasiado tóxica para uso humano, de esta manera la droga ha sido ignorada durante una década.

Durante la Segunda Guerra Mundial, el gobierno de los Estados Unidos patrocinó una serie de ensayos clínicos que demostraron más allá de toda duda el valor terapéutico del fármaco [Loed et al 1946](#).

La nomenclatura temprana de CQ fue denominada SN-7618 y "Resochin," identificadores utilizados por los desarrolladores de Estados Unidos y Alemania, respectivamente. El nombre CQ fue registrado formalmente en los Estados Unidos en marzo de 1946. Un mes

más tarde [Loeb et al.1946](#) publicaron el artículo seminal sobre la actividad de CQ contra *falciparum* y *vivax*.

Desde 1946 se ha recomendada a una dosis de 1,5 g de base por 48 horas para el tratamiento de malaria por *falciparum* o *vivax* no complicado y 0,3 g de la base semanal para la profilaxis. [Most et al 1946](#).

La OMS recomienda unas dosis de 25 mg/kg/peso dividido en tres dosis diarias, (1,5 g en pacientes con 60 kg) independientemente de la edad, desde ese entonces. [WHO 2015](#). No se hizo ensayos en niños.

Farmacocinética

Después de una dosis oral, la biodisponibilidad de la cloroquina es del 89%, aunque existe una considerable variación interindividual. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a la 1-2 horas. La cloroquina se distribuye ampliamente por todos los órganos y tejidos del cuerpo, encontrándose las concentraciones más altas en el hígado, riñones, bazo, pulmones, corazón y cerebro. Las células que contienen melanina en los ojos y en piel fijan fuertemente la cloroquina. El fármaco también se concentra en los eritrocitos y se fija a las plaquetas y granulocitos. La cloroquina atraviesa la placenta y se excreta en la leche materna. Se une en un 50-65% a las proteínas del plasma.

La cloroquina es parcialmente metabolizada en el hígado: el metabolito más importante, la desetil-cloroquina tiene una ligera actividad antiplasmodio. Aproximadamente el 70% de la dosis se excreta como cloroquina si alterar.

La cloroquina se elimina lentamente en la orina, si bien esta eliminación puede ser acelerada si se hace la orina ácida. Se han detectado pequeñas cantidades de cloroquina en la orine meses o incluso años después de un tratamiento. La eliminación de la cloroquina sigue un modelo bifásico, siendo la semi-vida terminal del orden de 1 a 2 meses. La fracción de fármaco que no se absorbe se elimina en las heces [Kearns et al 2003](#), [Strolin et al 2003](#).

Mecanismo de acción: el mecanismo de acción de la cloroquina y de otras 4aminoquinolonas no es bien conocido. Se sabe que la cloroquina se concentra en los plasmodios alojados en los eritrocitos y se cree que se acumula en las vacuolas digestivas del parásito, aumentando el pH y acelerando el metabolismo de los fosfolípidos. Las formas intraeritrocíticas de los plasmodium son afectadas por la cloroquina, mientras que no lo son

las formas extraeritrocíticas y, por este motivo, el tratamiento de la malaria producida por el *P. vivax* o el *P. ovale* requiere de la adición del fosfato de primaquina debido a que esta cepa tiene forma extraeritrocítica.

Dosis de medicamentos en los niños

Los lactantes y los niños experimentan muchos cambios fisiológicos a lo largo de su desarrollo, la composición corporal como el agua corporal extracelular y corporal total, la distribución de grasa y masa muscular, sufren modificaciones importantes, es así que la absorción, distribución, metabolismo y/o la excreción de un fármaco es diferente en distintas edades, las concentraciones plasmáticas del compuesto original y de sus metabolitos, son diferentes en la población pediátrica y en adultos, y a veces incluso más diferentes entre los cinco grupos de edad de la población pediátrica. [Strolin Benedetti et al. 2003](#). [Kearns et al 2000, 2003](#).

La disposición del fármaco depende de manera crítica de las propiedades fisicoquímicas características de la droga en sí, junto con una serie de factores fisiológicos. En neonatos, lactantes y niños, esos factores fisiológicos influyen en la disposición de fármacos (y renal la función hepática, la tasa metabólica) y cambian rápidamente durante el periodo de crecimiento [Crom et al, 1987](#); [McLeod et al, 1992](#). Estos están acompañados por los cambios significativos relacionados con la edad en la composición corporal (Agua corporal total y extracelular, la distribución de grasa, magra corporal masa) [Friis-Hansen, 1961](#). Esta amplia variación en la exposición sistémica puede tener un efecto significativo sobre la respuesta de la enfermedad y la toxicidad del fármaco. [Evans et al, 1998](#).

Como las funciones fisiológicas varían en los primeros 15 años de vida, se ha demostrado que el área de superficie corporal se relaciona mejor con las funciones fisiológicas; gasto cardíaco, volumen de distribución, compartimientos hídricos, filtración glomerular. Así pues, parece lógico expresar la dosis habitual en función del ASC [Peiré 2008](#), [Kearns et al 2003](#).

Aunque la dosificación según el peso, resulta más cómoda, esta no tiene en cuenta la proporción entre diversos tejidos (grasa, agua, masa corporal) de los niños, así como los diferentes estadios de maduración de las funciones principales del organismo, y las diferencias cuantitativas de los volúmenes de distribución y el efecto de la masa hepática (el peso del hígado en el niño, es, proporción a su peso total, más grande que la del adulto), A diferencia, el ASC se relaciona mejor con las funciones del cuerpo: gasto cardíaco, volumen

de distribución, compartimentos hídricos, filtración glomerular, etc. [Peiré 2008](#). La determinación de ASC es un paso necesario para la toma de decisiones sobre muchos planes de tratamientos críticos. [Peiré MA 2008](#), [Strolin et al 2003](#).

Hay un gran número de publicaciones que describe fórmulas y / o nomogramas para estimar la ASC del paciente y la altura peso (DuBois y DuBois, 1916; Boyd, 1935; y Sendroy Cechini, 1952; Haycock y Schwarz, 1978; George y Gehan, 1979; Mosteller, 1987). Sin embargo, las fórmulas Mosteller y de Boyd y son más precisas para la estimación del ASC que otras fórmulas. [Sharkey et al 2001](#). [Orimadegun et al 2014](#).

Una vez conocida el ASC, la dosis del niño se puede calcular a partir de la dosis del adulto, por una regla de tres simples considerandos que el ASC promedio del adulto es de 1,73m², aunque este método no es perfecto, es el que se utiliza en la práctica. [Peiré 2008](#), [kearms et al 2003](#).

Por otro lado, la falta de formas farmacéuticas pediátricas de la mayoría de los antimaláricos hace necesario dividir los comprimidos formulados para adultos; esto conduce a una dosificación inexacta. Existen ahora formulaciones farmacéuticas pediátricas de algunos medicamentos antimaláricos (Tratamientos Combinados con la Artemisinina) y comprimidos con dosis pediátricas. [WHO 2015](#). En la práctica la presentación pediátrica de la Cloroquina es difícil de encontrarla.

La dosificación inexacta conduce a concentraciones subóptimas o bajas de la CQ en la sangre lo que aumenta el riesgo de insuficiencia terapéutica y la aparición y propagación de cepas resistentes de Plasmodium [Mockenhaupt et al. 2000](#), [Hellgren et al 1994](#), [WHO.2001](#). [Gbotosho et al 2009](#), [Barnes et al 2008](#).

Ensayos clínicos con medicamentos pediátricos:

Es un requisito de la FDA (Food and Drug Administration USA) que los fabricantes evalúen la seguridad y eficacia de nuevos fármacos, así como productos biológicos (tales como antitoxinas, vacunas o derivados sanguíneos) en niños.

El programa de exclusividad pediátrica, puede requerir estudios sobre el uso de medicamentos en niños, si antes se ha probado en adulto, si es probable que se utilicen en "un número sustancial de pacientes pediátricos," si se proporcionaría un " beneficio terapéutico significativo ", o si la falta de etiquetado podría ser un riesgo sustancial para los niños.

La agencia también puede requerir una nueva formulación si es necesario para los pacientes pediátricos en un grupo de edad en el que se use la droga. También puede otorgar una exención - por ejemplo, si el medicamento es considerado inseguro para los niños, si no puede ser formulado para los niños después de un esfuerzo de buena fe, o si la enfermedad que se trata no existe en niños. La agencia no puede solicitar a un fabricante llevar a cabo un estudio pediátrico para indicaciones no aprobadas. En algunas circunstancias, la FDA puede exigir a las empresas obtener datos sobre el uso pediátrico de medicamentos y productos biológicos que ya están en el mercado, pero aún necesitan autorización. La regla sigue en vigor indefinidamente, hasta que el congreso lo decida. [Steinbrook 2002](#).

Por lo anterior antes mencionado, en el extracto del reglamento de la FDA sobre ensayos de drogas en niños, a pesar de que existen criterios de importancia en la evaluación y en el desarrollo de nuevas drogas en niños, se menciona la exención de ensayos en niños a ciertas drogas como el caso de la Cloroquina, la cual es de uso frecuente en niños de todas las edades que se desconoce su dosificación específica.

METODOLOGIA

EVALUACION DE LA CLOROQUINA IN VIVO PARA EL TRATAMIENTO DE LA MALARIA POR *P. vivax*

La metodología empleada para la evaluación de la eficacia de la Cloroquina en el tratamiento de la malaria por *P. vivax*, siguió las recomendaciones del protocolo genérico de la OMS para el desarrollo de la eficacia de los antimaláricos [WHO 2009](#).

A) Reclutamiento, tratamiento y diagnóstico

Fue administrado CQ (tabletas de 150 mg base) por vía oral en la siguiente dosis: 25 mg base/kg de peso corporal, dividido en dosis diarias durante 3 días (10 mg/kg el primer y segundo día y 5 mg/kg el tercer día), siguiendo el esquema establecido por el programa nacional de la malaria.

Se incluyeron en el estudio pacientes mayores de 5 años diagnosticados con mono parasitemia por *P. vivax*, con una densidad parasitaria de formas asexuadas entre 250 y 100.000 parásitos/ μ l de sangre y con temperatura $>37,5$ °C o en su defecto, con antecedentes de alza térmica en las últimas 48 horas.

Fueron excluidos del estudio, mujeres con embarazo confirmado mediante pruebas rápidas de embarazo (detección de Gonadotropina Coriónica Humana en orina), pacientes con signos y síntomas de malaria grave, con historia de alergia a medicamentos antimaláricos, otras enfermedades severas o crónicas (enfermedades cardíacas, renales, hepáticas, VIH/SIDA, tuberculosis, desnutrición severa, psoriasis), historia de ingesta previa de antimaláricos conocidos y otros medicamentos que tienen interacción con la cloroquina (ciclosporina, penicilina, colestiramina metrotexato, cimetidina, etc.) y temperatura axilar 39.5°C que no mejora luego de dos horas de recibir paracetamol.

Todas las dosis de CQ se administraron bajo la supervisión del personal de la investigación. Los pacientes fueron observados durante 30 minutos después del tratamiento para ver si se presentan reacciones adversas o vómitos. Cualquier paciente que vomitó durante el tratamiento fue nuevamente tratado con la misma dosis del medicamento y se le observará por unos 30 minutos adicionales. (Síntoma de malaria grave).

El diagnóstico microscópico fue realizado según la guía práctica de diagnóstico del Programa Nacional de lucha contra la Malaria, (Gota gruesa, extendido sanguíneo con tinción Giemsa) [MSD 2010](#) y calculada la densidad parasitaria (DP) por microlitro de sangre mediante la división del número de parásitos contados multiplicado por 6.000, dividido entre 200 leucocitos contados, los resultados fueron obtenidos del promedio de dos microscopistas experimentados y en caso de una diferencia mayor a 50 % del resultado de la densidad parasitaria, el resultado final, fue promediado por el obtenido de un tercer microscopista, así también se realizó el seguimiento a la presencia de gametocitos (GM) en todos los días de la evaluación.

Los pacientes que aceptaron participar en el estudio, fueron evaluados clínica y parasitológicamente los días 3, 7, 14, 21 y 28 días después del tratamiento supervisado.

Después de los 28 días de seguimiento, todos los pacientes fueron tratados con PQ 0,5 mg/kg peso/día vía oral, durante 7 días, de acuerdo al esquema de tratamiento del programa de malaria del país. Pacientes con falla terapéutica, o pacientes a los que se les detectó malaria mixta, fueron excluidos del estudio, a los cuales se les administró tratamiento combinado con derivado de la Artemisinina (TCA), y luego primaquina 0,5 mg/Kg por 7 días previa prueba de embarazo en las mujeres en edad fértil.

b) Niveles cloroquina sangre

Se han medido los niveles de cloroquina y su metabolito principal desetilcloroquina (DCQ), en la sangre el día 7 y el día 28 del seguimiento a todos los pacientes adheridos al estudio además en cualquier momento que hubo reaparición de parasitemia, con el propósito de confirmar o descartar resistencia en los pacientes que hayan sufrido de falla terapéutica a la cloroquina, considerando que el fracaso terapéutico puede deberse a recrudescencia, reinfección o recaída.

Cuando el nivel de cloroquina más desetilcloroquina (DCQ) en la sangre fue > 100 ng/ml y presencia de parásitos de *P. vivax* en la sangre, fue catalogado como caso resistente a la cloroquina. [Baird 1997,2004, WHO 2009](#).

Las concentraciones de CQ y DCQ en la sangre se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo con la técnica estandarizada del Centro para el Control de Enfermedades en Atlanta, EE.UU. Las muestras obtenidas se mantuvieron a menos 4 ° C hasta su análisis. [Bell 2007](#).

La HPLC se realizó utilizando el Shimadzu LC-10ATVP con detector de fluorescencia AXL RF-10 bajo las siguientes condiciones cromatográficas: columna cromatográfica: Agilent Zorbax SIL, silano embalaje (correspondiente a L3 de acuerdo con USP). Detector: fluorescencia, emisión 380 nm, 320 nm de excitación, fase móvil: metanol y dietilamina (100: 0,3); fase móvil B: n-hexano, éter metil-t-butilo y dietilamina (1: 1: 0.003), el gradiente de flujo: 1,0 ml / min; volumen de inyección 7 l y la temperatura de la columna: 30 ° C.

c) Tamaño muestra

Para el cálculo del tamaño de la muestra se han seguido las recomendaciones de la guía de evaluación de la eficacia de tratamientos antimaláricos de la OMS. [WHO 2009](#).

Considerando una proporción de fracasos de *P. vivax* al tratamiento con CQ de no más de 5% en las Américas, con una población de tamaño infinito, un intervalo de confianza del 95% y un nivel precisión de 5%, se debían incluir un mínimo de 73 pacientes.

Asumiendo una tasa de abandono del 20% durante los 28 días y un 18% de pacientes que no cumplían con el tratamiento, se han adherido al estudio en total 100 pacientes.

d) seguimiento pacientes

Si un paciente cumplía con los criterios de ingreso, pasando con los controles de rutina del laboratorio el cual incluía examen de esputo, examen de orina, test de embarazo, examen de sangre, pruebas rápidas de tamizaje para sífilis y VIH (esta última siempre y cuando el paciente aceptaba, de lo contrario fue excluido del estudio), además de firmar el consentimiento/asentimiento; se les siguió bajo la siguiente metodología:

El Día 0 Examen clínico y examen gota gruesa/extendido sanguíneo en doble lámina para cuantificar la densidad parasitaria. Tratamiento: 1º dosis de la cloroquina de acuerdo dosificación establecida y a los procedimientos antes descritos.

El día 1 Tratamiento: 2º dosis de la cloroquina de acuerdo dosificación establecida y a los procedimientos antes descritos.

El Día 2 Tratamiento: 3º dosis de la cloroquina de acuerdo dosificación establecida y a los procedimientos antes descritos.

El día 3, 7, 14, 21 y 28 Monitoreo mediante exámenes clínico y parasitológico y el día 28 administración de primaquina (PQ) de acuerdo a las normas establecidas.

El Día 7, 28 y cualquier otro día donde se registren parásitos en sangre diagnosticados a través de gota gruesa/ extendido sanguíneo, muestra de sangre en

un tubo con EDTA por medio de la vena punción y se conservara a menos 4°C, hasta la determinación del nivel de CQ y DCQ en sangre a través de la Cromatografía de capa líquida de alta resolución HPLC [Bell 2007](#).

Se consideró cierta flexibilidad en el seguimiento a los pacientes; un día en el retraso o anticipación en los días 7 y 14 y dos días de retraso o anticipación en los días 21 y 28 de seguimiento.

Evaluación de la dosis pediátrica de la cloroquina **en el tratamiento de malaria por *P. vivax***

La evaluación de la dosis pediátrica de la cloroquina se ha realizado a través del análisis secundario de los datos de un ensayo clínico de la respuesta terapéutica de CQ en la infección por *P. vivax*, desarrollada inicialmente.

Adicionalmente fue calculada el área de superficie corporal utilizando la fórmula Boyd: [Boyd 1935](#)

$$\text{ASC (m}^2\text{)} = 0,0003207 \times \text{altura (cm)}^{0,3} \times \text{peso (g)}^{0,7285 - [0,0188 \times \log (\text{peso (g)})]}$$

Y la dosis requerida de CQ en mg / m² de acuerdo con BSA (dosis teórica) DT [Peiré 2008](#)

$$\text{DT} = (\text{ASC} / 1,73) \times 1500 \text{ (dosis para adultos)}$$

Estas nuevas variables se contrastaron con las concentraciones en sangre de CQ en el día 7 de seguimiento

[White 2008](#), [Pieré 2008](#), [kearms et al 2003](#).

El paquete estadístico SPSS 21 (Chicago, IL, EE.UU.) se utilizó para describir y expresar las variables estudiadas. La normalidad de las variables cuantitativas y los valores de residual de los modelos de regresión fueron evaluados utilizando un QQ-plot. Las asociaciones entre variables se analizaron mediante la comparación de medias utilizando el Chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher y ajuste de las regresiones lineales o curvilíneas. Se utilizó el análisis de Kaplan-Meier para estimar la tasa de fracaso terapéutico. Las

estimaciones se hicieron utilizando un intervalo de confianza del 95% (IC), y todos los contrastes de hipótesis fueron evaluadas con un riesgo alfa del 5%.

HIPÓTESIS

Por la prevalencia de la malaria observada en los últimos años, después de haber implementado estrategias de control y prevención de malaria en la zona amazónica de Bolivia, existe la hipótesis de que las drogas antimaláricas han disminuido su eficacia.

-HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- Por la limitada respuesta en la disminución de casos de malaria por *P. vivax* en los últimos años después de la implementación de acciones de control y prevención de la enfermedad; existe la hipótesis de que hay resistencia a la cloroquina en infecciones por *P. vivax* en la zona amazónica de Bolivia
- Por la alta tasa de fracasos terapéuticos y resistencia en niños después de la administración de 25mg/Kg/peso de cloroquina, en infecciones por *P. vivax*, existe la hipótesis de que hay un sub dosificación de la CQ en menores de 15 años.

OBJETIVOS

-OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia terapéutica del tratamiento de la malaria en Bolivia y sus factores asociados a la resistencia.

-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la eficacia terapéutica de la cloroquina utilizada en la zona amazónica de Bolivia para el tratamiento de malaria por *P. vivax*.
- Evaluar la dosis pediátrica de la cloroquina en el tratamiento de la malaria por *P. vivax* como factor asociado al fracaso terapéutico y/o resistencia de las drogas antimaláricas.

Los estudios realizados para desarrollar los objetivos específicos han generado dos artículos, dos publicados en revistas internacionales del 1er cuartil del área de Medicina Tropical y uno sometido a una revista internacional indexada:

Objetivo 1: Sometido a: Malaria Journal

Añez A, Moscoso M, Laguna Á, Garnica C, Melgar V, Cuba M, Gutiérrez S & Ascaso C. **Resistance of infection by Plasmodium vivax to chloroquine in Bolivia.** *Malar J.* 2015; 14:261

DOI 10.1186/s12936-015-0774-4

Factor de impacto: 3.11 (1er cuartil del área de Medicina Tropical).

Objetivo 2: Sometido a Malaria Journal

Añez A, Moscoso M, Garnica C, Ascaso C. **Evaluation of the paediatric dose of chloroquine in the treatment of Plasmodium vivax malaria.** *Malar J.* 2016; 15:371

DOI: 10.1186/s12936-016-1420-5

Factor de impacto 3.08 (1er cuartil del área de Medicina Tropical).

RESULTADOS

Artículo 1:

Resistencia de la cloroquina en infecciones de por *P. vivax* en Bolivia

Autores: Arletta Añez, Manuel Moscoso, Ángel Laguna, Cecilia Garnica, Viviana Melgar, Mauren Cuba, Sonia Gutierrez y Carlos Ascaso

RESUMEN

Fondo: La cloroquina (CQ) durante tres días más primaquina (PQ) durante siete días es el tratamiento de elección para infecciones por *Plasmodium vivax* en Bolivia, donde el 95% de los casos de malaria se atribuyen a esta especie.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia terapéutica de CQ en este entorno.

Métodos: Fueron incluidos pacientes de la región amazónica del norte de Bolivia, a partir de mayo hasta noviembre 2011, la eficacia terapéutica de CQ se evaluó durante un período de seguimiento de 28 días. Los pacientes con mono-infección de *P. vivax* recibieron 25 mg / Kg de peso corporal de CQ durante tres días. Las concentraciones de CQ + desetil cloroquina (DCQ) en sangre se determinaron en los días 7 y 28 de seguimiento; al final del seguimiento y en el día de fracaso del tratamiento se administró PQ.

Resultados: Cien pacientes cumplieron con los criterios de inclusión, dos se perdieron durante el seguimiento y otros dos fueron más tarde excluidos por violación del protocolo. De los 96 pacientes que completaron el seguimiento, 10 presentaron FT; uno de ellos presentó parasitemia continua hasta el día 7 de seguimiento, tres en el día 21, y seis en el día 28 del seguimiento. La media geométrica de CQ + DCQ el día 7 fue 321,7 ng / ml (rango 197-535 ng / ml). En seis pacientes con TF las concentraciones de CQ + DCQ en sangre en el día de TF fueron > 100 ng / ml. La tasa de resistencia fue del 6,5%.

Conclusión: El presente estudio demuestra resistencia a CQ al tratamiento de la malaria por *P. vivax* en la región amazónica de Bolivia. Se necesitan nuevos ensayos clínicos para establecer los tratamientos alternativos contra estos parásitos en la región de América del Sur.



Resistance of infection by *Plasmodium vivax* to chloroquine in Bolivia

Arletta Añez^{1,2*}, Manuel Moscoso³, Ángel Laguna³, Cecilia Garnica³, Viviana Melgar³, Mauren Cuba⁴, Sonia Gutierrez⁵ and Carlos Ascaso⁶

Background: Chloroquine (CQ) over three days plus primaquine (PQ) for seven days is the treatment of choice of infections by *Plasmodium vivax* in Bolivia, where 95% of the cases of malaria are attributed to this species. The aim of this study was to evaluate the therapeutic efficacy of CQ in this setting.

Methods: Patients in the Amazon region of northern Bolivia were included in the study from May to November 2011 and the therapeutic efficacy of CQ was evaluated over a 28-day follow-up period. Patients with *P. vivax* mono-infection received 25 mg/Kg body weight of CQ over three days. The concentrations of CQ + desethylchloroquine (DCQ) in blood were determined at days 7 and 28 of follow up; at follow-up and on the day of treatment failure was administered PQ.

Results: One hundred patients fulfilled the inclusion criteria, two were lost to follow up and another two were later excluded for protocol violation. Of the 96 patients who completed the follow up 10 showed TF; one presented continued parasitaemia until day 7 of follow up, three on day 21 and six on day 28 of follow up. The geometric mean of CQ + DCQ on day 7 was 321.7 ng/ml (range 197–535 ng/ml). In six patients with TF the CQ + DCQ concentrations in blood on the day of TF were >100 ng/ml. The rate of resistance was 6.5%.

Conclusion: The present study demonstrates the presence of resistance to CQ in the treatment of malaria by *P. vivax* in the Amazon region of Bolivia. New clinical trials are needed to establish alternative treatments against these parasites in this region of South America.

Keywords: Chloroquine, *Plasmodium vivax*, Bolivia, Antimalarial drugs

Background

In South America, 60% [1] of the cases of malaria are due to *Plasmodium vivax* while, in Bolivia, 93% correspond to this parasite and the remaining 7% to *Plasmodium falciparum*. In Bolivia, the first-line therapeutic schedule for infections by *P. vivax* includes 25 mg/Kg body weight of chloroquine (CQ) for three days plus 3.5 mg of primaquine (PQ) for 7 days. The first is aimed at reducing the parasitic load in young forms of the parasite and eliminating immature gametocytes while the second drug is active against the gametocytes and hypnozoites of this species [2].

The first description of resistance to CQ in infections by *P. vivax* was in Papua New Guinea in 1989 [3], with the highest rates of resistance being reported on the same island of New Guinea [4, 5]. In Latin America, the first cases of resistance to CQ in infections by *P. vivax* were reported in Guyana in 1996, with three patients maintaining parasitaemia in the presence of adequate serum levels of CQ [6]. Since then cases of therapeutic failure (TF) have been described in different areas of the continent. However, confirmed resistance according to the serum levels of CQ and its main metabolite desethylchloroquine (DCQ) has only been reported in Peru with a rate of 1.2% [7] and in Brazil with 5.2% [8].

In 2003, an in vivo evaluation of resistance to CQ was carried out in the municipality of Riberalta in Bolivia, reporting 15% (9/59 cases) of TF over a 28-day period. However, none of the cases showed serum levels of the

*Correspondence: arlettario@ gmail.com

¹Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



drug [9]. Another evaluation performed in 2007 in the same municipality showed TF of 6% (5/81), however CQ blood levels on the day of the evaluation were <100 ng/ml [10]. The present study is part of the routine monitoring of the therapeutic efficacy of anti-malarial drugs in Bolivia following the Pan-American Health Organization/World Health Organization (PHO/WHO) evaluation programme.

Methods

Study site

The study was developed in the department of Beni, in the municipality of Riberalta, in the north of the Amazonia of Bolivia where 18% of the diagnoses of malaria and 21% of the cases of malaria by *P. vivax* are reported in Bolivia [11].

Study design

The screening methods for surveillance of anti-malarial drug efficacy (MSADE) of the WHO [12] were followed. The sample size was defined as established in MSADE determined by the proportion of TF in South America and corresponding to no more than 5%, with a confidence interval of 95% and a precision of 5%. Thus, 73 patients were to be included with a maximum period of seven months. The patients were recruited and followed by multidisciplinary teams in two health care centers: La Unidad health care centre (LU) and the Cesar Moscoso health care centre (CM) in the urban area of the Riberalta, being equal distance from each other (3,000 m) The inclusion criteria were: patients greater than five years of age diagnosed with mono-infection with *P. vivax*, a parasite density of asexual forms of 250–100,000 parasites/ μ l of blood, a temperature >37.5°C or in its absence a history of a rise in temperature within the last 48 h. Microscopic diagnosis was performed according to the practical guidelines of diagnosis of the National Malaria Control Programme [13], (thick blood film, Giemsa staining) and parasite density was calculated per microlitre of blood by dividing the number of parasites counted multiplied by 6,000, divided by leucocytes counted. The results were obtained from the average of two experienced microscopists. In the case of a difference in parasitic density greater than 50%, the final result was considered by averaging the result of a third microscopist. The presence of gametocytes was also determined in this way.

The exclusion criteria were: pregnant women confirmed by rapid pregnancy diagnostic tests (detection of human chorionic gonadotropin in urine), patients with signs and symptoms of severe malaria, a history of allergy to anti-malarial drugs, concomitant presence of severe or chronic diseases such as tuberculosis or HIV/AIDS and a previous history of having received anti-malarial drugs.

The treatment consisted of the use of chloroquine phosphate (Lote FCV 002A, Macleods Pharmaceuticals Ltd, India) 25 mg/Kg body weight administered orally over 3 days: on days 0 and 1 of the study 10 mg/Kg body weight were given and on day 2, 5 mg/Kg body weight were administered under strict supervision of the investigative team. Patients vomiting within half an hour after the administration of the drug were given another treatment cycle with the same dose and patients with more than two episodes of vomiting were excluded from the study.

The patients who accepted to participate in the study were followed on days 2, 3, 7, 14, 21 and 28 after the treatment. The day of diagnosis was denominated day 0. After the 28 days of follow-up all the patients were treated with PQ 0.5 mg/Kg body weight/day administered orally during seven days. Patients with TF or those in whom mixed malaria was detected were excluded from the study. These patients were then administered artemisinin-based combination therapy (ACT) used in Bolivia for the treatment of *P. falciparum*, plus PQ 0.5 mg/Kg over 7 days.

Two milliliters of blood were obtained by venopuncture from all the patients in the study, with or without parasitaemia, on days 7 and 28 of the follow up. The concentrations of CQ and DCQ in blood were also determined by high performance liquid chromatography (HPLC) according to the standardized technique of the Center for Disease Control in Atlanta, USA in patients with TF. The samples obtained were kept at 4°C until analysis.

The HPLC was performed using the Shimadzu LC-10ATVP with RF-10 AXL fluorescence detector under the following chromatographic conditions: chromatographic column: Agilent Zorbax SIL, silane packing (corresponding to L3 according to USP). Detector: fluorescence, emission 380 nm, excitation 320 nm, mobile phase A: methanol and diethylamine (100:0.3); mobile phase B: *n*-hexane, *t*-butyl methyl ether and diethylamine (1:1:0.003), flow gradient: 1.0 ml/min; injection volume 7 μ l and column temperature: 30°C. A concentration of CQ + DCQ of 70–99 ng/ml was considered effective to eliminate all the asexual and sexual forms of *P. vivax* in blood [14] and a CQ + DCQ concentration >100 ng/ml in the presence of parasitaemia was considered to demonstrate resistance to CQ [15–17].

Statistical analysis

The Tableau® 7 (Professional edition) software was used to analyse the data of frequency and to measure the data of CQ + DCQ. The statistical package SPSS® v 20 (Chicago, IL, USA) 14 was used to compare the means and medians of the results of CQ + DCQ and associated

variables, with parametric and non-parametric models of analysis of variance. Kaplan-Meier analysis of survival and confidence intervals was analysed by the WHO programme for study the *in vivo* therapeutic efficacy [12]. All the contrasts of hypothesis were evaluated with an alpha risk of 5% and the estimations were made with a confidence interval of 95%.

Ethical aspects

The study was performed following the recommendations of the National Committee of Bioethics of Bolivia and the Ethical Committee of PAHO (PAHOERC). All patients provided informed consent to participate in the study, and in those under legal age informed consent was obtained from their legal guardians.

Results

From May to November 2011, 656 cases of malaria by *P. vivax* were reported out of a total of 5,290 cases evaluated in the urban area of Riberalta. One hundred of these patients (51 in CM and 49 in LU) were included in the study. Of the total number of cases evaluated 64% were males and 36% females, with a median age of 20 years (range 5–69 years), and 25% of whom were under the age of 15 years. Thirty-one percent (n = 31) had an axillary temperature >37°C, the geometric mean of PD on day 0 was 3,837.43 parasites/μl (range 252.35–29,987.15 parasites/μl), The geometric mean of CQ administered over the three days of treatment was 1,332.19 mg (range 375–2,250 mg). The mean haemoglobin values on day 0 in the females was 10 g/dl (range 7–14 g/dl) and 12 g/dl (range 8–16 g/dl) in males, and 75% (n = 75) had anaemia before initiating the treatment (Table 1).

Response to treatment

Of the 100 patients included in the study two were lost to follow up and another two were later excluded; one for presenting co-infection by *P. falciparum* and the other for violating the protocol. Therefore, a total of 96 patients were followed until day 28 after treatment. Of these 96 patients 59% (n = 57) eliminated the parasitaemia on day 2; 91% (n = 87) on day 3 and 99% (n = 95) on day 7 of follow up. Parasitaemia or clinical deterioration were not observed until the end of follow up in 89.6% (n = 86). Treatment failure was observed on days 7, 21 and 28 follow-up, with 1.04% (n = 1) on day 7, 3.1% (n = 3) on day 21 and 6.3% (n = 6) on day 28. The median age of the patients cured was 21 years (range 5–61 years) and that of patients with TF was 14 years (range 5–32 years), with the differences being statistically significant (P = <0.05). With the Kaplan-Meier analysis the cumulative incidence of treatment failure was 0.104 (95% CI 0.057–0.185).

Table 1 Characteristics of the patients included in the study

Characteristics	
Age	
Median age (year, range)	20 (5–69)
Number of patients <15 years of age	25% (n = 25)
Sex	
Female	36% (n = 36)
Male	64% (n = 64)
History of fever	97% (n = 97)
Axillary temperature >37°C (day 0)	31% (n = 31)
Geometric mean of parasites/μl (day 0) (CI 95%)	3,837.43 (252.35–29,987.15)
Geometric mean CQ concentration in mg at day 3 (CI 95%)	1,332.19 (375–2,250)
Mean haemoglobin value (day 0)	
Female, g/dl; range	10 (7–14)
Male, g/dl; range	12 (8–16)
No. (%) with anaemia ^a	75 (75%)

^a Haemoglobin level <12 g/dl for females and <13 g/dl for males (according to WHO criteria).

Blood concentrations of CQ + DCQ

The geometric mean CQ + DCQ value in blood of all the patients followed with and without TF (n = 96) on day 7 was 319.46 ng/ml (range 50–743 ng/ml), being 109.24 ng/ml (range 34–602 ng/ml) on day 28 of follow up (n = 92). In the patient with continued presence of parasites in blood until day 7 inclusive the CQ + DCQ values on day 7 were 535 μg/ml and the patient was excluded from the study. In the 10 patients presenting TF the geometric mean of CQ + DCQ was 321.7 ng/ml (range 197–535 ng/ml) on day 7, being 113.46 ng/ml (range 75–223 ng/ml) on the day of TF. In six patients the CQ + DCQ level on the day of TF was above the minimum elimination concentration (MEC) (100 ng/ml) (Table 2; Figure 1). Using Kaplan-Meier survival analysis, the cumulative incidence of therapeutic failure due to resistance was 0.65 (95% CI 0.029–0.139) (Table 3).

Discussion

According to the MSADE [12], the presence of parasites from day 7 to 28 of follow up at CQ + DCQ blood concentrations >100 ng/ml indicates resistance to CQ. Thus, in the Amazon region of Bolivia there is evidence of resistance to CQ in *P. vivax* infections.

The concentration of CQ-DCQ in blood on day 7 in all the patients with TF was above the MEC of the drug. In addition, the geometric mean was 321.7 ng/ml (range 197–535 ng/ml) demonstrating the CQ presented

Table 2 Results on the day of therapeutic failure (TF)

Center	Day TF	Age years	Weight (Kg)	CQ administered mg	CQ + DCQ D7 ^a	CQ + DCQ TF ^b
LU 10	7	32	62	1.500	535	
CM 02	21	17	72	1.875	351	102
CM 35	21	9	29	750	247	80
LU 07	21	7	21	525	449	83
CM 42	28	5	16	450	263	117
CM 23	28	14	56	1.500	315	183
CM 43	28	19	61	1.575	197	148
LU 12	28	14	57	1.500	431	223
LU 28	28	14	42	1.050	408	86
LU 38	28	9	27	675	199	75

Concentrations of CQ + DCQ on day 7 and on the day of TF.

^a CQ + DCQ D7 chloroquine + desethylchloroquine on day 7 of follow up.

^b CQ + DCQ TF chloroquine + desethylchloroquine on the day of therapeutic failure.

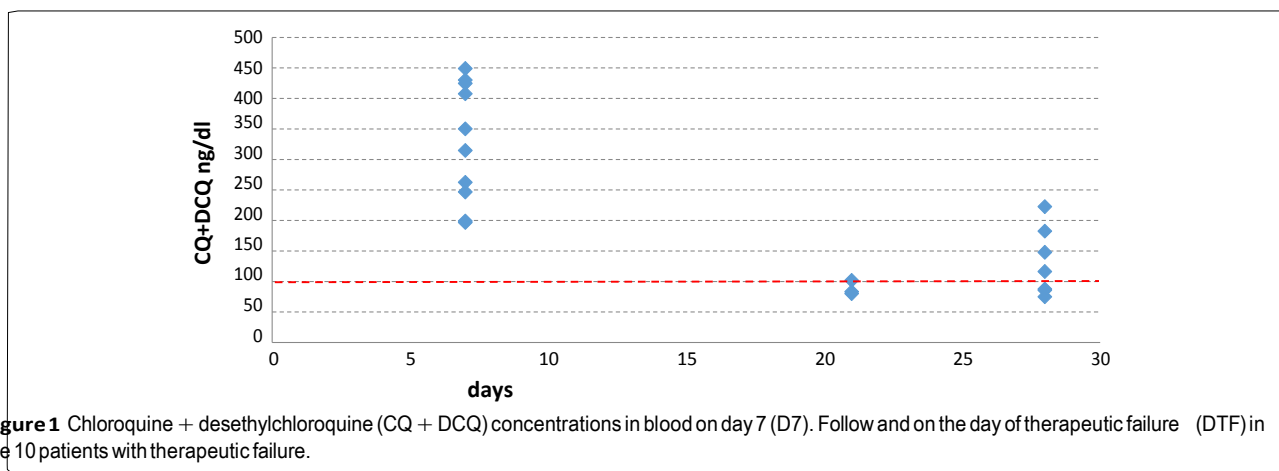


Figure 1 Chloroquine + desethylchloroquine (CQ + DCQ) concentrations in blood on day 7 (D7). Follow and on the day of therapeutic failure (DTF) in the 10 patients with therapeutic failure.

Table 3 Estimation of cumulative incidence (risk) of current parasitaemia after chloroquine therapy and malaria by *P. vivax* adjusted for the concentration of chloroquine + desethylchloroquine (CQ + DCQ) in blood on the day of therapeutic failure (TF)

Day	Number of patients	TF/CQ + DCQ >100 ng/dl	Censored	Failure cumulative incidence
0	96	0	0	0
2	96	0	3	0
3	93	0	0	0
7	93	1	1	0.01
14	91	0	0	0.01
21	91	1	0	0.022
28	90	4	0	0.065
Total	86	6	4	(95% CI 0.029–0.139)

adequate absorption through the intestinal tract [18]. In Kaplan-Meier survival analysis, the cumulative incidence of therapeutic failure due to resistance was 0.65 (95% CI 0.029–0.139). 6 of the 10 patients with TF it was observed that the CQ + DCQ levels on the day of TF were >100 ng/ml using

Ruebsh et al. confirmed resistance to CQ in infections by *P. vivax* with the levels of the drug in blood, describing resistance in two out of 177 patients in the Amazon region of Peru [7]. Santana Filho reported parasitaemia above the MEC of the drug in 11 out of 109 patients in the Amazon region of Brazil, although DCQ concentrations were not determined [19]. In addition, Marquez et al. described resistance in seven out of 135 patients receiving CQ + PQ in the same Amazon region of Brazil [8].

According to the recommendations of the WHO, a change in the treatment schedule should be considered in cases of proven resistance >10% [2]. The rate of resistance to CQ in Latin America is rising [20] and treatment alternatives should be investigated to achieve better control against malaria in this region. At present combined treatments with ACT are recommended for infections by *P. falciparum* because of their demonstrated rapid effectiveness in eliminating the parasitic load and achieving complete cure of the disease [2]. This is the alternative treatment which should be implemented in the treatment of malaria by *P. vivax*. Several clinical trials have demonstrated the efficacy of the ACT in the treatment of malaria *P. vivax*, with dihydroartemisinin-piperazine being the ACT most frequently studied [21]. Taking into account the low prevalence of glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency in the Amazon region of South America [22], the chosen ACT could be combined with PQ [23, 24], with the aim of preventing a recurrence of parasitaemia due to circulating hypnozoites, however further studies are still required to use these drugs simultaneously.

Conclusions

In conclusion, 6.5% of resistance to CQ was observed in infections by *P. vivax* in the Amazon region of Bolivia. Considering the percentage of resistance found and the rate of TF with MEC of the drug in blood on the day of TF this resistance could be greater. New treatment schedules should be evaluated to guarantee the control of malaria in this region.

Abbreviations

CQ: chloroquine; DCQ: desethylchloroquine; PQ: primaquine; TF: treatment failure; ACT: artemisinin-based combination therapy; MEC: minimum effective concentration; LU: La Unidad health care centre; CM: Cesar Moscoso health care centre; PD: parasitic density; MSAD: screening methods for surveillance of anti-malarial drug efficacy.

Authors' contributions

AA designed and coordinated the study, MM, AL and CG determined CQ concentrations in blood; MC and SG performed the patient follow up, CA did the statistical analysis, AA wrote the article. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹ Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain. ² Organización Panamericana de Salud, Oficina de país Bolivia, La Paz, Bolivia. ³ Laboratorio de control de calidad de medicamentos y toxicología del Instituto Nacional de laboratorios en Salud, CONCAMYT-INLASA, La Paz, Bolivia. ⁴ Centro de Salud Rene Salazar, Gerencia de salud Riberalta-Beni, Beni, Bolivia. ⁵ Centro de Salud La Unidad, Gerencia de salud Riberalta-Beni, Beni, Bolivia. ⁶ Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona, Institut d'Investicions Biomediques, Augusto Pi i Sunyer, Barcelona, Spain.

Acknowledgements

This study received financial support from the Iniciativa Amazónica contra la Malaria/Red Amazónica de la Vigilancia de las Drogas Antimaláricas AMI/RAVREDA, supported by Ministry of Health of Bolivia, the board of the network of Riberalta and the Organización Panamericana de la Salud. We would like to thank all the patients who donated blood for the study as well as Mrs. Maritza Morales Technician, Angelo Roca, Fátima Tuno, Zulma Queteguani, Mrs. Sulfia, Paola Langui and Francisco Ramos, Jorge Castillo, and Dr. Jorge Cuba for their help in patient adherence to the study.

Compliance with ethical guidelines Competing

interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 19 February 2015 Accepted: 13 June 2015

Published online: 01 July 2015

References

- WHO (2012) World Malaria report 2012. World Health Organization, Geneva
- PAHO (2011) Directrices para el tratamiento de la malaria. 2da ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington DC
- Schuurkamp GJ, Spicer PE, Kereu RK, Bulungol PK, Rieckmann KH (1992) Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* in Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 86:121–122
- Sumawinata IW, Bernadeta, Leksana B, Sutarnardja A, Purnomo, Subianto B et al (2003) Very high risk of therapeutic failure with chloroquine for uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria in Indonesian Papua. *Am J Trop Med Hyg* 68:416–420
- Baird JK, Basri H, Subianto B, Fryauff DJ, McElroy PD, Leksana B et al (1995) Treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* with chloroquine and primaquine or halofantrine. *J Infect Dis* 171:1678–1682
- Phillips EJ, Keystone JS, Kain KC (1996) Failure of combined chloroquine and high dose primaquine therapy for *Plasmodium vivax* malaria acquired in Guyana, South America. *Clin Infect Dis* 23:1171–1173
- Ruebush TK, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, Pillai DR et al (2003) Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 69:548–552
- Marques MM, Costa MR, Santana Filho FS, Vieira JL, Nascimento MT, Brasil LW et al (2013) *Plasmodium vivax* chloroquine resistance and anemia in the western Brazilian Amazon. *Antimicrob Agents Chemother* 58:342–347
- Martínez E, Yucra WO, Castro V, Figueroa RV, De la Cruz L, Téllez C et al (2009) Evaluación de la eficacia de la cloroquina para el tratamiento de la malaria por *Plasmodium vivax* en Yacuiba, Tarija, Bolivia. *Cuad Hosp Clin* 54:27–33
- Añez A, Navarro-Costa D, Yucra O, Garnica C, Melgar V, Moscoso M et al (2012) Respuesta terapéutica de *Plasmodium vivax* a la cloroquina, en Riberalta, Guayaramerín y Yacuiba, Bolivia. *Biomédica* 32:527–535
- MSyD (2011) Situación Actual de la malaria en Bolivia. Parte Epidemiológica 2011, Ministerio de Salud y Deportes, La Paz
- WHO (2009) Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. World Health Organization, Geneva
- MSyD (2010) Guía práctica de diagnóstico de la malaria. Serie Documentos Técnicos Normativos 154, Ministerio de Salud y Deportes, La Paz

14. Baird JK (2005) Effectiveness of antimalarial drugs. *N Engl J Med* 352:1565–1577
15. Baird JK, Leksana B, Masbar S, Fryauff DJ, Sutanihardja MA, Suradi et al (1997) Diagnosis of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax*: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. *Am J Trop Med Hyg* 56:621–626
16. Baird JK (2004) Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*. *Antimicrob Agents Chemother* 11:4075–4083
17. Murphy GS, Basri H, Pumomo, Andersen EM, Bangs MJ, Mount DL et al (1993) Vivax malaria resistant to treatment and prophylaxis with chloroquine. *Lancet* 341:96–100
18. WHO (2011) Methods and techniques for assessing exposure to antimalarial drugs in clinical field studies, World Health Organization, Geneva
19. De Santana Filho FS, Lima-Arcanjo AR, Chehuan YM, Costa MR, Martinez-Espinosa FE, Vieira JL et al (2007) Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax*, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis* 13:1125–1129
20. Gonçalves LA, Cravo P, Ferreira MU (2014) Emerging *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine in South America. An overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 109:534–539
21. Sinclair D, Gogtay N, Brand F, Olliaro P (2011) Artemisinin-based combination therapy for treating uncomplicated *Plasmodium vivax* malaria. *Cochrane Database Syst Rev* 6:CD008492
22. Mezzacappa MA, Facchini FP, Pinto AC, Cassone AE, Souza DS, Bezerra MA et al (2010) Clinical and genetic risk factors for moderate hyperbilirubinemia in Brazilian newborn infants. *J Perinatology* 30:819–826
23. Wilairatana P, Silachamroon U, Krudsood S, Singhasivanon P, Treeprasertsuk S, Bussaratid V et al (1999) Efficacy of primaquine regimens for primaquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 61:973–977
24. Sutanto I, Tjahjono B, Basri H, Taylor WR, Putri FA, Meilia RA et al (2013) Randomized, open-label trial of primaquine against vivax malaria relapse in Indonesia. *Antimicrob Agents Chemother* 57:1128–1135

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at www.biomedcentral.com/submit



Artículo 2

RESUMEN

Artículo 2: Evaluación de la dosis pediátrica de la cloroquina en el tratamiento de la malaria por *Plasmodium vivax*

Autores: ArlettaAñez; Manuel Moscoso; Cecilia Garnica; Carlos Ascaso

Fondo

La cloroquina (CQ) sigue siendo el medicamento de primera línea que se utiliza en todo el mundo en el tratamiento de la malaria por *Plasmodium vivax*. La dosis recomendada por la Organización Mundial de la Salud es de 25 mg/kg, independientemente de la edad del sujeto. No obstante, la farmacocinética y la farmacodinámica de los medicamentos en los niños son diferentes de las de los adultos y pueden influir en las concentraciones del fármaco en la sangre y se convierten en factores de riesgo para el fracaso terapéutico y / orresistance a CQ.

Métodos

Este estudio es un análisis secundario de los datos de un ensayo clínico en el que los niños mayores de cinco años de edad se les administró 25 mg/kg de CQ, la concentración de CQ en sangre fue medida en el día 7 de seguimiento. Modelos de regresión y la comparación se utilizaron para evaluar y comparar la dosis CQ tomada por mg/Kg/peso, la dosis de CQ calculada en base al área de superficie corporal, los niveles de CQ en la sangre en el día 7 y la edad de la población.

Resultados

Mientras más joven es la población de estudio mayor es la diferencia entre la dosis por kg / peso corporal (dosis real) y la calculada de acuerdo con la ASC (dosis teorica) La diferencia entre las dos dosis fue -181.206 mg en los 5-9 años de edad (IC95%: -195,39; -167,02 mg) y -71,39 mg (IC95%: -118,61; -23,99 mg) en el 10-14 años de edad, concentraciones de CQ en la sangre en el día 7 difieren en pacientes mayores y menores de 15 años ($p = 0,008$). Se encontró una correlación negativa entre la dosis real y teórica (diferencia en la dosis) y la edad en años ($R^2 = 0,529$, $p = 0,001$). También se encontró una correlación negativa entre la diferencia de dosis (mg) y concentraciones de CQ en el día 7 (ng / ml) ($r = -0,337$, $p = 0,001$). En los niños menores de 15 años se encontró que tenían una mayor tasa de fracaso terapéutico de los mayores de 15 (28% vs. 4,2%, respectivamente) (Kaplan-Meier $p = 0,005$).

Conclusiones

La dosis CQ de 25 mg / kg para el tratamiento de malaria por *P. vivax*, puede ser baja en niños demostrada por la reducción en las concentraciones de CQ en la sangre en el día 7 de seguimiento. Esta sub dosificación probablemente asociado con la mayor tasa de fracaso terapéutico encontrada en niños menores de 15 años (28% vs. 4, 3%). Estos resultados sugieren la necesidad de revisar las dosis pediátricas de CQ se utilizadas actualmente.

RESEARCH

Open Access



Evaluation of the paediatric dose of chloroquine in the treatment of *Plasmodium vivax* malaria

Aretta Añez^{1*}, Manuel Moscoso², Cecilia Garnica² and Carlos Ascaso³

Abstract

Background: Chloroquine (CQ) continues to be the first-line medication used worldwide in the treatment of *Plasmodium vivax* malaria. The dose recommended by the World Health Organization is 25 mg/kg independently of the age of the subject. Nonetheless, the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs in children are different from those in adults and may influence the drug concentrations in blood and become risk factors for therapeutic failure and/o resistance to CQ.

Methods: This study is a secondary analysis of the data from a clinical trial in which children over 5 years of age were administered 25 mg/kg of CQ, and CQ concentrations in blood were measured at day 7 of follow-up. Models of regression and comparison were used to evaluate and compare the CQ dose taken per kg/body weight, the CQ dose calculated based on body surface area, CQ levels in blood on day 7 and the age of the population.

Results: The younger the study population the greater the difference between the dose per kg/body weight (real dose) and that calculated according to the BSA (theoretical dose). The difference between the two doses was -181.206 mg in the 5–9 years of age group (CI 95 % -195.39; -167.02 mg) and -71.39 mg (CI 95 % -118.61; -23.99 mg) in the 10–14-year-old group. The CQ concentrations in blood on day 7 differed in patients over and under 15 years ($p = 0.008$). A negative correlation was found between the real and theoretical dose (difference in dose) and the age in years ($R^2 = 0.529$, $p = 0.001$). A negative correlation was also found between the difference in dose (mg) and CQ concentrations on day 7 (ng/ml) ($r = -0.337$, $p = 0.001$). Children under 15 years were found to have a higher rate of therapeutic failure than those over 15 (28 vs 4.2 %, respectively) (Kaplan–Meier $p = 0.005$).

Conclusions: A CQ dose of 25 mg/kg for the treatment of *P. vivax* malaria may be too low in children as demonstrated by the reduction in CQ concentrations in blood at day 7 of follow-up. This under-dosage is probably associated with the higher rate of therapeutic failure found in children under 15 years (28 vs 4.3 %). These results suggest the need to review the paediatric doses of CQ currently used.

Keywords: Chloroquine, Paediatric doses, Chloroquine in children

Background

Vivax malaria continues to be an important health problem worldwide. It is estimated that this parasite caused 13.8 million cases throughout the world in 2015 and contributed to almost half of the cases of malaria reported outside of Africa. In South America, *Plasmodium vivax*

causes 70 % of the total number of cases of malaria [1]. Despite the progressive resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine (CQ) [2, 3], this drug continues to be the medication of choice in the treatment of malaria by *P. vivax* and special cases of malaria [4].

Recognition of the value of CQ occurred late, and this medication was not used until 1946 [5] after having been re-evaluated by the armed forces of the United States for its use against vivax malaria and later for falciparum malaria. The initial studies were carried out in military

*Correspondence: arlettarocio@gmail.com

¹ Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain

Full list of author information is available at the end of the article

personnel infected with *P. vivax* at a dose of 1.5 g during four days [6]. The dose recommended by the World Health Organization (WHO) continues to be 25 mg/kg of body weight (BW), divided into three daily doses (1.5 g in patients of 60 kg) independently of the age of the patient [7].

CQ is completely absorbed through the gastrointestinal tract and its maximum concentration is achieved 1–3 h after oral ingestion, with 60 % of the drug binding to plasma proteins [8]. After the ingestion of a single oral dose CQ concentrations in whole blood are approximately tenfold greater than those in plasma. Following absorption, CQ is distributed throughout the body and accumulates in the organs, especially the liver, lungs, spleen and kidneys [9]. The CQ distribution volume (DV) is very large (>200 l/kg), and it rapidly de-alkylates through the cytochrome P450 (CYP) enzymes into pharmacologically active desethylchloroquine (DCQ) and bisdesethylchloroquine. The mean half-life of the drug is from 35 to 40 days after ingestion [10]. The minimum effective concentration (MEC) of the drug in whole blood is 75–150 ng/ml, and, from the most conservative point of view, a CQ + DCQ concentration >100 ng/ml in the presence of parasite growth is considered as resistance [11–13].

Breastfeeding infants and children under many changes along their development in regard to the absorption, distribution, metabolism and excretion of drugs, presenting important pharmacokinetic and pharmacodynamic differences compared to adults [14, 15]. Indeed, these physiological factors may influence the availability of drugs in the organism particularly with respect to body composition as well as extracellular and total body water, fat distribution and muscle mass [16]. Therefore, it has been recommended that drugs should be administered to children according to their body surface area (BSA) [17, 18].

This wide variation in systemic exposure to drug concentrations has a significant effect on the effective drug concentrations achieved within the body. Suboptimal or low CQ concentrations in blood increase the risk of therapeutic failure and the appearance and spread of resistant strains of *Plasmodium* [19–23].

In many studies on the therapeutic efficacy of CQ the rates of therapeutic failure and drug resistance were greater in children than in adults [24–28]. However, no evidence has shown that therapeutic failure in these cases is caused by suboptimal doses of CQ.

On the other hand, the lack of acquired immunity in children affects the spread of resistance to anti-malarial drugs [29], although this seems to be more related to infants [30]. In this respect recent reports have shown that paediatric doses of anti-malarial drugs should be re-evaluated [31, 32].

The aim of this study was to evaluate whether the standard CQ dose of 25 mg/kg achieves the same CQ concentrations in blood of children and adults diagnosed with vivax malaria.

Methods

This study is a secondary analysis of the data of a clinical trial on the therapeutic response of CQ in infection by *P. vivax* [33]. The analysis was carried out from May to November 2011 in the Amazonic area of Riberalta-Bolivia, which has a medium high level of endemicity [34].

The inclusion criteria were: patients over 5 years of age diagnosed with mono parasitaemia by *P. vivax*, with a parasite density of asexual forms of 250–100,000 parasites/ μ l. The exclusion criteria were: pregnancy, signs and symptoms of severe malaria, history of allergy to anti-malarial drugs, concomitant severe or chronic diseases such as tuberculosis or HIV/AIDS, and previous treatment with other anti-malarial drugs.

All the patients were given scored tablets of CQ (Lote FCV 002A, Macleods Pharmaceuticals Ltd., India) at a dose of 25 mg/kg, divided into three daily doses: 10 mg/kg on days 1 and 2 and 5 mg/kg on day 3. Patients presenting vomiting half-an-hour after drug administration were given a new treatment cycle with the same dose, and patients with two new vomiting episodes were excluded from the study. Drug administration was strictly supervised by the study personnel, and dosing strategies based on age bands were not used.

The patients included in the study were followed over 28 days with 5 clinical and laboratory evaluations according to WHO guidelines for the assessment of therapeutic efficacy [13]. Data regarding the height, weight and BSA of all the patients were collected at admission. CQ and DCQ concentrations in whole blood were determined using high performance liquid chromatography (HPLC) at days 7 and 28 of follow-up. At day 28 of follow up all the patients were given oral primaquine (PQ) 0.5 mg/kg during 7 days according to the treatment schedule of the malaria program of Bolivia. Patients presenting therapeutic failure or found to have mixed malaria were treated with an alternative schedule and excluded from the study.

Statistical analysis

The BSA was calculated using the Boyd formula (m^2) = $0.0003207 \times \text{height (cm)}^2 \times \text{weight (g)}^{0.7285} - [0.0188 \times \log(\text{weight})]$ [35], and the dose of CQ in mg/ m^2 according to BSA was calculated using the formula $(BSA/1.73) \times 1500$ (adult dose) [17]. These variables were compared with CQ blood concentrations at day 7 of follow up [36].

Table 1 Characteristics: weight, BSA, CQ real-dose, CQ theoretical dose, and blood concentrations of CQ on day 7 of follow-up in each group

Age group (years)	Number records	Weight (kg)	BSA ^a (m ²)	CQ real dose ^b (mg)	CQ theoretical dose ^c (m ²)	CQD7 ^d (ng/ml)
5-9	10	21.15 (SD 5.02)	0.83 (SD 0.13)	536.50 (SD 120.69)	717.71 (SD 112.48)	235.47 (SD 69.92)
10-14	14	42.92 (SD 9.02)	1.33 (SD 0.18)	1085.50 (SD 231.58)	1156.80 (SD 156.32)	308.20 (SD 89.69)
15-24	36	61.42 (SD 9.48)	1.68 (SD 0.15)	1542.81 (SD 239.85)	1458.84 (SD 133.87)	342.72 (SD 165.28)
25-34	14	62.12 (SD 12.60)	1.68 (SD 0.20)	1562.29 (SD 322.06)	1460.28 (SD 174.16)	455.35 (SD 137.86)
35-44	11	71.32 (SD 12.94)	1.83 (SD 0.19)	1782.82 (SD 323.69)	1589.72 (SD 162.42)	395.02 (SD 199.02)
45-54	6	64.67 (SD 8.74)	1.74 (SD 0.13)	1604.08 (SD 238.12)	1510.06 (SD 115.54)	384.57 (SD 51.47)
55-65	4	69.75 (SD 13.60)	1.80 (SD 0.21)	1745.00 (SD 342.08)	1564.96 (SD 183.79)	391.20 (SD 94.90)

CQ chloroquine, DCQ desethylchloroquine, SD standard deviation

^a BSA in m² = body surface area calculated using the Boyd formula

$BSA (m^2) = 0.0003207 \times \text{height (cm)}^{0.3} \times \text{weight (g)}^{0.7285} - [0.0188 \times \log(\text{weight})]$

^b CQ real dose: CQ taken in mg/kg/weight

^c CQ theoretical dose: CQ dose according to: $(BSA/1.73) \times 1500$ (adult dose)

^d CQD7: CQ + DCQ on day 7 of follow-up

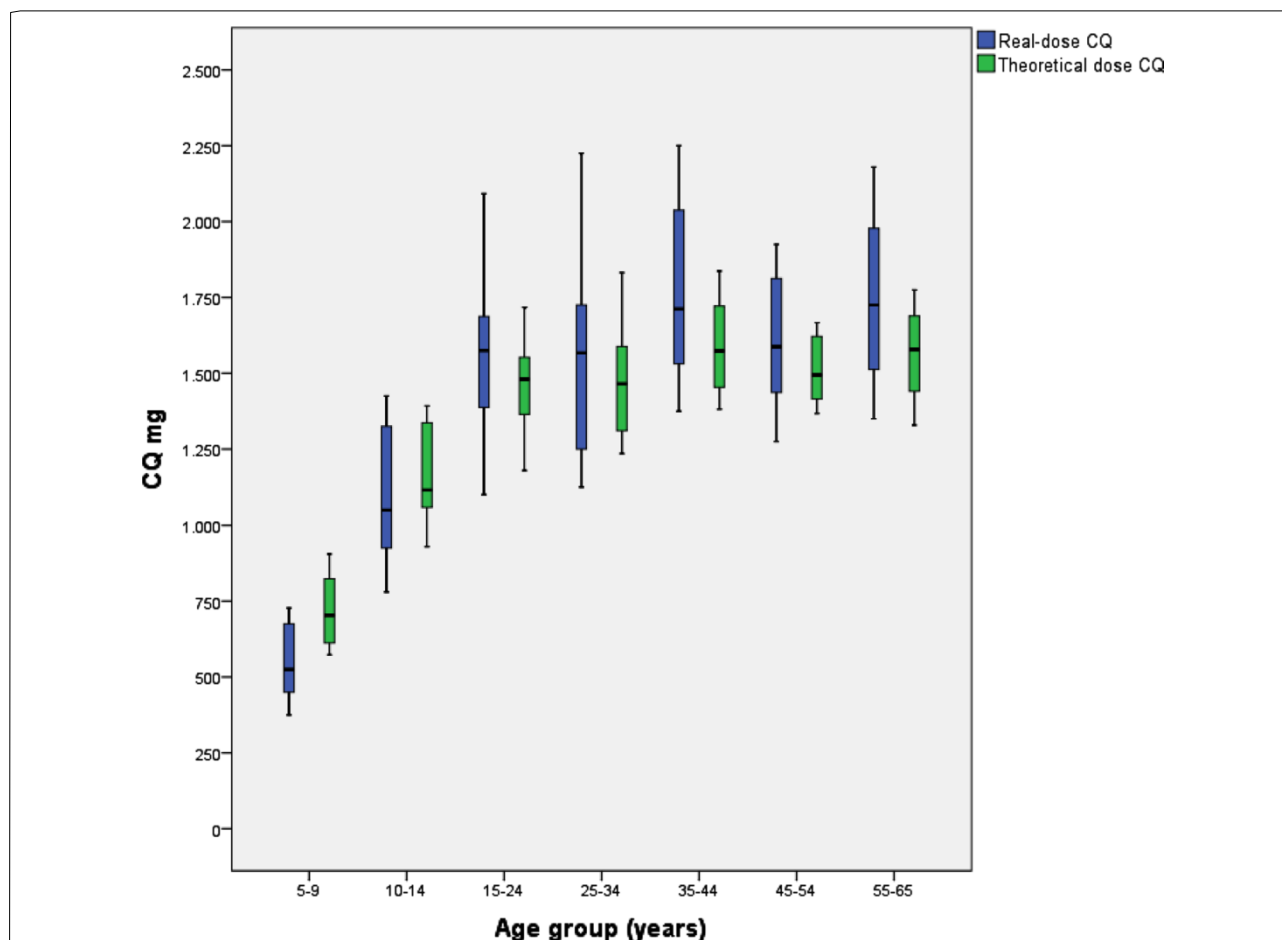


Fig. 1 Description of chloroquine (mg) taken in mg/kg (real dose) and dose calculated as mg/m² body surface area (BSA) (theoretical dose) by age group

The statistical package SPSS® 21 (Chicago, IL, USA) was used to describe and express the variables studied. The normality of the quantitative variables and the residual values of the regression models were evaluated using a QQ-plot. Associations among variables were analysed by comparison of means using the Chi square or Fisher's exact test and adjusting the linear or curvilinear regressions. Kaplan–Meier analysis was used to estimate the rate of therapeutic failure. Estimations were made using a 95 % confidence interval (CI), and all contrasts of hypothesis were evaluated with an alpha risk of 5 %.

Results

A total of 96 patients diagnosed with *P.vivax* malaria were administered CQ at 25 mg/kg and CQ + DCQ concentrations in blood were assessed at day 7 of follow up. The details of the therapeutic evaluation have been described elsewhere [33]. One patient was excluded for having atypical height and weight values.

Table 1 shows the characteristics of the patients in each group including: weight, BSA, CQ dose in mg/kg (real dose), CQ dose calculated in mg/m² of BSA (theoretical dose), and CQ + DCQ concentrations in blood on day 7 of follow up (CQD7).

Figure 1 shows the description of the real and the theoretical CQ dose (mg) by age group. Statistically significant differences were found between the two doses ($p = 0.001$). In the age groups of 5–9 and 10–14 years the real CQ dose was lower than the theoretical dose, being -181.206 mg (CI 95 % -195.39 ; -167.02 mg) and -71.30 mg (CI 95 % -118.61 ; -23.99 mg), respectively. In contrast, the real CQ dose in patients over 15 years of age was greater than the theoretical CQ dose, with the difference between the two doses being 114.91 mg (CI 95 % 82.64 ; 147.16 mg).

On analysing the variable “Difference in dose” defined as the difference between the real and theoretical dose, it was found that the younger the study population the larger the difference. Figure 2 shows a logistic model of the relationship of the difference in mg of the two doses and the age ($R^2 = 0.529$, $p = 0.001$). The difference between the two doses was negative in patients under 15 years of age and could be interpreted as under dosing of CQ compared to the theoretical dose, while the difference was equal to or positive in patients over 15 years.

Figure 3 describes the CQ concentrations on day 7 (CQD7) by age group. These concentrations were found

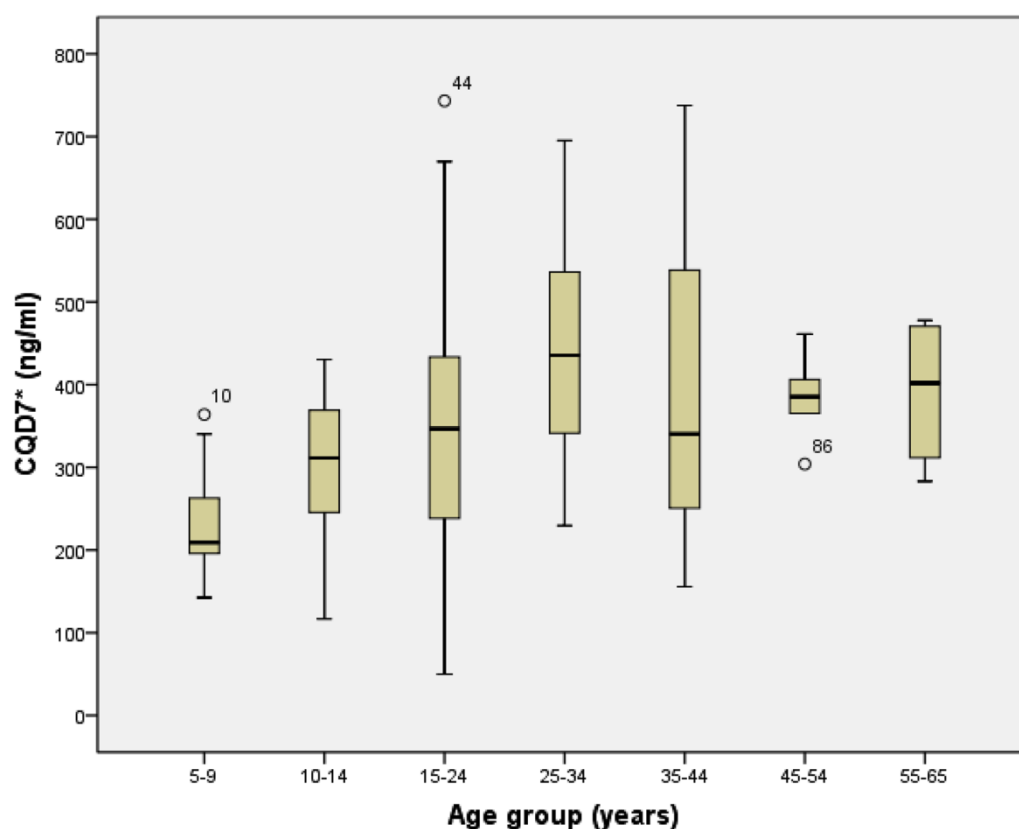


Fig. 2 CQD7 (ng/ml) description and analysis by age group. *CQD7 (ng/ml): CQ + DCQ on day 7 of follow up

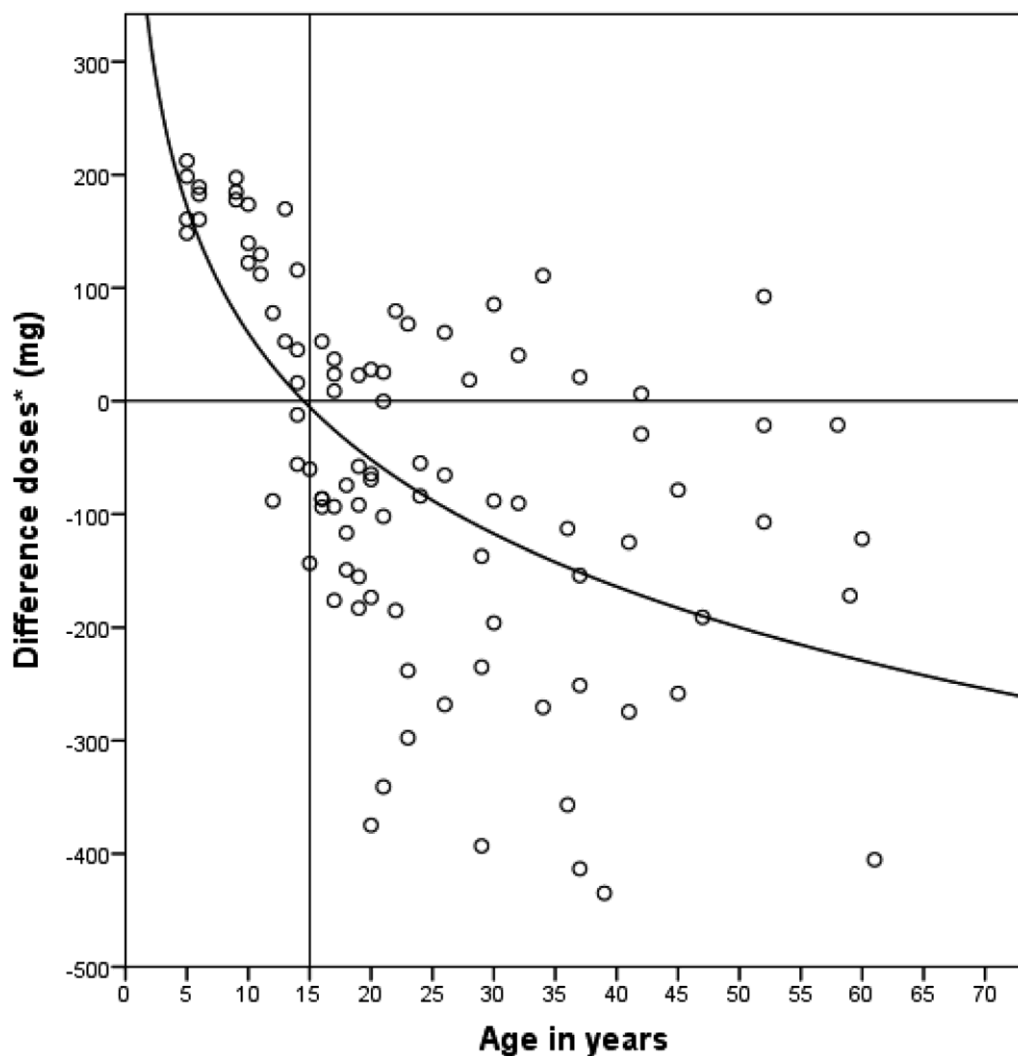


Fig. 3 Correlation between the different doses of chloroquine (mg) and patient age (years). *Difference in doses (mg): difference between dose taken in mg/kg/weight and that calculated as mg/m² of body surface area (BSA)

to be lower in children under 15 years of age compared to those over this age, with a mean difference of -101.40 ng/ml ($p = 0.008$). Indeed, the difference was even greater in the group from 5–9 years of age compared to those over the age of 15, being -143.831 ng/ml ($p = 0.033$).

In relation to the difference between the real and theoretical dose of CQ, it was observed that the lower the real dose the lower the CQD7 values and the greater the difference with the theoretical dose. That is, a negative correlation was found between the difference of the dose (mg) and the CQD7 (ng/ml) ($r = -0.337$, $p = 0.001$) (Fig. 4).

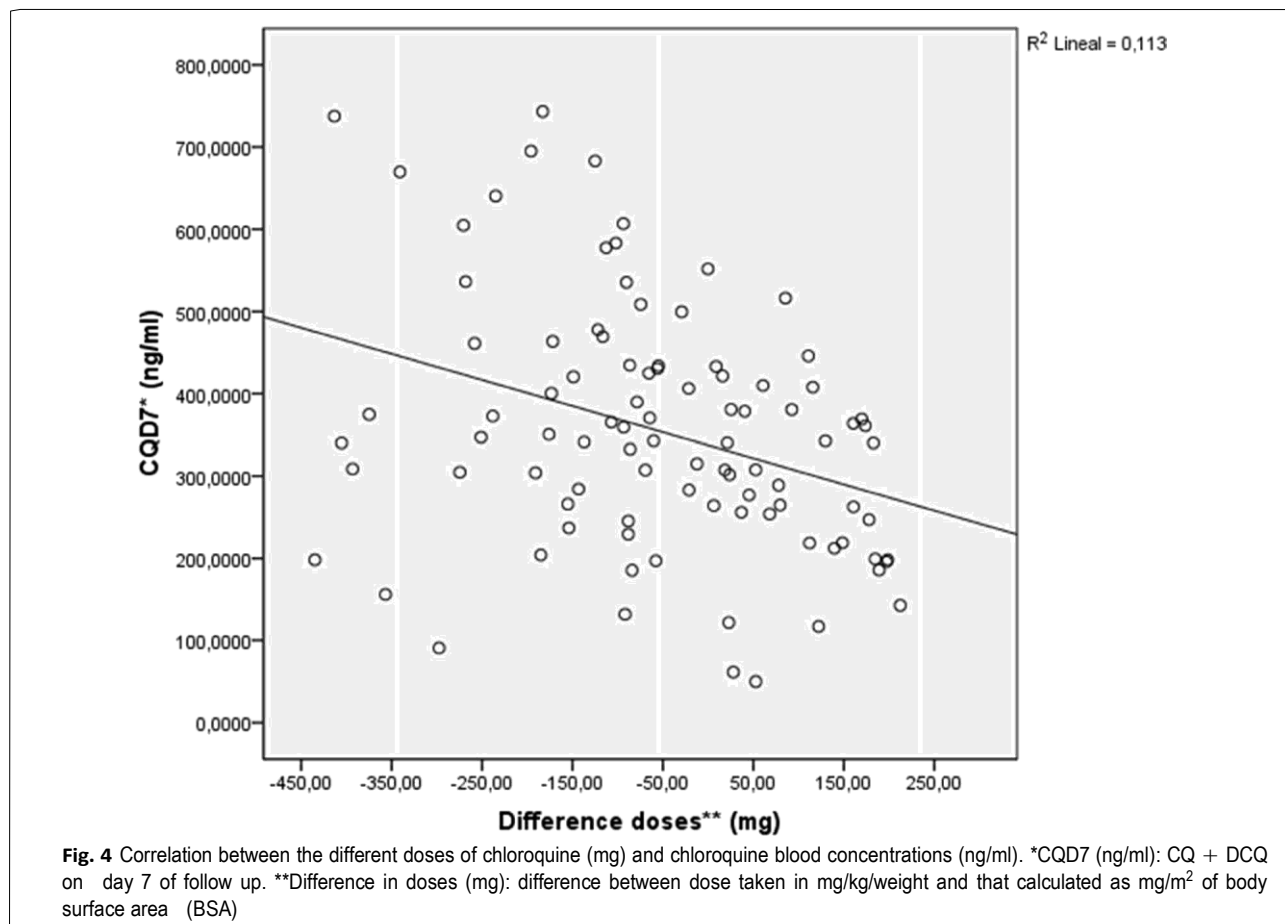
On the other hand, of the 95 patients who fulfilled the criteria of normality, nine presented therapeutic failure: 1 on day 7, 2 on day 21 and 6 on day 28 of follow

up. The mean age of the patients with therapeutic failure was 14.78 years and that of patients who were cured was 25.20 years ($p = 0.03$).

On analysing therapeutic failure in relation to age group, the rate of therapeutic failure was found to 28 % in the groups younger than 15 and 4.2 % in the group greater than or equal to 15 years of age (Kaplan–Meier $p = 0.005$).

Discussion

The real and theoretical doses of CQ are different and vary with age ($p = 0.001$). The greatest difference was found in the 5–9 year age group followed by the 10–14-year-old group. On average these groups were administered -181.20 and -71.30 mg, respectively of



CQ. To the contrary, patients over 15 years of age are prescribed more than they actually need with 114.91 mg. The relationship between the difference of the two doses and the age was adjusted in a logarithmic model and showed that the younger the age of the individual treated the lower the quantity of CQ prescribed.

With the dose of 25 mg/kg of body weight at diagnosis of *P. vivax* malaria, CQ concentrations in blood on day 7 of follow up were also lower in the youngest age group. The 5–9 years of age group was given an average of 143.831 mg/ml less than patients older than 15 years. These results are similar to those reported by Ringwald et al. [37] who suggested that this could be due to an accelerated elimination of the drug in children.

Using doses of 25 and 50 mg/kg of CQ in children under 15 years of age with *P. falciparum* malaria, Ursing et al. [32] also found that the younger the patients the lower the CQ concentrations at day 7.

Some authors have described the need to take into account that the renal and liver function, metabolic rate, total body and extracellular water, body fat distribution

and muscle mass are different in children compared to adults [14, 16, 38]. This could probably explain the differences associated with drug absorption, distribution, metabolism and excretion in children which lead to altered pharmacokinetics and may be the reason for the low CQ concentrations observed on day 7.

Previous studies using allometric scaling models have shown that the cause of the lowest CQ concentrations is probably due to under dosing [39, 40]. In this study it was also observed that the lower the age the greater the difference of the real and theoretical doses. A negative correlation was also found between the real and the theoretical dose of CQ calculated and age, and it was shown that the greater the difference in the dose the lower the CQ concentrations in blood on day 7 of follow up, suggesting under dosing of CQ in children.

The association of the low level of CQ on day 7 found in children under 15 years and the rate of therapeutic failure of 28 % in this same group versus 4.2 % in subjects over 15 years may help to interpret these results as suboptimal dosage of CQ in children under 15 years of age.

These findings suggest the need to consider adjusting the paediatric doses of CQ. Some authors recommend the dose be increased between 35 and 50 mg/kg in children in order to achieve the same CQ concentrations on day 7 of follow up as those of adults [32, 40]. Indeed, several studies have shown that doses of up to 50 mg/kg of CQ can be given to children less than 15 years of age with the same adverse effects as those of a dose of 25 mg/kg [39, 41, 42].

Conclusion

The standard dose of CQ of 25 mg/kg in the treatment of *P. vivax* malaria may be suboptimal in children under 15 years of age. This under-dosage may be related to a reduction in CQ concentrations found in blood on day 7 of follow up, with younger children showing greater reductions. Indeed, the rate of therapeutic failure in children under 15 is greater than that in patients over this age probably due to this insufficient CQ doses in these patients. Since suboptimal drug concentrations increase the risk of therapeutic failure and/or drug resistance, paediatric doses of CQ for the treatment of *P. vivax* malaria should be re-evaluated for each age group [23].

Authors' contributions

AA designed, coordinated and wrote the article. CG and MM determined the chloroquine concentrations in blood. CA performed the statistical analyses and revised the writing of the article. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹ Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain. ² Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos y Toxicología del Instituto Nacional de Laboratorios en Salud. CONCAMYT-INLASA, La Paz, Bolivia. ³ Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques, Augustò Pii Sunyer, Barcelona, Spain.

Acknowledgements

This study was developed in part thanks to support from the Laboratory of Quality Control and Medications of the Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) and the Pan-American Health Organization, Bolivia. We would like to thank Mr. Angel Laguna, Mrs. Viviana Melgar, Dra. Mauren Cuba, Dra. Sonia Gutierrez for their support in the development of the original article.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Availability of data and materials

The database may not be available, because it is owned by Pan-American Organization of Health.

Consent for publication

All patients participated voluntarily and provided signed informed consent for evaluation of the therapeutic efficacy of the drug and the use of the results in another type of evaluation. In the cases of under-age participants, informed consent was provided by their legal guardians.

Ethics approval and consent to participate

The study was performed according to the recommendations of the National Bioethics Committee of Bolivia and the Ethical Committee of the Pan-American Organization of Health (PAHOERC).

Received: 22 April 2016 Accepted: 4 July 2016

Published online: 19 July 2016

References

1. WHO. World malaria report. Geneva: World Health Organization; 2015.
2. Trape JF. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;64(Suppl 1–2):12–7.
3. Welles TE, Plowe CV. Chloroquine-resistant malaria. *J Infect Dis.* 2001;15:770–6.
4. Naing C, Aung K, Win DK, Wah MJ. Efficacy and safety of chloroquine for treatment in patients with uncomplicated *Plasmodium vivax* infections in endemic countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104:695–705.
5. Loeb F, Clark WM, Coatney GR, Coggeshall LT, Dieuaidé FR, Dochez AR, et al. Activity of a new antimalarial agent, chloroquine. *J Am Med Assoc.* 1946;130:1069–70.
6. Most H, London IM, Kane CA, Laviets PH, Schroeder EF, et al. Chloroquine for treatment of acute attacks of vivax malaria. *J Am Med Assoc.* 1946;131:963–7.
7. WHO. Guidelines of the treatment of malaria. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2015.
8. Ducharme J, Farinotti R. Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine. Focus on recent advancements. *Clin Pharmacokinet.* 1996;31:257–74.
9. Litter M. Compendio de farmacología. 4ta ed. Buenos Aires: El Ateneo; 1998. p. 794–805.
10. Browning DJ. Pharmacology of chloroquine and hydroxychloroquine 2: hydroxychloroquine and chloroquine retinopathy. New York: Springer; 1994. p. 44–8.
11. Baird JK, Leksana B, Masbar S, Fryauff DJ, Sutanihardja MA, Suradi, et al. Diagnosis of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax*: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;56:621–6.
12. Baird JK. Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;11:4075–83.
13. WHO. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. Geneva: World Health Organization; 2009.
14. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology—drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med.* 2003;349:1157–67.
15. Strolin Benedetti M, Baltés EL. Drug metabolism and disposition in children. *Fundam Clin Pharmacol.* 2003;17:281–99.
16. Friss-Hansen B. Body water compartments in children; changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics.* 1961;28:169–81.
17. Peiré MA. Situaciones Fisiológicas que modifican la respuesta II: el niño. In: *Farmacología básica y Clínica de Velázquez*. décimo octava ed. Madrid: Medica Panamericana; 2008. p. 1132.
18. Orimadegun A, Omisanjo A. Evaluation of five formulae for estimating body surface area of Nigerian Children. *Ann Med Health Sci Res.* 2014;4:889–98.
19. Mockenhaupt FP, May J, Bergqvist Y, Ademowo OG, Olumese PE, Falusi AG, et al. Concentrations of chloroquine and malaria parasites in blood in Nigerian children. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:835–9.
20. Hellgren U, Ericsson O, Kihamia CM, Rombo L. Malaria parasites and chloroquine concentrations in Tanzanian schoolchildren. *Trop Med Parasitol.* 1994;45:293–7.
21. WHO. Drug resistance in malaria. Geneva: World Health Organization; 2001.
22. Gbotosho GO, Happi CT, Ganiyu A, Ogundahunsi OA, Sowunmi A, Oduola AM. Potential contribution of prescription practices to the emergence and spread of chloroquine resistance in south-west Nigeria: caution in the use of artemisinin combination therapy. *Malar J.* 2009;8:313.
23. Barnes KI, Watkins WM, White NJ. Antimalarial dosing regimens and drug resistance. *Trends Parasitol.* 2008;24:127–34.
24. Ruebush TK, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, Pillai DR, et al. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69:548–52.
25. Ketema T, Bacha K, Birhanu T, Petros B. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Serbo town, Jimma zone, south-west Ethiopia. *Malar J.* 2009;8:177.
26. Teka H, Petros B, Yamuah L, Tesfaye G, Elhassan I, Muchohi S, et al. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Debre Zeit, Ethiopia. *Malar J.* 2008;7:22.

27. Murphy GS, Basri H, Purnomo Andersen EM, Bangs MJ, Mount DL, et al. Vivax malaria resistant to treatment and prophylaxis with chloroquine. *Lancet*. 1993;9:96–100.
28. Yeshiwondim AK, Tekle AH, Dengela DO, Yohannes AM, Teklehaimanot A. Therapeutic efficacy of chloroquine and chloroquine plus primaquine for the treatment of *Plasmodium vivax* in Ethiopia. *Acta Trop*. 2010;113:105–13.
29. Travassos Mark A, Laufer Miriam K. Resistance to antimalarial drugs: molecular, pharmacological and clinical considerations. *Pediatr Res*. 2009;65:64R–70R.
30. Djimé AA, Doumbo OK, Traore O, Guindo AB, Kayentao K, Diourte Y, et al. Clearance of drug-resistant parasites as a model for protective immunity in *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;69:558–63.
31. Siqueira AM, Coutinho LI, Gurgel RL, Su WC, Carvalho LM, Benzecry SG, et al. Slow clearance of *Plasmodium vivax* with chloroquine amongst children younger than six months of age in the Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109:540–5.
32. Ursing J, Eksborg S, Rombo L, Bergqvist Y, Blessborn D, Rodrigues A, et al. Chloroquine is grossly under dosed in young children with malaria: implications for drug resistance. *PLoS ONE*. 2014;9:e86801.
33. Añez A, Moscoso M, Laguna Á, Garnica C, Melgar V, Cuba M, et al. Resistance of infection by *Plasmodium vivax* to chloroquine in Bolivia. *Malar J*. 2015;14:261.
34. Ministerio de Salud y Deportes, Programa Nacional de malaria. Situación Actual de la malaria en Bolivia. Parte Epidemiológico, La Paz; 2011.
35. Boyd E. The growth of the surface area of the human body. Institute of Child Welfare, Monograph Series 10. University of Minnesota; 1935.
36. White NJ, Stepniewska K, Barnes K, Price RN, Simpson J. Simplified anti-malarial therapeutic monitoring: using the Day 7 drug level? *Trends Parasitol*. 2008;24:159–63.
37. Ringwald P, Same Ekobo A, Keundjian A, Kedy Mangamba D, Basco LK. Chimiorésistance de *P. falciparum* en milieu urbain à Yaoundé, Cameroun. Part 1: surveillance in vitro et in vivo de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine entre 1994 et 1999 à Yaoundé, Cameroun. *Trop Med Int Health*. 1994;2000(5):612–9.
38. Kearns GL. Impact of developmental pharmacology on pediatric study design: overcoming the challenges. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(Suppl 1):128–38.
39. Obua C, Hellgren U, Ntale M, Gustafsson LL, Ogwal-Okeng JW, Gordi T, et al. Population pharmacokinetics of chloroquine and sulfadoxine and treatment response in children with malaria: suggestions for an improved dose regimen. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65:493–501.
40. Moore BR, Page-Sharp M, Stoney JR, Ilett KF, Jago JD, Batty KT. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and allometric scaling of chloroquine in a murine malaria model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3899–907.
41. Ursing J, Kofoed PE, Rodrigues A, Bergqvist Y, Rombo L. Chloroquine is grossly overdosed and overused but well tolerated in Guinea-Bissau. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:180–5.
42. Kofoed PE, Ursing J, Poulsen A, Rodrigues A, Bergqvist Y, Aaby P, et al. Different doses of amodiaquine and chloroquine for treatment of uncomplicated malaria in children in Guinea-Bissau: implications for future treatment recommendations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007;101:2

DISCUSIÓN

De acuerdo con el protocolo de la OMS. [WHO 2015](#), la presencia de parásitos entre el día 7 y 28 del seguimiento con una concentración de CQ+DCQ en sangre mayor a 100 ng/ml indicaría resistencia a la cloroquina, bajo este concepto en la región amazónica de Bolivia existe la evidencia de resistencia a la cloroquina para infecciones por *P. vivax*.

De los 10 pacientes con FT, en 6 de ellos, los niveles de CQ+DCQ han estado por encima de los 100 ng/dl en el día que se ha observado la presencia de parásitos en sangre, usando el análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier, los pacientes que han presentado una concentración en sangre de CQ+DCQ >100 ng/ml del día del FT, el índice acumulado de resistencia fue del 6,5 % (95% CI: 2,97-13,91%). Registrándose de esta manera una de las tasas de resistencia a la cloroquina en infecciones de malaria por *P. vivax*, más altas de latino américa.

La concentración de CQ-DCQ en sangre del día 7 de todos los pacientes con FT estuvieron por encima de la MEC de la droga, la media geométrica fue de 321,7 ng/ml (rango: 197-535 ng/ml), evidenciando que la cloroquina tuvo una adecuada absorción a través del tracto gastro intestinal en la población del estudio. [WHO 2011](#).

Los primeros reportes de resistencia de la cloroquina en infecciones por *P. vivax* provienen de Papua Nueva Guinea (1989). [Schuurkamp et al 1992](#), así también las tasas más altas han sido registradas en la misma Isla de Nueva Guinea años más tarde. [Sumawinata et al. 2003](#), [Baird et al. 1995](#). En América latina los primeros casos de resistencia de la CQ en infecciones por *P. vivax* se han registrado en Guyana (1996), en tres pacientes se ha observado niveles séricos adecuados de la droga en presencia de parásitos. [Phillips 1996](#).

Desde entonces y hasta la fecha, se han registrado casos de falla terapéutica en varios puntos del continente, pero confirmada resistencia, mediante la dosificación de los niveles séricos de CQ en sangre y seguimiento de pacientes de por lo menos 28 días, se han descrito solo, por [Ruebush et al.](#) Evidenciando resistencia en 2 pacientes de un total de 177 en la zona amazónica del Perú [Ruebush et al. 2003](#); por [Santana Filho \(carta al editor\)](#), donde 11 de 109 pacientes tuvieron parasitemia por encima de la MEC de la droga en la zona amazónica del Brasil, aunque en este último no se

midió su metabolito principal (DCQ.) [Santa Filho 2007](#) y otra por Márquez et al. Donde describe resistencia en 7 de 135 pacientes con un esquema de tratamiento de cloroquina mas primaquina en la misma región amazonia del Brasil [Márquez et al. 2013](#).

En Bolivia en el año 2003 se ha realizado una evaluación in vivo por 28 días de seguimiento en el municipio de Riberalta, encontrándose un 15% (9/59) de fracaso terapéutico, lamentablemente ninguno de los casos ha tenido la dosificación de la en cloroquina en sangre, requerida para confirmar o descartar resistencia. [Martínez et al. 2009](#); en otro estudio in vivo seguido por 28 días en año 2007, en la misma localidad se ha encontrado una tasa de fracaso terapéutico de 6% (5/81), aunque ha sido dosificada la CQ en sangre en el día del fracaso terapéutico, todos los valores han estado por debajo de 100 ng/ml, por lo que no se ha podido descartar ni confirmar resistencia. [Añez et al. 2012](#).

De acuerdo a recomendaciones de la OMS un cambio de esquema de tratamiento, debiera plantearse cuando la resistencia comprobada es mayor al 10%. [WHO 2015](#).

Sin embargo, una emergente resistencia a la cloroquina ha sido descrita en latino américa como una amenaza preocupante a la que debemos hacer frente. [Gonçalves et al. 2014](#).

Es así, que alternativas de tratamiento deberán ser investigadas para lograr un mejor control de la malaria en esta región, actualmente tratamientos combinados con derivados de la artemisinina (TCA) son recomendados para infecciones por *P. falciparum* por demostrar su amplia efectividad en la eliminación acelerada de la carga parasitaria y la cura completa del mismo, tratamientos alternativos son necesarios probar en infecciones por *P vivax* y los TCA podrían ser una alternativa.

Existen diferentes ensayos clínicos que prueban la eficacia de los TCA en el tratamiento de la malaria por *P. vivax*, dihydroartemisinin-piperaquine (DHA-P) es el TCA más estudiado en infecciones por *P. vivax*. [Sinclair et al. 2011](#).

Otras combinaciones como el artemeter+lumefantrin (AR+LU) [Hwang et al. 2013](#), [Senn et al. 2013](#), artesunato+amodiaquine (AS+AQ) [Hasugian et al. 2007](#), y artesunato+sulfadoxina/pirimetamina (AS+SP), han mostrado ser eficaces en infecciones por *P. vivax*, pero no mejor que la DHA-P, probablemente DHA-P es superior frente a la combinación de otros TCA's en la prevención de la parasitemia

recurrente antes del día 28, inclusive elimina de manera más rápida los parásitos en sangre que la cloroquina en monoterapia. [Awad et al. 2010](#), [Phyo 2011](#).

Todos estos esquemas de tratamientos antes descritos, serían eficaces contra esquizontes sanguíneos o formas jóvenes del parásito, sin embargo, para completar el esquema terapéutico de la malaria por *P. vivax* hace falta, una droga esquizonticida tisular, droga que además de eliminar gametocitos, pueda prevenir la aparición de hipnozoitos causantes de las recaídas, actualmente la única droga disponible en el mercado utilizada para eliminar y prevenir la aparición de hipnozoitos es la primaquina. Teniendo en cuenta la baja prevalencia de la deficiencia de G6PD en la región amazónica de sud américa [Mezzacappa et al. 2010](#), el TCA elegido podría combinarse con PQ [Wilairatana et al. 1999](#), [Sutano et al. 2013](#), con el objetivo de prevenir una recurrencia de parasitemia debida a hipnozoitos circulantes, sin embargo, no se puede recomendar la administración de tratamientos simultáneos hasta no tener mayor evidencia científica de su eficacia.

Entre los otros hallazgos descritos en el estudio; observamos que la dosis de cloroquina administrada por mg/kg/peso (dosis real) y la dosis calculada a partir de área de superficie corporal (dosis teórica), son diferentes y varían con la edad ($p < 0,001$).

La mayor diferencia se encuentra en el grupo de edad de 5-9 años, seguida de la de 10-14 años de edad del grupo. En promedio a estos grupos de edad se administraron - 181,20 mg y -71,30 mg de CQ respectivamente. Por el contrario, en los pacientes mayores de 15 años de edad se les ha dosificado más de lo que realmente necesitaban 114.91 mg.

La dosificación según el peso, resulta más cómoda, pero no tiene en cuenta la proporción entre diversos tejidos como, grasa, agua o masa corporal en los niños, así como los diferentes estadios de maduración de las funciones principales del organismo, y las diferencias cuantitativas de los volumen de distribución y el efecto de la masa hepática de los niños, mientras que el ASC se relaciona mejor con las funciones del cuerpo: gasto cardiaco, volumen de distribución, compartimentos hídricos, filtración glomerular, etc., es por eso que muchos esquemas de tratamiento en niños se les dosifica empleando del ASC, en lugar del peso, por su mejor correlación con las funciones del organismo. [Peiré 2008](#).

Con la dosis de 25 mg/kg de peso corporal al momento del diagnóstico de malaria por *P. vivax*, las concentraciones de CQ en la sangre en el día 7 de seguimiento también han sido inferiores en el grupo de edad más joven.

En el grupo de 5-9 años se les encontró un promedio de 143,831 mg/ml menos que los pacientes mayores de 15 años. Ringwald et al encontró resultados similares en niños, menciona que podría deberse a una eliminación acelerada del fármaco en los niños [Ringwald et al. 1994](#). Ursing et al. Con dosis de 25 mg/kg y 50 mg/kg de CQ administrados a niños menores de 15 años de edad diagnosticados con malaria por *P. falciparum*, también describe que los niños mientras más jóvenes son, las concentraciones en sangre de CQ en el día 7 también son más bajas [Ursing et al. 2014](#).

Muchos autores describen que la función renal y hepática, la tasa metabólica, y el agua corporal total extracelular, la distribución de grasa corporal y la masa muscular son diferentes en niños que en adultos [Kearns et al. 2003](#), [Friss-Hansen 1961](#). [Kearns 2000](#). Probablemente las diferencias asociadas con la absorción del fármaco, la distribución, el metabolismo y la excreción del fármaco en niños conducirían a una farmacocinética alterada y que podría ser la razón de las bajas concentraciones de CQ en sangre observados en el día 7.

Estudios anteriores utilizando modelos de escala alométrica han demostrado que la causa de las concentraciones más bajas CQ se debe probablemente a la subdosificación. [Obua et al. 2008](#), [Moore et al. 2011](#).

Si analizamos la variable “Diferencia de dosis” definida como diferencia entre la dosis real y la dosis teórica, se observa una diferencia mayor mientras más joven es la población del estudio. La relación de la diferencia en mg de ambas dosis se ajusta a un modelo logístico ($R^2=0.529$, $p=0.001$), la diferencia entre ambas dosis es negativa en menores de 15 años, pudiéndose interpretar como una subdosificación de CQ en relación a dosis teórica, y son iguales o positivas en individuos mayores de 15 años.

Desde la re-evaluación de la CQ en 1946, por el ejército de Estados Unidos en soldados infectados con *P. vivax* [Loeb et al. 1946](#) a una dosis de 1,5 g por 4 días [Most et al. 1946](#), no se han realizado nuevos ensayos que contemplen las diferencias farmacocinéticas y farmacodinámicas en diferentes grupos etarios, la dosis

recomendada por la OMS sigue siendo de 25 mg/kg dividido en tres dosis diarias, (1,5 g en pacientes con 60 kg) sin distinción de la edad. [WHO 2015](#).

Es así que surge la necesidad de considerar un ajuste de la dosis de CQ en infecciones por malaria en menores de 15 años.

Puesto que los cambios fisiológicos y los parámetros farmacocinéticos en los niños se correlacionan estrechamente con área de superficie corporal, este método se debiera usar para dosificar la cloroquina en niños. [Ursing et al. 2014.](#), sin embargo, el pedir que se incorpore este método en la política de tratamiento de los programas de malaria de los países endémicos, donde el tratamiento se realiza en el primer nivel de atención, resulta difícil, ya que muchos de los establecimientos no son atendidos por médicos capacitados en la obtención del ASC de los niños.

En estudios de escala alométrica con ratones, donde ha sido evaluada la farmacocinética y la dosis de la cloroquina en infección por malaria, han sido evaluadas dosis de 10, 20,30 y 50 mg/kg, se ha mostrado que el cloroquina en doble dosis (50 mg/kg durante 3 días), ha tenido mejor resultado en la respuesta al tratamiento. Además, por la aplicación de una simple ecuación basada en el peso de los niños con la dosis recomendada por la OMS para adultos de 25 mg/kg, se ha demostrado que 35 mg/kg y 40 mg/kg, respectivamente, sería apropiado para niños, y concluyen que con 50 mg/kg CQ es sólo del 25 al 40% de la dosis equivalente a escala. [Moore et al. 2011](#).

Kofoed et al. en un estudio en Guinea-Bissau, llevado a cabo en niños menores de 15 años se ha evaluado la dosis recomendada por la OMS de 25 mg/kg y 50 mg/kg la que habitualmente toman en los centros de salud, incluyendo 67 y 62 niños respectivamente, demostrando que la dosis de 50 mg/kg es significativamente más eficaz que la dosis de 25 mg/kg en la prevención de la recrudescencia de la malaria por *P.falciparum*, y recomienda que 50 mg/kg de cloroquina debiera ser la dosis de elección en el tratamiento de la malaria por *Plasmodium falciparum* en Guinea-Bissau en dos dosis diarias durante un período de tres días. [Kofoed et al. 2002b](#).

Otro estudio llevado por el mismo autor Kofoed et al., se han evaluado la dosis de CQ de 25mg/kg y 50 mg/kg, esta vez a 182 niños y 184 niños menores de 15 años respectivamente, seguidos por un periodo de 28 y 35 días, demostrando la eficacia de la dosis de 50 mg/kg y otra vez recomienda cambiar el esquema de tratamiento, con el

fin de hacer frente a la resistencia encontrada en tratamientos de malaria por *P. falciparum*. [Kofoed et al. 2007](#).

Ursing et al. Compara dos esquemas de tratamiento contra malaria por *P. falciparum* en Guinea-Bissau, uno con 50 mg/kg de cloroquina y otro con del primer ATC introducido en lugar del estudio, (artemeter+lumefantrín), en 181 y 186 niños menores de 15 años respectivamente, demostrando que ambos esquemas de tratamiento son eficaces en más del 95% de los casos, además en ninguno de los tratamientos se ha observado efectos secundarios severos. [Ursing et al.2011](#).

Varios estudios han demostrado que las dosis de hasta a 50 mg/kg de CQ puede administrarse a niños menores de 15 años de edad, con los mismos efectos adversos como los de una dosis de 25 mg/kg. [Obua et al 2008](#), [Ursing et al 2009](#), [Kofoed et al 2007](#).

La cloroquina por lo general es bien tolerada, en la práctica son el sabor desagradable, que puede disgustar a los niños, y el prurito, que puede ser grave en pacientes de piel oscura. Otros efectos colaterales menos comunes son: cefalea, diversas erupciones cutáneas y trastornos gastrointestinales, como náuseas, vómitos y diarrea. Más rara es la toxicidad para el sistema nervioso central, que se puede manifestar como convulsiones o cambios mentales. El uso crónico (uso continuo durante >5 años como profilaxis) puede generar trastornos oculares, como queratopatía o retinopatía. Otros efectos poco comunes son miopatía, disminución de la capacidad auditiva, fotosensibilidad y alopecia. Los trastornos sanguíneos, como la anemia aplásica, son muy poco comunes, pero descritos [WHO 2015](#).

Así también, se ha demostrado que la cloroquina prolonga el intervalo QTc en algunos pacientes y esto puede dar lugar a un aumento del riesgo de arritmias ventriculares, en ocasiones con un desenlace mortal. Quizá sea este efecto adverso el que más preocupa a la hora de incrementar la dosis de la cloroquina.

En estudios realizados con dosis de 50 mg/kg y 70 m/kg (dosis divididas en 5 días) donde se incluye evaluación de los efectos cardíacos, los dos regímenes de tratamiento han sido bien tolerados. [Ursing et al 2009](#), [Ursing et al 2014](#). [Kofoed et al 2007](#).

Ursing et al, sugiere el uso de una presentación de cloroquina de liberación lenta, ya que evitaría que la concentración de la cloroquina en un mismo día alcance su pico más alto. [Ursing et al. 2014](#).

Además, puesto que la eficacia contra la malaria de la CQ depende del tiempo que el parásito se expone a concentraciones de CQ por encima del MEC, una presentación de liberación lenta, estaría más acorde con los tiempos del parásito y mejor tolerada que con las tabletas normales. [Ursing et al. 2014](#).

Por otro lado, es importante discutir el hecho de que al administrar dosis más altas de CQ prolongará el tiempo de concentraciones subterapéuticas en sangre, y esto podría ser un factor que incremente el nivel de resistencia, [Simpson et al. 2000](#). Sin embargo, es importante aclarar que el tratamiento con dosis altas reduce la biomasa de parásitos significativamente más que el tratamiento con una dosis convencional, minimizando el número de parásitos expuestos a la droga en concentraciones dentro de los límites de concentración 'selectivos' [Simpson et al. 2000](#). Por lo tanto, el aumento de la dosis de CQ de 25 mg/kg a 50 mg/kg no se esperaría que acelere el desarrollo de resistencia. [Kofoed et al. 2007](#).

De hecho, la resistencia in vivo a CQ en Guinea Bissau no ha aumentado durante un periodo de 10 años [Kofoed et al., 2002a, 2002b, 2003](#), lugar donde en muchos establecimientos de salud han estado utilizando dosis de 50 mg/kg. [Kofoed et al. 2007](#). Si se analizan los valores de CQ del día 7 de seguimiento, en relación a la diferencia entre la dosis real y la dosis teórica de la CQ, se observa que los valores de CQ del día siete, son más bajos mientras mayor es la amplitud de la diferencia de las dosis. Es decir que existe una correlación negativa entre la diferencia de las dosis (mg) y la CQ del día 7 (ng/ml), ($r=0.337$, $p=0.001$).

Posiblemente por el bajo nivel de CQ del día 7 encontrado en los menores de 15 años relacionada por la subdosificación, la media de edad de los FT se encuentra por debajo de los 15 años $P<0,05$. En el análisis de sobrevivencia de Kaplan & Meier los menores de 15 años presentan una tasa de FT de 28%, mientras que los mayores que en los mayores de 15 años de 4,2%.

En muchos estudios in vivo sobre eficacia terapéutica de la CQ, con dosis de 25 mg/kg, las tasas de fracaso terapéutico y/o resistencia a la droga han sido mayores en niños que en adultos, en diferentes puntos del planeta se encontraron resultados

similares: Indonesia Nueva Guinea 1993, el 100% de los pacientes con FT se ha encontrado en menores de 15 años y el 70% menores de 4 años, [Murphy et al. 1993](#); Perú 1998-2001 de un total de 4 pacientes con FT el 100% han sido menores de 15 años [Ruesbush et al. 2003](#); Etiopia 2007-2008 el 100% de los pacientes menores de 15 años han tenido FT y resistencia confirmada. [Ketema et al. 2009](#); [Etiopia 2006](#) de los cuatro pacientes con FT el 100% han sido menores de 15 años. [Teka et al 2008](#) y otro estudio en Etiopia en fecha reciente, 2010, también muestra datos similares [Yeshiwondim et al 2010](#).

Kofoed et al. Además, ha demostrado que niños que han tomado dosis de cloroquina de 25 mg/kg en comparación con los que han tomado dosis de CQ de 50 mg/kg, han presentado tasas de fracaso terapéutico más altas, mostrando una relación entre la dosis tomada y el fracaso terapéutico. [Kofoed et al 2007](#).

Esta amplia variación en la exposición sistémica tiene un efecto significativo en la concentración efectiva del medicamento, niveles sub terapéuticos son la causa directa del fracaso terapéutico y/o de resistencia [Mockenhaupt et al. 2000](#), [Hellgren et al. 1994](#), [WHO 2001](#), [Gbotosho et al. 2009](#) y [Barnes et al. 2008](#).

Esta sub dosificación, es el factor de riesgo más importante en la tasa de fracasos terapéuticos encontrados en niños y posiblemente sería uno de los factores que está influenciado en que se haya encontrando altas tasas de resistencia de la cloroquina en infecciones por de *P. vivax* en niños, como fue mostrado en análisis inicial.

La falta de inmunidad adquirida en los niños es probable que también influya en la propagación de la resistencia a los antimaláricos [Travassos et al. 2009](#), sobre todo en niños infantiles. [Djimde et al. 2003](#), pero en este estudio las muestras han sido tomadas en mayores de 5 años donde probablemente, la población ya ha adquirido cierto grado de inmunidad.

CONCLUSIONES

1. Existe resistencia de la cloroquina frente a infecciones por *P.vivax* en la zona amazónica de Bolivia, con una tasa del 6% la más alta de toda la región de las américas.
2. La resistencia se encuentra más acentuada en jóvenes que en adultos, la edad media de los pacientes con resistencia es < 15 años.
3. Esquemas de tratamiento alternativo a la cloroquina en casos de malaria por *P. vivax* necesitan ser evaluados.
4. La dosis de cloroquina en mg administrada por kg de peso, no es igual que la dosis en mg administrada por m^2 área de superficie corporal, en los menores de 15 años, esta diferencia se acentúa más, mientras más jóvenes son.
5. Con la dosis de 25 mg/kg/peso los menores de 15 años no alcanzan los mismos niveles de cloroquina en sangre en el día 7 del seguimiento, que los adultos
6. Como la baja concentración de la cloroquina en sangre incrementa el riesgo de fracasos terapéuticos y/o resistencia es necesario un replanteamiento en la dosis pediátrica de la cloroquina por cada grupo de edad.
7. Por otro lado, la tasa de fracaso terapéutico es más alta en menores de 15 años que en adultos, probablemente por la sub dosificación de cloroquina encontrada.

BIBLIOGRAFÍA

- Añez A, Moscoso M, Laguna Á, et al. Resistance of infection by *Plasmodium vivax* to chloroquine in Bolivia. *Malar J.* 2015; 14: 261.doi: 10.1186/s12936-015-0774-4.
- Añez A, Navarro-Costa D, Yucra O, Garnica C, Melgar V, Moscoso M et al. Respuesta terapéutica de *Plasmodium vivax* a la cloroquina, en Riberalta, Guayaramerín y Yacuiba, Bolivia. *Biomédica* 2012; 32:527–535.
- Awab GR, Pukrittayakamee S, Imwong M, Dondorp AM, Woodrow CJ, Lee SJ, Day NP, Singhasivanon P, White NJ, Kaker F: Dihydroartemisinin-piperaquine versus chloroquine to treat vivax malaria in Afghanistan: an open randomized, non-inferiority, trial. *Malar J.* 2010; 21:105.
- Baird JK Effectiveness of antimalarial drugs. *N Engl J Med* 2015; 352:1565–1577.
- Baird JK, Basri H, Subianto B, Fryauff DJ, Mcelroy PD, Leksana B et al. Treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* with chloroquine and primaquine or halofantrine. *J Infect Dis* 1995,171:1678–1682.
- Baird JK, Leksana B, Masbar S, Fryauff DJ, Sutanihardja MA, Suradi, Wignall FS. et al. Diagnosis of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax*: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 56:621–6.
- Baird JK. Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 11:4075-83.
- Barnes KI, Watkins WM, White NJ. Antimalarial dosing regimens and drug resistance. *Trends Parasitol.* 2008;24:127–134.
- Bell, DJ; Nyirongo, SK; Molyneux, ME; Winstanley, PA; Ward, SA. Practical HPLC methods for the quantitative determination of common antimalarials in Africa. *J Chromatogr B.* 2007,847:231–236
- Bousema T, Drakeley C. Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination dynamics. *Clin Microbiol Rev.* 2011; 24:377-410.
- Boyd E. Institute of Child Welfare, Monograph Series 10. Minneapolis: The growth of the surface area of the human body. University of Minnesota; 1935.
- Browning DJ. Pharmacology of Chloroquine and Hydroxychloroquine 2:Hydroxychloroquine and Chloroquine Retinopathy. Nueva York: Springer; 2014. p. 44-8.
- Collins WE, Jeffery GM. Retrospective examination of mosquito infection on humans infected with *P. falciparum*. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68:366-71.

- Crom WR, Glynn-Barnhart AM, Rodman JH, Teresi ME, Kavanagh RK, Christensen ML, Relling MV and Evans WE. Pharmacokinetics of anticancer drugs in children. *Clin Pharmacokin* 1987;12: 168–213
- De Santana Filho FS, Lima-Arcanjo AR, Chehuan YM, Costa MR, Martinez-Espinosa FE, Vieira JL et al. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax*, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis* 2007; 13:1125-1129.
- Djimdé AA, Doumbo OK, Traore O, Guindo AB, Kayentao K, Diourte Y, Niare-Doumbo S, Coulibaly D, Kone AK, Cissoko Y, Tekete M, Fofana B, Dicko A, Diallo DA, Wellems TE, Kwiatkowski D, Plowe CV. Clearance of drug-resistant parasites as a model for protective immunity in *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 2003; 69:558-63.
- Ducharme J, Farinotti R. Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine. Focus on recent advancements. *Clin Pharmacokinet*. 1996; 31:257-74.
- Engwerda C, Belnoue E, Grüner AC, Rénia L. Experimental model of cerebral en malaria. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2005; 297:103-43.
- Friss-Hansen B. Body water compartments in children; changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics*. 1961; 28: 169–181.
- Gbotosho GO, Happi CT, Ganiyu A, Ogundahunsi OA, Sowunmi A, Oduola AM. Potential contribution of prescription practices to the emergence and spread of chloroquine resistance in south-west Nigeria: caution in the use of artemisinin combination therapy. *Malar J*. 2009; 8:313. doi: 10.1186/1475-2875-8-313.
- Gonçalves LA, Cravo P, Ferreira MU. Emerging *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine in South America. An overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014;109:534–539
- Hasugian AR, Purba HL, Kenangalem E, Wuwung RM, Ebsworth EP, Maristela R, Penttinen PM, Laihad F, Anstey NM, Tjitra E, Price RN: Dihydroartemisinin-Piperaquine versus Artesunate-Amodiaquine: Superior Efficacy and Posttreatment Prophylaxis against Multidrug-Resistant *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* Malaria. *Clin Infect Dis*. 2007; 44: 1067-1074.
- Hellgren U, Ericsson O, Kihamia CM, Rombo L. Malaria parasites and chloroquine concentrations in Tanzanian schoolchildren. *Trop Med Parasitol*. 1994; 45:293-7.
- Hwang J, Alemayehu BH, Reithinger R, Tekleyohannes SG, Takele Teshi, Birhanu SG, Demeke L, Hoos D, Melaku Z, Kassa M, Jima D, Malone JL, Nettey H, Green M, Poe A, Akinyi S, Udhayakumar V, Kachur SP, Filler S: In vivo efficacy of artemether-lumefantrine and chloroquine against *Plasmodium vivax*: a randomized open label trial in central Ethiopia. *PLoS One*. 2013;8:e63433
- Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology-drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med*. 2003; 349:1157-67.

- Kearns GL. Impact of developmental pharmacology on pediatric study design: overcoming the challenges. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106 Suppl 1:128-38.
- Ketema T, Bacha K, Birhanu T, Petros B. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Serbo town, Jimma zone, south-west Ethiopia. *Malar J.* 2009; 8:177.
- Kofoed PE, Ursing J, Poulsen A, Rodrigues A, Bergquist Y, Aaby P, et al. Different doses of amodiaquine and chloroquine for treatment of uncomplicated malaria in children in Guinea-Bissau: implications for future treatment recommendations. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101: 231–8.
- Kofoed, P.E., Co, F., Johansson, P., Dias, F., Cabral, C., Hedegaard, K., Aaby, P., Rombo, L. Treatment of uncomplicated malaria in children in Guinea-Bissau with chloroquine, quinine, and sulfadoxine—pyrimethamine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2002a; 96: 304-309.
-
- Kofoed, P.E., Lopez, F., Johansson, P., Sandstrom, A., Hedegaard, K., Aaby, P., Rombo, L. Treatment of children with *Plasmodium falciparum* malaria with chloroquine in Guinea-Bissau. *Am J Trop Med Hyg.* 2002b; 67: 28-31.
- Kofoed, P.E., Poulsen, A., Co, F., Hedegaard, K., Aaby, P., Rombo, L. No benefits from combining chloroquine with artesunate for three days for treatment of *Plasmodium falciparum* in Guinea-Bissau. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003; 97: 429-433
-
- Kolaczinski K, Durrani N, Rahim S, Rowland M. Sulfadoxine-pyrimethamine plus artesunate compared with chloroquine for the treatment of vivax malaria in areas co-endemic for *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*: a randomised non-inferiority trial in eastern Afghanistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101:1081-7
- Litter M. Compendio de farmacología. 4ta ed. Buenos Aires: El Ateneo; 1998. p. 794-805.
- Loeb F, Clark WM, Coatney GR, Coggeshall LT, Dieuaide FR, Dochez AR, et al. Activity of a new antimalarial agent, chloroquine. *J Am Med Assoc.* 1946; 130:1069-70.
- Mark A. Travassos, Miriam K. Laufer. Resistance to antimalarial drugs: molecular, pharmacological and clinical considerations. *Pediatr Res.* 2009; 65: 64R-70R. doi: 10.1203/PDR.0b013e3181a0977e
- Marques MM, Costa MR, Santana Filho FS, Vieira JL, Nascimento MT, Brasil LW et al. *Plasmodium vivax* chloroquine resistance and anemia in the western Brazilian Amazon. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 58:342–347.
- Martínez E, Yucra WO, Castro V, Figueroa RV, De la Cruz L, Téllez C et al. Evaluación de la eficacia de la cloroquina para el tratamiento de la malaria por *Plasmodium vivax* en Yacuiba, Tarija, Bolivia. *Cuad Hosp Clín.* 2009; 54:27–33

- McKenzie F, Jeffery G, Collins W. *P. vivax* blood-stage dynamics. J Parasitol. 2002; 88:521-35.
- McLeod HL, Relling MV, Crom WR, Silverstein K, Groom S, Rodman JH, Rivera GK, Crist WM and Evans WE. Disposition of antineoplastic agents in the very young child. Br J Cancer 1992; 66: S 23–S 29
- Mendis K, Sina BJ, Marchesini P, Carter R. The neglected burden of *P. vivax* malaria. Am J Trop Med Hyg. 2001;64:S97-106.
- Mezzacappa MA, Facchini FP, Pinto AC, Cassone AE, Souza DS, Bezerra MA et al. Clinical and genetic risk factors for moderate hyperbilirubinemia in Brazilian newborn infants. J Perinatology. 2010; 30:819–826
- Ministerio de Salud y Deportes, Programa Nacional de malaria. Situación Actual de la malaria en Bolivia. Parte Epidemiológico, La Paz; 2011.
- Mockenhaupt FP, May J, Bergqvist Y, Ademowo OG, Olumese PE, Falusi AG, et al. Concentrations of chloroquine and malaria parasites in blood in Nigerian children. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44:835-9.
- Moore BR, Page-Sharp M, Stoney JR, Ilett KF, Jago JD, Batty KT. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and allometric scaling of chloroquine in a murine malaria model. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55: 3899–3907.
- Most H, London IM, Kane CA, Lavietes PH, Schroeder EF, et al. Chloroquine for treatment of acute attacks of vivax malaria. J Am Med Assoc. 1946;131: 963-7.
- MSyD Guía práctica de diagnóstico de la malaria. Serie Documentos Técnicos Normativos 154, Ministerio de Salud y Deportes, La Paz; 2010
- Murphy GS, Basri H, Purnomo, Andersen EM, Bangs MJ, Mount DL. et al. Vivax malaria resistant to treatment and prophylaxis with chloroquine. Lancet. 1993; 9:96-100.
- Naing C, Aung K, Win DK, Wah MJ. Efficacy and safety of chloroquine for treatment in patients with uncomplicated Plasmodium vivax infections in endemic countries. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2010; 104: 695-705.
- Obua C, Hellgren U, Ntale M, Gustafsson LL, Ogwal-Okeng JW, Gordi T, et al. Population pharmacokinetics of chloroquine and sulfadoxine and treatment response in children with malaria: suggestions for an improved dose regimen. Br J Clin Pharmacol. 2008; 65:493-501. doi:10.1111/j.1365-2125.2007.03050.
- Orimadegun A, Omisanojo A. Evaluation of Five Formulae for Estimating Body Surface Area of Nigerian Children. Annals of Medical and Health Sciences Research. 2014; 4:889-98. doi:10.4103/2141-9248.144907.
- PAHO. Directrices para el tratamiento de la malaria. 2da ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington DC, 2011.

- Peiré MA. Situaciones Fisiológicas que modifican la respuesta II: el niño In: Farmacología básica y Clínica de Velazquez. décimo octava ed. Madrid: medica panamericana; 2008.p. 1132.
- Phillips EJ, Keystone JS, Kain KC. Failure of combined chloroquine and high dose primaquine therapy for *Plasmodium vivax* malaria acquired in Guyana, South America. Clin Infect Dis 1996; 23:1171-1173
- Phyo AP, Lwin KM, Price RN, Ashley EA, Russell B, Sriprawat K, Lindegardh N, Singhasivanon P, White NJ, Nosten F. Dihydroartemisinin-piperaquine versus chloroquine in the treatment of Plasmodium vivax malaria in Thailand: a randomized controlled trial. Clin Infect Dis. 2011; 53:977-84.
- Price R, Nosten F, Simpson JA, Luxemburger C, Phaipun L, ter Kuile F, et al. Risk factors for gametocyte carriage in uncomplicated falciparum malaria. Am J Trop Med Hyg. 1999; 60:1019-23.
- Ringwald P, Same Ekobo A, Keundjian A, KedyMangamba D, Basco LK. Chimiorésistance de P. falciparum en milieu urbain à Yaoundé, Cameroun. Part 1: Surveillance in vitro et in vivo de la résistance de Plasmodium falciparum à la chloroquine entre 1994 et 1999 à Yaoundé, Cameroun. Trop Med Int Health. 2000; 5:612-9. doi: 10.1046/j.1365-3156.2000.00613.x
- Ruebush TK, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, Pillai DR et al. Chloroquine-resistant Plasmodium vivax malaria in Peru. Am J Trop Med Hyg. 2003; 69:548-552.
- Schuurkamp GJ, Spicer PE, Kereu RK, Bulungol PK, Rieckmann KH. Chloroquine-resistant Plasmodium vivax in Papua New Guinea. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992; 86:121-122.
- Senn N, Rarau P, Manong D, Salib M, Siba P, Reeder JC, Rogerson SJ, Genton B, Mueller I: Effectiveness of artemether/lumefantrine for the treatment of uncomplicated Plasmodium vivax and P. falciparum malaria in young children in Papua New Guinea. Clin Infect Dis. 2013;56:1413-20
- Simpson, J.A., Watkins, E.R., Price, R.N., Aarons, L., Kyle, D.E., White, N.J. Mefloquine pharmacodynamic models: implications for dosing and resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 2000;44: 3414-3424.
- Sinclair D, Gogtay N, Brand F, Olliaro P. Artemisinin-based combination therapy for treating uncomplicated Plasmodium vivax malaria. Cochrane Database Syst Rev. 2011; 6:CD008492
- Siqueira AM, Coutinho LI, Gurgel RL, Su WC, Carvalho LM, Benzecry SG, et al. Slow clearance of Plasmodium vivax with chloroquine amongst children younger than six months of age in the Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014; 109:540-5.
- Steinbrook, M.D. Testing Medications in Children N Engl J Med 2002; 347:1462-1470 October 31, 2002 DOI: 10.1056/NEJMp021646

- Strolin Benedetti M, Baltés EL. Drug metabolism and disposition in children. *Fundam Clin Pharmacol*. 2003; 17:281-99.
- Sumawinata IW, Bernadeta, Leksana B, Sutamihardja A, Purnomo, Subianto B et al. Very high risk of therapeutic failure with chloroquine for uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria in Indonesian Papua. *Am J Trop Med Hyg*. 2003; 68:416–420.
- Sutanto I, Tjahjono B, Basri H, Taylor WR, Putri FA, Meilia RA et al. Randomized, open-label trial of primaquine against vivax malaria relapse in Indonesia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57:1128-1135.
- Talman AM, Domarle O, McKenzie FE, Arie F, Robert V. The puberty of *P. falciparum*. *Malar J*. 2004; 14:3-24.
- Teka H, Petros B, Yamuah L, Tesfaye G, Elhassan I, Muchohi S, Kokwaro G. et al. Engers Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in DebreZeit, Ethiopia. *Malar J*. 2008; 7:220.
- Trape JF. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg*. 2001; 64 suppl 1-2:12-7.
- Ursing J, Eksborg S, Rombo L, Bergqvist Y, Blessborn D, Rodrigues A, et al. Chloroquine Is Grossly Under Dosed in Young Children with Malaria: Implications for Drug Resistance. *PLoS One*. 2014; 9: e86801.
- Ursing J, Kofoed PE, Rodrigues A, Bergqvist Y, Rombo L. Chloroquine is grossly overdosed and overused but well tolerated in Guinea-Bissau. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53:180–5.
- Wellems TE, Plowe CV. Chloroquine-resistant malaria. *J Infect Dis*. 2001; 15:770-6.
- White JN. The role of anti-malarial drugs in eliminating malaria. *Malar J*. 2008;7: S8.
- White NJ, Stepniewska K, Barnes K, Price RN, Simpson J. Simplified antimalarial therapeutic monitoring: using the Day 7 drug level? *Trends Parasitol*. 2008; 24:159-63. Doi: 10.1016/j.pt.2008.01.006.
- WHO- Methods and techniques for assessing exposure to antimalarial drugs in clinical field studies, World Health Organization, Geneva;2011
- WHO. Drug resistance in malaria. World Health Organization. Geneva; 2001.
- WHO. Guidelines of the treatment of malaria; 3rd edition. World Health Organization, Geneva; 2015.
- WHO. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. World Health Organization, Geneva; 2009.
- WHO. World Malaria report 2012. World Health Organization, Geneva; 2012
- WHO. World malaria report. World Health Organization. Geneva; 2015.

- Wilairatana P, Silachamroon U, Krudsood S, Singhasivanon P, Treeprasertsuk S, Bussaratid V et al. Efficacy of primaquine regimens for primaquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Thailand. Am J Trop Med Hyg. 1999; 61:973–977
- Yeshiwondim AK, Tekle AH, Dengela DO, Yohannes AM, Teklehaimanot A. Therapeutic efficacy of chloroquine and chloroquine plus primaquine for the treatment of *Plasmodium vivax* in Ethiopia, ActaTropica. 2010;113: 105–113.