

# LA CIENCIA NUCLEAR COMBATE EL PALUDISMO

## LAS TÉCNICAS RADIOLÓGICAS Y MOLECULARES PUEDEN DESEMPEÑAR FUNCIONES CON FINES PRECISOS

POR STEFFEN GROTH, BALDIP KHAN,  
ALAN ROBINSON Y JORGE HENDRICHS

El paludismo es la enfermedad más importante transmitida por insectos. En el mundo hay entre 300 y 500 millones de casos clínicos de paludismo cada año, lo que ocasiona dos millones de muertes anualmente (una cada 30 segundos), de las cuales más del 90% se produce en el África subsahariana. Más del 90% de los afectados son niños menores de cinco años. Las familias pobres, que probablemente gasten la cuarta parte de su ingreso anual en medidas de prevención y lucha, son las que sienten más desproporcionadamente el efecto económico de la enfermedad. Los agentes patógenos son parásitos del género *Plasmodium*, transmitidos únicamente por el mosquito hembra del género *Anopheles*.

Entre las principales estrategias de lucha contra el paludismo se encuentran la vigilancia de la eficacia de los medicamentos antipalúdicos mediante la supervisión de los niveles de resistencia al medicamento y la reducción de las poblaciones de mosquitos. Las técnicas nucleares pueden desempeñar funciones importantes en esas actividades de lucha contra el paludismo. En el presente artículo se informa sobre las actividades del OIEA relativas a cepas del paludismo resistentes a los medicamentos y se describe cómo los métodos moleculares en que se utilizan isótopos radiactivos pueden proporcionar una gran ventaja en el diagnóstico de la resistencia. Se presentan, además, los planes

del Organismo dirigidos a iniciar un programa de investigaciones para evaluar la viabilidad de desarrollar la técnica de los insectos estériles (TIE) como método complementario para combatir el vector del paludismo.

### DETECCIÓN DE CEPAS DEL PALUDISMO RESISTENTES A LOS MEDICAMENTOS

El tratamiento del paludismo con medicamentos constituye la base de la atención a los pacientes, y probablemente lo siga siendo a largo plazo. En algunas regiones, los parásitos se han hecho resistentes a los medicamentos. Por consiguiente, la cloroquina, medicamento antipalúdico de bajo costo, ya no surte efecto contra muchas subespecies del parásito. La resistencia proviene de cambios ocurridos en la membrana del parásito, que le permiten expeler la cloroquina cada vez que está expuesta a ella.

Los pacientes que habitan en zonas de resistencia a la cloroquina requieren tratamiento con otros medicamentos más caros. Como las nuevas variedades de parásitos del paludismo evolucionan constantemente y adquieren una resistencia cada vez mayor a los medicamentos que se utilizan en la actualidad, la vigilancia sistemática del desarrollo de la

resistencia a los medicamentos es una actividad esencial para todos los programas de lucha contra el paludismo. Según datos preliminares correspondientes a Kenya, en algunas zonas la resistencia a los medicamentos, incluso nuevos, asciende a 30%.

Los métodos moleculares facilitan notablemente el diagnóstico de las cepas de paludismo resistentes a los medicamentos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método molecular que puede utilizarse para demostrar la aparición de resistencia a los medicamentos. El uso de isótopos en el método de hibridación por Dot-Blot, cuando se combina con la CRP, añade mayor sensibilidad y especificidad a la detección de la resistencia a medicamentos. (Véase el recuadro de la página 34.)

Esos métodos moleculares pueden demostrar la resistencia a algunos medicamentos antipalúdicos en cuestión de horas. Con métodos convencionales se necesitan hasta 28 días para obtener la misma información, así como grandes equipos de trabajo sobre el terreno.

**Transferencia de métodos moleculares a Estados Miembros.** Mediante el proyecto de cooperación técnica del OIEA de

---

*El Sr. Groth es Jefe de la División de Sanidad Humana del OIEA, y la Sra. Khan es funcionaria de esa División. El Sr. Robinson es Jefe de la Dependencia de Entomología de los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf, y el Sr. Hendrichs es Jefe de la Sección de Lucha contra Plagas de Insectos de la División Mixta FAO/OIEA de Técnicas Nucleares en la Agricultura y la Alimentación.*

## MÉTODOS MOLECULARES EN LA LUCHA CONTRA EL PALUDISMO

**La reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** El principio fundamental de la aplicación de la PCR en el diagnóstico es que si la muestra contiene un fragmento dado de ADN, éste se multiplicará quizás hasta un millón de veces mediante la reacción, y producirá tanta sustancia que permitirá su fácil detección. El proceso comienza calentando el fragmento de ADN para separarlo en dos hebras. Luego se añade una enzima que copia el ADN, denominada polimerasa ADN, para crear dos copias completas del fragmento original. Mediante la repetición de ese proceso, se pueden hacer, en corto tiempo, millones de copias del fragmento original de ADN. Para identificar el fragmento de ADN después pueden utilizarse sondas de ácidos nucleicos radiactivamente marcadas, que se unen a los fragmentos de ADN. Este es un método muy sensible y específico que requiere solamente una pequeña muestra de sangre.

**Hibridación por Dot-Blot basada en la PCR.** Este método puede utilizarse para caracterizar las mutaciones de ADN del parásito. Se extrae el ADN de sangre infectada con paludismo que se ha depositado en gotas en un papel de filtro y amplificado utilizando la PCR. El ADN queda directamente "punteado" en la membrana de nylon. Para poder observar los resultados se utilizan la hibridación, con sondas de ADN radiactivamente marcadas, y la autorradiografía, consistente en exponer la película de rayos X y observar los resultados. La ventaja de este método radica en que se pueden analizar simultáneamente los puntos derivados de numerosas muestras. Otra ventaja es que se puede quitar la sonda radiactiva y colocar una nueva para detectar otra mutación; de esa forma se pueden examinar en secuencia varias mutaciones. El método puede emplearse para detectar una población resistente minoritaria en las muestras de los pacientes, de las cuales una parte significativa contiene parásitos resistentes y sensibles mezclados.

tres años de duración ejecutado en Kenya, Malí, el Sudán, Tanzania, Zambia, Zimbabwe y Uganda, recientemente se introdujeron técnicas nucleares para detectar mutaciones en el parásito asociadas a la resistencia a esos medicamentos.

El proyecto también respaldó el desarrollo y la ejecución de programas de vigilancia de la resistencia a los medicamentos, que se necesitan para el tratamiento eficaz del paludismo. Durante la ejecución del proyecto, 10 000 pacientes recibieron el tratamiento antipalúdico. De ellos, 3000 fueron incluidos en estudios y se realizaron análisis moleculares a 1500 muestras de sangre extraídas del dedo y recogidas en papel de filtro. El análisis de esos datos ha mostrado una relación positiva entre la prevalencia

de mutaciones de parásitos y la resistencia de éstos a medicamentos antipalúdicos como el Fansidar y la cloroquina.

Los resultados mostraron que la frecuencia de las mutaciones era muy baja en los países (Malí y el Sudán) donde la resistencia al Fansidar es baja (2,5%). Respecto de la resistencia a la cloroquina, en Kenya, Malí y Tanzania se notificó una elevada frecuencia de las mutaciones y una resistencia elevada al medicamento.

**Resultados prácticos sobre el terreno.** En Malí, se llevaron a cabo ensayos moleculares de la cloroquina y el Fansidar durante una epidemia de paludismo. El análisis se realizó rápidamente en muestras de sangre extraídas del dedo y recogidas en papel de filtro en los casos en que no había instalaciones para el análisis

microscópico. A los pocos días (a diferencia de las pruebas convencionales que duran 28 días) se obtuvieron resultados que mostraron mutaciones resistentes a la cloroquina en el 75% de las muestras, pero no revelaron resistencia al Fansidar. Por consiguiente, se utilizó el Fansidar y resultó sumamente eficaz para combatir la epidemia.

Como resultado de ese trabajo, ahora se dispone de un instrumento rápido y eficaz para vigilar la resistencia a la cloroquina en gran escala, algo que no había sido posible debido al elevado costo en tiempo, dinero y personal necesario para efectuar los estudios clínicos clásicos de resistencia a la cloroquina. Ahora se podrán tomar muestras de un sector mayor de la población, con lo que se proporcionará a los administradores del programa una información más precisa que anteriormente era imposible obtener.

**Ampliando el alcance.** Además de la transferencia de tecnología a países de África, el programa ha establecido vínculos con otros programas internacionales y regionales contra el paludismo, como "Roll Back Malaria" (hacer retroceder el paludismo), la Iniciativa Multilateral contra la Malaria (MIM) y la Red de África oriental para la vigilancia del tratamiento contra el antipalúdico (ENMAT), de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Como resultado indirecto, se ha designado a la contraparte del OIEA en Tanzania para que determine la constitución genética de muestras de paludismo procedentes de nueve países africanos que participan en un proyecto de colaboración entre varios centros. El proyecto se centra en la eficacia de la terapia por diversas vías para el tratamiento del paludismo, y cuenta con el respaldo del Grupo Especial sobre resistencia a

medicamentos y política contra el paludismo, de la OMS. Cabe esperar que el uso combinado de dos medicamentos antipalúdicos, a saber, el Fansidar y el artemisinín, retarden la aparición de la resistencia a ambos. La misma tecnología molecular, establecida en el proyecto regional africano, se está utilizando para determinar la constitución genética de las muestras.

**Próximos pasos.** Basándose en el acertado establecimiento de instalaciones de biología molecular, en diciembre de 2000 el OIEA decidió extender y ampliar el alcance del proyecto e incluir a otros países africanos en una labor regional ampliada. Esa medida se fundamentó básicamente en propuestas presentadas por Estados Miembros de África (Uganda, Zambia, el Sudán), así como en el interés general de otros Estados Miembros, incluidos Nigeria y Ghana. El proyecto se formuló con la intención de que los institutos más avanzados y experimentados apoyaran a los de menor experiencia de la región.

Si bien las soluciones más permanentes para erradicar el paludismo, como las vacunas y la lucha contra los vectores, se encuentran en la fase de desarrollo, los métodos propuestos para la eficaz detección de la resistencia a los medicamentos contribuirán a ofrecer un tratamiento individualizado eficaz, que es una de las estrategias primordiales de lucha de la iniciativa de la OMS "Hacer retroceder el paludismo." El proyecto estará en consonancia con la Declaración de Abuja que pide, entre otras cosas, el desarrollo de mecanismos para facilitar que los encargados de adoptar decisiones en diferentes niveles epidemiológicos cuenten con una información fiable que permita a las autoridades sanitarias concebir estrategias apropiadas de lucha y vigilancia.

### TÉCNICA DE LOS INSECTOS ESTÉRILES (TIE)

Desde el decenio de 1950 se demostró que las plagas de insectos se pueden controlar o erradicar mediante un método de "control de natalidad" conocido como la técnica de los insectos estériles (TIE). El elemento fundamental en la aplicación de la TIE es colonizar y criar en masa en grandes fábricas biológicas la plaga de insectos seleccionada, esterilizarlos con radiaciones ionizantes y luego soltarlos en el campo de manera sostenida y en cantidades suficientes para lograr una adecuada proporción mayoritaria entre insectos estériles y silvestres. Las hembras silvestres no tendrán descendencia después de aparearse con un macho estéril, lo cual reduce la población natural de la plaga.

El concepto zonal reviste importancia capital para la aplicación de la TIE, a saber, la necesidad de controlar toda la población de la plaga en una zona o región. Además, la TIE no es una tecnología independiente y para que sea eficaz hay que integrarla con otros métodos de lucha contra plagas. Ahora bien, la TIE tiene el singular atributo de ser más eficiente con una población de insectos, cuya densidad va disminuyendo, por lo que puede conducir a la larga a su erradicación, si se aplica sistemáticamente en toda la zona durante muchas generaciones. La TIE es también el método más ecológicamente racional de lucha contra las plagas, porque va dirigido de manera *específica contra la especie* y la esterilidad se induce exclusivamente en la especie escogida, por lo que sólo surte efecto en la población de insectos de la plaga.

**Experimentos sobre el terreno con la TIE contra mosquitos.** En el pasado se han hecho varios intentos de desarrollar la TIE contra los mosquitos con diversos grados de éxito. Entre ellos cabe mencionar los siguientes experimentos de campo:

<i>Culex fatigans</i>	India, 1962
<i>C. pipiens quinquefasciatus</i>	Florida, EE.UU., 1970
<i>C. p. fatigans</i>	India, 1975
<i>C. tarsalis</i>	California, EE.UU., 1965
<i>C. tarsalis</i>	California, EE.UU., 1980
<i>Aedes aegypti</i>	Florida, EE.UU., 1962
<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	Florida, EE.UU., 1962
<i>Anopheles albimanus</i>	El Salvador, 1975

El objetivo general del proyecto es lograr que las técnicas isotópicas moleculares básicas sirvan de puente para llevar a los institutos a un nuevo nivel de confianza y capacidad en el uso de técnicas más avanzadas, automatizadas y posiblemente no isotópicas para hacer frente a los principales problemas de salud pública. Para fortalecer esa labor, el proyecto se ejecutará en estrecha colaboración con la OMS.

### LUCHA CONTRA LOS MOSQUITOS TRANSMISORES DEL PALUDISMO

Se ha demostrado que la técnica de los insectos estériles (TIE) es

una tecnología muy eficaz en la lucha y/o erradicación de algunas de las principales plagas de insectos, incluido el vector de la tripanosomiasis animal, la mosca tsetse. Por tanto, en el último decenio algunos Estados Miembros han pedido reiteradamente que se desarrolle esa tecnología para aplicarla contra los mosquitos transmisores del paludismo.

Ya se han hecho varios intentos de desarrollo de la TIE para luchar contra el mosquito *Anopheles* con diversos grados de éxito o fracaso. En cualquier nuevo enfoque, podrá aprenderse mucho de esas experiencias anteriores y de los importantes avances logrados en la

TIE desde que comenzaron esos primeros ensayos sobre el terreno. En dos informes preparados por consultores a solicitud del OIEA se recomendaron varias especies *Anopheles* para ser sometidas a la TIE, así como los posibles lugares donde se iniciarían los ensayos sobre el terreno. Con todo, los consultores recalcaron que antes era preciso eliminar importantes limitaciones técnicas relacionadas con varios componentes clave de la tecnología de la TIE.

A tal efecto, el OIEA --conforme a lo solicitado por muchos Estados Miembros y a una resolución aprobada por la Conferencia General (GC-44/24) en septiembre de 2000-- ha decidido efectuar un estudio de viabilidad del uso de la TIE en un importante vector del paludismo. Esa labor de investigación y desarrollo se centrará inicialmente en la *Anopheles arabiensis*, importante especie transmisora del paludismo que es el único vector en grandes sectores de su distribución en África.

**Estudio de viabilidad.** El estudio de viabilidad abordará las siguientes limitaciones técnicas:

■ **Desarrollo de métodos eficaces de cría en masa.** La TIE se basa en la eficiente producción en masa de insectos de buena calidad para esterilizarlos y soltarlos. En el caso de los mosquitos *Anopheles* habrá que lograr importantes mejoras en la cría de larvas y en el acopio de crisálidas. Esas dos fases son acuáticas y no se prestan fácilmente para la tecnología de producción en masa. El mantenimiento de grandes cantidades de mosquitos adultos para producir huevos no debe presentar grandes problemas y ya se dispone de sistemas de alimentación a través de las membranas.

■ **Mejoramiento de la metodología de esterilización, el manejo y la suelta.** Habrá que desarrollar procedimientos

radiológicos para producir mosquitos machos estériles de calidad adecuada. En el pasado, esta fase planteó algunos problemas, de modo que se requieren formas innovadoras para esterilizar eficazmente a las crisálidas o adultos machos. Un programa zonal de TIE para mosquitos requerirá la dispersión de los insectos estériles en grandes zonas soltándolos al aire. Aún queda por ver si eso es posible con insectos frágiles como los mosquitos o si habrá que considerar técnicas que entrañen la suelta de crisálidas esterilizadas.

■ **Diseño de métodos genéticos y moleculares para la producción de mosquitos machos.**

Cualquier programa de TIE para mosquitos requerirá la suelta de machos solamente, a fin de evitar que aumente la transmisión por hembras estériles liberadas, ya que sólo las hembras pueden transmitir el paludismo. En el decenio de 1970 se desarrollaron sistemas de determinación del sexo por métodos genéticos para muchas especies *Anopheles* utilizando la genética clásica mendeliana, y la experiencia adquirida con la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*, ha demostrado que este enfoque es viable para la producción en masa de insectos machos. En estos momentos se están aplicando en muchos laboratorios enfoques moleculares para desarrollar sistemas de determinación del sexo por métodos genéticos para los mosquitos *Anopheles*, pero hasta ahora no se han presentado técnicas comprobadas. Sin un sistema sólido y seguro de determinación del sexo, se debilitaría extraordinariamente el uso de la TIE.

■ **Integración de la TIE con otros métodos de lucha contra el Anopheles.** Como la TIE no es una tecnología independiente, tiene que integrarse con otros métodos de supresión de

poblaciones. Gracias a la promoción de la OMS, en estos momentos se están utilizando ampliamente mosquiteros tratados con insecticidas para combatir el mosquito, y se están logrando importantes avances en lo tocante a su eficacia y costo. Los mosquiteros actúan como una barrera letal entre los seres humanos y los mosquitos *Anopheles* hembras. Puesto que el objetivo de este método son los mosquitos hembras, éste es perfectamente compatible con la suelta paralela de machos estériles, de modo que la población prevista estará sometida a ambas intervenciones. La práctica del rociamiento de casas va dirigida incluso contra la hembra, por eso en este caso también es posible integrar la suelta de machos estériles.

**Direcciones futuras.** El objetivo de lograr mosquitos genéticamente manipulados que sean incapaces de transmitir el paludismo, con el propósito de sustituir la población, tiene una elevada prioridad en muchas organizaciones, incluida la OMS, pese a cierto escepticismo existente entre los entomólogos médicos. Existe la intención de lograr esa posible sustitución introduciendo en la población prevista una cantidad relativamente pequeña de los mosquitos logrados por manipulación genética, que entonces podrán difundir activamente la característica refractaria por toda la población.

Hasta ahora no hay ningún mecanismo probado por el que pueda lograrse esa sustitución y es concebible que se requieran sueltas en gran escala de mosquitos fértiles. Por tanto, serán esenciales los métodos de cría y suelta descritos en el presente artículo.

También se está analizando seriamente la posibilidad de utilizar hembras estériles para distribuir vacunas. En este caso, se requeriría igualmente la tecnología de cría y suelta. □