

2

Plasmódios e Malária

*Marcelo Urbano Ferreira, Mônica da Silva Nunes e
Kézia Katiani Gorza Scopel*

- ▶ Introdução, 8
- ▶ Aspectos biológicos, 8
- ▶ Aspectos clínicos, 10
- ▶ Diagnóstico laboratorial da malária, 13
- ▶ Tratamento da malária, 15
- ▶ Prevenção e controle da malária, 17
- ▶ Bibliografia, 21
- ▶ Leitura sugerida, 21



► Introdução

A malária é uma das principais doenças parasitárias da atualidade, com 130 a 400 milhões de casos anuais. Mais de 85% desses casos ocorrem nas áreas de savana e floresta equatorial da África Subsaariana; nessa região, cerca de 1 milhão de pessoas, principalmente crianças abaixo de 5 anos de idade e gestantes, morrem de malária a cada ano. Quase a metade da população mundial vive em áreas com transmissão de malária distribuídas na África, na Ásia, na Oceania e nas Américas. No Brasil, as principais áreas endêmicas encontram-se na Amazônia Legal, onde se registram a cada ano cerca de 300.000 casos novos de malária.

Quatro espécies de plasmódios são classicamente reconhecidas como agentes etiológicos da malária humana: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. *Plasmodium falciparum* predomina na África, sendo a espécie encontrada em 80 a 90% das infecções nesse continente. *P. malariae* é a segunda espécie mais prevalente, e *P. ovale* é relativamente incomum. *P. vivax* não ocorre na África Ocidental e é raro na África Oriental. Nas Américas, *P. vivax* tornou-se a espécie predominante; as demais espécies prevalentes são *P. falciparum* e *P. malariae*. Uma quinta espécie, *P. knowlesi*, é um parasito típico de macacos do Velho Mundo que pode infectar seres humanos, especialmente no Sudeste Asiático (Daneshvar *et al.*, 2009).

► Aspectos biológicos

Os plasmódios apresentam um ciclo vital complexo (Figura 2.1). A infecção humana inicia-se com a inoculação no tecido subcutâneo, durante o repasto sanguíneo, de 15 a 200 *esporozoítos* provenientes das glândulas salivares de mosquitos fêmeas do gênero *Anopheles*. Do subcutâneo, os esporozoítos chegam à corrente sanguínea ou linfática. Se alcançarem os vasos sanguíneos, chegam ao fígado cerca de 30 min após a inoculação, onde são capturados por células de Küpffer e passam por diversos hepatócitos até se estabelecerem em um deles. Concluída a fase de migração por diferentes células, os esporozoítos originam, no interior do hepatócito, estágios esféricos uninucleares conhecidos como *criptozoítos*. Se caírem em vasos linfáticos, deixam de sofrer desenvolvimento ulterior, mas podem induzir resposta imune do hospedeiro ao chegarem aos linfonodos (Amino *et al.*, 2006). Demonstrou-se recentemente, em modelos experimentais, que alguns parasitos podem permanecer na derme e lá desenvolver-se. No fígado, a divisão nuclear dos *criptozoítos* origina uma célula multinucleada conhecida como *esquizonte*. Ao final de 8 a 15 dias, o hepatócito parasitado libera dezenas de milhares de *merozoítos* (Figura 2.2), envoltos em uma vesícula conhecida como *merossomo*, na luz de sinusoides hepáticos. *Esquizogonia* é o processo de repro-

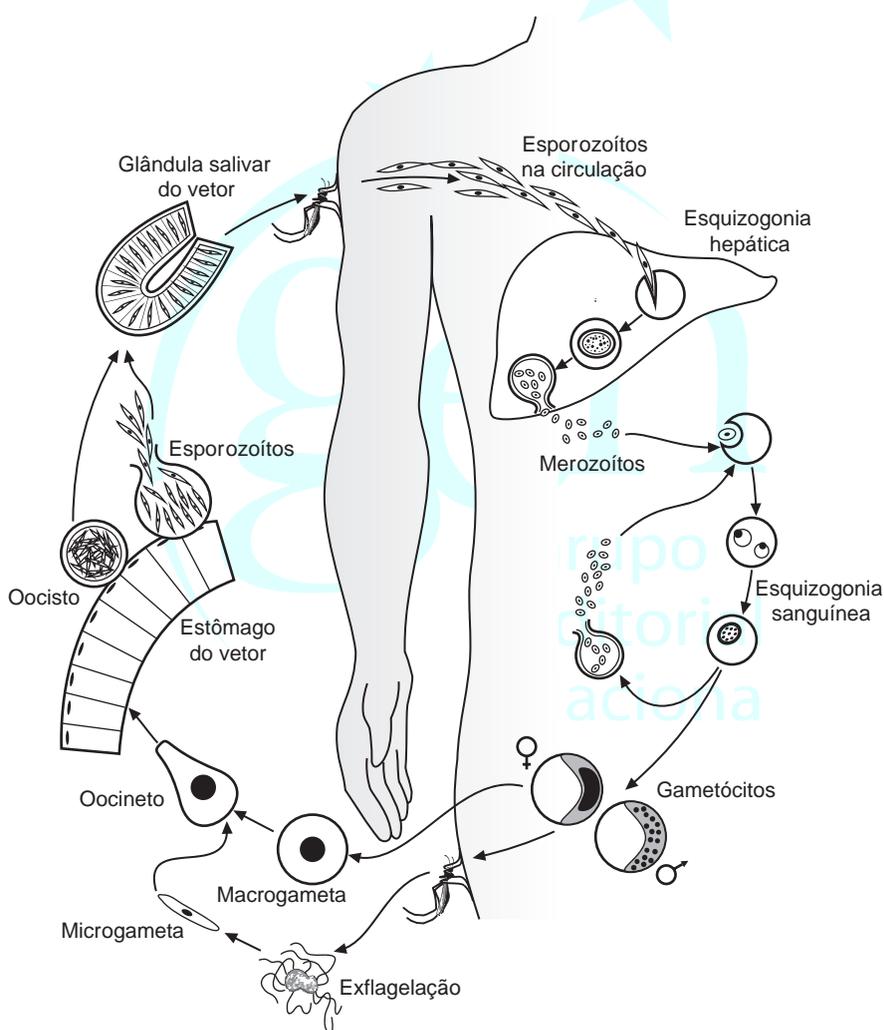


Figura 2.1 Ciclo vital dos plasmódios que infectam o homem. Observe que, neste ciclo genérico, não são representados os hipnozoítos que ocorrem em *P. vivax* e *P. ovale*. As etapas de desenvolvimento do parasito no vetor estão simplificadas.

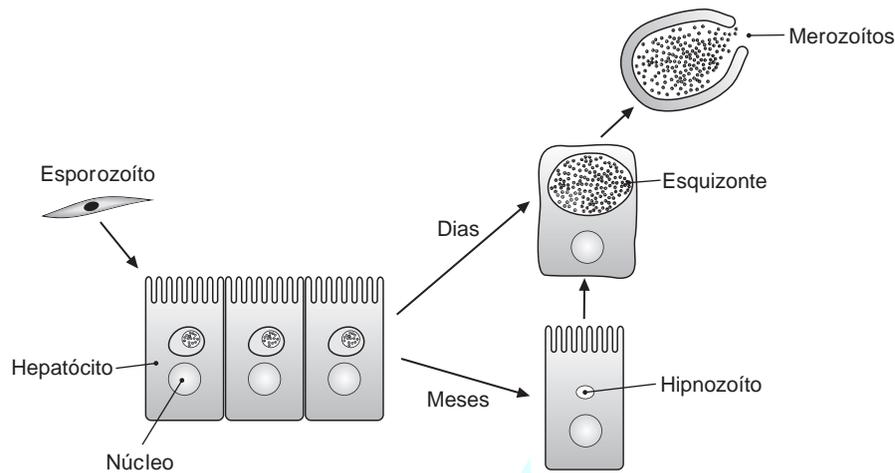


Figura 2.2 Hipnozoítos e a esquizogonia exoeritrocitária em *Plasmodium vivax* e *P. ovale*. Os esporozoítos que penetram hepatócitos podem multiplicar-se intensamente ao longo dos próximos 8 a 15 dias, originando milhares de merozoítos a serem liberados na corrente sanguínea (esquizogonia exoeritrocitária), ou podem permanecer dormentes no interior da célula hospedeira, por semanas ou meses, sob a forma de hipnozoítos.

dução assexuada que resulta na formação do esquizonte, que, por sua vez, dará origem aos merozoítos. A esquizogonia que ocorre em hepatócitos é conhecida como esquizogonia hepática, tecidual, pré-eritrocitária ou exoeritrocitária, para distingui-la dos ciclos esquizogônicos que posteriormente ocorrem nas hemácias.

Em *P. vivax* e *P. ovale*, alguns esporozoítos originam formas dormentes intra-hepáticas conhecidas como hipnozoítos (Figura 2.2). Semanas ou meses depois da infecção primária, os hipnozoítos podem reativar-se, resultando nas recaídas tardias típicas da infecção humana por *P. vivax* e *P. ovale* (Tabela 2.1). Não está claro se os merozoítos originados de hipnozoítos são geneticamente idênticos aos produzidos durante a infecção primária, logo após a inoculação dos esporozoítos. Os dados disponíveis sugerem que subpopulações distintas de esporozoítos de *P. vivax*, presentes no mesmo inóculo, podem passar ou não pelo estágio de hipnozoítos antes de sofrerem a esquizogonia hepática.

Os merozoítos invadem exclusivamente hemácias. O processo de invasão envolve cinco etapas, representadas na Figura 2.3. Ocorre inicialmente o reconhecimento, a distância, de receptores da superfície da hemácia, seguido da reorientação do merozoíto. Nessa etapa do processo invasivo, o parasito posiciona seu polo apical, que contém as estruturas que formam o chamado complexo apical (roptrias, micronemas, grânulos densos e anel polar), em contato com a membrana da hemácia. No interior de roptrias e micronemas encontram-se diversas moléculas, especialmente proteases, que serão secre-

tadas durante o processo de invasão celular, facilitando a invaginação da membrana da hemácia. Para sua entrada na célula, o parasito estabelece interações de alta afinidade com receptores da hemácia, a partir de seu polo apical. Utiliza seus feixes de actina e miosina para impulsionar-se adiante, formando um vacúolo à medida que penetra a célula. Finalmente, o merozoíto descarta suas moléculas que interagem com a membrana da hemácia, permitindo o fechamento do vacúolo que se formou durante a invasão.

Plasmodium vivax parasita principalmente reticulócitos, enquanto *P. falciparum* invade hemácias de todas as idades, ainda que apresente preferência por hemácias jovens. Em geral, *P. vivax* somente parasita hemácias que expressam o grupo sanguíneo Duffy, também conhecido como *Duffy antigen receptor for chemokines* (DARC) na literatura de língua inglesa. Durante o contato inicial entre o parasito e a hemácia, DARC serve como receptor para uma molécula que os merozoítos expressam em sua superfície; portanto, indivíduos Duffy-negativo (frequentemente encontrados na África Ocidental), que não expressam DARC em seus eritrócitos, são geralmente refratários à infecção sanguínea por *P. vivax*. A proteína de *P. vivax* responsável pela interação com DARC, conhecida como *Duffy binding protein* (DBP), constitui-se excelente alvo potencial para o desenvolvimento de vacinas contra esse parasito (Chitnis & Sharma, 2008). Anticorpos naturalmente adquiridos contra a DBP são capazes de inibir a interação entre o parasito e a DARC, reduzindo o risco de infecção (King *et al.*, 2008). Entretanto, há relatos recentes de infecções por *P. vivax* em indivíduos Duffy-negativos da

Tabela 2.1 Características biológicas dos plasmódios humanos.

	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>
Período de incubação	8-27 dias	15-30 dias	8-25 dias	9-17 dias
Presença de hipnozoítos	Sim	Não	Não	Sim
Duração do ciclo eritrocitário	48 h	72 h	48 h	48 h
Número de merozoítos por esquizonte tecidual	10.000	2.000	40.000	15.000
Parasitemia (mm ³)				
– Média	20.000	6.000	50.000 a 500.000	9.000
– Máxima	50.000	20.000	2.500.000	30.000
Duração máxima da infecção não tratada (anos)	Até 4	Até 50	Até 2	Até 4

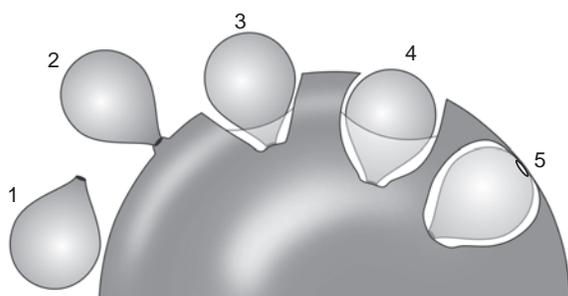


Figura 2.3 Representação esquemática do processo de invasão de hemácias por merozoítos de plasmódios. **1.** Reconhecimento, a distância, de receptores da superfície da hemácia. **2.** Reorientação da posição do merozoíto, de modo a colocar seu polo apical em contato direto com a membrana da hemácia. **3.** Invaginação da membrana da hemácia. **4.** Interações de alta afinidade de moléculas do merozoíto com receptores da hemácia, inicialmente em seu polo apical e estendendo-se até seu polo posterior, facilitando a penetração do merozoíto, que forma um vacúolo à medida que penetra célula. **5.** Descarte das moléculas que interagem com a membrana da hemácia, possibilitando o fechamento do vacúolo que se formou durante a invasão, com o merozoíto em seu interior.

África Oriental (Ménard *et al.*, 2010) e do Brasil (Cavasini *et al.*, 2007), sugerindo que esse parasito utilize receptores alternativos para a invasão. *Plasmodium falciparum* utiliza diversos receptores de eritrócitos para invadi-los; glicoforina A é o principal, mas hemácias que expressam formas variantes ou defeituosas deste receptor não são refratárias à infecção. Na superfície do merozoíto, diversas moléculas são capazes de exercer o papel de ligantes de receptores eritrocitários; a molécula parasitária provavelmente mais relevante nesta função é conhecida como EBA-175 (antígeno de ligação a eritrócitos, com massa molecular de 175 kDa) (Cowman & Crabb, 2006).

Os primeiros estágios intraeritrocitários são *trofozoítos*. No interior das hemácias ocorre nova esquizogonia; os esquizontes eritrocitários maduros apresentam entre 6 e 32 núcleos, cada um deles originando um merozoíto. Ao final da esquizogonia, os merozoítos são liberados na corrente sanguínea, coincidindo temporalmente com os picos febris periódicos característicos da malária. A saída dos merozoítos da hemácia exige a ruptura do vacúolo parasitóforo em que o parasito se instalou e da membrana celular da célula hospedeira (Figura 2.4). Primeiro rompe-se o vacúolo parasitóforo, como resultado da ação de proteases do parasito. Consequentemente, os merozoítos ficam livres no citosol da hemácia ainda intacta. A seguir, eleva-se subitamente a pressão intracelular e ocorre degradação do citoesqueleto da hemácia. Sua membrana celular rompe-se, liberando os merozoítos.

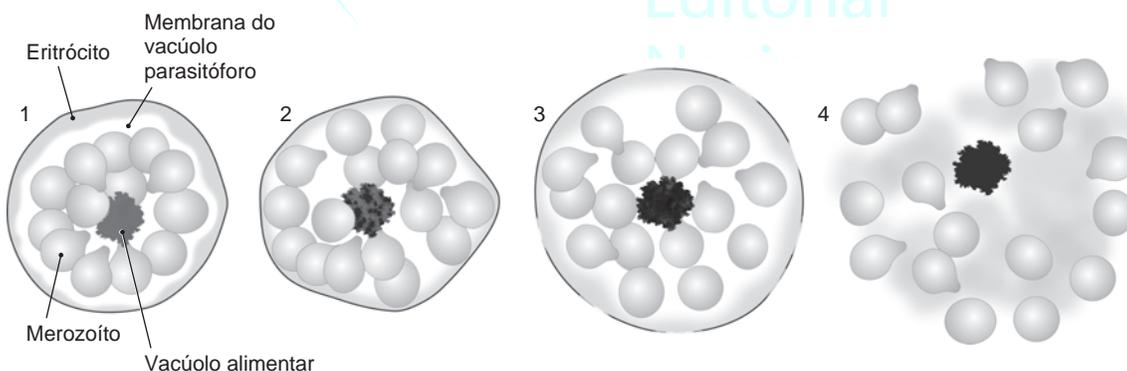


Figura 2.4 Saída dos merozoítos da hemácia infectada. **1.** Esquizonte maduro com merozoítos já formados. **2.** Ruptura do vacúolo parasitóforo, com liberação dos merozoítos no citosol da hemácia intacta. **3.** Aumento do diâmetro da hemácia como resultado da elevação da pressão intracelular e da degradação de seu citoesqueleto. **4.** Ruptura da membrana celular da hemácia liberando os merozoítos.

O intervalo entre os picos febris corresponde à duração da esquizogonia sanguínea em cada espécie (Tabela 2.1). Os merozoítos que invadem novas hemácias podem transformar-se em trofozoítos e posteriormente em esquizontes, ou alternativamente podem diferenciar-se em formas de reprodução sexuada, os *gametócitos*, infectantes para os mosquitos vetores.

A próxima fase do ciclo vital, conhecida como *esporogonia*, ocorre no mosquito. Os gametócitos ingeridos durante o repasto sanguíneo, diferentemente dos demais estágios eritrocitários do parasito, não são digeridos no estômago dos mosquitos. Em poucos minutos o gametócito masculino sofre a *exflagelação*, que resulta na formação de 6 a 8 gametas masculinos ou *microgametas*, enquanto os gametócitos femininos transformam-se em *macrogametas*. O zigoto formado pela fusão de microgametas e macrogametas transforma-se, em poucas horas, em um estágio móvel chamado *oocineto*. Ao penetrar a parede do estômago do mosquito, o oocineto transforma-se em *oocisto*, uma estrutura esférica que se aloja entre o epitélio e a membrana basal, em cujo interior se formam *esporozoítos*. Com a ruptura do oocisto, milhares de esporozoítos liberam-se e migram para as glândulas salivares dos mosquitos. A cada repasto sanguíneo, dezenas de esporozoítos são inoculadas no hospedeiro vertebrado. O ciclo esporogônico no mosquito dura de 10 a 17 dias.

Aspectos clínicos

Diversas infecções bacterianas e virais resultam em imunidade completa e duradoura após um único contato com o agente etiológico. Em contrapartida, a malária só induz imunidade parcial e de curta duração depois de vários anos de exposição contínua ao parasito. Por exemplo, as crianças de áreas rurais da África Subsaariana são geralmente expostas à malária desde o nascimento e passam a adoecer quando desaparece a proteção conferida pelos anticorpos maternos, adquiridos por passagem transplacentária, e pela elevada concentração de hemoglobina fetal. Anticorpos adquiridos naturalmente também se mostram eficientes no controle da infecção, quando transferidos passivamente do soro de indivíduos imunes para sujeitos em fase aguda da doença. Muitas dessas crianças pequenas desenvolvem malária grave, quando expostas a *P. falciparum*. A partir dos 5 anos de idade, entretanto, a malária grave é raramente observada nessas crianças, que parecem ter

desenvolvido certo grau de imunidade contra a doença (*imunidade clínica*), ainda que permaneçam suscetíveis à infecção e eventualmente a episódios clínicos leves. Adolescentes e adultos dessas comunidades rurais africanas, ainda que frequentemente alberguem baixas cargas parasitárias, raramente apresentam doença clinicamente manifesta. Gestantes são exceção, especialmente as primigestas, que podem desenvolver malária grave. Outra exceção conhecida são os africanos que permanecem por longos períodos de tempo fora de áreas endêmicas, com perda parcial ou completa da imunidade adquirida. No Brasil, há evidência de aquisição de imunidade clínica em populações da Amazônia, após vários anos de exposição ao parasito, embora os níveis de transmissão de malária sejam substancialmente inferiores aos observados na África (Alves *et al.*, 2002).

Entre indivíduos não imunes, como viajantes e migrantes provenientes de áreas não endêmicas, é comum a ocorrência de paroxismos característicos da malária, também chamados de *acessos palúdicos*. Os paroxismos iniciam-se com calafrios, acompanhados de mal-estar, cefaleia e dores musculares e articulares. Náuseas e vômitos são sintomas frequentes, podendo também ocorrer dor abdominal intensa. Em algumas horas inicia-se febre alta, que produz adinamia e prostração. A esta fase segue-se um período de sudorese profusa, com melhora progressiva do estado geral. Em geral, pacientes com infecção por *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale* têm paroxismos febris a cada 48 h (*febre terçã*), enquanto aqueles infectados por *P. malariae* têm paroxismos a cada 72 h (*febre quartã*). Na prática, esse quadro clássico é pouco frequente em indivíduos continuamente expostos à malária; nesse caso os sintomas tendem a ser mais brandos. A infecção pode ser completamente assintomática em indivíduos semi-imunes com baixas parasitemias. Há geralmente anemia, esplenomegalia e hepatomegalia. O diagnóstico diferencial da malária não complicada inclui quadros febris agudos comuns em regiões tropicais, como dengue, febre amarela e outras arboviroses, bem como diversas doenças bacterianas acompanhadas de bacteriemia, como septicemias, febre tifoide e pielonefrite aguda.

Do ponto de vista clínico, a diferença mais importante entre *P. falciparum* e as demais espécies está em sua maior capacidade de produzir doença potencialmente grave e de desenvolver rapidamente resistência a diversos antimaláricos de uso corrente. *Malária grave ou complicada* (Tabela 2.2) é um conceito operacional originalmente proposto para identificar pacientes com malária *falciparum* que requerem cuidados médicos de maior complexidade, mas hoje é amplamente reconhecida a capacidade de *P. vivax* produzir doença grave, eventualmente fatal, e adquirir resistência a diversos antimaláricos de uso corrente, especialmente à cloroquina (Price *et al.*, 2009).

Todos os pacientes incapazes de ingerir antimaláricos, que apresentam disfunção de órgãos vitais ou apresentam altas parasitemias requerem hospitalização. Também devem ser hospitalizadas as gestantes com malária *falciparum*, em função do alto risco de abortamento e de complicações maternas; embora a transmissão congênita seja rara, as crianças de mães com malária gestacional por *P. falciparum* ou *P. vivax* frequentemente apresentam retardo de crescimento intrauterino.

A definição clássica de *malária cerebral* restringe-se aos pacientes com malária *falciparum* em coma profundo, incapazes de localizar estímulos dolorosos, nos quais outras encefalopatias (infecciosas e metabólicas) tenham sido excluídas. Os adultos que se recuperam de malária cerebral raramente apresentam sequelas neurológicas, mas até 10% das crianças podem apresentar algum tipo de seqüela. Existem, entre-

Tabela 2.2 Manifestações e complicações da malária grave por *Plasmodium falciparum*.

Malária cerebral	Coma profundo na ausência de outra encefalopatia infecciosa ou metabólica.
Convulsões generalizadas	Mais de duas crises convulsivas em 24 h.
Anemia grave	Concentração de hemoglobina sanguínea abaixo de 5 g/100 mℓ ou hematócrito inferior a 15% geralmente requerem hemotransfusão.
Hipoglicemia	Concentração de glicose sanguínea inferior a 40 mg/100 mℓ.
Insuficiência renal aguda	Concentração de creatinina plasmática superior a 3 mg/100 mℓ com débito urinário inferior a 400 mℓ em 24 h (12 mℓ/kg/dia em crianças).
Edema pulmonar e síndrome da angústia respiratória do adulto	Se possível, com comprovação radiológica do edema pulmonar e monitoramento de pressão capilar pulmonar ou venosa central.
Choque circulatório ("malária algida")	
Acidose metabólica	Níveis sanguíneos de bicarbonato abaixo de 15 mmol/ℓ e pH sanguíneo abaixo de 7,35.
Alterações de homeostasia	Hemorragias retinianas e gengivais, trombocitopenia.
Hemólise intravascular maciça ou febre hemoglobinúrica (<i>blackwater fever</i>)	
Hipertermia	
Hiperparasitemia	Parasitemia acima de 100.000 parasitos por microlitro de sangue.
Disfunção hepática e icterícia	
Ruptura esplênica	

tanto, graus intermediários de comprometimento neurológico, como sonolência e prostração intensa, que não definem a malária cerebral. O estado pós-ictal, em pacientes com convulsões, pode simular coma profundo; por isso, sugere-se re-examinar o paciente pelo menos uma hora após a última crise convulsiva antes de diagnosticar-se malária cerebral. No Brasil, a maior parte dos pacientes com malária grave apresenta, à admissão ou durante a evolução, um quadro complexo de comprometimento de múltiplos órgãos em que o quadro cerebral, se presente, é um componente adicional. A malária cerebral é geralmente considerada uma complicação exclusiva da malária *falciparum*, em função de sua clara associação com o fenômeno de citoaderência descrito a seguir. Entretanto, há diversos relatos recentes de complicações neurológicas, incluindo coma, em infecções por *P. vivax*. A confirmação desses achados e a elucidação de sua fisiopatogenia estão entre as áreas prioritárias de pesquisa clínica sobre a malária.

A *anemia* produzida pela hemólise intravascular que ocorre frequentemente em pacientes com malária é grave apenas em alguns pacientes infectados por *P. falciparum*. Resulta tanto da ruptura de hemácias parasitadas como da destruição de hemácias não parasitadas pelo sistema imune do hospedeiro. Algumas citocinas pró-inflamatórias também parecem contribuir para o agravamento da anemia, por suprimirem a atividade hematopoética da medula óssea.

A *insuficiência renal* é uma complicação particularmente comum na malária grave encontrada no Brasil. Resulta de alterações da perfusão renal, decorrentes da desidratação (particularmente em pacientes com febre alta, vômitos e alterações do nível de consciência) e de eventual hipotensão, e agravadas pela hemólise intravascular e consequente lesão tubular. A diálise precoce é essencial para reduzir a letalidade do quadro.

A *insuficiência respiratória* decorre de edema pulmonar, com apresentação clínica frequentemente idêntica à da síndrome da angústia respiratória do adulto observada nas septicemias. Alguns pacientes, entretanto, apresentam pressão capilar pulmonar elevada, em função de excesso de hidratação parenteral na vigência de débito urinário reduzido. É um quadro comum entre pacientes adultos, com elevada letalidade. Não é exclusivo de malária *falciparum*; recentemente, numerosos relatos de casos de insuficiência respiratória, com diferentes níveis de gravidade, foram descritos na malária *vivax*, mas a sua fisiopatologia permanece obscura.

A *icterícia* na malária decorre tanto de hemólise intravascular como de alterações funcionais dos hepatócitos, havendo aumento dos níveis de bilirrubina indireta (predominantemente) e direta. As concentrações séricas de enzimas hepáticas elevam-se em geral até 2 a 10 vezes acima dos valores normais, sem alcançar os níveis encontrados nas hepatites virais. As lesões hepáticas são discretas e reversíveis, sem expressão anatomopatológica significativa. Uma situação extrema de hemólise intravascular, com intensa hemoglobinúria, recebe o nome de febre hemoglobinúrica ou *blackwater fever*, na literatura de língua inglesa. Este quadro está geralmente associado ao uso irregular de quinina (e, mais recentemente, de derivados da artemisinina ou de mefloquina), embora não se conheça o papel exato desses medicamentos na fisiopatologia desta complicação. O exame de amostras de urina indica a presença de hemoglobina ou mioglobina. A maior parte dos pacientes apresenta função renal normal, desde que a reposição de sangue seja feita adequadamente.

Os *distúrbios da hemostasia* resultam geralmente de trombocitopenia, muitas vezes associada a um quadro de coagulação intravascular disseminada. Existem relatos recentes de

trombocitopenia em malária *vivax*. As hemorragias retinianas são relativamente comuns e têm valor como indicador de prognóstico.

A *ruptura esplênica*, espontânea ou após trauma abdominal, é uma complicação rara da malária por *P. falciparum* e também aquela causada por outras espécies. O quadro requer diagnóstico rápido e tratamento (habitualmente cirúrgico) imediato.

► Fisiopatologia da malária grave

O principal fator de virulência de *P. falciparum* é a capacidade de adesão das hemácias parasitadas por estágios maduros do parasito ao endotélio de pequenos vasos sanguíneos, particularmente de vênulas pós-capilares, um fenômeno conhecido como *citoaderência* (Wahlgren *et al.*, 1999). A citoaderência deve-se à produção, pelos trofozoítos maduros e esquizontes sanguíneos de *P. falciparum*, de moléculas exportadas para a membrana das hemácias parasitadas. Essas proteínas do parasito formam protuberâncias (conhecidas como *knobs* na literatura de língua inglesa), vistas à microscopia eletrônica na membrana das hemácias, que medeiam o processo de aderência a receptores endoteliais (Figura 2.5). A principal molécula do parasito envolvida na aderência ao endotélio vascular é uma proteína variável de alta massa molecular conhecida como *PfEMP-1* (proteína 1 da membrana do eritrócito), codificada pela família de genes *var*. Há cerca de 50 cópias de genes *var* por genoma de *P. falciparum*, mas somente uma cópia é expressa pelos trofozoítos maduros e esquizontes. No entanto, o mesmo clone de *P. falciparum* pode expressar sequencialmente diferentes alelos de genes *var* durante o ciclo eritrocitário, fenômeno conhecido como *variação antigênica*, que lhe

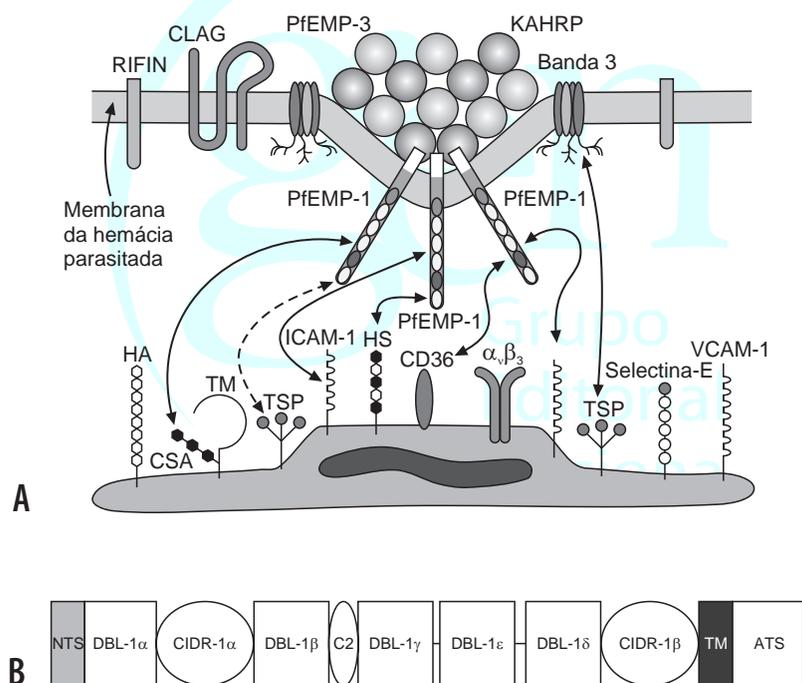


Figura 2.5 Moléculas envolvidas na adesão de hemácias infectadas por *P. falciparum* ao endotélio vascular. Em **A** são representados alguns antígenos de membrana da hemácia infectada (PfEMP-1, RIFIN, CLAG, sequestrina e banda 3 modificada) e receptores expressos pelas células endoteliais (CD36, ICAM-1, PECAM-1, trombospondina [TSP], selectina-E, sulfato de condroitina-A [CSA], ácido hialurônico [HA]). Em **B** são representados os diferentes domínios que compõem uma molécula de PfEMP-1. O domínio intracelular (*acidic terminal segment*, ATS) ancora PfEMP-1 à superfície da hemácia. A região extracelular da molécula compreende quatro tipos de domínios: NTS (*N-terminal segment*), DBL (*Duffy binding-like domains*), CIDR (*cystein-rich interdomain regions*) e C2. TM corresponde ao domínio transmembrana. Os domínios DBL são descritos segundo a posição que ocupam em um determinado gene *var* (1 a 5); as letras gregas que se seguem (α , β , γ) referem-se a grupos de domínios estruturalmente semelhantes.

garante a sobrevivência em face da imunidade variante-específica despertada no hospedeiro (Ferreira *et al.*, 2007).

Os diversos domínios de PfEMP-1, representados na parte inferior da Figura 2.5, ligam-se a diferentes receptores presentes no endotélio vascular, tais como moléculas sulfatadas (sulfato de condroitina A [CSA], sulfato de heparana), CD36 e moléculas de adesão como ICAM-1, VCAM-1 e PECAM-1/CD31, entre outras. CD36, uma glicoproteína integral de membrana na forma de monômero, está presente na superfície de monócitos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais e uma ampla variedade de linhagens de células cultivadas. Trata-se de um receptor amplamente distribuído no endotélio vascular de vários órgãos. CD36 parece ligar-se a CIDR, domínio relativamente conservado comum a todas as variantes de PfEMP-1, que pode estar presente em uma ou duas cópias em cada variante dessa proteína (Figura 2.5). ICAM-1 (*molécula de adesão intercelular-1*) é o principal receptor endotelial envolvido na malária grave, especialmente na malária cerebral. Trata-se de uma glicoproteína presente na superfície de linfócitos, monócitos, macrófagos e no endotélio vascular, sendo particularmente abundante no endotélio dos vasos sanguíneos cerebrais. PfEMP-1 parece ligar-se a ICAM-1 por um dos domínios DBL, conhecido como DBL-2β. Entretanto, diante da extraordinária complexidade e diversidade estrutural da PfEMP-1, é difícil identificar os domínios responsáveis pelos fenótipos de adesão em cada variante observada na natureza, que podem depender do arranjo em que eles aparecem em diferentes variantes de PfEMP-1.

Além de mediar a aderência de hemácias infectadas a receptores do endotélio vascular, a PfEMP-1 e outras moléculas do parasito expostas na superfície da célula hospedeira medeiam a *formação de rosetas* (aglomerados de hemácias não parasitadas que se ligam a hemácias parasitadas formando as estruturas conhecidas como rosetas) (Figura 2.6). As hemácias parasitadas aderidas ao endotélio e a outras hemácias podem obstruir pequenos vasos, com consequente hipoxia tecidual. Simultaneamente, moléculas do parasito liberadas localmente ao final da esquizogonia eritrocitária podem estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias. A expressão, pelo endotélio vascular, de algumas dessas moléculas de adesão, como

ICAM-1, VCAM-1, selectina-E e selectina-P, é estimulada por citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF-α), produzido por macrófagos e monócitos, e, em alguns casos, inibida por óxido nítrico. Anticorpos contra PfEMP-1 podem facilitar a fagocitose de hemácias infectadas e impedir ou reverter a citoaderência (Costa *et al.*, 2003; Staalsoe *et al.*, 2004), especialmente em vasos placentários ricos em CSA (Duffy, 2007). Como mostra a Figura 2.7, a maioria das complicações clínicas que caracterizam a malária grave por *P. falciparum* é consequência direta ou indireta dos fenômenos de citoaderência e, possivelmente, da formação de rosetas, bem como da produção de citocinas pró-inflamatórias.

Hemácias infectadas por *P. vivax* são classicamente consideradas incapazes de aderir ao endotélio vascular, mas este conceito exige urgente revisão. Moléculas derivadas desse parasito, expressas na superfície de hemácias infectadas, podem mediar a adesão a CSA e ICAM-1 (Carvalho *et al.*, 2010), fornecendo uma base fisiopatológica às alterações pulmonares e cerebrais e à disfunção placentária ocasionalmente observadas na malária *vivax* (Price *et al.*, 2009).

▶ Diagnóstico laboratorial da malária

O diagnóstico laboratorial da malária baseia-se no encontro de estágios intraeritrocitários do parasito em amostras de sangue periférico examinadas ao microscópio óptico com objetiva de imersão. O corante mais usado é o de Giemsa. A gota espessa representa a melhor alternativa para obter-se alta sensibilidade, pois um volume relativamente grande de sangue é examinado em cada campo microscópico. No entanto, seu preparo envolve uma etapa de lise das hemácias para a remoção de hemoglobina, o que resulta em grande distorção da forma dos parasitos. Os esfregaços sanguíneos são a melhor alternativa para a distinção entre as espécies de plasmódios, permitindo a avaliação da forma e do diâmetro relativo das hemácias, um parâmetro essencial para a definição da espécie infectante (Figura 2.8). As principais características morfoló-

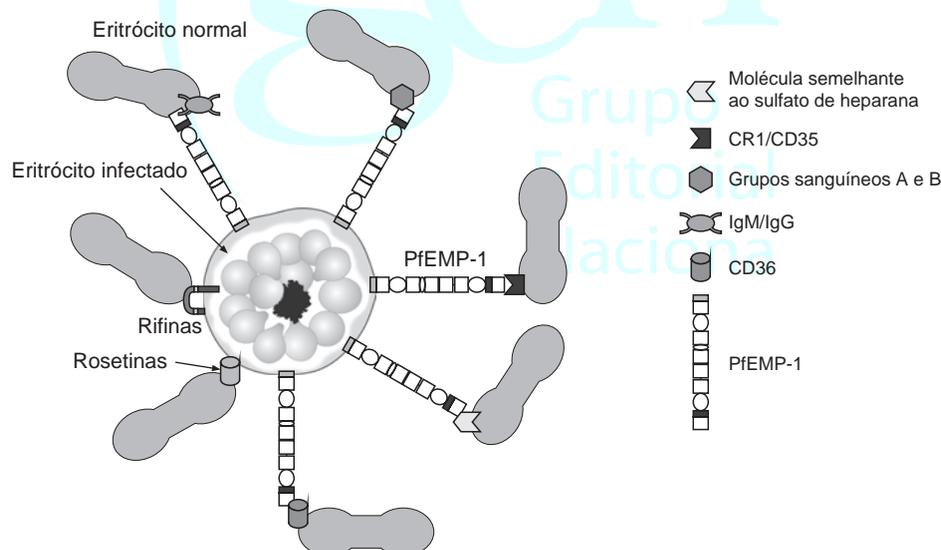


Figura 2.6 Moléculas envolvidas na adesão de hemácias infectadas por *P. falciparum* a hemácias não infectadas, formando as estruturas conhecidas como rosetas. São representados antígenos de membrana da hemácia infectada (PfEMP-1, rosetinas, rifinas) e receptores presentes na superfície de hemácias normais (sulfato de heparana, CR1/CD35, antígenos do grupo sanguíneo ABO e CD36).

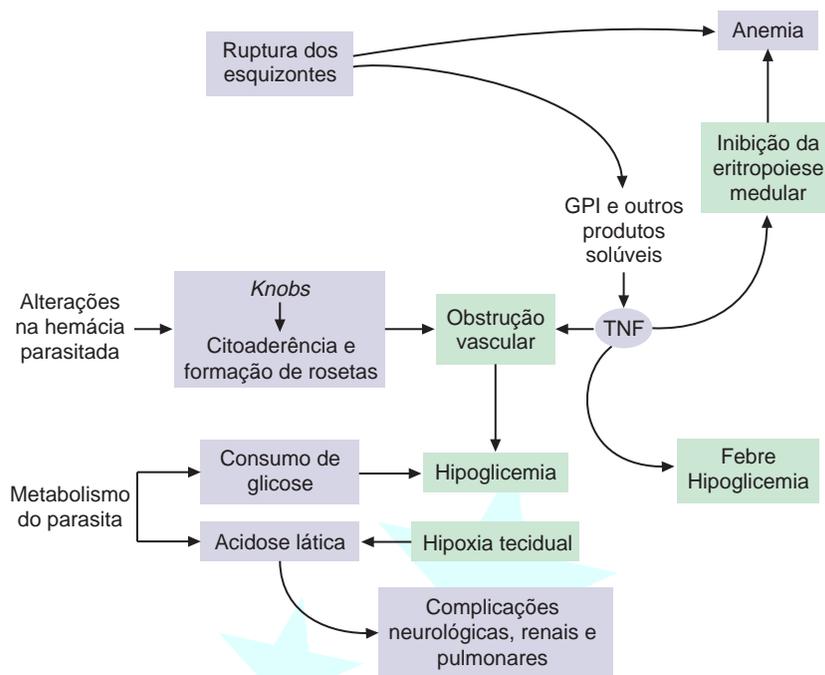


Figura 2.7 Fisiopatologia da malária grave e complicada por *Plasmodium falciparum*. O evento central é a aderência das hemácias infectadas ao endotélio de pequenos vasos (especialmente vênulas pós-capilares) e a hemácias não infectadas (formando rosetas). A produção de citocinas pró-inflamatórias por células do hospedeiro, como o fator de necrose tumoral (TNF), é estimulada por produtos solúveis (particularmente glicosilfosfatidilinositol ou GPI) liberados pelo parasito ao final da esquizogonia sanguínea. Os níveis elevados de TNF induzem a expressão de alguns receptores endoteliais como ICAM-1 e selectina-E, promovendo a citoaderência, e estão associados à febre, à hipoglicemia e à anemia. Por outro lado, o próprio metabolismo do parasito sequestrado nos pequenos vasos contribui para hipoglicemia e acidose. A obstrução microvascular, combinada a alterações inflamatórias e metabólicas, pode explicar o acometimento de diversos órgãos e sistemas observado na malária grave.

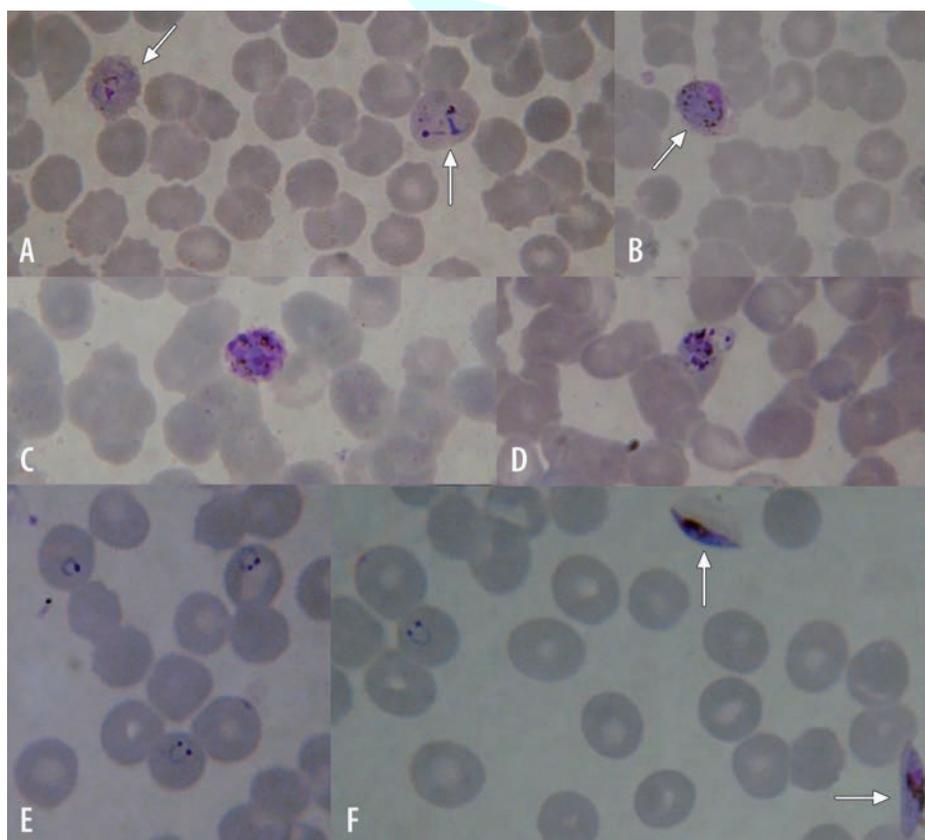


Figura 2.8 Características morfológicas de estágios sanguíneos de *Plasmodium vivax* (A a D) e de *Plasmodium falciparum* (E e F) em esfregaços sanguíneos corados pelo Giemsa. Nas figuras A e B, observam-se trofozoitos maduros, de aspecto irregular (*ameboide*) (A) e um gametócito feminino (*macrogametócito*) (B) de *Plasmodium vivax*, indicados por setas. Observe a *granulação de Schüffner* (uma granulação fina e avermelhada) recobrendo toda a hemácia parasitada. Em C e D, observam-se esquizontes de *Plasmodium vivax*. O esquizonte maduro, mostrado em C, é também conhecido como *rosácea*. Em E e F, observam-se trofozoitos jovens; em F, são vistos dois gametócitos (um imaturo e um maduro) de *Plasmodium falciparum*, indicados por setas. Observe que os gametócitos têm formato de meia-lua. As características morfológicas dos estágios sanguíneos dos plasmódios são descritas com mais pormenores no Capítulo 16. (Fotografias cedidas por Marcelo Urbano Ferreira.)

gias dos parasitos da malária humana, observados ao microscópio óptico depois de corados com o corante de Giemsa, são descritas no Capítulo 16.

Existem várias alternativas à microscopia tradicional, mas nenhuma apresenta vantagens suficientes para justificar seu emprego em larga escala. As técnicas sorológicas de detecção de anticorpos podem ser úteis em estudos epidemiológicos e em triagem de doadores de sangue, mas não se aplicam ao diagnóstico individual por não distinguirem infecções atuais de pregressas. A reação em cadeia da polimerase (PCR) permite a detecção de parasitos com elevada sensibilidade, bem como sua especiação precisa, mas seu alto custo e a relativa complexidade limitam seu emprego a contextos de pesquisa.

Atualmente, um novo método chamado LAMP (do inglês, *loop mediated isothermal amplification*) vem sendo testado visando à sua aplicação em campo. Derivado da PCR, trata-se de uma técnica simples, baseada na amplificação de ácidos nucleicos em uma faixa estável de temperatura (60 a 65°C), usando uma enzima com propriedades de deslocamento e iniciadores específicos para alvos distintos na sequência de interesse. Durante a amplificação do DNA, originam-se precipitados de pirofosfato de magnésio; a turbidez decorrente da formação dos precipitados é interpretada como sinal de resultado positivo do teste. A LAMP é considerada eficiente para a amplificação de DNA partindo-se de pequeno número de cópias; quando comparada a outras técnicas, tais como PCR convencional e testes rápidos, tem demonstrado sensibilidade e especificidade em torno de 100 e 77%, respectivamente.

Nas duas últimas décadas, tem-se tornado comum o uso de fitas impregnadas com anticorpos para a detecção de antígenos de plasmódios; são os testes rápidos imunocromatográficos. A grande vantagem destes métodos reside em sua simplicidade: com pouco treinamento e sem necessidade de equipamento especial ou fonte de energia elétrica, agentes de saúde podem fazer o diagnóstico de malária em áreas remotas. No entanto, os diversos produtos disponíveis no comércio apresentam sérias limitações: alto custo, baixa sensibilidade e dificuldades na diferenciação entre espécies.

► Tratamento da malária

O objetivo primário do tratamento é a erradicação dos estágios assexuados sanguíneos do parasito, cuja multiplicação produz o conjunto de sinais e sintomas que caracterizam a malária. São objetivos secundários eliminar os estágios hepáticos latentes (hipnozoítos), existentes nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale* (Figura 2.2), e interromper a transmissão vetorial mediante erradicação dos gametócitos circulantes. Por atuarem em diferentes fases do ciclo do parasito, os antimaláricos são classificados como esquizonticidas, hipnozoiticidas, gametocitocidas ou esporonticidas. Os esquizonticidas podem ter ação tecidual (esquizonticidas teciduais) ou sanguínea (esquizonticidas sanguíneos). Destes, o Ministério da Saúde fornece, para uso rotineiro, os seguintes medicamentos: cloroquina, primaquina, mefloquina, quinina, doxiciclina e artesunato, bem como as combinações arteméter-lumefantrina e artesunato-mefloquina.

Cada fármaco apresenta um sítio de ação definido no parasito (Ridley, 2002). A cloroquina, a mefloquina e a quinina agem no vacúolo digestivo, interferindo na formação do pigmento malárico (produto não tóxico para o parasito

oriundo da degradação da hemoglobina). Os antibióticos (doxiciclina, clindamicina, azitromicina) atuam no apicoplasto, inibindo a tradução de proteínas, enquanto os antifolatos (pirimetamina-sulfadoxina) atuam no citosol, inibindo a biossíntese de nucleotídeos e o metabolismo de aminoácidos. As substâncias que têm como alvo a mitocôndria inibem o transporte de elétrons nessa organela. Os sítios de ação de outras substâncias, tais como artemisinina e artemisina, ainda não são conhecidos.

A cloroquina tem ação esquizonticida, gametocitocida (contra *P. vivax*), antipirética e anti-inflamatória. Pode ocasionar prurido, cefaleia, náuseas e vômitos; não deve ser usada em pacientes com psoríase e porfiria.

A primaquina atua como gametocitocida e hipnozoiticida. Está formalmente contraindicada em gestantes, devido ao risco de hemólise no feto por deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Também é contraindicada para menores de 6 meses de idade pelo mesmo motivo. Como a primaquina pode causar supressão de medula óssea, não deve ser usada em pacientes com predisposição à granulocitopenia, como aqueles com artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico.

A mefloquina tem ação esquizonticida contra *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae* e ação gametocitocida contra *P. vivax*. Entretanto, não deve ser usada em monoterapia, mesmo na malária *falciparum* não complicada. Os efeitos colaterais mais comuns (geralmente leves) incluem náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal; manifestações neuropsiquiátricas e arritmias cardíacas podem ocorrer mais raramente. A mefloquina é contraindicada para pessoas com antecedente de doença neurológica ou psiquiátrica, pacientes com arritmias cardíacas, e profissionais que necessitem de boa coordenação espacial, tais como tripulantes de aeronaves, motoristas e operadores de máquinas. Por causa do risco de toxicidade cumulativa, a mefloquina não deve ser usada em pacientes que tenham sido tratados recentemente com quinina, lumefantrina ou halo-fantrina, ou que tenham recebido mefloquina nas 3 semanas anteriores. Pode ser usada com segurança no segundo e no terceiro trimestres da gestação, mas seu uso durante o primeiro trimestre não é recomendado pela escassez de estudos sobre o assunto.

A quinina é reservada ao tratamento da malária *falciparum* sensível a esse fármaco, devendo ser usado em conjunto com doxiciclina ou tetraciclina em áreas onde ocorre resistência. O principal efeito colateral é o *cinchonismo*, caracterizado por zumbido e tonturas, que podem ser suficientemente intensos para diminuir a adesão ao tratamento. Outros efeitos colaterais são a hipoglicemia (por estímulo à liberação de insulina pelo pâncreas) e a hipotensão arterial. A quinina não deve ser usada em pacientes com cardiopatias graves e usuários de betabloqueadores, bloqueadores de canal de cálcio e digitálicos, nem em pacientes que receberam mefloquina nas 3 semanas anteriores.

Os antibióticos geralmente são usados em associação com a quinina. A tetraciclina era tradicionalmente usada em esquemas de 7 dias, com três tomadas diárias, o que dificultava a adesão ao tratamento. Por isso, recomenda-se hoje substituí-la por doxiciclina, em esquema de 5 dias, com duas tomadas diárias. Ambas são contraindicadas em gestantes e menores de 8 anos pelo risco de distúrbios da osteogênese e descoloração dos dentes. Nesses casos, recomenda-se clindamicina. A doxiciclina frequentemente produz irritação gástrica, que pode ser evitada com a administração do medicamento junto com uma refeição.

A artemisinina (*qinghaosu*) é o princípio antimalárico isolado da planta *Artemisia annua* por cientistas chineses. A artemisinina e seus derivados arteméter e artesunato são esquizotomicidas sanguíneos potentes e de ação rápida, eliminando o parasito (com consequente melhora dos sintomas) em 24 a 48 h na maioria dos pacientes. Não têm ação hipnozoitocida, mas parecem ter efeito contra os gametócitos de *P. falciparum*. A artemisinina é pouco hidrossolúvel ou lipossolúvel. Seus principais derivados são solúveis em óleo (arteméter) e água (artesunato de sódio). Esses derivados têm ação esquizotomicida sanguínea mais potente que o composto precursor, sendo eficazes contra *P. falciparum* resistente a todos os demais medicamentos antimaláricos. Observa-se, entretanto, o surgimento de resistência a esses compostos na fronteira entre Camboja e Tailândia, no sudeste asiático (Dondorp *et al.*, 2009).

O arteméter é formulado como comprimido ou solução oleosa em ampola e, atualmente, em combinação de dose fixa com lumefantrina, contendo 20 mg de arteméter e 120 mg de lumefantrina. É metabolizado para di-hidroartemisinina, seu principal metabólito, responsável pela atividade antimalárica. Quase a totalidade do medicamento circula ligada a proteínas plasmáticas e tem meia-vida média de eliminação de 1 h, após a administração oral. A combinação arteméter-lumefantrina é indicada para o tratamento oral de malária *falciparum* não complicada ou infecções mistas que incluam *P. falciparum*, bem como em áreas onde *P. falciparum* é resistente a outros medicamentos.

O artesunato, o sal sódico do hemissuccinato de artemisinina, é encontrado em comprimidos de 50 mg ou 100 mg, cápsulas retais de 100 mg ou 400 mg e ampolas com 60 mg de ácido artesúnic anidro, acompanhado do diluente alcalino. É solúvel em água, mas tem pouca estabilidade em soluções aquosas e de pH neutro ou ácido. Por isso, sua apresentação em pó para injeção é acompanhada de diluente de bicarbonato de sódio. É rapidamente absorvido tanto pela via oral, quanto pelas vias retal ou parenteral. Alcança pico plasmático em 30 min a 2 h, sendo inteiramente transformado em di-hidroartemisinina, seu metabólito ativo. Tem eliminação rápida, com meia-vida plasmática de 45 min. Pouco se conhece sobre a sua capacidade de se ligar às proteínas plasmáticas. Não é necessário ajuste de dose em casos de insuficiência renal ou hepática. No Brasil, já está disponível para o tratamento de malária *falciparum* não complicada uma formulação de artesunato-mefloquina, produzida pela Farmanguinhos, que contém ambos os fármacos em um único comprimido, facilitando a adesão ao tratamento.

A escolha do tratamento deve levar em conta a espécie de parasito a ser tratado, a possibilidade de resistência ao medicamento, a gravidade do quadro clínico (que determinará a classe de medicamento a ser usada e seu modo de administração, se oral [VO] ou intravenosa [IV]), a idade do paciente (pelos efeitos tóxicos dos medicamentos em crianças e idosos), gestação ou lactação (com especial atenção para o potencial teratogênico de alguns fármacos) e a ocorrência de tratamento prévio recente. Os antimaláricos podem ter uso terapêutico ou profilático.

► Principais esquemas terapêuticos em uso no Brasil

Os esquemas descritos aqui são atualmente preconizados pelo Ministério da Saúde com base no perfil de resistência

dos plasmódios aos antimaláricos descrito nos últimos anos. Como esses esquemas estão sujeitos a revisões frequentes, recomenda-se a consulta às atualizações divulgadas periodicamente pelo Ministério da Saúde.

Infecções por *P. vivax* e *P. ovale*

O tratamento é feito com uma dose total de 25 mg de cloroquina (base) por quilograma de peso, administrada ao longo de 3 dias, associada a 0,5 mg de primaquina (base) por quilograma, diariamente, por 7 dias. Os comprimidos de cloroquina têm 150 mg de base. O regime mais empregado consiste em 10 mg/kg no primeiro dia de tratamento e 7,5 mg/kg no segundo e terceiro dias. Portanto, um adulto de 60 kg receberá quatro comprimidos no primeiro dia e três comprimidos no segundo e terceiro dias. Embora essas doses de cloroquina sejam geralmente bem toleradas, um efeito colateral relativamente comum é o prurido. Os comprimidos de primaquina têm 5 mg (infantil) ou 15 mg (adulto) de base. O regime atualmente empregado em adultos consiste em dois comprimidos de 15 mg administrados diariamente por 7 dias. Não se sabe se o regime atual de 30 mg/dia de primaquina por 7 dias tem eficácia contra os hipnozoítos comparável ao regime anteriormente utilizado no país (15 mg/dia durante 14 dias), mas infere-se que a aderência ao regime abreviado seja melhor. Em diversas partes do mundo, a grande incidência de infecções recorrentes por *P. vivax* em indivíduos tratados com cloroquina-primaquina sugere que o regime de 15 mg/dia de primaquina por 14 dias seja incapaz de prevenir a maior parte das recaídas, passando-se a usar o dobro da dose atual desse medicamento (30 mg/dia durante 14 dias), esquema ainda não testado no Brasil. Os pacientes com deficiência de G6PD devem receber um esquema alternativo de 0,75 mg de primaquina base/kg por semana durante 8 semanas, para reduzir o risco de hemólise induzida pelo medicamento. Gestantes, lactentes e crianças com idade inferior a 1 ano não devem receber primaquina; nesses casos, recomendam-se doses semanais de 5 mg/kg de cloroquina durante 3 meses para suprimir as recaídas.

Infecções por *P. malariae*

O tratamento é feito com 25 mg de cloroquina (base) por quilo de peso, administrados ao longo de 3 dias, como descrito para as infecções por *P. vivax* e *P. ovale*. Não é necessário o uso de primaquina como esquizotomicida tecidual, pois esta espécie não produz hipnozoítos.

Infecções não complicadas por *P. falciparum*

A partir de dezembro de 2006, o Ministério da Saúde fez importantes modificações no tratamento da malária *falciparum* não complicada, passando a indicar a combinação arteméter-lumefantrina e a combinação artesunato-mefloquina como esquemas de primeira linha. O regime baseado em arteméter-lumefantrina consiste em quatro comprimidos pela manhã e à noite, por 3 dias consecutivos, para adultos e crianças com mais de 35 kg. Para crianças entre 5 e 15 kg, 15 e 25 kg e 25 e 35 kg, são usados, respectivamente, 1, 2 e 3 comprimidos 2 vezes/dia, junto com alimentos gordurosos ou leite para aumento da absorção. Essa posologia corresponde a 1 a 2 mg/kg/dose (2 a 4 mg/kg/dia) de arteméter e 6 a 12 mg/kg/dose (12 a 24 mg/kg/dia) de lumefantrina, sendo que cada comprimido contém 20 mg de arteméter e 120 mg de lumefantrina. A combinação arteméter-lumefantrina não deve ser usada no primeiro trimestre da gestação e em nutrízes, e deve ser usada nos demais trimestres apenas se o benefício esperado para a gestante for maior do que os riscos para o feto. Também é contraindicada

no tratamento de malária grave, e em casos de doenças cardíacas. Deve ser usada com cautela em pacientes com insuficiência renal ou hepática, e naqueles que fizeram uso prévio de halofantrina, mefloquina ou quinina. Mulheres em fase reprodutiva devem usar métodos contraceptivos durante o uso de arteméter-lumefantrina.

Embora o arteméter e a lumefantrina sejam ativos contra os estágios sanguíneos de *P. vivax*, esses medicamentos não têm efeito contra os hipnozoítos. Portanto, um derivado da 8-amino-quinolina (como a primaquina) deve ser usado sequencialmente ao arteméter-lumefantrina em infecções mistas com *P. falciparum* e *P. vivax* para erradicar os hipnozoítos. Nas infecções apenas por *P. falciparum*, não se indica associar a primaquina em dose gametocitocida ao tratamento com arteméter-lumefantrina, uma vez que essa medicação possui ação gametocitocida eficiente.

Para a combinação artesunato-mefloquina, a dosagem baseia-se em faixas etárias, sendo utilizado um (crianças entre 6 e 11 anos) ou dois (acima de 12 anos) comprimidos por dia por 3 dias. Formulações especiais existem para crianças entre 6 e 11 meses de idade, e entre 1 e 5 anos de idade, produzidas pela Farmanguinhos e distribuídas pelo Ministério da Saúde. Os efeitos colaterais da mefloquina são tonturas, náuseas e vômitos e, mais raramente, diarreia e dor abdominal. Pode produzir manifestações neuropsiquiátricas graves, especialmente em pacientes com antecedentes de doenças neurológicas ou psiquiátricas. É contraindicada em pacientes que receberam quinina nas últimas 24 h ou mefloquina nos últimos 21 dias, bem como em gestantes no primeiro trimestre. Não há necessidade de associar primaquina em dose gametocitocida.

Como esquema de segunda linha, recomenda-se a quinina, com a seguinte posologia: 30 mg de sal de quinina/kg/dia durante 3 dias, associados a um antibiótico, doxiciclina (3,3 mg de sal/kg/dia, divididos em duas doses diárias, por 5 dias) ou clindamicina (20 mg de base/kg/dia, divididos em quatro doses diárias, também por 5 dias), com uma dose de 0,50 a 0,75 mg de base/kg de primaquina no sexto dia para a eliminação de gametócitos. A primaquina não deve ser dada a gestantes ou crianças menores de 6 meses.

As combinações arteméter-lumefantrina e quinina-doxiciclina devem ser evitadas na gestação. Além disso, a doxiciclina é contraindicada na infância. Assim, para gestantes de primeiro trimestre e crianças menores de 8 anos, a malária causada pelo *P. falciparum* deve ser tratada apenas com quinina em 7 dias, ou com quinina + clindamicina.

Malária grave e complicada por *P. falciparum*

Os medicamentos de primeira escolha são os derivados da artemisinina para uso parenteral. O artesunato é usado IV, com uma dose de ataque de 2,4 mg/kg seguida de três doses de 1,2 mg/kg, respectivamente, 4, 24 e 48 h após a dose inicial. O artesunato é encontrado em frascos com 60 mg de pó para injeção; sugere-se diluir cada dose em 50 mL de solução de glicose a 5% para administração ao longo de 60 min. O arteméter é usado IM na dose de 3,2 mg/kg de peso no primeiro dia e de 1,6 mg/kg de peso por 4 dias, totalizando 5 dias. O arteméter é encontrado em ampolas com 80 mg do medicamento diluídos em 1 mL. Após o uso dos derivados de artemisinina por via parenteral, recomenda-se completar o tratamento, assim que o paciente puder ingerir medicamentos, com clindamicina ou doxiciclina por 5 dias ou mefloquina em dose única, nas doses descritas para uso na malária não complicada.

O fármaco de segunda escolha na malária grave e complicada é a quinina para uso intravenoso. Empregam-se 20 a 30 mg de sal/kg/dia, divididos em três doses, administradas ao longo de 4 h em solução de glicose a 5%. Cada ampola contém 500 mg de sal de quinina diluídos em 5 mL de água destilada. Este esquema é mantido até o paciente ser capaz de ingerir medicamentos, quando se passa a administrar a dose de 25 mg de sal de quinina por dia, divididos em três tomadas diárias. A quinina é mantida até 48 h após a negatificação da parasitemia.

Alternativamente, associam-se quinina e clindamicina para uso intravenoso. A quinina (20 a 30 mg de sal/kg/dia divididos em três doses) é administrada por 3 dias, enquanto a clindamicina (20 mg/kg/dia divididos em duas doses) é administrada por 7 dias. Cada ampola contém 300 mg de sal de clindamicina diluídos em 2 mL de água destilada. Este esquema é usado em gestantes, especialmente durante o primeiro trimestre.

► Prevenção e controle da malária

O controle da malária é centrado no diagnóstico rápido e tratamento imediato dos casos clínicos e em medidas de combate ao vetor, como o uso de mosquiteiros impregnados com inseticidas e a borrifação periódica com inseticidas de efeito residual em domicílios situados nas áreas endêmicas. A eficiência dessas medidas depende de características biológicas, ambientais, culturais e políticas que variam entre as regiões endêmicas. Entre os principais obstáculos para o controle da malária estão os grandes movimentos populacionais entre regiões não endêmicas e endêmicas e o desenvolvimento de resistência dos plasmódios aos antimaláricos disponíveis para uso clínico, bem como dos mosquitos anofelinos, vetores da malária, aos inseticidas de efeito residual habitualmente empregados (Walther & Walther, 2007).

Entre meados das décadas de 1950 e 1970, observou-se no Brasil uma drástica redução na incidência de malária e, particularmente, na área do território brasileiro com transmissão ativa. Pouco mais de 50.000 casos de malária foram notificados em 1970, contrastando com os milhões de casos anuais registrados três décadas antes. Este sucesso no controle da malária no Brasil deveu-se ao uso de um inseticida de ação residual, o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), para o combate dos vetores nos domicílios humanos, e ao diagnóstico e tratamento das infecções humanas, geralmente com a cloroquina. Por tratar-se de uma doença sem reservatório animal, a malária humana tende a extinguir-se com o tratamento maciço dos indivíduos portadores da infecção. A partir da década de 1970, no entanto, a migração maciça de indivíduos para a região norte do país atraídos pelos projetos de colonização agrícola da Amazônia levou a um sério agravamento do quadro epidemiológico. Em meados da década de 1980, ainda que a transmissão de malária no Brasil continuasse virtualmente restrita à Amazônia, registravam-se 500.000 casos anuais de malária, com equilíbrio entre *P. falciparum* e *P. vivax*. Há atualmente cerca de 300.000 casos anuais de malária, com nítido predomínio de *P. vivax* (Figura 2.9).

A malária humana é transmitida exclusivamente por mosquitos anofelinos, que também são capazes de transmitir a filariose linfática, em certas regiões do mundo, bem como algumas arboviroses. Somente as fêmeas são hematófagas e, por isso, exercem o papel de vetor. O gênero *Anopheles* pertence à ordem Diptera, família Culicidae e subfamília Anophelinae, na

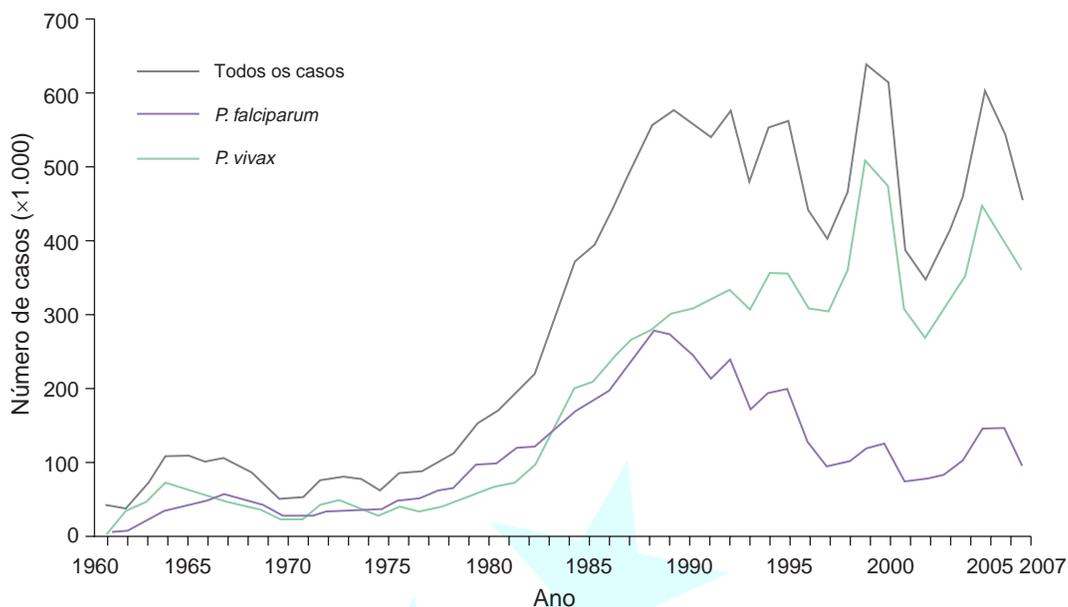


Figura 2.9 Número anual de casos de malária registrados pelo Ministério da Saúde do Brasil entre 1960 e 2007.

classificação zoológica. *Anopheles* são insetos dípteros holometabólicos: passam pelos estágios de ovo, larva e pupa antes de se transformarem em adultos (Figuras 2.10 e 2.11). Algumas características morfológicas dos anofelinos permitem distingui-los facilmente dos culicídeos da subfamília Culicinae (culicíneos), que compreende mosquitos muito comuns como os *Culex* e *Aedes*. Dentre estas, a posição de pouso em adultos (paralelo à superfície de pouso em culicíneos e em ângulo de cerca de 45° em anofelinos), bem como a presença (em

culicíneos) ou ausência (em anofelinos) de sifão respiratório nas larvas, são as mais evidentes (Figura 2.11). Das quase 500 espécies conhecidas de anofelinos, somente cerca de 70 têm importância como vetores de malária e 20 transmitem a malária humana. Entre os fatores que tornam um anofelino um bom vetor de malária humana encontram-se: suscetibilidade natural ao parasito, preferência pelo sangue humano em detrimento do sangue de animais (antropofilia), sua longevidade e sua densidade em relação à população humana.

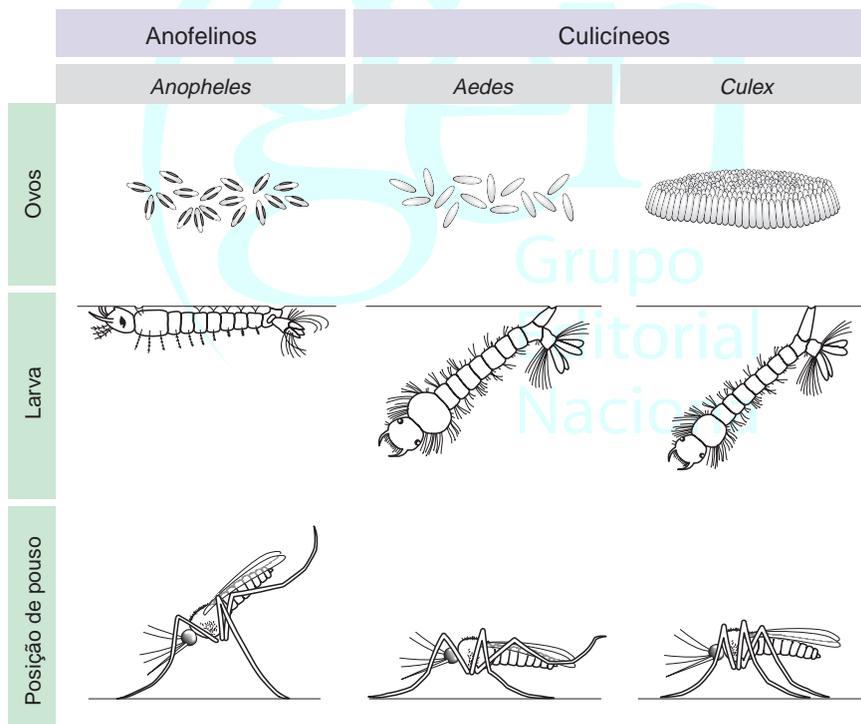


Figura 2.10 Principais características morfológicas para a distinção entre mosquitos anofelinos e culicíneos. Observe as diferenças nos ovos (que, nos anofelinos, têm flutuadores laterais), no modo como as larvas respiram (dependendo da presença ou ausência de sifão respiratório) e na posição de pouso dos insetos adultos.

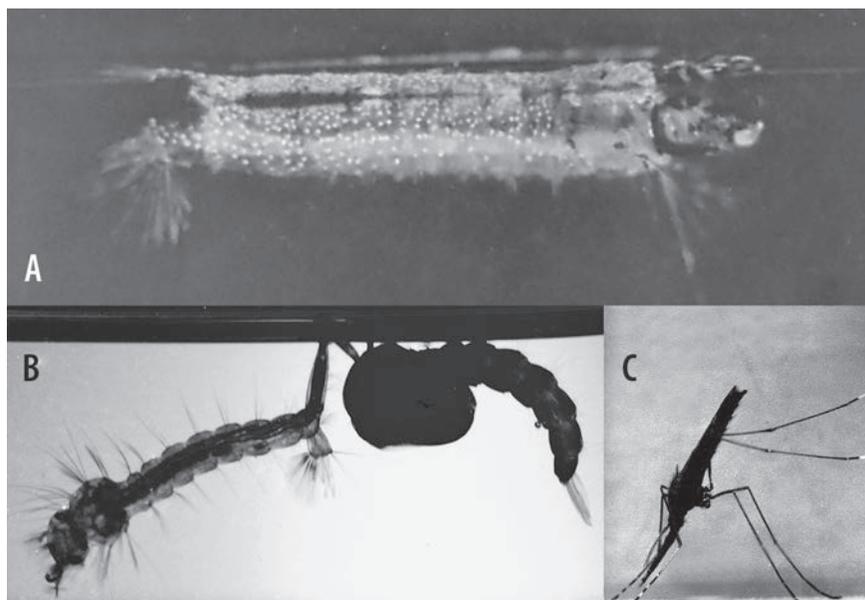


Figura 2.11 Características morfológicas para a distinção entre mosquitos anofelinos e culicíneos. Larva de anofelino (sem sifão respiratório), paralela à superfície da água (A); larva (com sifão respiratório) e pupa de culicíneo (B); posição de pouso de anofelino adulto (C). (Fotografias cedidas por Cláudio Santos Ferreira.)

No Brasil, os vetores da malária pertencem aos subgêneros *Nyssorhynchus* e *Kerteszia* do gênero *Anopheles*. Três espécies do subgênero *Nyssorhynchus* são classicamente consideradas vetores primários da malária no Brasil: *An. darlingi*, *An. aquasalis* e *An. albitarsis*. Dentre as espécies do subgênero *Kerteszia*, *An. cruzii* e *An. bellator* são reconhecidas como vetores primários em áreas residuais de Mata Atlântica. Outros anofelinos são apontados como vetores secundários ou potenciais de malária na região Amazônica, onde ocorrem mais de 98% dos casos de malária registrados no Brasil; essa lista inclui, entre outros, *An. deaneorum*, *An. braziliensis*, *An. nuneztovari*, *An. oswaldoi*, *An. triannulatus*, *An. strodei*, *An. evansae* e *An. galvaoi*.

An. darlingi é o principal vetor da malária no Brasil. Existe em todo o território nacional, com exceção das regiões áridas do Nordeste e do extremo Sul do país. *An. aquasalis* tem importância restrita a algumas áreas litorâneas, e os membros do subgênero *Kerteszia* são vetores de malária *vivax* e de macacos em áreas cobertas pela Mata Atlântica no litoral do sudeste do país. *An. albitarsis* é um complexo de espécies amplamente distribuídas no país, apresentando elevada antropofilia. No entanto, seu papel como vetor primário de malária permanece incerto.

As medidas de prevenção da malária podem ser aplicadas em diversos contextos. Há duas situações mais comuns: o viajante que permanecerá por um curto período de tempo em área endêmica e uma comunidade que vive em uma área de transmissão contínua. A Tabela 2.3 resume os princípios gerais da profilaxia da malária nesses dois contextos, o *individual* e o *coletivo*. Embora os alvos de intervenção sejam essencialmente os mesmos (combate ao vetor e ao parasito), a aplicabilidade de algumas medidas (como o uso de repelentes ou de quimioprofilaxia) depende da duração prevista para a exposição.

O uso do DDT como inseticida de ação residual, em ciclos semestrais de borrifação, foi uma das medidas básicas que possibilitaram o controle da malária na maior parte do território nacional. No entanto, esta medida foi gradativamente abandonada, inicialmente por dificuldades operacionais e, mais recentemente, pelo banimento do uso do DDT em saúde pública em alguns países, incluindo o Brasil. Os inseticidas alternativos ao DDT, como os piretroides, são de alto custo

Tabela 2.3 Medidas profiláticas contra a malária.

Medidas de proteção individual	
Prevenção do contato com o vetor: uso de mosquiteiros (preferencialmente impregnados com inseticidas piretroides), de repelentes e de telas nas janelas e portas dos domicílios.	
Combate aos mosquitos adultos: uso de inseticidas domésticos.	
Combate às formas aquáticas dos vetores: saneamento do peridomicílio.	
Medidas contra o parasito: diagnóstico e tratamento precoces, e quimioprofilaxia, quando indicada.	
Educação sanitária.	
Medidas de proteção coletiva	
Prevenção do contato com o vetor: escolha de locais adequados para a construção das casas, proteção dos domicílios contra a entrada dos mosquitos (telas) e uso de mosquiteiros.	
Combate aos insetos adultos: uso de inseticidas de efeito residual nos domicílios e de nebulização espacial.	
Combate às formas aquáticas dos vetores: saneamento de criadouros, uso de larvicidas, controle biológico das larvas.	
Medidas contra o parasito: diagnóstico e tratamento precoces	
Educação sanitária: treinamento de agentes comunitários de saúde no diagnóstico e tratamento da malária.	

e menor ação residual; têm seu uso geralmente restrito a situações de epidemia, sendo borrifados seletivamente os domicílios de pacientes com malária recente (Attaran & Maharaj, 2000; Liroff, 2000).

A quimioprofilaxia geralmente não é indicada para indivíduos que vão expor-se à malária por curtos períodos na Amazônia brasileira, na falta de um medicamento de alta eficácia e isento de efeitos colaterais potencialmente graves. No entanto, os viajantes que se dirigem a áreas rurais da África e do Sudeste Asiático, por exemplo, devem procurar orientação em serviços especializados, que levará em conta o risco de adquirir malária de acordo com o estilo de viagem e as destinações previstas, bem como o perfil de resistência dos parasitos locais aos fármacos disponíveis. Entre as opções, podem ser mencionadas cloroquina, mefloquina, doxiciclina, primaquina, azitromicina e a combinação de atovaquona e proguanil. Recentemente, testes clínicos vêm sendo conduzidos na África para determinar a eficácia do tratamento intermitente

de crianças com sulfadoxina-pirimetamina ou amodiaquina-artesunato na prevenção de malária.

Em áreas endêmicas de malária, a transfusão de hemoderivados é uma modalidade de transmissão plausível, mas raramente diagnosticada de maneira correta. Na Amazônia brasileira, preconiza-se que os hemocentros usem exames microscópicos, como o exame de gota espessa, para excluir portadores de infecções assintomáticas. São excluídos, durante a entrevista, os candidatos a doador com história de malária nos últimos 12 meses ou de febre nos últimos 30 dias, bem como aqueles provenientes de áreas com incidência superior a 50 casos anuais de malária por 1.000 habitantes.

O desenvolvimento de uma vacina proporcionaria um meio adicional de controle da malária. O uso de uma vacina de baixo custo, segura, eficaz e fácil de administrar, destinada a populações continuamente expostas ao risco de infecção em áreas endêmicas, pode tornar-se uma medida com grande impacto em saúde pública. Uma vacina mais cara e complexa, que proporcione proteção parcial e por tempo limitado, pode ainda ser útil para viajantes que serão expostos ao risco por curtos períodos. Entretanto, quatro décadas de intensa pesquisa de vacinas contra a malária e numerosos ensaios pré-clínicos e clínicos de diferentes protótipos não resultaram em um produto disponível para uso em larga escala.

Parasitologia em foco

Desenvolvimento de vacinas contra alvos pré-eritrocitários dos plasmódios

As vacinas contra os estágios pré-eritrocitários podem agir de duas maneiras distintas: (1) induzindo, com a ativação de linfócitos B, a produção de anticorpos neutralizantes que impediriam a interação entre esporozoítos e hepatócitos e (2) induzindo respostas de células T CD4+ e CD8+ contra os estágios intra-hepáticos do parasito. Nesta fase do ciclo de vida, o número de parasitos a serem eliminados é pequeno, certamente abaixo de uma centena. A vantagem em se obter uma vacina eficiente contra parasitos intra-hepáticos é o bloqueio da infecção antes da ocorrência de manifestações clínicas decorrentes do ciclo sanguíneo do parasito.

Entre os possíveis antígenos a serem utilizados em vacinas contra os estágios pré-eritrocitários, destaca-se a *proteína circunsporozoíta* (CS), abundantemente distribuída por toda a superfície do esporozoíto. A proteína CS está associada à motilidade do parasito e ao reconhecimento da célula hospedeira. A região central repetitiva dessa molécula apresenta epítopos de células B bem caracterizados. Em experimentos *in vitro*, anticorpos monoclonais direcionados a tais epítopos têm se mostrado capazes de bloquear a invasão de hepatócitos (Yoshida *et al.*, 1980). Entretanto, o domínio responsável pela interação entre os esporozoítos e os hepatócitos encontra-se fora da região central repetitiva da proteína CS; trata-se de uma molécula muito pouco imunogênica, tanto em infecções naturais como em imunizações experimentais, possivelmente por suas semelhanças com alguma estrutura do hospedeiro.

A primeira evidência sobre a viabilidade de se obter uma vacina contra os estágios pré-eritrocitários dos plasmódios data do final da década de 1960. Naquela época, a pesquisadora brasileira Ruth Nussenzweig demonstrou que camundongos imunizados com esporozoítos atenuados com raios X, porém ainda vivos, eram protegidos contra o desafio subsequente com esporozoítos viáveis de *P. berghei*, um plasmódio de roedores (Nussenzweig *et al.*, 1967). Parasitos mortos por irradiação, entretanto, não eram capazes de induzir imunidade protetora. Alguns anos depois, esses achados foram confirmados em voluntários humanos, que se tornaram protegidos contra o desafio experimental com esporozoítos de *P. falciparum*.

Apesar dos resultados animadores obtidos com esporozoítos irradiados, o uso dessa estratégia em larga escala é limitado pela dificuldade de produção de grandes quantidades de parasitos atenuados e pela necessidade de múltiplas imunizações para assegurar uma proteção duradoura (Ballou, 2007). Esses fatores impulsionaram a busca de vacinas de subunidades – formulações contendo antígenos específicos bem definidos, sob a forma de proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos. O protótipo vacinal RTS'S/AS02A é o principal exemplo de vacina subunidade (baseada em uma molécula bem definida) contra os estágios pré-eritrocitários da malária. Compreende a região central repetitiva e a região C-terminal da proteína CS de *P. falciparum*, contra a malária grave, de 58%, ao final de 6 meses de seguimento (Alonso *et al.*, 2004). Estudos sequenciais realizados por Alonso e colaboradores demonstraram que a vacina era capaz de conferir certo grau de proteção contra a malária clínica (cerca de 30%) por até 21 meses decorridos da imunização (Alonso *et al.*, 2005). A hipótese formulada para explicar tal proteção é que, ao se induzir imunidade capaz de limitar o número de esporozoítos que alcançam o fígado, reduz-se o número de merozoítos que iniciam o ciclo eritrocitário. Consequentemente, a expo-

sição prolongada do indivíduo a uma baixa carga parasitária permite a aquisição de imunidade contra a fase sanguínea da infecção (Guinovart *et al.*, 2009), como proposto originalmente por Pombo *et al.* (2002).

Na tentativa de aumentar a imunogenicidade do antígeno RTS'S, vêm sendo utilizados outros adjuvantes, dentre eles AS01, na formulação vacinal. O adjuvante AS01 é baseado em lipossomos, mas contém a mesma quantidade de monofosfolípido e QS21 que AS02. Estudos recentes, fundamentados na imunização de crianças e adultos com RTS'S/AS01, têm demonstrado que o protótipo é seguro, porém mais imunogênico quando comparado a RTS'S/AS02 (Lell *et al.*, 2009; Kester *et al.*, 2009; Polhemus *et al.*, 2009; Asante *et al.*, 2011). Os níveis e a duração de proteção conferida por esse protótipo continuam sendo investigados.

Foram recentemente publicados os primeiros resultados dos ensaios clínicos de fases 2 e 3 conduzidos em crianças africanas (Asante *et al.*, 2011; Agnandji *et al.*, 2011). Esses estudos demonstram que o protótipo, administrado por via intramuscular em três doses, induz proteção que resulta em redução da incidência de casos clínicos (Asante *et al.*, 2011; Agnandji *et al.*, 2011) e de episódios graves da doença (Agnandji *et al.*, 2011). A proteção, estimada em torno de 50%, é modulada pelos elevados níveis de anticorpos anti-CS. Entretanto, a duração da proteção conferida por essa vacina precisa ser definida. Enquanto no estudo de fase 2, as taxas de proteção parecem ser mantidas por até 19 meses de seguimento, no ensaio clínico de fase 3 os níveis de proteção pela RTS'S/AS01 ao final de 12 meses de seguimento mostram-se inferiores àqueles observados no início do seguimento.

Bibliografia

- Alonso, P.L., Sacarlal, J., Aponte, J.J. *et al.* 2005. Duration of protection with RTS'S/AS02A malaria vaccine in prevention of *Plasmodium falciparum* disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet* 366: 2012-8.
- Alonso, P.L., Sacarlal, J., Aponte, J.J. *et al.* 2004. Efficacy of the RTS'S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet* 364: 1411-20.
- Asante, K.P., Abdulla, S., Agnandji, S. *et al.* 2011. Safety and efficacy of the RTS'S/AS01E candidate malaria vaccine given with expanded-programme-on-immunisation vaccines: 19 month follow-up of a randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Infectious Diseases* 11: 741-9.
- Agnandji, S.T., Lell, B., Soulanoudjingar S.S. *et al.* 2011. First results of phase 3 trial of RTS'S/AS01 malaria vaccine in African children. *New England Journal of Medicine* 365: 1863-75.
- Ballou, W.R. 2007. Obstacles to the development of a safe and effective attenuated pre-erythrocytic stage malaria vaccine. *Microbes and Infection* 9: 761 a 6.
- Bojang, K.A., Milligan, P.J., Pinder, M. *et al.* 2001. Efficacy of RTS'S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial. *Lancet* 358: 1927-34.
- Guinovart, C., Aponte, J.J., Sacarlal, J. *et al.* 2009. Insights into long-lasting protection induced by RTS'S/AS02A malaria vaccine: further results from a phase IIb trial in Mozambican children. *Plos ONE* 4: e5165.
- Lell, B., Agnandji, S., Glasenapp, I.V. *et al.* 2009. A randomized trial assessing the safety and immunogenicity of AS01 and AS02 adjuvanted RTS'S malaria vaccine candidates in children in Gabon. *Plos ONE* 4: e7611.

- Kester, K.E., Cummings, J.F., Ofori-Anyinam, O., Ockenhouse, C.F. & Krzych, U. 2009. Randomized, double-blind, phase 2^a trial of falciparum malaria vaccines RTS^S/AS01B and RTS^S/AS02A in malaria-naïve adults: safety, efficacy, and immunologic associates of protection. *Journal of Infectious Diseases* 200: 337-46.
- Nussenzweig, R.S., Vanderberg, J., Most, H. & Orton, C. 1967. Protective immunity produced by the injection of x-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature* 216: 160-2.
- Pombo, D.J., Lawrence, G., Hirunpetcharat, C., Rzepczyk, C. & Bryden, M. 2002. Immunity to malaria after administration of ultralow doses of red cells infected with *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 360: 610-7.
- Kester, K.E., Cummings, J.F., Ofori-Anyinam, O., Ockenhouse, C.F. & Krzych, U. 2009. Randomized, double-blind, phase 2^a trial of falciparum malaria vaccines RTS^S/AS01B and RTS^S/AS02A in malaria-naïve adults: safety, efficacy, and immunologic associates of protection. *Journal of Infectious Diseases* 200: 337-46.
- Nussenzweig, R.S., Vanderberg, J., Most, H. & Orton, C. 1967. Protective immunity produced by the injection of x-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature* 216: 160-162.
- Pombo, D.J., Lawrence, G., Hirunpetcharat, C., Rzepczyk, C. & Bryden, M. 2002. Immunity to malaria after administration of ultralow doses of red cells infected with *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 360: 610-7.
- Polhemus, M.E., Remich, S.A., Ogotu, B.R. et al. 2009. Evaluation of RTS^S/AS02A and RTS^S/AS01B in adults in a high malaria transmission area. *Plos ONE* 4: e6465.
- Yoshida, N., Nussenzweig, R.S., Potocnjak, P., Nussenzweig, V. & Aikawa, M. 1980. Hybridoma produces protective antibodies directed against the sporozoite stage of malaria parasite. *Science* 207: 71-3.

► Bibliografia

- Alves, F.P., Durlacher, R.R., Menezes, M.J. et al. 2002. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 66:641-8.
- Amino, R., Thiberge, S., Martin, B. et al. 2006. Quantitative imaging of Plasmodium transmission from mosquito to mammal. *Nature Medicine* 12: 220-4.
- Attaran, A. & Maharaj, R. 2000. DDT for malaria control should not be banned. *British Medical Journal* 321: 1403-4.
- Carvalho, B.O., Lopes, S.C., Nogueira, P.A. et al. 2010. On cytoadhesion of *Plasmodium vivax*-infected erythrocytes. *Journal of Infectious Diseases* 202: 638-47.
- Cavasini, C.E., Mattos L.C., Couto, A.A. et al. 2007. *Plasmodium vivax* infection among Duffy antigen-negative individuals from the Brazilian Amazon region: an exception? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101: 1042-4.
- Chitnis, C.E. & Sharma, A. 2008. Targeting the *Plasmodium vivax* Duffy-binding protein. *Trends in Parasitology* 24: 29-34.
- Costa, F.T., Fusai, T., Parzy, D. et al. 2003. Immunization with recombinant Duffy binding-like-gamma3 induces panreactive and adhesion-blocking antibodies against placental chondroitin sulfate A-binding *Plasmodium falciparum* parasites. *Journal of Infectious Diseases* 188: 153-64.
- Daneshvar, C., Davies T.M.E., Cox-Singh, J. et al. 2009. Clinical and laboratory features of human *Plasmodium knowlesi* infection. *Clinical Infectious Diseases* 49: 852-60.
- Dondorp, A.M., Nosten, F., Yi, P. et al. 2009. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *New England Journal of Medicine* 361: 455-567.
- Duffy, P.E. 2007. Plasmodium in the placenta: parasite, parity, protection, prevention and possibility preeclampsia. *Parasitology* 134: 1877-81.
- Ferreira, M.U., Zilvermit, M. & Wunderlich, G. 2007. Origins and evolution of antigenic diversity in malaria parasites. *Current Molecular Medicine* 7: 588-602.
- King, C.L., Michon, P., Shakri, A.R. et al. 2008. Naturally acquired Duffy-binding protein-specific binding inhibitory antibodies confer protection from blood-stage *Plasmodium vivax* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 105: 8363-8.
- Liroff, R. 2000. Commentary: Reduction and elimination of DDT should proceed slowly. *British Medical Journal* 321: 1404-5.
- Ménard, D., Barnadas, C., Bouchier, C. et al. 2010. *Plasmodium vivax* clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 107: 5967-71.
- Ridley, R.G. 2002. Medical need, scientific opportunity and the drive for anti-malarial drugs. *Nature* 415: 686-93.
- Staalsoe, T., Shulman, C.E., Bulmer, J.N. et al. 2004. Variant surface antigen-specific IgG and protection against clinical consequences of pregnancy-associated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet* 363: 283-9.
- Wahlgren, M., Treutiger, C. J. & Gysin, J. 1999. Cytoadherence and rosetting in the pathogenesis of severe malaria. In: Wahlgren, M. & Perlmann, P. (ed.). *Malaria: Molecular and Clinical Aspects*. Amsterdam, Harwood Academic Press. pp. 289-327.
- Walther, B. & Walther, M. 2007. What does it take to control malaria? *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 101: 657-72.

► Leitura sugerida

- Cowman, A.F. & Crabb, B.S. 2006. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell* 124: 755-66.
- Price, R.N., Douglas, N.M. & Anstey, N.M. 2009. New developments in *Plasmodium vivax* malaria: severe disease and the rise of chloroquine resistance. *Current Opinion in Infectious Diseases* 22: 430-5.

Grupo
Editorial
Nacional

