

REVISIONES

REVISTA ARGENTINA DE SALUD PÚBLICA

FECHA DE RECEPCIÓN: 13 de enero de 2020

FECHA DE ACEPTACIÓN: 17 de febrero de 2020

FECHA DE PUBLICACIÓN: 01 de julio de 2020

***AUTOR DE CORRESPONDENCIA:**

jose.enrique.oliva@hotmail.com

DIVERSIDAD GENÉTICA DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*

Genetic diversity of Plasmodium falciparum

***José Enrique Oliva Menacho**¹. Lic. en Tecnología Médica. Mg. en Docencia e Investigación en Salud.

¹ Facultad de Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: La diversidad genética le confiere a *Plasmodium falciparum* la capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero y producir variantes resistentes a medicamentos y a vacunas. Diferentes autores han documentado la existencia de cepas o clones de *P. falciparum*, cuya diversidad genética se ha confirmado a través de distintos ensayos de PCR (reacción en cadena de la polimerasa). El objetivo fue describir la diversidad genética de *P. falciparum*. MÉTODOS: Para la revisión narrativa se hizo una búsqueda de literatura publicada, que incluyó libros y artículos científicos originales, verificando el tema, así como reportes técnicos. Los documentos se consultaron entre agosto y diciembre de 2019 a través del acceso en Internet y bibliotecas del *Academic Search Complete* del gestor de búsquedas Medline, Science Direct, Scopus, Redalyc y Psycodoc. RESULTADOS: Se identificaron secuencias polimórficas útiles como marcadores genéticos de las poblaciones de *P. falciparum*, con los genes de las proteínas de superficie del merozoito 1 y 2 (MSP-1, MSP-2) y el gen de la proteína rica en glutamato (GLURP), que producen variantes resistentes a medicamentos y a vacunas. DISCUSIÓN: Los hallazgos en las diferentes regiones estudiadas permiten concluir que la diversidad genética, la multiplicidad de infección y la dinámica en el tiempo de las infecciones por *P. falciparum* se ven afectadas por el grado de endemidad de la malaria en cada país.

PALABRAS CLAVE: Malaria; Plasmodium Falciparum; Diversidad Genética; Epidemiología; Inmunidad.

ABSTRACT. INTRODUCTION: Genetic diversity gives *Plasmodium falciparum* the ability to evade the host's immune response and produce drug- and vaccine-resistant variants. Different authors have documented the existence of strains or clones of *P. falciparum*, whose genetic diversity has been confirmed through different PCR (polymerase chain reaction) assays. The goal was to describe the genetic diversity of *P. falciparum*. METHODS: For the narrative review a search of published literature was conducted, that included books, original scientific articles, verifying the subject, and technical reports. The documents were consulted in August and December 2019 through Internet access and libraries of the *Academic Search Complete* of search engine Medline, Science Direct, Scopus, Redalyc and Psycodoc. RESULTS: Polymorphic sequences useful as genetic markers of *P. falciparum* populations were identified, with the genes of the merozoite surface proteins 1 and 2 (MSP-1, MSP-2) and the gene of the glutamate-rich protein (GLURP) that produce drug- and vaccine-resistant variants. DISCUSSION: According to the findings in the different regions studied, the genetic diversity, the multiplicity of infection and the time dynamics of *P. falciparum* infections are affected by the degree of endemicity of malaria in each country.

KEY WORDS: Malaria; Plasmodium falciparum; Genetic diversity; Epidemiology; Immunity

INTRODUCCIÓN

El paludismo, o malaria, es una enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*. De las cuatro especies de *Plasmodium* que afectan al hombre, *P. falciparum* se considera la más virulenta, ya que es responsable de la mayoría de muertes y de las formas graves de la enfermedad. La PCR se ha convertido en el método de elección para estudios de diversidad genética en *P. falciparum* en muestras recolectadas en el campo, sobre todo por la alta sensibilidad y especificidad para amplificar marcadores genéticos, su capacidad de revelar polimorfismos de longitud y la posibilidad de usar muestras pequeñas de sangre o mosquitos sin necesidad de realizar cultivos de parásitos, los cuales pueden conducir a una selección de clones. Según el último informe mundial de la Organización Mundial de la Salud¹ sobre paludismo, publicado en noviembre de 2018, se estima que en 2017 ocurrieron 219 millones de casos de malaria en todo el mundo, frente a 239 millones en 2010 y 217 millones en 2016. La cifra estimada de muertes por paludismo en 2018 fue de 435 000, número similar al del año anterior.

En América Latina, la transmisión de malaria ocurre principalmente en seis países (Brasil, Colombia, Guyana, Haití, Perú y Venezuela), y alrededor de 132 millones de personas se encuentran en riesgo de infección².

En el caso de Perú, la malaria es endémica en algunas zonas de la costa norte y posee una distribución importante en la región amazónica; el departamento de Loreto es el más afectado. En la Amazonía peruana, la enfermedad presenta una transmisión mayormente estacional, con picos de noviembre a mayo; en el caso de la costa norte, esto ocurre de abril a junio^{3,4}.

Aunque tanto *P. vivax* como *P. falciparum* son responsables de la transmisión de malaria en la cuenca amazónica (Perú y Brasil), aproximadamente el 77% de las infecciones se atribuyen a *P. vivax*, seguida de *P. falciparum*⁵.

En *P. falciparum*, el grado de diversidad se pudo demostrar inicialmente empleando marcadores bioquímicos en el estudio de poblaciones naturales del parásito. Posteriormente, el desarrollo de métodos moleculares basados en ADN, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permitió precisar diferencias genéticas dentro de la especie.

Hasta la fecha, las investigaciones realizadas sugieren que la diversidad genética de las poblaciones de *P. falciparum* varía de acuerdo con las características epidemiológicas de la región⁶⁻⁹.

Plasmodium es un protozoo con un ciclo de vida bastante complejo, que comprende una fase asexual o esquizogonia en el hospedero humano y una breve fase sexual obligatoria en el mosquito vector.

En el humano, la infección comienza con la picadura de la hembra del género *Anopheles* infectada, la cual introduce las formas del parásito denominadas esporozoítos, que circulan por corto tiempo e invaden las células hepáticas para formar los esquizontes tisulares. Estos lisan los hepa-

tocitos y liberan miles de merozoítos (10 000 a 30 000) que invaden los glóbulos rojos. Dentro del glóbulo rojo, los merozoítos maduran a los estadios de anillo, trofozoito y esquizonte eritrocítico. El esquizonte maduro rompe el eritrocito y libera merozoítos, que posteriormente invadirán otros glóbulos rojos.

Algunos de estos merozoítos sufren un proceso de diferenciación en formas sexuales denominadas microgametocitos y macrogametocitos, que son los estadios infectantes para el mosquito vector. Una vez que el parásito entra al intestino medio de *Anopheles*, ocurre la maduración y la fertilización de gametos; esto da como resultado la formación del cigoto, el cual se convierte en una forma móvil, denominada ooquinetos, que posteriormente se transforma en ooquiste. Esta última forma parasitaria contiene el producto meiótico y mitótico de un único cigoto y da lugar a los esporozoítos, que migran a las glándulas salivares del mosquito listas para infectar al humano en una nueva ingesta sanguínea¹⁰.

El objetivo de este trabajo fue describir la diversidad genética de *P. falciparum* a fin de conocer variantes resistentes a medicamentos y a vacunas, teniendo en cuenta que el desarrollo de medidas de control efectivas en las diferentes regiones con transmisión de la enfermedad requiere, entre otros aspectos, comprender la estructura genética de *P. falciparum*.

MÉTODOS

Para la revisión narrativa se hizo la búsqueda de literatura publicada, que incluyó libros, artículos científicos originales, verificando el tema, y reportes técnicos. Los documentos se consultaron entre agosto y diciembre de 2019 a través del acceso en Internet y bibliotecas del *Academic Search Complete* del gestor de búsquedas Medline, Science Direct, Scopus, Redalyc y Psycodoc. Se recurrió además a las bases de datos bibliográficas de la Organización Mundial de la Salud, la Organización Panamericana de la Salud y SciELO. Finalmente, se consultaron bibliografías citadas en artículos indexados.

RESULTADOS

Entre las secuencias polimórficas que han sido de utilidad como marcadores genéticos de las poblaciones de *P. falciparum* se encuentran los genes de las proteínas de superficie del merozoito 1 y 2 (MSP-1^{11,12}, MSP-2¹³⁻¹⁶) y el gen de la proteína rica en glutamato (GLURP)¹⁷⁻²¹.

Para MSP-1 y MSP-2 se han descrito dos tipos de polimorfismo, en secuencia y en tamaño, mientras que para GLURP sólo se ha observado polimorfismo en tamaño.

El gen MSP-1 es de copia única y está localizado en el cromosoma 9^{22,23}. Codifica uno de los antígenos más estudiados de la fase eritrocítica del parásito y se ha señalado como un potencial candidato para vacuna. La comparación de secuencias de nucleótidos de MSP-1 en diferentes clones de laboratorio ha permitido identificar 17 bloques o dominios: 7 altamente variables, 5 conservados y 5 semi-conservados. Los bloques variables (2, 4, 6, 8, 10, 14, 16)

presentan dos alelos denominados MAD20 y K1^{24,25}; una excepción es el bloque 2, que cuenta con el alelo adicional RO33²⁶⁻²⁸ (ver Figura 1). Los alelos MAD20 y K1 presentan diferentes unidades de secuencias repetidas, mientras que el alelo RO33 consta de una secuencia única.

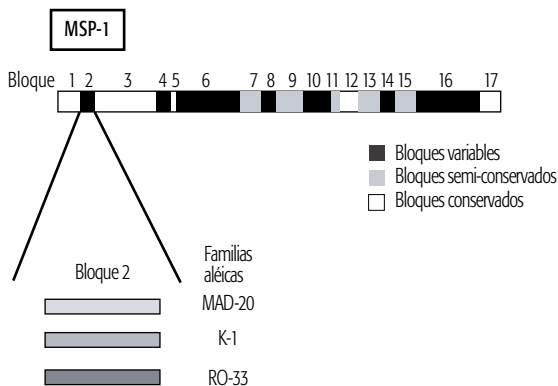
El MSP-2 es un gen en el cromosoma 2^{24,26, 29-31} que codifica una proteína de superficie también considerada candidata para vacuna en el tratamiento. Se puede clasificar en dos familias alélicas denominadas FC27 (FC) e IC/3D7 (IC), que derivan igualmente su nombre de las líneas de parásitos en las cuales fueron inicialmente observadas^{30,31}.

El gen GLURP, localizado en el cromosoma 10^{17,22, 32-39}, codifica una proteína inmunodominante rica en glutamato. Presenta una región central conservada no repetida, rodeada por dos repetidas. Una de estas regiones repetidas, denominada R II, de aproximadamente 60 pares de bases, varía entre las diferentes cepas de parásitos, por lo cual es ampliamente utilizada en los estudios de diversidad genética de *P. falciparum*³⁸ (ver Figura 2).

DISCUSIÓN

En 1997 Conway, entre otros, mostró que la frecuencia de familias alélicas del gen MSP-1 difería en varios países; en el sureste de Asia y en el este africano, la familia alélica denominada *Wellcome-like* tuvo una frecuencia de entre 25% y 50%, pero presentó una frecuencia menor a 1% en el oeste de África y en Brasil^{40,41}.

FIGURA 1. A) Representación esquemática del gen de la proteína de superficie del merozoito 1 (MSP 1). B) Familias alélicas de diversidad genética en *P. falciparum* del bloque 2 del gen MSP 1.



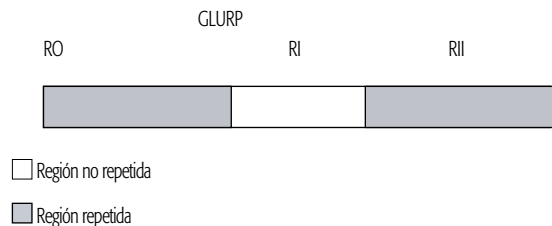
Asimismo, en 1991, Scherf fue uno de los que encontró grandes diferencias en la frecuencia con la que se presentaba el alelo RO33^{42,43} del gen MSP-1 en Brasil y en Senegal (en Brasil era mucho más alta⁴²).

En regiones con transmisión inestable, como Honduras⁴⁴ y Colombia⁴⁵, se ha encontrado una distribución de alelos del gen MSP-1^{46,47} en la que predomina el alelo MAD-20 sobre el K-1^{48,49}. Sin embargo, en regiones de transmisión alta, como Tanzania y Senegal, esta distribución es invertida⁴⁸⁻⁵².

Las secuencias polimórficas que han sido de utilidad como marcadores genéticos de las poblaciones de *P. falciparum* se encuentran los genes MSP-1, MSP-2 y el gen GLURP, codifican uno de los antígenos más estudiados de la fase eritrocítico del parásito y se han señalado como un potencial candidato para vacunas. Los hallazgos en las diferentes regiones estudiadas permiten concluir que la diversidad genética, la multiplicidad de infección y la dinámica en el tiempo de las infecciones por *P. falciparum* se ven afectadas por el grado de endemidad de la malaria en cada país.

Sería importante realizar futuros estudios de la asociación del genotipo humano con los diferentes cuadros clínicos de la malaria, lo cual podría evaluarse investigando la variabilidad en los genes del antígeno leucocitario humano, así como la capacidad de generar interleuquinas y otros receptores involucrados en la citoadherencia del eritrocito infectado.

FIGURA 2. Representación esquemática del gen de la proteína rica en glutamato (GLURP).



*RO: Región N-terminal no repetitiva GLURP.

†RI: Una región de repetición central.

‡RII: C-terminal región repetitiva GLURP genera péptido que incluye el epitopo inmunodominante. La región RII es ampliamente utilizada en los estudios de diversidad genética.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: no los hubo durante la realización del estudio.

Cómo citar este artículo: Oliva Menacho JE. Diversidad genética de *Plasmodium falciparum*. *Rev Argent Salud Pública*. 2020;12:e4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Organización Mundial de la Salud. World Malaria Report, 2018. Washington DC: OPS; 2018.
- ² Organización Mundial de la Salud. World Malaria Report, 2016 [Internet]. Washington DC: OPS; 2016 [citado 08 May 2020]. Disponible en: <http://www.who.int/malaria/publications/worldmalaria-report-2016/report/en/>
- ³ Ministerio de Salud, Dirección General de Epidemiología. Sala situacional para el Análisis de Situación de Salud 2009 - SE52 [Internet]. 2009 [citado 19 Feb 2020]. Disponible en: http://www.dge.gob.pe/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=428
- ⁴ Ministerio de Salud, Dirección General de Epidemiología. Sala situacional para el Análisis de Situación de Salud 2017 - SE27 [Internet]. 2017 [citado 19 Feb 2020]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2020/salaSE17.pdf>
- ⁵ Organización Panamericana de la Salud. Report on the Situation of Malaria in the Americas, 2008. Washington DC: OPS; 2009.
- ⁶ Babiker HA, Lines J, Hill WG, Walliker D. Population structure of *Plasmodium falciparum* in villages with different malaria endemicity in east Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;56:141-147.
- ⁷ Paul RE, Packer MJ, Walmsley M, Lagog M, Ranford-Cartwright LC, Paru R, et al. Mating patterns in malaria parasite populations of Papua New Guinea. *Science.* 1995;269:1709-1711.
- ⁸ Marques PX, Saute F, Pinto VV, Cardoso S, Pinto J, Alonso PL, et al. *Plasmodium* species mixed infections in two areas of Manhica District, Mozambique. *Int J Biol Sci.* 2005;1:96-102.
- ⁹ Beale G, Carter R, Walliker D. Genetics. En: Killick-Kendrick R, Peters W, editores. *Rodent malaria*. Londres: Academic Press; 1978.
- ¹⁰ Fujioka H, Aikawa M. The malaria parasite and lifecycle. En: Wahlgren M, Perlmann P, editores. *Malaria molecular and clinical aspects*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1999.
- ¹¹ Kimura E, Mattei D, Di Santi SM, Scherf A. Genetic diversity in the major merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum*: high prevalence of a third polymorphic form detected in strains derived from malaria patients. *Gene.* 1990;91:57-62.
- ¹² Holder A. The precursor to major merozoite surface antigens: structure and role in immunity. *Prog Allergy.* 1988;41:72-97.
- ¹³ McBride JS, Walliker D, Morgan G. Antigenic diversity in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science.* 1982;217:254-257.
- ¹⁴ Fenton B, Clark JT, Khan CM, Robinson JV, Walliker D, Ridley R, et al. Structural and antigenic polymorphism of the 35-to-48 kilodalton merozoite surface antigen (MSA-2) of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Mol Cell Biol.* 1991;11:963-971.
- ¹⁵ Miettinen-Baumann A, Strych W, McBride J, Heidrich H. A 46,000 dalton *Plasmodium falciparum* merozoite surface glycoprotein not related to the 185,000-195,000 dalton schizont precursor molecule: isolation and characterization. *Parasitol Res.* 1988;74:317-323.
- ¹⁶ Saul A, Lord R, Jones G, Geysen M, Gale J, Moilard R. Cross-reactivity of antibody against an epitope of the *Plasmodium falciparum* second merozoite surface antigen. *Parasite Immunol.* 1989;11:593-601.
- ¹⁷ Borre MB, Dziegiel M, Hogh B, Petersen E, Rieneck K, Riley E, et al. Primary structure and localization of a conserved immunogenic *Plasmodium falciparum* glutamate-rich protein (GLURP) expressed in both the preerythrocytic and erythrocytic stages of the vertebrate life-cycle. *Mol Biochem Parasitol.* 1991;49:119-131.
- ¹⁸ Olson KC, Pai RC. Purification and activity assurance of precipitated heterologous proteins. United States Patent, Number 4,512,922. 1985;4:503-511.
- ¹⁹ Ravetch J, Kochan J, Perkins M. Isolation of the gene for a glycoprotein-binding protein implicated in erythrocyte invasion by a malaria parasite. *Science.* 1985;227:1593-1597.
- ²⁰ Favaloro JM, Coppel RL, Corcoran L, Foote SJ, Brown GV. Structure of the RESA gene of *Plasmodium falciparum*. *Nucleic Acids Res.* 1986;14:8265-8277.
- ²¹ Albert B, Bray D, Lewis J, Raft M, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell. Nueva York: Garland; 1989.
- ²² Triglia T, Wellem TE, Kemp DJ. Toward a high-resolution map of the *Plasmodium falciparum* genome. *Parasitol Today.* 1992;8:225-229.
- ²³ Shirley MW. Chromosome 9 from independent clones and isolates of *Plasmodium falciparum* undergoes subtelomeric deletions with similar breakpoints in vitro. *Mol Biochem Parasitol.* 1990;40:137-146.
- ²⁴ Tanabe K, Mackay M, Goman M, Scaife JG. Allelic dimorphism in a surface antigen gene of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J Mol Biol.* 1987;195:273-287.
- ²⁵ Mackay M, Goman M, Bone N, Hyde JE, Scaife C, Stunnenberg H, et al. Polymorphism of the precursor for the major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites: studies at the genetic level. *EMBO J.* 1985;4:3823-3829.
- ²⁶ Certa U, Rotmann D, Matile H, Reber-Liske R. A naturally occurring gene encoding the major surface antigen precursor p190 of *Plasmodium falciparum* lacks tripeptide repeats. *EMBO J.* 1987;6:4137-4142.
- ²⁷ Holder A, Lockyer J, Odink K, Sandhu J, Riveros-Moreno V, Nicholls S, et al. Primary structure of the precursor to the three major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites. *Nature.* 1985;317:270-273.
- ²⁸ Holder A, Sandhu J, Hillman Y, Davey L, Nicholls S, Cooper H, et al. Processing of the Precursor to the Major Merozoite Surface Antigens of *Plasmodium falciparum*. *Parasitology.* 1987;94:199-208.
- ²⁹ Thaitong S, Beale GH, Fenton B, McBride J, Rosario V, Walker A, et al. Clonal diversity in a single isolate of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78:242-245.
- ³⁰ Smythe JA, Peterson MG, Coppel RL, Saul AJ, Kemp DJ, Anders RF. Structural diversity in the 45-kilodalton merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol.* 1990;39:227-234.
- ³¹ Epping R, Goldstone S, Ingram L, Upcroft J, Ramasamy R, Cooper J, Bushell G, Geysen, H.M. An epitope recognised by inhibitory monoclonal antibodies that react with a 51-kilodalton merozoite surface antigen in *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol.* 1988; 28:1-10.
- ³² Lanzer M, Bruin D, Ravetch J. Transcription mapping of a 100 kb locus of *Plasmodium falciparum* identifies an intergenic region in which transcription terminates and reinitiates. *EMBO J.* 1992;5:1949-1955.
- ³³ Hajar G, Quino H, Padilla C, Montoya I. Genetic variability of *Plasmodium falciparum* in patients with severe and uncomplicated malaria in Iquitos - Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2002;19:131-135.
- ³⁴ Ayala E, Lescano AG, Gilman RH, Calderon M, Pinedo V, Terry H, et al. Polymerase chain reaction and molecular genotyping to monitor parasitological response to anti-malarial chemotherapy in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;74:546-553.
- ³⁵ Tobón A, Giraldo C, Píneros J, Arboleda M, Blair S, Carmona J. Epidemiology of complicated *falciparum* malaria: a case-control study in Tumaco and Turbo, Colombia, 2003. *Rev Bras Epidemiol.* 2006;9(3):283-296.
- ³⁶ Su X, Ferdig MT, Huang Y, Huynh CQ, You J, Wootton JC, et al. A genetic map and recombination parameters of human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science.* 1999;286:1351-1353.
- ³⁷ Creasey A, Fenton B, Walker A, Thaitong S, Oliveira S, Mutambu S, et al. Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* shows geographical variation. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;42:403-413.
- ³⁸ Contamin H, Fandeur T, Bonnefoy S, Skouri F, Ntoumi F, Mercereau-Pujalon O. PCR typing of field isolates of *Plasmodium falciparum*. *J Clin Microbiol.* 1995;33:944-951.
- ³⁹ Liljander A, Wiklund L, Falk N. Optimization and Validation of Multi-Coloured Capillary Electrophoresis for Genotyping of *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Proteins (msp1 and 2). *Malar J.* 2009; 8:1-14.
- ⁴⁰ Conway DJ. Natural selection on polymorphic malaria antigens and the search for a vaccine. *Parasitol Today.* 1997;13:26-29.
- ⁴¹ Hughes AL. Positive selection and iterational recombination at the merozoite surface antigen-1 (MSA-1) locus of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biol Evol.* 1992;9:381-393.
- ⁴² Scherf A, Mattei D, Sarthou JL. Multiple infections and unusual distribution of block 2 of the MSA1 gene of *Plasmodium falciparum* detected in West African clinical isolates by polymerase chain reaction analysis. *Mol Biochem Parasitol.* 1991; 44:297-299.
- ⁴³ Kimura E., Mattei D, Maria di Santi S, Scherf A. Genetic diversity in the major merozoite surface antigens of *Plasmodium falciparum*: high prevalence of a third polymorphic form detected in strains derived from malaria patients. *Gene.* 1990; 91: 57-62.

⁴⁴ Haddad D, Snounou G, Mattei D, Enamorado IG, Figueroa J, Stahl S et al. Limited genetic diversity of *Plasmodium falciparum* in field isolates from Honduras. *Am J Trop Med Hyg*.1999;60:30-34.

⁴⁵ Montoya L, Maestre A, Carmona J, Lopes D, Do Rosario V, Blair S. *Plasmodium falciparum*: diversity studies of isolates from two Colombian regions with different endemicity. *Exp Parasitol*. 2003;104:14-19.

⁴⁶ Arley F, Hommel D, Le Scanf C, Duchemin JB, Peneau C, Hulin A, et al. Association of severe malaria with a specific *Plasmodium falciparum* genotype in French Guiana. *J Infect Dis*. 2001;184:237-241.

⁴⁷ Rout R, Mohapatra BN, Kar SK, Ranjit M. Genetic complexity and transmissibility of *Plasmodium falciparum* parasites causing severe malaria in central-east coast India. *Trop Biomed*. 2009;26:165-172.

⁴⁸ Aubouy A, Migot-Nabias F, Deloron P. Polymorphism in two merozoite surfa-

ce proteins of *Plasmodium falciparum* isolates from Gabon. *Malar J*. 2003;2:1-6.

⁴⁹ Kang JM, Moon SU, Kim JY, Cho SH, Lin K, Sohn WM, et al. Genetic polymorphism of merozoite surface protein-1 and merozoite surface protein-2 in *Plasmodium falciparum* field isolates from Myanmar. *Malar J*. 2010;9:131.

⁵⁰ Amodu OK, Adeyemo AA, Ayoola OO, Gbadegesin RA, Orimadegun AE, Akinsola AK, et al. Genetic diversity of the msp-1 locus and symptomatic malaria in south-west Nigeria. *Acta Trop*. 2005;95:226-232.

⁵¹ Magesa SM, Mdira KY, Babiker HA, Alifrangis M, Farnert A, Simonsen PE, et al. Diversity of *Plasmodium falciparum* clones infecting children living in a holoendemic area in north-eastern Tanzania. *Acta Trop*. 2002;84:83-92.

⁵² Mawili-Mboumba DP, Bouyou-Akotet MK, Kendjo E, Nzamba J, Medang MO, Mbina JR; MCOU team. Increase in malaria prevalence and age of at risk population in different areas of Gabon. *Malar J*. 2013;12:1-7.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.