

EVOLUÇÃO TEMPORAL DA RESISTÊNCIA *IN VITRO* DO *PLASMODIUM FALCIPARUM* ÀS DROGAS ANTIMALÁRICAS EM DUAS ÁREAS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA COM DISTINTAS CARACTERÍSTICAS SÓCIO-ECONÔMICAS E GEOGRÁFICAS

Álvaro Augusto Couto, Vanja Suelly Calvosa, Marco Antonio Santos e
José Maria de Souza

Avaliou-se a evolução temporal da resistência in vitro do Plasmodium falciparum às drogas cloroquina, amodiaquina, quinino e mefloquina em duas áreas com distintas características sócio-econômicas e geográficas: Lourenço, no Estado do Amapá e Paragominas no Estado do Pará. A primeira caracteriza-se por ser uma área de garimpos a céu aberto e a segunda uma área de colonização, pecuária e extrativismo de madeiras. O estudo revela alta prevalência de resistência à cloroquina nas duas áreas (79,8% em Lourenço e 68,4% em Paragominas), enquanto que para amodiaquina e quinino observamos uma certa flutuação nas respostas para essas drogas, dependendo do período em que foi avaliada. Já para mefloquina, não foram observadas cepas resistentes, mas uma perda da sensibilidade ao longo do período estudado.

Palavras-chaves: Malária. Plasmodium falciparum. Resistência in vitro.

O princípio básico nos programas contra a malária, no Brasil, visa ao controle da doença, com objetivos específicos de reduzir sua incidência nas áreas de elevada transmissão, e, interrompê-la nas regiões de incidência baixa, além de evitar que ocorra a reintrodução onde a malária não mais existe. No entanto, têm sido frequentes os insucessos, parciais ou totais, das medidas de controle da malária, particularmente, em algumas áreas da Região Amazônica Brasileira. Nos últimos anos constata-se a expansão territorial da malária, o ressurgimento da transmissão urbana, evidenciada por exemplo, em Manaus, AM, a partir de 1986 e, mais recentemente, em Belém, PA verifica-se o aumento exagerado da autoctonia da doença.

Fatores geográficos e sócio-econômicos estão fortemente associados a esse processo, no entanto, características peculiares aos parasitas e vetores são determinantes de obstáculos para o estabelecimento de um

efetivo controle da doença. Assim, os parasitas têm demonstrado um elevado grau de resistência cruzada às drogas empregadas e os vetores parecem mostrar uma crescente adaptabilidade às modificações ambientais resultantes da implantação dos projetos de colonização, agropecuários e de mineração.

A resistência do *Plasmodium falciparum* às drogas antimaláricas constitui um dos maiores obstáculos para um efetivo controle da doença⁷. No Brasil esta resistência foi demonstrada, pela primeira vez, em 1910 para o quinino¹¹. Em 1954, Brito e Pinheiro¹ reportaram, na Amazônia Brasileira, a ineficácia da cloroquina em alguns casos de malária causada pelo *P. falciparum*. Novamente foi registrada a ocorrência de resistência à cloroquina em 1961^{20 21}. Uma ampla e rápida disseminação da resistência, detectada *in vivo* e *in vitro*, tem sido documentada nos últimos 10 anos em diversas áreas da Amazônia Brasileira^{2 3 18 22 25}.

A distribuição da malária na Amazônia Brasileira não é homogênea. Localizada em determinadas áreas com características peculiares, notadamente áreas de colonização e prospecção de ouro⁹, algumas possuem maior comprometimento pelo elevado nível de transmissão e resistência dos parasitas aos antimaláricos de uso rotineiro no tratamento

Serviço de Ecologia Humana e Meio Ambiente e Serviço de Parasitologia, Instituto Evandro Chagas, Fundação Nacional de Saúde (FNS), Belém, PA.

Apoio Financeiro: IEC-FINEP - UNDP/World Bank/WHO/TDR, Projeto (870284).

Endereço para correspondência: Dr. Alvaro A. Couto, Av. Almirante Barroso 492, Marco, 66090-000 Belém, PA.

Recebido para publicação em 22/12/94.

da doença^{3,22}. Considerando as peculiaridades dessas áreas é possível que ocorram variações no padrão, evolução e mecanismo de disseminação da resistência do *P. falciparum*. A variabilidade das características das cepas brasileiras foram bem documentadas no período de 1983 à 1987^{4,5,6,15,17}.

Objetivamos avaliar a evolução temporal da resistência *in vitro* e possíveis influências de características sócio-econômicas e comportamentais da população, como fatores determinantes de diferenças no padrão de respostas às drogas. Para isto, avaliamos, no período de 1983 a 1991, o perfil da resistência *in vitro* para as drogas cloroquina, amodiaquina, quinino e mefloquina em duas áreas distintas da Região Amazônica Brasileira: Lourenço, AP com exclusiva atividade de prospecção de ouro a céu aberto, e, Paragominas, PA, área de colonização, agropecuária e ampla atividade de extrativismo de madeira

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em duas áreas que apresentam diferentes características geográficas e sócio-econômicas, aqui denominadas área 1 (Lourenço, AP) e área 2 (Paragominas, PA).

Área 1. O distrito do Lourenço possui as seguintes coordenadas geográficas: 2°18'17" de latitude (S) e 51°38'09" de longitude (W); situa-se ao Norte do Estado do Amapá e dista, em linha reta, 240km da capital Macapá, com uma área de 280km² pertencendo ao Município de Calçoene, Estado do Amapá. Caracteriza-se pela intensa e exclusiva atividade de prospecção de ouro a céu aberto, com uma população muito instável face à intensa migração, peculiar em áreas de garimpagem na Amazônia. No período de 1985 a 1988 registrava-se uma população entre 6.000 a 10.000 habitantes; nos últimos dois anos do estudo foi reduzida para 2.000 habitantes em função da escassez do ouro. Os habitantes vivem de forma precária, em habitações sem paredes, o que facilita o contato com o vetor e diminui a possibilidade de sua proteção com inseticida residual. Esse é portanto, um dos fatores epidemiológicos de mais alta importância, possivelmente, o principal responsável pelo alto nível de transmissão da malária na região. Segundo Sawyer¹⁹, a região se enquadra na classificação "área rural

extrativista garimpo aberto - tipo 2".

O clima é tropical chuvoso, possui precipitações anuais em torno de 3.069mm com temperatura média mensal de 25,6°C, com média anual de 24°C, com máxima e mínima de 30°C e 18°C, respectivamente. A umidade relativa do ar é superior a 75% com altitude de 305m acima do nível do mar.

Área 2. O Município de Paragominas possui as seguintes coordenadas geográficas: 2°54'43" de latitude (S) e 47°21'12" de longitude (W); situa-se à leste do Estado do Pará e dista em linha reta 205km da capital Belém, com uma área de 27.168km². Paragominas, município do Estado do Pará, devido a sua localização geográfica, interiorizado, possui características próprias em suas atividades econômicas. No setor primário, destaca-se a exploração da pecuária, produção agrícola e o extrativismo da madeira. Possui amplo parque industrial formado por indústrias de beneficiamento de madeiras (serrarias) e usinas de beneficiamento de arroz. Pelos dados do IBGE, censo de 1991, o município apresentou uma população de 92.173 habitantes. A população do município se dispersa no seu vasto território dando origem à formação de pequenas vilas e colônias, vivendo em casas de alvenaria, na cidade, e no campo em habitações de madeira. Segundo Sawyer¹⁹, o Município de Paragominas se enquadra na classificação de "área rural agrícola agropecuária (fazendas) Tipo 7".

O clima é tropical chuvoso com precipitações anuais acima de 750mm, com temperatura média mensal de 18°C. Apresenta uma estação relativamente seca, compensada por precipitações elevadas durante o período restante. A temperatura média anual é de 25°C, com máxima e mínima de 31°C e 22°C, respectivamente. A umidade relativa do ar é superior a 80% e o município situa-se a 84m acima do nível do mar.

População estudada. Os indivíduos doadores de sangue para o presente estudo foram de ambos os sexos, com idades variando de 13 a 48 anos, residentes na Vila do Lourenço e adjacências (garimpos) ou no Município de Paragominas nas diversas colônias ou fazendas.

Durante o período de estudo foram triados 569 pacientes da área 1 e 621 da área 2, dos quais foram coletados 10ml de sangue para obtenção do material necessário para a

realização dos microtestes, criopreservação das cepas e soro para estudos complementares.

Para avaliação da resistência *in vitro* foram selecionados àqueles portadores exclusivamente de malária causada pelo *P. falciparum* com parasitemia superior a 500 parasitas por μ l de sangue e não apresentando quadro de malária grave. Quando a parasitemia apresentava-se igual ou superior a 1% ajustava-se a amostra de sangue parasitado em torno de 0,5%.

Todos os participantes declararam o não uso de drogas antimaláricas nas últimas quatro semanas, além de darem consentimento oral para sua inclusão no estudo. Após a coleta da amostra sanguínea todos foram tratados e acompanhados até a completa cura.

Testes in vitro de sensibilidade as drogas. Os testes *in vitro* foram realizados com base no procedimento de Rieckmann¹⁴, com as modificações introduzidas pela OMS^{26, 27}. No período de 1983 a 1986¹⁸ utilizou-se o sistema de diluições no momento da realização dos testes, partindo-se de uma solução "stock" fornecida pela OMS. No período de 1987 a 1991¹, foram utilizadas placas pré-doseadas, também, fornecidas pela OMS.

A interpretação dos resultados foi realizada segundo as instruções da OMS^{12 13 27 28}.

RESULTADOS

Foram realizados 85 testes para avaliar a resistência do *P. falciparum* em Lourenço, AP (Área 1), dos quais, tiveram boas condições para interpretação; 84 para cloroquina, 82 para amodiaquina, 83 para quinino e 85 para mefloquina. As amostras analisadas em Paragominas, PA (Área 2) foram 76, das quais 76 estavam em boas condições de análise para cloroquina, 54 para amodiaquina, 57 para quinino e 76 para mefloquina.

Os níveis de resistência nas áreas em estudo foram: Área 1, com 67 amostras correspondentes a 79,8% de cepas resistentes à cloroquina e 22 amostras correspondendo a 26,8% de resistência à amodiaquina, porém não foram evidenciadas amostras resistentes ao quinino e à mefloquina; Área 2, com 52 amostras equivalendo a 68,4% de cepas resistentes à cloroquina, 26 amostras (48,1%) à amodiaquina e 8 amostras (14,0%) ao quinino, enquanto que para mefloquina não foram registradas cepas resistentes (Tabela 1).

Tabela 1 - Resistência do Plasmodium falciparum em duas diferentes áreas da Região Amazônica às drogas cloroquina, amodiaquina, quinino e mefloquina no período de 1983 a 1991.

| Áreas de estudo | Drogas | | | | | | | | | | | |
|-----------------|------------|----|----|-------------|----|----|---------|---|----|------------|---|---|
| | cloroquina | | | amodiaquina | | | quinino | | | mefloquina | | |
| | nº | r | % | nº | r | % | nº | r | % | nº | r | % |
| Lourenço, AP | | | | | | | | | | | | |
| Área 1 | 84 | 67 | 80 | 82 | 22 | 27 | 83 | 0 | 0 | 85 | 0 | 0 |
| Paragominas, PA | | | | | | | | | | | | |
| Área 2 | 76 | 52 | 68 | 54 | 26 | 48 | 57 | 8 | 14 | 76 | 0 | 0 |

nº = Número de amostras testadas; r = Número de cepas resistentes.

Nas amostras da Área 1 não se observou resistência ao quinino, mas evidenciou-se que 11 (13,6%) cepas só foram completamente inibidas na concentração limite da sensibilidade/resistência, ou seja 128pmol.

A análise temporal do perfil da resistência nas amostras de ambas as áreas no período de 1983 à 1991, revela que existe uma aparente semelhança no padrão de resposta do *P. falciparum* às drogas cloroquina e quinino, e, amodiaquina e mefloquina, como se pode verificar através das Figuras 1a, 1b e 2a, 2b.

Existem certas peculiaridades, em cada uma das duas áreas estudadas com relação à evolução da resistência às drogas cloroquina, amodiaquina, quinino e mefloquina.

A resistência à cloroquina na Área 1 aparentemente evoluiu de forma mais rápida do que na Área 2.

Para a amodiaquina, apesar de ser uma 4-aminoquinoleína como a cloroquina, o perfil de comportamento da população de parasitas foi diferente nas áreas e reflete, possivelmente, uma maior ou menor pressão da droga, nas respectivas áreas em estudo, como será discutido.

Com relação ao quinino, em Lourenço não se observou resistência, mas houve uma evidente redução da sensibilidade à droga ao longo dos anos. Para mefloquina existe uma diminuição mais precoce da sensibilidade em Lourenço, AP, em relação ao padrão da Área 2.

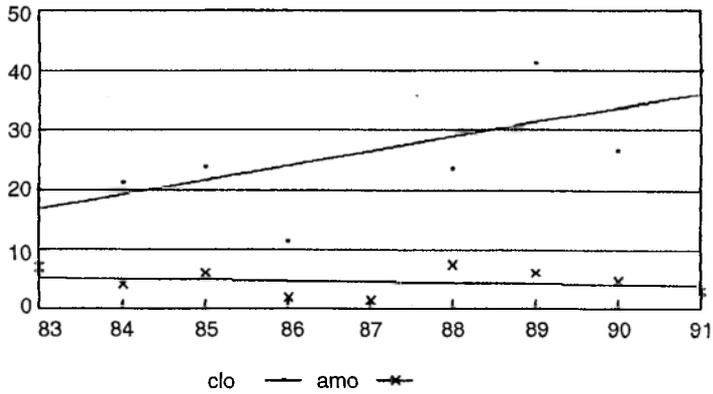


Figura 1a - Evolução da resistência do P. falciparum à cloroquina e amodiaquina Lourenço, AP, período 1983 a 1991.

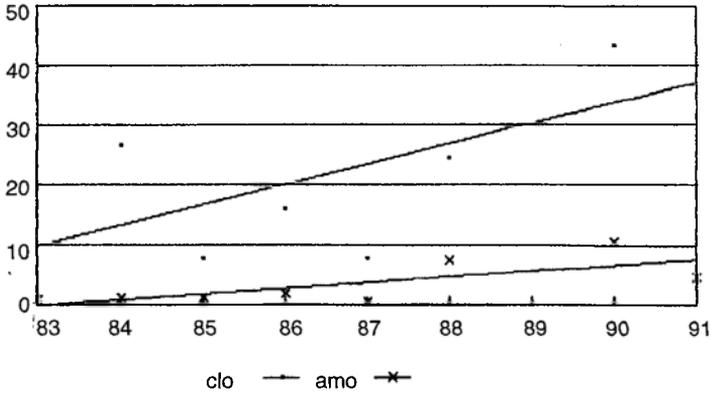


Figura 1b - Evolução da resistência do P. falciparum à cloroquina e amodiaquina Paragominas, AP, período 1983 a 1991.

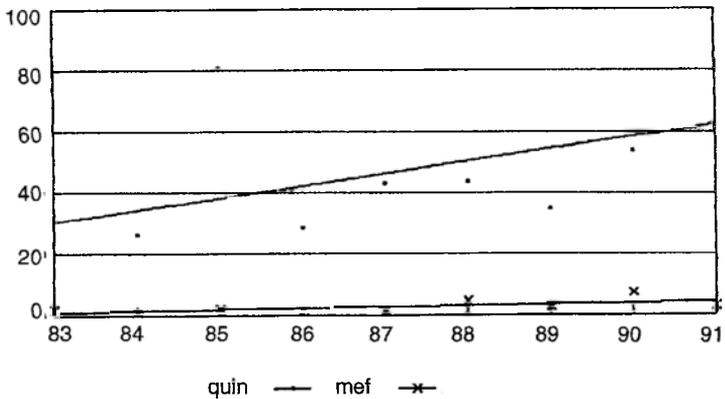


Figura 2a - Evolução da resistência do P. falciparum ao quinto e à mefloquina, Lourenço, AP, período 1983 a 1991.

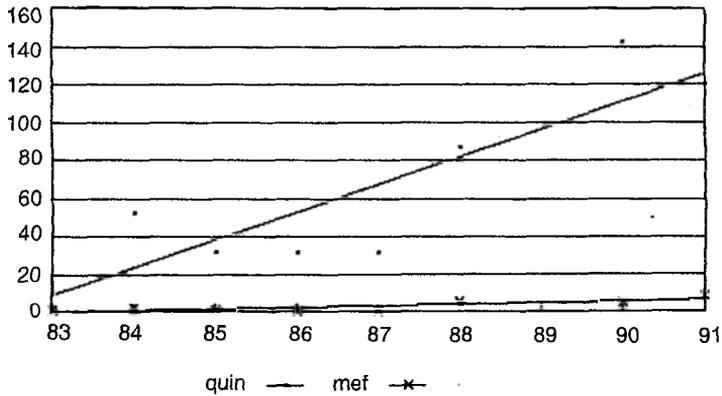


Figura 2b - Evolução da resistência do *P. falciparum* ao quinino e à mefloquina, Paragominas, AP, período 1983 a 1991.

Nossos resultados são similares àqueles observados em outras localidades da Região Amazônica Brasileira, quer por estudos realizados por nosso grupo, quer por aqueles realizados por outros pesquisadores, conforme consta da Tabela 2.

Tabela 2 - Percentagem de cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes à diferentes drogas na Região Amazônica Brasileira no período de 1983 à 1993 e referências bibliográficas.

| Áreas | Drogas (%) | | | | Referências |
|--|------------|-----|-----|-----|-------------|
| | clo | amo | qui | mef | |
| Pará, Amapá, Rondônia | 68 | 9 | 0 | 0 | 25 |
| Pará, Amapá, Rondônia, Maranhão | 83 | 51 | 56 | 2 | 18 |
| Rondônia, Goiás, Mato Grosso, Pará, Acre | 100 | nr | 2 | 31 | 6 |
| Acre | 84 | 73 | 3 | 0 | 8 |
| Amapá | 81 | 27 | 0 | 0 | 2 |
| Pará | 71 | 26 | 8 | 0 | 3 |

clo: cloroquina; amo: amodiaquina; qui: quinino; mef: mefloquina

DISCUSSÃO

Diversos fatores estão associados à emergência e disseminação da resistência dos parasitos da malária às drogas, sendo provavelmente um dos mais importantes à pressão de drogas²⁹. Nossos resultados evidenciam esse fenômeno em duas áreas da Amazônia com todas as drogas estudadas. No presente trabalho, a resposta *in vitro* dos parasitos às quatro drogas estudadas, duas 4-

aminoquinoleínas e dois quinolinometanóis, é documentada ao longo de 9 anos e mostra características peculiares para cada uma das drogas. Essas parecem refletir critérios utilizados pelos órgãos governamentais responsáveis pelo controle da malária no Brasil, relacionados com o uso dos antimaláricos e com as facilidades existentes na obtenção dos mesmos. No entanto, não parece haver relação entre o perfil geográfico e/ou sócio-econômico das duas áreas avaliadas e a resistência aos antimaláricos.

A cloroquina era a droga mais utilizada em ambas as áreas muito antes de 1983, portanto houve uma constante pressão dessa droga sobre as populações de parasitas. Como consequência a maioria das amostras testadas (67/87, 80%) está acima do limiar da sensibilidade, na Área 1, enquanto que na Área 2, 52/76 (68%) foram resistentes. A sensibilidade à cloroquina foi semelhante nas duas localidades nas quais não há diferenças geográficas marcantes, mas onde os perfis sócio-econômicos são distintos. Os critérios do Ministério da Saúde foram iguais com relação ao uso de droga em grande escala. Portanto, apesar das diferenças sócio-econômicas e, das dificuldades logísticas, as áreas não receberam diretrizes diferentes do governo em relação às metodologias de controle da malária.

A utilização da amodiaquina e os níveis de resistência foram diferentes nas duas áreas. Na Área 1, seu uso não foi uma prática consistente no período em estudo, por não haver disponibilidade da droga ou porque nela não

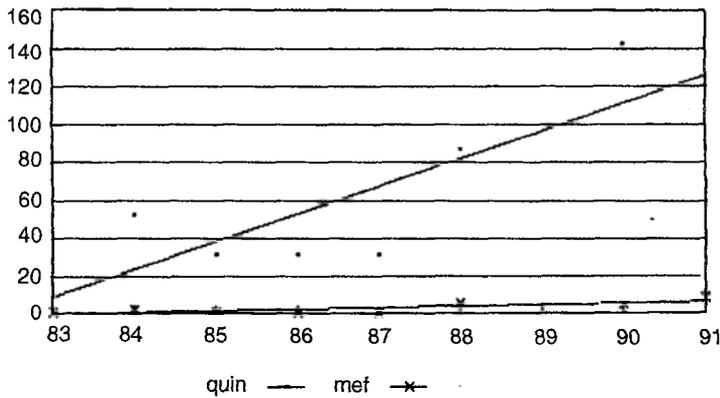


Figura 2b - Evolução da resistência do *P. falciparum* ao quinino e à mefloquina, Paragominas, AP, período 1983 a 1991.

Nossos resultados são similares àqueles observados em outras localidades da Região Amazônica Brasileira, quer por estudos realizados por nosso grupo, quer por aqueles realizados por outros pesquisadores, conforme consta da Tabela 2.

Tabela 2 - Percentagem de cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes à diferentes drogas na Região Amazônica Brasileira no período de 1983 à 1993 e referências bibliográficas.

| Áreas | Drogas (%) | | | | Referências |
|--|------------|-----|-----|-----|-------------|
| | clo | amo | qui | mef | |
| Pará, Amapá, Rondônia | 68 | 9 | 0 | 0 | 25 |
| Pará, Amapá, Rondônia, Maranhão | 83 | 51 | 56 | 2 | 18 |
| Rondônia, Goiás, Mato Grosso, Pará, Acre | 100 | nr | 2 | 31 | 6 |
| Acre | 84 | 73 | 3 | 0 | 8 |
| Amapá | 81 | 27 | 0 | 0 | 2 |
| Pará | 71 | 26 | 8 | 0 | 3 |

clo: cloroquina; amo: amodiaquina; qui: quinino; mef: mefloquina

DISCUSSÃO

Diversos fatores estão associados à emergência e disseminação da resistência dos parasitos da malária às drogas, sendo provavelmente um dos mais importantes à pressão de drogas²⁹. Nossos resultados evidenciam esse fenômeno em duas áreas da Amazônia com todas as drogas estudadas. No presente trabalho, a resposta *in vitro* dos parasitos às quatro drogas estudadas, duas 4-

aminoquinoleínas e dois quinolinometanóis, é documentada ao longo de 9 anos e mostra características peculiares para cada uma das drogas. Essas parecem refletir critérios utilizados pelos órgãos governamentais responsáveis pelo controle da malária no Brasil, relacionados com o uso dos antimaláricos e com as facilidades existentes na obtenção dos mesmos. No entanto, não parece haver relação entre o perfil geográfico e/ou sócio-econômico das duas áreas avaliadas e a resistência aos antimaláricos.

A cloroquina era a droga mais utilizada em ambas as áreas muito antes de 1983, portanto houve uma constante pressão dessa droga sobre as populações de parasitas. Como consequência a maioria das amostras testadas (67/87, 80%) está acima do limiar da sensibilidade, na Área 1, enquanto que na Área 2, 52/76 (68%) foram resistentes. A sensibilidade à cloroquina foi semelhante nas duas localidades nas quais não há diferenças geográficas marcantes, mas onde os perfis sócio-econômicos são distintos. Os critérios do Ministério da Saúde foram iguais com relação ao uso de droga em grande escala. Portanto, apesar das diferenças sócio-econômicas e, das dificuldades logísticas, as áreas não receberam diretrizes diferentes do governo em relação às metodologias de controle da malária.

A utilização da amodiaquina e os níveis de resistência foram diferentes nas duas áreas. Na Área 1, seu uso não foi uma prática consistente no período em estudo, por não haver disponibilidade da droga ou porque nela não

se confiava como alternativa para substituir a cloroquina. Apesar da semelhança química, entre as duas drogas, que poderia levar a uma resistência cruzada com a cloroquina, manteve-se uma estabilidade nos níveis de resistência e até mesmo uma tendência à sua redução, provavelmente devido à pouca pressão da droga sobre os parasitas.

Na Área 2, apesar do número reduzido de amostras estudadas (aproximadamente 2/3 do número de amostras analisadas na Área 1), a amodiaquina foi gradativamente menos ativa nos testes. A princípio, essa droga era mais utilizada na Área 2 e mostrava maior atividade sobre os parasitas.

A partir de 1988, essa atividade diminuiu observando-se ao final do estudo uma sensibilidade correspondente a 10 ou 20% do total de amostras analisadas. Esta mudança coincide com o maior uso da amodiaquina em Paragominas, onde antes se usava exclusivamente a cloroquina ou a cloroquina associada com a primaquina (cloroprima), nas fases de maior transmissão da doença. Essa observação mais uma vez caracteriza a pressão da droga sobre os parasitas como fator de importância na emergência da resistência mostrada.

O quinino, como a cloroquina, apresenta um padrão de uso semelhante nas duas áreas estudadas. Contudo, ao contrário da cloroquina, a sensibilidade ao quinino é evidente, praticamente em todas as cepas estudadas *in vitro* apesar de se verificar, em ambas as áreas, uma progressiva redução da sensibilidade. Possivelmente, há dois fatores atuando, ou seja, a pressão da droga, em função do descrédito das 4-aminoquinoleínas, e o esquema terapêutico em subdoses adotados pelos órgãos governamentais e, naturalmente, também utilizado pela grande maioria das clínicas da rede privada, correspondente a uma quantidade da substância ativa pouco ou muito abaixo da dose preconizada, dependendo do peso do paciente, ou seja, mantinham a pressão da droga com dosagem insuficiente.

Para mefloquina, apesar de não se registrarem cepas resistentes, verificou-se, uma tendência à perda de sensibilidade em ambas as áreas. Essa começou mais precocemente na Área 1, já em 1985, e, alguns anos depois na Área 2. Paralelamente, enquanto a população da Área 1 teve acesso fácil à droga a partir de

1985, através da entrada clandestina da mefloquina, via Guiana Francesa, só em 1987 a população da Área 2 recebeu a mefloquina pelo programa do Ministério da Saúde/SUCAM. A ocorrência de pressão da droga em diferentes épocas nas duas áreas provavelmente provocou a seleção de parasitas menos sensíveis em épocas diferentes nas duas áreas.

Além da pressão da droga, sua inadequada concentração pode contribuir para a seleção de parasitas resistentes. Em áreas de garimpo a utilização de drogas antimaláricas em dosagens subcurativas é mais freqüente do que em outras áreas, fato esse comum a todas as áreas malarígenas onde a transmissão é elevada.

Segundo constatamos, a automedicação foi aparentemente mais freqüente na Área 1, quase sempre incorreta e envolvendo várias drogas, inclusive a mefloquina e derivados da artemisinina (observação pessoal). Esta prática leva freqüentemente ao insucesso terapêutico, favorecendo, portanto, o surgimento de resistência, uma vez que na população de parasitas remanescentes são selecionados parasitas resistentes^{3 16 17 23 26}.

Possivelmente, a pressão de drogas, doses subcurativas e automedicação sejam os principais fatores responsáveis pela perda da eficácia dos antimaláricos, mesmo da mefloquina. Nossos resultados mostram uma perda de sensibilidade mais precoce na Área 1, em relação à Área 2. Aí, a droga foi introduzida a partir de 1987, após o Plano Impacto de Controle da Malária, elaborado pelo MS/SUCAM¹⁰.

Nossos resultados evidenciam a evolução da resistência em duas áreas distintas da Amazônia Brasileira, escolhidas por representarem os ambientes mais problemáticos ao controle da malária. A população de parasitas circulantes nestas áreas exibiu nível de resistência à cloroquina na ordem de 79,8% e 68,4% em Lourenço, AP e Paragominas, PA, respectivamente, similar ao que tem sido descrito em outras áreas da Região Amazônica brasileira, por nosso grupo^{2 5 18 24} e por outros autores^{6 8}.

Este quadro, associado com outras investigações sobre a resistência *in vitro* do *P. falciparum* em diversas localidades da Região Amazônica Brasileira (Tabela 2), sugere que a resistência à cloroquina tem ampla dispersão

na região, particularmente, em áreas de garimpagem de ouro^{2,3,18} e colonização^{3,7}, onde o nível de transmissão é elevado.

Por outro lado, as drogas amodiaquina e quinino apresentam um perfil instável, dependendo da área e período de estudos, exibindo um nível flutuante de respostas. Quanto à mefloquina, a sensibilidade nas cepas testadas foi total. No entanto, numa análise anterior Di Santi e col⁶ consideraram como limiar de sensibilidade a concentração de 4pmol para 16 cepas em 51 analisadas, assim distribuídas: oito de Rondônia, três do Mato Grosso e Pará, um de Goiás e de um local não identificado. Portanto, atribuiu 31,4% de cepas resistentes para essa droga na Amazônia Brasileira, dados aqui não confirmados.

O fato da resistência do *Plasmodium falciparum* ser considerada como um problema limitante do controle da malária, particularmente, em áreas de garimpo e colonização, sugere que a utilização das drogas antimaláricas, empregadas nos diversos esquemas terapêuticos, sofram uma constante avaliação, em programas de monitoração da resistência, no sentido de que seja preservado o poder curativo dos esquemas de tratamento, além de garantir, como reserva terapêutica, para tratamento da malária grave, drogas como mefloquina e outras com características farmacocinéticas semelhantes.

SUMMARY

We evaluated the temporal progression of *in vitro* P. falciparum resistance to chloroquine, amodiaquine, quinine and mefloquine in two areas with distinct socioeconomical and geographical characteristics: Lourenço, in Amapá state and Paragominas, in Pará state. The former region is essentially an "open" gold mining camp, whereas the latter is one currently undergoing a colonization settlement process, in addition to expanding economical activities which mainly include cattle raising and wood exploitation. Our results show high resistance rates to chloroquine in the two study areas: 79.8% and 68.4% in Lourenço and Paragominas, respectively. Variations in the response of P. falciparum to both amodiaquine and quinine were recorded throughout the study period. On the other hand, no mefloquine P. falciparum resistant strains could be identified, despite the fact we had noted a decrease in sensitivity to this antimalarial drug throughout the study period.

Key-words: Malaria. P. falciparum. *In vitro* resistance.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dr^a Antoniana Kretli pela leitura crítica e sugestões. À Mineração Novo Astro S/A (Lourenço, AP) pelo suporte logístico. Agradecem também o apoio técnico, nas atividades de campo, aos Srs. Edvaldo Santa Rosa e José Maria Nascimento. Especial agradecimento aos técnicos, supervisores e diretor da Fundação Nacional de Saúde, Coordenadoria Regional do Estado do Amapá pela dedicação e apoio. Agradecem, ainda, a colaboração dos pacientes que sem os quais este estudo não seria possível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brito R, Pinheiro A. Relatório da Secretaria de Saúde do Território Federal de Guaporé, 1954.
2. Couto AA, Calvosa VS, Lima JE, Souza JM. Evolução da resistência *in vitro* do *Plasmodium falciparum* a antimaláricos em área de prospecção de ouro no Estado do Amapá, entre 1983 e 1990. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 26:215-220, 1993.
3. Couto AA, Calvosa VS, Santos MA, Souza JM. Resistência *in vitro* de cepas de *Plasmodium falciparum* isoladas no Sul do Estado do Pará, em diferentes períodos: emergência de casos de multiresistência. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 26:5-9, 1993.
4. Couto AA, Rosário VE, Walliker D. Análise enzimática de 56 amostras de *Plasmodium falciparum* da bacia Amazônica (Brasil). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 35:11-1993.
5. Couto AA, Santos MA, Oliveira SG. Análise da diversidade do *Plasmodium falciparum* pela caracterização de clones isolados de amostras da Região Amazônica Brasileira. *Cadernos de Saúde Pública* 2:241-244, 1986.
6. Di Santi SM, Neves VLFC, Boulos M, Dutra AP, Ramos AMSV, Santos M, Barata LCB. Avaliação da resposta do *Plasmodium falciparum* à cloroquina, quinino e mefloquina (1). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 30:147-152, 1988.
7. Knowles G, Davidson WL, Jolley D, Alpers MP. The relationship between the *in vitro* response of

Couto AA, Calvosa VS, Santos MA, Souza JM. Evolução temporal da resistência in vivo do *Plasmodium falciparum* às drogas antimaláricas em duas áreas da Amazônia Brasileira com distintas características sócio-econômicas e geográficas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 28:357-365, out-dez, 1995.

- Plasmodium falciparum* to chloroquine, quinine and mefloquine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 78:146-150, 1984.
8. Kremsner PG, Zotter GM, Feldmeir H, Graninger W, Kollaristsch M, Wiedermann G, Rocha RM, Wernsdorfer WH. *In vitro* drug sensitivity of *Plasmodium falciparum* in Acre, Brazil. *Bulletin of the World Health Organization* 67: 289-293, 1989.
 9. Marques AC. Migration and the dissemination of malaria in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81(supl 2):17-30, 1986.
 10. Ministério da Saúde - Superintendência de Campanhas de Saúde Pública - Diretoria Regional do Pará. Relatório técnico da operação impacto contra a malária, 1986.
 11. Neiva A. Über die bildung einer chininresistente rase des malariaparasiten. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2:131-140, 1910.
 12. Payne D. Practical aspects of the use of the standard World Health Organization *in vitro* macro and microtest system for the determination of the sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, amodiaquine and quinine. *MAP/84.2*, 01-17, 1984.
 13. Payne D. Report on development of the World Health Organization standard microtest kit for chloroquine, mefloquine, amodiaquine and quinine: 1979-1985. *MAP/86.1*, 01-19, 1986.
 14. Rieckmann KH, Sax LJ, Campbel GH, Mrena JE. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique. *The Lancet* I: 22-23, 1978.
 15. Rosário VE, Couto AA, Santos MA, Oliveira SG. Caracterização de *Plasmodium falciparum*: Estudos realizados no Brasil. *In: Instituto Evandro Chagas; 50 Anos de Contribuição às Ciências Biológicas e à Medicina Tropical (Belém-Pará). Fundação Serviços de Saúde Pública* 1: 133-154, 1986.
 16. Rosário VE, Couto AA, Santos MA, Souza JM. Caracterização de cepas de *Plasmodium falciparum* coletadas de pacientes recrudescentes. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 27: 274-278, 1985.
 17. Rosário VE, Couto AA, Vasconcelos SMA, Oliveira SG. Cloning and characterization of *Plasmodium falciparum* strains. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81(suppl.II): 143-148, 1986.
 18. Santos MAV, Couto AA, Oliveira SG, Rosário VE. Estudos *in vitro* dos níveis de resistência do *Plasmodium falciparum* a drogas, de 1983 à 1986. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 29: 346-353, 1987.
 19. Sawyer D. Frontier malaria in the Amazon region of Brazil. Type of malaria situation and some implication for control. Working paper prepared for the meeting of TDR/Fieldmal/SC/Amazon 88:3, 1988.
 20. Silva JR. Terçã maligna "cloroquina-resistente" - uma séria ameaça ao "Hinterland" brasileiro. *Tribuna Médica* 4:2-6, 1961.
 21. Silva JR. Resistência do *P. falciparum* à ação da cloroquina. *O Hospital* 60: 43-58, 1961.
 22. Souza JM. Epidemiological distribution of *Plasmodium falciparum* drug resistance in Brazil and its relevance to the treatment and control of malaria. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87(supl III): 343-348, 1992.
 23. Thaithong S, Beale GH, Chutmongkonkul M. Variability in drug susceptibility amongst clones and isolates of *Plasmodium falciparum*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 82:33-36, 1988.
 24. Uchoa RS, Souza JM, Pinto AYN, Calvosa VSP, Almeida PMM, Silva SB, Santos MA, Abdon NP, Campos JR, Cereja LN. Casos de malária autóctone na grande Belém em 1993. *In: Resumos do XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Belém* p. 410, 1994.
 25. Vasconcelos MA, Rosário VE. Testes de sensibilidade *in vitro* de amostras de *Plasmodium falciparum* da bacia Amazônica (Brasil). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 25: 21-28, 1983.
 26. Webster HK, Thaithong S, Pavanand K, Yong-Vanttchit K, Pinswasdi C, Boudreau EI. Cloning and characterization of mefloquine-resistant *Plasmodium falciparum* from Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 34:1022-1027, 1985.
 27. World Health Organization. Instructions for use of the micro-test kit for the assessment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and mefloquine *in vitro*. *MAP/82.1*, 1-9, 1982.
 28. World Health Organization. *In vitro* micro-test (mark II) for the assesement of the response of

Couto AA, Calvosa VS, Santos MA, Souza JM. Evolução temporal da resistência in vivo do *Plasmodium falciparum* às drogas antimaláricas em duas áreas da Amazônia Brasileira com distintas características sócio-econômicas e geográficas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 28:357-365, out-dez, 1995.

Plasmodium falciparum to chloroquine, mefloquine, quinine, sulfadoxine-pyrimethamine and amodiaquine. *MAP/87.2*, 1-21, 1987.

29. Young MD, Moore DV. Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *The American Journal*

of Tropical Medicine and Hygiene 10:317-320, 1961.