



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AGENTES
INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS**

**AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA DA MALÁRIA POR *Plasmodium*
vivax: PERFIL CINÉTICO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA**

JOSÉ RIBAMAR MESQUITA TEIXEIRA

**Belém - Pará
2011**

JOSÉ RIBAMAR MESQUITA TEIXEIRA

AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA DA MALÁRIA POR *Plasmodium vivax*: PERFIL CINÉTICO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários como requisito exigido para a obtenção do grau de Doutor.
Orientador: Dr. José Maria de Souza

Belém - Pará

2011

Dados Internacionais da Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca de Pós-Graduação do ICB-UFPA – Belém (PA)

Teixeira, José Ribamar Mesquita

Resposta terapêutica da malária por *Plasmodium vivax* a cloroquina e primaquina / José Ribamar Mesquita Teixeira; orientador, José Maria de Souza. – 2011.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Belém, 2011.

1. Malária. 2. Antimaláricos – Uso terapêutico. 3. Plasmodium vivax. 4. Cloroquina. 5. Primaquina I. Título.

CDD – 22. ed. 616.9362

JOSÉ RIBAMAR MESQUITA TEIXEIRA

**AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA DA MALÁRIA POR
Plasmodium vivax: PERFIL CINÉTICO DA CLOROQUINA E
PRIMAQUINA**

Tese apresentado ao Curso de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários como requisito exigido para a obtenção do grau de Doutor.

Banca examinadora:

Profº Dr. José Maria de Souza (orientador)

Instituto Evandro Chagas

Profº Dr. José Luiz Fernandes Vieira (co - orientador)

Universidade Federal do Pará

Profº Dr. José Maria Vieira

Universidade Federal do Pará

Profª Dra. Rosana Maria Feio Libonati Bbano

Universidade Federal do Pará

Profº Dr. Jorge Pereira da Silva

Universidade Federal do Pará

Profº Dr. Wagner Luis Ramos Barbosa

Universidade Federal do Pará

Aprovado em: ____/____/____

Conceito: _____

Belém-Pará
2011

A Deus, a Jesus, inteligência suprema, causa primeira de todas as coisas.

A minha mãe Guiomar (in memorium) por todos os cuidados e educação, singelo testemunho de meu respeito, de meu amor.

Aos meus irmãos, Alberto (in memorium), Domingos Antonio, Fernando e Telma companheiros de infância e amigos da juventude.

AGRADECIMENTOS

Ao concluir este trabalho, desejo externar meus agradecimentos a todos que direta ou indiretamente foram importantes para sua realização.

À Prof. Dr. José Maria de Souza por carinhosamente confiar e acreditar na proposta deste trabalho desde o aceite para orientação, acompanhamento dos métodos empregados, discussão dos resultados obtidos até a sua conclusão final meus sinceros agradecimentos pela oportunidade e que Deus o abençoe nesta tarefa de formar de maneira digna novos pesquisadores.

Aos Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira, Chefe do Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Pará, pela amizade, apoio técnico e o acompanhamento nas dosagens de cloroquina e primaquina foram determinantes para realização deste trabalho. Seu saber sempre norteará meus caminhos.

A Dra. Margareth Tavares pela colaboração ímpar durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Pessoa humilde, inteligente e acima de tudo muito gente. Sua conduta para mim me serviu de exemplo.

Ao Prof. MSc. Eduardo Almeida, Pela confiança, amizade e companheirismo nos momentos mais difíceis foi determinante para a realização deste trabalho.

Ao caríssimo, Prof. MSc. Carlos Augusto Lima Barros, que sempre acreditou na minha capacidade de crescimento profissional, pelo apoio profissional durante a realização desta tese.

A todos os professores, da Universidade Estadual do Pará lotados no Instituto Evandro Chagas que com seus conhecimentos teóricos subsidiaram este trabalho. Obrigado as professoras. Ana Maria Ventura, Prof^a Carine e Prof^a. Dayse. Pelo apoio, compreensão e o incentivo para mim foi muito importante.

A todos os Professores da Universidade Federal do Pará, lotados na Faculdade de Farmácia em especial aos Professores Dr. Luiz Wagner, Dr. José Olinto, Dr. Jorge Pereira e Dra Osmarina Pereira que com seus conhecimentos teóricos e práticos subsidiaram este trabalho o meu muito obrigado.

Aos técnicos do Instituto Evandro Chagas, lotados no Programa de Malária: Agostinho Fernandes, Darcy Rodrigues, Vitorino, Sr. Bené, Luis Lobo. Miriam Mendes e a Da. Laura, Vocês, foram muito importantes no desenvolvimento deste trabalho. “Meu muito obrigado”.

À Universidade do Estado do Pará, em particular ao pró-reitor de Pesquisa, Prof. Dr. Jofre Jacó da Silva Freitas pela diretora de Pesquisas, Prof^a. Dra Sanny Helena Valente de Oliveira Alberi pela disponibilidade e atenção a todos os alunos durante o doutorado, em sintonia com os investimentos feitos pela instituição para capacitação de seu corpo docente.

Aos diretores do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde nas pessoas do Dr. Emanuel de Jesus de Souza e da Dra. Hilma Ferreira meu muito obrigado pelo e incentivo e apoio profissional.

Aos funcionários do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Evandro Chagas, em particular ao Dr. Manoel Gomes da Silva Filho, chefe do referido serviço, pela presteza na realização dos exames laboratoriais.

As minhas colegas do Laboratório de Farmacologia do CCBS Marlúcia Yerecê Serique Meiguins Herotildes Sales meu muito obrigado pelo apoio e que me foram muito úteis para o sucesso deste trabalho.

A todos os pacientes que participaram neste estudo, contribuindo anonimamente para mais um estudo científico sobre manifestações clínicas e laboratoriais da malária.

“É maravilhoso Senhor, ter os meus olhos perfeitos para contemplar e reverenciar a sinfonia natureza, que nos aconchega, relaxa e materializa a vossa presença”.

Barrorese.

RESUMO

Os relatos crescentes da resistência aos antimaláricos no tratamento da malária vivax direcionam a busca de novas estratégias de aperfeiçoamento do tratamento e controle da doença e ao se considerar a ausência de dados referentes a eficácia da associação cloroquina e primaquina e seus respectivos perfis cinéticos em pacientes com malária vivax no estado do Pará, este estudo objetivou avaliar as características epidemiológicas, a resposta terapêutica e as funções renal e hepática de 40 pacientes com malária vivax atendidos no Programa de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas (Belém/Pará) no período 2008 a 2010. Houve predomínio do gênero masculino (67,5%), a faixa etária de maior incidência foi 34-42 anos (30%), as ocupações principais foram marítimos e vendedores; a maioria (85%) residente em Belém-PA; os primoinfectados representaram 42,5%. A parasitemia inicial média foi $4.485,7 \pm 6.732,7$ parasitos/mm³, sendo considerada baixa em 95% e média em 5% dos casos. A anemia esteve presente em 60% dos casos com faixa etária predominante entre 23 a 60 anos; 57,5% apresentaram os demais índices hematimétricos normais em ambos os gêneros. Os parâmetros bioquímicos foram similares nos pacientes primoinfectados e recorrentes; O perfil cinético da cloroquina demonstrou pico de concentração plasmática de $1.102,15 \pm 313,52$ ng/mL; em D30 foram de $98,6 \pm 35,88$. Os teores médios de primaquina em D2, D7 e D14 foram de 210,2 ng/mL, 345,0 ng/mL e 91,7 ng/mL, respectivamente. O seguimento clínico e laboratorial dos pacientes não detectou recidiva da infecção após o seguimento de 28 dias, e não foram evidenciadas sintomatologia clínica adicional, o que aliado ao tempo médio de clareamento da parasitemia de 80 ± 32 horas indicam que o esquema terapêutico utilizado foi eficaz com taxa de cura de 100%, bem como a qualidade das medidas de orientação, esclarecimento e seguimento do serviço de saúde nos quais os pacientes foram diagnosticados e tratados.

Palavras-chave: Malária, *Plasmodium vivax*, cloroquina, primaquina, terapêutica.

ABSTRACT

Today search - new strategies for improving the treatment and control of malaria. The monitoring of plasma concentrations of drugs is an important tool that aims to provide more knowledge on the kinetics of several antimalarial drugs, aiming to achieve rapid therapeutic effect with reduced risk of toxicity. Thus, this study aimed to evaluate the therapeutic response to chloroquine and primaquine for vivax malaria patients, the plasma concentrations correlate with parasitemia, epidemiological data and evaluation of liver and kidney function, aiming at the optimization of various therapeutic regimens employed, evaluating if the responses are due to ineffective treatment of Plasmodium resistance to chloroquine or the presence of sub-therapeutic concentrations of drugs. Thus, we evaluated 40 patients with vivax malaria in the Program in Clinical Trials of Malaria Institute Evandro Chagas (Belém, Pará) in the period 2008 to 2010. Hemogram and other biochemical parameters were performed. The research of plasmodia in blood smear was performed and the parasitemia averaged 7187.5 ± 6732.7 parasitos/mm³. The prevalence of males with 67.5% of cases. The locations of malaria infection ranged from 14 municipalities in the state of Pará, most of which originates in the city of Anajás. For 42.5% of patients it was the first episode of the disease and 57.5% of applicants. In the evaluation of anemia by hemoglobin, there - if the levels below reference values in 60% of patients and hematological and biochemical parameters showed that the mean values of hematocrit and red blood cells showed highly significant difference between subgroups of patients and non-anemic anemic. The determination of chloroquine and primaquine in patients on D0, D2, D7, D14 and D30 were performed. The mean values of 0, 1102.1, 546.7, 185.8 and 98.6 ng / ml for chloroquine and 0, 210.2, 345.0, 91.7 and 0 ng/ml for primaquine.

Keywords: Malaria, Plasmodium vivax, chloroquine, primaquine therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1. Número de casos de malária vivax por estado (UF) brasileiro..... | 18 |
| Figura 2. Ciclo de vida do Plasmodium. Fonte: Adaptado de RICHIE; SAUL, 2002. | 19 |
| Figura 3. Prevalência dos infectados com malária pelo <i>P. vivax</i> , segundo o gênero..... | 49 |
| Figura 4. Prevalência dos infectados com malária pelo <i>P. vivax</i> , segundo faixa etária. | 49 |
| Figura 5. Prevalência dos infectados com malária pelo <i>P. vivax</i> segundo residência fixa.. | 50 |
| Figura 6. Prevalência dos infectados com malária pelo <i>P. vivax</i> segundo local de infecção..... | 50 |
| Figura 7. Prevalência dos infectados com malária pelo <i>P. vivax</i> segundo a ocupação principal. | 51 |
| Figura 8. Densidade parasitária.. | 52 |
| Figura 9. Classificação da parasitemia no primeiro dia de atendimento (D0). . | 52 |
| Figura 10. Distribuição dos pacientes quanto ao número de infecções maláricas..... | 53 |
| Figura 11. Parasitemia média entre pacientes primoinfectados e pacientes recorrentes | 54 |
| Figura 12. Níveis plasmáticos médios de hemoglobina entre pacientes primoinfectados..... | 54 |
| Figura 13. Níveis plasmáticos médios de cloroquina e primaquina determinados por CLAE em pacientes infectados por <i>P. vivax</i> | 58 |
| Figura 14. Níveis plasmáticos médios de Cloroquina e Primaquina determinados por CLAE em pacientes infectados com malária por <i>P. vivax</i> em relação à Parasitemia nos dias D0, D1, D2, D3, D7, D14 e D28. | 58 |

| | |
|--|----|
| Figura 15. Níveis plasmáticos médios de cloroquina determinados por CLAE em homens e mulheres infectados por <i>P. vivax</i> | 59 |
| Figura 16. Níveis plasmáticos médios de primaquina determinados por CLAE em homens e mulheres infectados por <i>P. vivax</i> | 60 |
| Figura 17. Níveis plasmáticos médios de cloroquina determinados por CLAE em pacientes primoinfectados e infectados recorrentes por <i>P. vivax</i> | 61 |
| Figura 18. Níveis plasmáticos médios de primaquina determinados por CLAE em pacientes primoinfectados e infectados recorrentes por <i>P. vivax</i> | 61 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax*, de acordo com o gênero, em relação faixa etária. 47
- Tabela 2: Parasitemia média e nível médio de hemoglobina entre primoinfectados e infectados recorrentes com malária pelo *P. vivax*. 52
- Tabela 3: Distribuição dos pacientes, anêmicos e não anêmicos, conforme o gênero, infectados com malária pelo *P. vivax* 54
- Tabela 4: Características laboratoriais dos pacientes anêmicos e não anêmicos, infectados com malária por *P. vivax*. 55
- Tabela 5: Características laboratoriais dos pacientes primoinfectados e infectados recorrentes com malária por *P. vivax*. 56
- Tabela 6: Níveis plasmáticos cloroquina e primaquina, entre homens e mulheres. 58
- Tabela 7: Níveis plasmáticos cloroquina e primaquina, entre pacientes primoinfectados e infectados recorrentes. 59

SUMÁRIO

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 1.1. | ASPECTOS GERAIS..... | 15 |
| 1.1.1. | Plasmódios humanos | 15 |
| 1.1.1. | Vetores | 15 |
| 1.2. | EPIDEMIOLOGIA | 16 |
| 1.2.1. | Malária no mundo | 16 |
| 1.2.2. | Malária no Brasil | 17 |
| 1.3. | CICLO BIOLÓGICO DO PLASMÓDIO | 19 |
| 1.4. | MALÁRIA POR <i>P. VIVAX</i> | 21 |
| 1.4.1. | Aspectos clínicos | 21 |
| 1.4.2. | Cloroquina no tratamento da malária vivax | 22 |
| 1.4.3. | Primaquina no tratamento da malária vivax..... | 24 |
| 1.4.4. | Eficácia terapêutica e resistência da cloroquina e primaquina | 25 |
| 1.4.5. | Sistema de vigilância da resistência aos antimaláricos nas Américas. | 35 |
| 1.4.6. | Monitorização das concentrações plasmáticas de drogas antimaláricas | 37 |
| 2. | JUSTIFICATIVA..... | 38 |
| 3. | OBJETIVOS | 40 |
| 3.1. | Geral..... | 40 |
| 3.2. | Específicos | 40 |
| 4. | METODOLOGIA | 41 |
| 4.1. | MODELO DE ESTUDO | 41 |
| 4.2. | UNIVERSO DE ESTUDO | 41 |
| 4.2.1. | Local do Estudo..... | 41 |

| | | |
|----------|--|----|
| 4.2.2. | População do estudo | 41 |
| 4.2.3. | Critérios de inclusão | 42 |
| 4.2.4. | Critérios de exclusão | 42 |
| 4.2.5. | Tratamento dos pacientes | 43 |
| 4.2.5.1. | Medicamentos utilizados | 43 |
| 4.2.5.2. | Esquema terapêutico..... | 43 |
| 4.3. | PROCEDIMENTOS | 44 |
| 4.3.1. | Acompanhamento do paciente | 44 |
| 4.3.2. | Avaliação clínica e laboratorial | 44 |
| 4.3.2.1. | Exame microscópico do sangue para determinação da parasitemia .. | 44 |
| 4.3.2.2. | Amostras de sangue venoso | 45 |
| 4.3.2.3. | Exame hematológico e bioquímico..... | 45 |
| 4.3.2.4. | Dosagem de cloroquina e primaquina | 46 |
| 5. | AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA | 46 |
| 6. | PARECER DA COMISSÃO ÉTICA..... | 47 |
| 7. | RESULTADOS | 48 |
| 7.1. | CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PARTICIPANTES... | 48 |
| 7.2. | PARASITEMIA..... | 51 |
| 7.3. | SEGUIMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL | 54 |
| 7.4. | AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA..... | 55 |
| 7.5. | MONITORAÇÃO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA..... | 57 |
| 8. | DISCUSSÃO | 62 |
| 9. | CONCLUSÕES..... | 74 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS

1.1.1. Plasmódios humanos

A malária é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por mais de espécies de protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa, classe Sporozoea, ordem Eucocciida e família Plasmodiidae. Aquelas que habitualmente parasitam o homem são: *Plasmodium falciparum*, que produz a febre terçã maligna, com quadro clínico no qual os acessos febris se repetem em intervalos cíclicos de 36 a 48 horas. Pode originar quadros graves, com comprometimento do sistema nervoso central, sendo responsável pela maioria dos casos fatais; *Plasmodium vivax*, responsável pela febre terçã benigna, com ciclo febril a cada 48 horas; *Plasmodium ovale*, com distribuição limitada ao Continente Africano, causador de outra forma de febre terçã benigna, com ciclo de 48 horas e *Plasmodium malariae*, que causa a febre quartã, caracterizada por acessos febris a cada 72 (DAILY, 2006).

1.1.1. Vetores

A principal via de transmissão ao homem é através da picada das fêmeas dos insetos dípteros do gênero *Anopheles*, pertencentes à família Culicidae, subordem Nematocera, ordem Díptera. Este gênero compreende cerca de 400 espécies, das quais, aproximadamente 100 são capazes de

transmitir a doença. Segundo GARNHAM et. al. (1998) no Brasil, as cinco espécies de anofelinos mais importantes pertencem a dois subgêneros, a saber: Nyssorhynchus, cujas espécies representativas no País são: A.(N) darling; A.(N) aquasalis e A.(N) albitarsis domesticus. E ao subgênero kerteszia, no qual se destacam as espécies A.(K) cruzi e A.(K) bellator.

O Anopheles (N) darlingi é o principal transmissor na região amazônica, apresentando maior grau de antropofilia e eficácia de transmissão. Distribui-se nas regiões litorâneas, principalmente nos criadouros de água doce localizados nos terreno altos, distantes da influência das marés, bem como nas regiões interioranas, desde as zonas orientais do México até o Norte da Argentina. No Brasil, antes das campanhas de erradicação, ocorria em todo o território, com exceção do Rio Grande do Norte, Paraíba e Rio Grande do Sul (TADEI & DUTARY – THATCHER, 2000).

As demais espécies são consideradas vetores secundários, tais como Anopheles (N) aquasalis (importante no litoral do País), Anopheles (N) albitarsis, Anopheles (K) cruzii (predominante no sul do Brasil) e Anopheles (K) bellator (FORATTINI, 2002).

1.2. EPIDEMIOLOGIA

1.2.1. Malária no mundo

Em 2008 foram registrados 243 milhões de casos da doença no mundo, a maioria no Continente Africano (85%), no Sudeste Asiático (10%), região oriental do Mediterrâneo (4%) e Continente Americano (WHO, 2009). Estima-se

que esta cifra seja maior, quando se considera as subnotificações. Cerca de um milhão de óbitos ao ano, com predomínio nas crianças abaixo de cinco anos, estão relacionados à malária associada a outras morbidades (infecções intestinais e respiratórias, AIDS dentre outras), com predomínio na África Subsaareana. Destaca-se a malária por *P. falciparum* que pode acarretar maior morbidade e mortalidade (RIDLEY, 2002; BANNISTER; MITCHELL, 2003; OMS, 2005).

Na maioria dos países africanos, os casos são diagnosticados e notificados de forma presuntiva, sem comprovação laboratorial, baseando-se nos achados clínicos e epidemiológicos da doença. Por outro lado, nas Américas e na maioria dos países da Ásia, Norte da África e Transcaucásia, os casos suspeitos são confirmados pelo diagnóstico laboratorial por microscopia ótica (OMS, 2005).

A malária causada pelo *P. vivax* fora do continente africano (África Subsaareana) corresponde a 55% dos casos mundiais, sendo relevante no sudeste da Ásia, na Índia e nas Américas Central e do Sul. Das 75% formas clínicas ocorrem na Ásia, incluindo o Oriente Médio, 15% a 20% nas Américas Central e do Sul e 5% a 15% na África (LUXEMBURGER, 1999; MILLER *et al.*, 2002; PUKRITTAYAKAMEE *et al.*, 2004).

1.2.2. Malária no Brasil

Vários fatores foram os responsáveis pela elevada incidência da doença, os quais desempenharam papel relevante na transmissão nos municípios amazônicos do Brasil, nas últimas décadas, dentre estes: 1) ocorrência da

doença em área de floresta tropical úmida, que favorece o desenvolvimento e proliferação dos vetores; 2) presença de grupos humanos expostos de forma ocupacional aos vetores como os garimpeiros, madeireiros, agricultores em assentamentos de colonização dentre outros; 3) condições climáticas propícias à disseminação dos vetores (temperatura, umidade e pluviosidade); 4) alguns enganos da engenharia rodoviária, que favoreceram a existência de maior número de criadouros; 5) uso inapropriado de medicamentos antimaláricos; e 6) ausência de infraestrutura social e de serviços permanentes de saúde (FERNANDES DA MOTTA, 1992; LOIOLA; SILVA; TAUIL, 2002).

No Brasil, a malária figura como uma das principais endemias parasitárias, sendo a região amazônica responsável por 99,8% dos casos notificados no País. Na maioria dos estados amazônicos, ocorre principalmente no período de junho a setembro. De acordo com o SIVEP (Sistema de Vigilância Epidemiológica da Amazônia) foram notificados em 2008 na Amazônia Legal 263.987 casos de malária vivax com maior prevalência nos Estados (figura 1) do Amazonas, Pará e Rondônia (DATASUS, 2008).

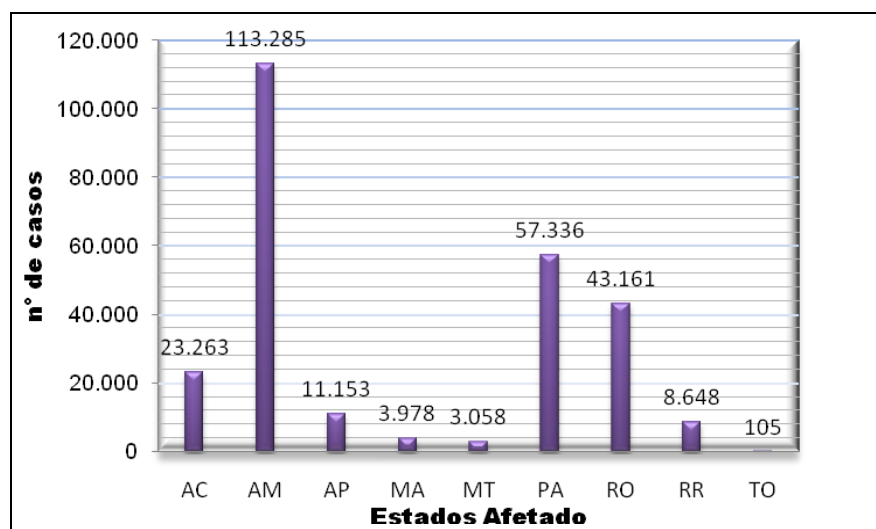


Figura 1. Número de casos de malária vivax por estado (UF) brasileiro.

1.3. CICLO BIOLÓGICO DO PLASMÓDIO

A transmissão da malária ocorre após a picada da fêmea do anofelino, que inocula os esporozoítos nos capilares subcutâneos, os quais ganham a corrente sanguínea. Também pode ocorrer através da via materno-fetal, da transfusão de sangue e seus derivados e, menos frequentemente, mediante o compartilhamento de seringas contaminadas com sangue de usuários de drogas (GILLES, 1998; GARNHAM, 1998).

O ciclo de vida sexuado do Plasmodium ocorre na fêmea do mosquito anófeles, e o assexuado no homem (figura 2) (CAMARGO, 2003; CORNEJO; ESCALANTE, 2006).

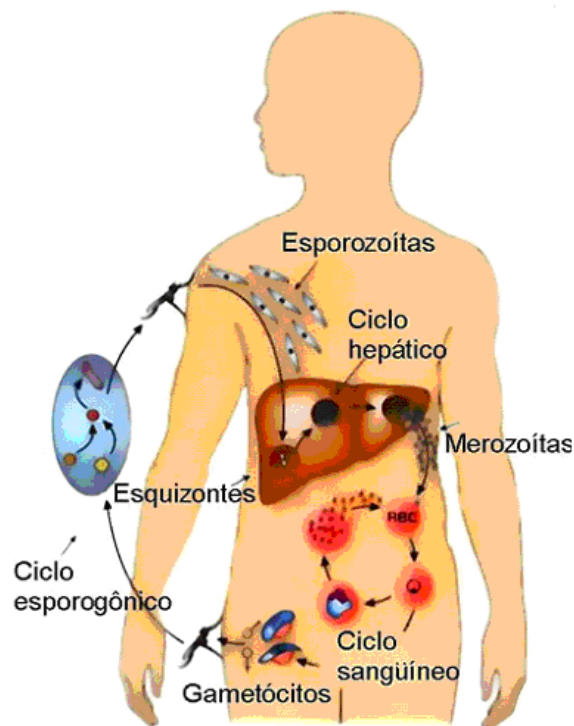


Figura 2. Ciclo de vida do Plasmodium. Fonte: Adaptado de RICHIE; SAUL, 2002.

O mosquito infectado inocula os esporozoítos no organismo humano, os quais migram para o fígado onde realizam o ciclo exo-eritrocítico em cerca de oito dias. Nas células hepáticas, os protozoários sofrem diferenciação e passam a forma arredondada de criptozoítos, em seguida se multiplicam e se diferenciam em cerca de 10.000 merozoítos (VALE *et al.*, 2005; BERNAN, 2004).

Após a replicação inicial no fígado (esquizogonia exo-eritrocítica), os parasitas sofrem multiplicação assexuada nos eritrócitos (esquizogonia eritrocítica), formando os merozoítos, que infectam novos eritrócitos. Alguns parasitas diferenciam-se em formas sexuadas (gametócitos). O gametócito masculino (microgametócitos) e o feminino (macrogametócitos) são ingeridos pela fêmea do mosquito durante o repasto sanguíneo, e migram para o estômago. Os microgametas penetram nos macrogametas gerando o zigoto, o qual se torna móvel e alongado (ocinetos), e invadem a parede do intestino médio do mosquito, formando o oocisto, que cresce se rompe e libera os esporozoítos, os quais migram para as glândulas salivares do mosquito, e infectam o homem durante o repasto sanguíneo. (RICHIE; SAUL, 2002).

Nos hepatócitos, o *P. vivax* e *P. ovale* apresentam formas dormentes que não realizam a esquizogonia tissular (esquizontes pré-eritrocíticos), interrompendo o ciclo assexuado no interior desta célula (hipnozoítos), o qual é continuado posteriormente, promovendo a recaída da doença (KROTOSKI, 1985; LOPEZ-ANTUÑANO, 1990; WARRELL, 1998).

Estudos relativos aos hipnozoítos do *P. vivax* postulam a existência de populações de esporozoítos geneticamente distintos que se desenvolvem no interior dos hepatócitos, enquanto outras permanecem dormentes nestas

células por um período maior. Os esporozoítos podem produzir hipnozoítos com diferente período de quiescência, variando de 15 dias (zonas tropicais) à 20 meses (zonas temperadas), podendo se estender por anos (KROTOSKI, 1985; WARRELL, 1998, HARINASUTA & BUNNAG, 1998).

1.4. MALÁRIA POR *P. VIVAX*

1.4.1. Aspectos clínicos

A prevalência da malária vivax é crescente, com cerca de 70-80 milhões de casos registrados anualmente, mostrando a importância mundial deste parasito para a saúde pública (MENDIS *et al.*, 2001). O *P. vivax* é menos patogênico, não alcança alta densidade parasitária e não sofre sequestro nos capilares e vênulas (PUKRITTAYAKAMEE *et al.*, 2000), embora o roseteamento das hemácias parasitadas já tenha sido relatado (CHOTIVANICH *et al.* 1998). Apresenta evolução clínica com predomínio das formas menos graves e baixa letalidade, entretanto pela elevada morbidade acarreta perdas socioeconômicas mundiais significativas (MENDIS *et al.*, 2001).

Nas Américas, os aspectos clínicos da malária por *P. vivax* são similares aos de outros continentes. A febre, icterícia e hepatoesplenomegalia geralmente estão presentes. Outros sintomas inespecíficos são calafrio, astenia, cefaleia, mialgia, tosse e sintomas gastrintestinais (VENTURA, 1997, ALECRIM, 2000; BLAIR *et al.*, 2003).

Nos indivíduos sem antecedentes de malária (não imunes), o risco de complicações é elevado, e têm sido reportados na literatura médica, com

diversos níveis de acometimento clínico (ALECRIM, 2000; PUKRITTAYAKAMEE *et al.*, 2000; MENDIS *et al.*, 2001). Neste sentido, Alecrim *et al.*, 2000, em estudo clínico-laboratorial realizado com 426 pacientes com malária vivax, em atendimento ambulatorial e hospitalar, observaram o predomínio do gênero masculino (70,7%) e da faixa etária de 24 a 44 anos (49,3%). As manifestações clínicas mais frequentes foram febre, cefaleia, mialgia, calafrios e artralgia. Os pacientes foram classificados segundo os critérios de uma escala de gravidade proposta pelos autores (leve, moderado e grave), contemplando informações clínicas (cefaleia, vômitos, temperatura, astenia, mialgia, visceromegalia, anemia, convulsão, disfunção respiratória, sangramentos, choque) e laboratoriais (hiperbilirrubinemia, hemoglobina, hematócrito, hipoglicemia, plaquetopenia, azotemia). Foram caracterizados casos leves e moderados de malária vivax em 376 pacientes, e 50 (22%) foram considerados graves.

1.4.2. Cloroquina no tratamento da malária vivax

A cloroquina tem papel central tanto no tratamento, quanto na profilaxia da malária, principalmente nos países em desenvolvimento, pelo seu baixo custo, eficácia e segurança (WHITBY, 1997). Possui ação esquizotocida nos eritrócitos infectados pelos *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*, além de exercer efeito gametocitocida nestas espécies e limitada ação sobre algumas cepas de *P. falciparum* (WARREL, 1998; BRASIL, 2001).

É uma 4-aminoquinolina, que se apresenta como um sal solúvel. No Brasil, apresenta-se na forma de sal (difosfato ou sulfato), em comprimidos de

250mg, equivalente a 150mg da concentração-base. O Ministério da Saúde recomenda dose total de 25mg/kg fracionada em três tomadas em intervalo de 72h, associada à primaquina na dose de 0,5mg/kg/dia por sete dias, salvaguardadas as limitações e contraindicações do uso (BRASIL, 2001).

É absorvida pelo intestino delgado em curto espaço de tempo (2 - 4h) após a ingestão. Após 30 minutos da administração de uma única dose de 10mg/kg, a concentração plasmática alcançada geralmente é superior àquela considerada efetiva mínima terapêutica (DUA *et al.*, 1999). Concentra-se nos eritrócitos, cujos níveis se elevam quando estão parasitados (BRASIL, 2001). Deposita-se nos tecidos (fígado, baço, pele e outros) e possui elevada ligação às proteínas plasmáticas, cerca de 60%.

É rapidamente biotransformada através das enzimas do citocromo P450, com perda sucessiva dos grupamentos etílicos terminais da sua estrutura molecular e em seguida do outro remanescente (THOMPSON & WERBEL, 1972), formando a desetilcloroquina e bisdesetilcloroquina, respectivamente, as quais são depuradas lentamente, com meia-vida de 20 a 60 dias (DUCHARME & FARINOTTI, 1996; WARREL, 1998). Parte do fármaco é excretada inalterada nas fezes e apenas 10%-25% da dose diária administrada são detectados na urina na forma do fármaco original (THOMPSON & WERBEL, 1972 apud BERLINER *et al.*, 1948; WARREL, 1998).

O mecanismo de ação resulta do acúmulo de cloroquina nos vacúolos digestivos dos plasmódios, aumentando o pH lisossômico, interferindo na metabolização e utilização da hemoglobina pelos parasitas (TAVARES, 1999 apud HOMEWOOD *et al.*, 1972 a; 1972b) Sabe-se que o heme da hemoglobina é liberado no citosol do parasito e degradado pela glutathione reduzida,

liberando ferro. Este, por sua vez, é utilizado, armazenado (hemozoína) ou eliminado. Quanto mais heme se integra à membrana do vacúolo digestivo mais permeável a mesma se torna, acarretando peroxidação dos lipídeos. A inibição causada pela cloroquina na formação da hemozoína e na degradação da glutatona reduzida supera os mecanismos de detoxificação, levando a formação dos hidroxiperóxidos (SULLIVAN *et al.*, 1998; SULLIVAN, 2002 apud PAPALEXIS *et al.*, 2001;).

A cloroquina é geralmente bem tolerada, especialmente quando utilizada para tratamento ou quimioprofilaxia da malária, inclusive nas crianças e gestantes, com efeitos adversos brandos (cefaleia, diplopia, distúrbio de acomodação visual, náusea, tontura e astenia). Efeitos tóxicos graves (hipocalemia, distúrbios na condução elétrica cardíaca, hipotensão, choque circulatório, convulsão e outros) geralmente são observados quando as concentrações sanguíneas excedem 250µg/ml de plasma (TAYLOR & WHITE, 2004). Em pacientes negróides e mongolóides observa-se também prurido palmar, solar e, às vezes, sistêmico (WARREL, 1998).

1.4.3. Primaquina no tratamento da malária vivax

A primaquina é uma 8-aminoquinoleína com ação contra os gametócitos dos plasmódios e hipnozoítos hepáticos das formas recidivantes do *P. vivax* e *P. ovale*. É o único fármaco usado nas formas recidivantes, embora se tenha relato na literatura de estudos clínicos com outra 8-aminoquinoleína para cura radical deste parasita (COOPER *et al.*, 1994).

É rapidamente absorvida pela via oral, alcançando concentração plasmática de pico entre uma a três horas, e vida média de cinco horas, sendo rapidamente metabolizada no fígado, com intensa reciclagem hepática. Duas vias metabólicas importantes foram descritas na biotransformação da primaquina. Uma leva à formação da 5-hidroxiprimaquina e 5-hidroxidimetilprimaquina, que possui ação antimalárica e pode acarretar metahemoglobinemia. A outra via resulta da formação de N-acetilprimaquina e ácido desaminocarboxílico, que não parecem ser ativos nos seres humanos (WERNSDORFER & TRIGG, 1984).

Os efeitos adversos mais graves estão relacionados aos elementos formados no sangue e na medula óssea, podendo acarretar leucopenia, anemia e metemoglobinemia. Ressalta-se que a ação hemolítica da primaquina é aumentada naqueles com deficiência de G6PD (WHO, 1967 ; WHO, 1990).

1.4.4. Eficácia terapêutica e resistência da cloroquina e primaquina

Todos os estágios do ciclo assexuado do *P. vivax* estão presentes no sangue periférico e nos hepatócitos, e o declínio inicial da parasitemia sanguínea, na presença dos antimaláricos reflete diretamente a eficácia do fármaco. O tratamento da malária não complicada objetiva a cura, ou seja, a erradicação dos parasitas circulantes na corrente sanguínea e a rápida melhora clínica do paciente (WHITE, 1997; 2002). Um dos aspectos limitantes do sucesso do tratamento é a variação da resposta dos parasitas aos esquemas terapêuticos utilizados. (NOEDL; WERNSDORFER; WONGSRICHANALAI, 2003). Segundo a OMS (2001), define-se resistência do plasmódio às drogas

antimaláricas como a capacidade de uma determinada cepa sobreviver como também se multiplicar, a despeito da administração correta do antimalárico e da presença de concentrações plasmáticas efetivas.

Para caracterização da resistência parasitária se considera a presença ou ausência de parasitos e a densidade parasitária, não levando em conta os aspectos clínicos relacionados à doença, tais como febre e sinais de gravidade (PLOWE, 2003). Vários fatores interagem no desenvolvimento da resistência pelos plasmódios e estão relacionados à droga, ao hospedeiro humano, ao parasito, ao vetor e ao ambiente (WONGSRICHANALAI, 2002; RIGBY; HECHINGER; STEVENS, 2002). Dentre estes, se destacam: 1) número de parasitos no hospedeiro humano expostos ao antimalárico; 2) concentração do antimalárico ao quais estes parasitos estão expostos; 3) propriedades farmacodinâmicas dos antimaláricos; 4) grau de resistência resultante das alterações genéticas; e 5) nível de defesa do hospedeiro conferido pela imunidade específica e inespecífica (WHITE, 2004).

A manutenção de concentração plasmática de antimaláricos adequada à eliminação dos parasitos, quando não respeitada, também favorece a seleção das cepas de plasmódios menos suscetíveis aos efeitos farmacológicos desejados (WONGSRICHANALAI, 2002). Soma-se o uso indiscriminado e inadequado destes fármacos nas áreas de intensa transmissão, com base no diagnóstico presuntivo da doença, resultante da inexistência de infraestrutura laboratorial, a prescrição de maneira inadequada, isto é, a não observação da diferença entre a dose efetiva curativa e aquela capaz de induzir efeitos adversos e a presença de antimaláricos adulterados (DAILY, 2006).

Características farmacocinéticas, como a baixa biodisponibilidade com consequente variação das concentrações sanguíneas e a meia vida de eliminação terminal dos fármacos, que quanto mais prolongada maior será a probabilidade de persistirem concentrações sub-terapêuticas no plasma humano, também são variáveis importantes na resistência do parasita. Nas reinfecções, o risco da seleção das cepas de plasmódios mutantes resistentes e sua disseminação geográfica nas áreas malarígenas são possíveis nas zonas de intensa transmissão e, principalmente, naquelas de baixa e média transmissão (parasitemia elevada e baixa imunidade) (WHITE, 1998; 2004; ALECRIM *et al.*, 1999a; HASTINGS, 2003; BANNISTER; MITCHELL, 2003).

A resposta imune do hospedeiro à infecção pelo plasmódio desempenha efeito coadjuvante na eliminação dos parasitos, estando diretamente relacionada ao número de infecções adquiridas ao longo de sua existência (TAYLOR-ROBINSON, 2002; ARÉVALO-HERRERA *et al.*, 2002).

A imunidade é adquirida de maneira lenta e imperfeita (ARÉVALO-HERRERA *et al.*, 2002; WHITE, 2004). Indivíduos que nunca tiveram malária também apresentam resposta imune inespecífica pouco efetiva, bem como específica, que se reforça por episódios pregressos. Mesmo na presença de parasitos parcialmente resistentes aos antimaláricos, os indivíduos semi-ímmunes podem ser curados pela ação do medicamento em sinergismo com a atividade imunológica inerente. Infecções por plasmódios resistentes nos indivíduos sem imunidade podem aumentar as chances de disseminação das cepas resistentes e dos casos graves (WONGSRICHANALAI, 2002).

A recombinação gênica no ciclo sexuado do plasmódio no trato digestivo do vetor pode conferir a determinadas cepas caracteres de resistência, tendo

estreita relação com o antimalárico e seus níveis plasmáticos, aos quais os parasitos foram expostos no hospedeiro vertebrado. Na ausência de fármacos, as alterações genéticas naturais são oriundas da fase sexuada (HASTINGS, 2003). Neste sentido, um simples evento genético, ou mesmo múltiplos eventos desvinculados, podem ser necessários para conferir características específicas de resistência a determinadas cepas de plasmódio (WHITE, 2004).

Como modelo da disseminação da resistência às drogas antimaláricas baseado na relação tempo-espço, Mackinnon (2005) sugere a existência de três fases evolutivas distintas relacionadas ao tempo: 1) Emergencial - probabilidade do plasmódio mutante resistente emergir em local isolado (único hospedeiro) e se estabelecer na população (múltiplos hospedeiros); 2) Disseminação - frequência aumentada de mutantes (considerável disseminação da população de parasitos resistentes) e 3) Pós-emergencial - fracasso terapêutico cada vez mais frequente, tornando os antimaláricos ineficazes.

P. vivax é considerado resistente a cloroquina quando ocorre recorrência ou persistência parasitária em até 35 dias do seguimento de indivíduos tratados, comprovando-se que os níveis de cloroquina e desetilcloroquina no sangue sejam superiores a 100ng/mL ou de 10ng/mL de plasma (BAIRD, 1997; 2004 apud BERLINER *et al.*, 1948; apud COATNEY *et al.*, 1949). O seguimento mais curto, de 28 dias, é atualmente recomendado pela OMS (2003).

Por outro lado, critérios metodológicos confiáveis para classificar a resposta *in vitro* do *P. vivax* aos antimaláricos ainda não estão padronizados,

em consequência da dificuldade de adaptação dos parasitos em cultivo contínuo (HAMED I *et al.*, 2003; BAIRD, 2004).

A ineficácia crescente dos quimioterápicos empregados habitualmente no tratamento da malária, indicando resistência dos plasmódios humanos (*P. falciparum* e *P. vivax*), é um fato amplamente documentado em diversas partes do mundo. Com a disseminação de cepas de *P. falciparum* resistentes, especialmente a cloroquina e a combinação sulfadoxina-pirimetamina em diversas regiões, a partir da década de 60, a eficácia terapêutica dos antimaláricos emergiu como problema relevante de saúde pública, suscitando esforços científicos multinacionais para adequação dos esquemas de tratamento, tornando-os mais eficazes e de baixo custo para os países endêmicos (WHITE, 1998; NOEDL *et al.*, 2003; WONGSRICHANALAI, 2002;).

Relatos iniciais da resistência a cloroquina remontam a 1989 em soldados australianos provenientes da Papua Nova Guiné (RIECKMANN, 1989; SCHUURKAMP, 1989). A seguir, inúmeros casos de sensibilidade reduzida a este antimalárico surgiram em diversos países: Mianmar (THAN *et al.*, 1995); Papua Nova Guiné (SCHUURKAMP *et al.*; 1992); Bornéu (FRYAUFF *et al.*, 1998); Índia (GARG *et al.*, 1995); Filipinas (BAIRD *et al.*, 1996); Guiana (PHILLIPS *et al.*, 1996); Brasil (CORTI & GARAVELLI, 1992; ALECRIM *et al.*, 1999b); Tailândia (LOOAREESUWAN *et al.*, 1999); Vietnam (TAYLOR *et al.*, 2000) e Peru (RUEBUSH II *et al.*, 2003a).

Na Indonésia, estudo de sensibilidade do *P. vivax* a cloroquina mostrou que em distintas regiões do país (parte oriental), a resistência parasitária chegou a 45%, configurando assim questão relevante de saúde pública (SUMAWINATA *et al.*, 2002). Nas Américas, o antimalárico vem se mantendo

eficaz no tratamento da malária vivax, embora já existam recentes relatos de resistência no Brasil, Colômbia, Guatemala, Guiana e Peru (OPAS, 2005).

Villalobo-Salcedo *et al.* (2000) avaliaram em 73 pacientes oriundos de Porto Velho na Amazônia Brasileira, a sensibilidade do plasmódio a cloroquina associada à primaquina, sendo a última administrada em um grupo de pacientes durante 14 dias e em outro durante sete dias (período encurtado). Os resultados mostraram-se efetivos para as duas drogas e, em especial, no segundo grupo, que apresentou menor número de recorrência. Estudo similar com o mesmo período de tratamento foi realizado com 80 pacientes do ambulatório de malária do Instituto Evandro Chagas, em Belém-Pará. Todos os indivíduos foram acompanhados por 180 dias, observando-se taxa de cura de 97,5% para o primeiro esquema, sem constatação de recaída, uma vez que 2,5% abandonaram a pesquisa; e para o segundo esquema, taxa de cura de 95% e 5% de recaída (ABDON *et al.*, 2001).

No Amazonas, Alecrim *et al.* (2000) avaliaram a sensibilidade do *P. vivax* à cloroquina em 331 pacientes, dos quais 158 finalizaram os 28 dias de seguimento clínico. Todos foram tratados inicialmente com cloroquina (25mg/kg) associada à primaquina após o quinto dia de seguimento. Em 151 pacientes (95,5%) não houve recorrência parasitária e em sete (4,4%) a parasitemia recrudescceu após o 14º dia.

Alguns estudos com o uso isolado da cloroquina já foram realizados na América Latina. Soto *et al.* (2001), na Colômbia, avaliando a eficácia da cloroquina isolada em 27 pacientes com malária vivax, supervisionados por 28 dias(25mg/kg), encontraram resistência de 11% (4), alertando para a

importância de se monitorar a resistência do *P. vivax* a cloroquina nas Américas.

Em Georgetown (Guiana), foram avaliados por Baird *et al.* (2002), 13 pacientes tratados com cloroquina e acompanhados por 28 dias, sendo identificados dois casos de recorrência parasitária tardia no décimo quarto e vigésimo primeiro dias, respectivamente, porém os níveis sanguíneos de cloroquina e desetilcloroquina estavam abaixo da concentração efetiva mínima do antimalárico ($\geq 100\text{ng/ml}$), não permitindo desta forma a caracterização da resistência do *P. vivax* a cloroquina.

Ruebush II *et al.* (2003a) investigando a ocorrência de *P. vivax* resistente à cloroquina, conduziram estudo in vivo na bacia amazônica peruana e na costa pacífica norte do País, empregando o protocolo recomendado pela OMS (2003) para avaliação da eficácia da cloroquina na malária vivax. Foram acompanhados 242 pacientes com febre documentada ou relato de história de febre, 177 da região amazônica e 65 da costa pacífica. O tratamento com cloroquina isolada (25mg/kg) foi supervisionado e 212 pacientes (88%) completaram o seguimento de 28 dias. O tratamento complementar com primaquina foi introduzido a partir do 28º dia. Os resultados demonstraram que dentre os pacientes da região amazônica, quatro apresentaram recorrência parasitária pelo *P. vivax* nos 21º e 28º dias de seguimento (1,88%), confirmada pela determinação das concentrações séricas de cloroquina e desetilcloroquina e genotipagem de polimorfismo pela reação em cadeia da polimerase.

A primaquina também apresenta ação antimalárica intrínseca contra os estágios assexuados do *P. vivax*, e sua associação à cloroquina não permite a comprovação segura da resistência parasitária a 4-aminoquinolina, bem como

a comparação dos resultados de testes de sensibilidade com outras drogas (PUKRITTAYAKAMEE *et al.*, 2000).

Sabe-se que as cepas de *P. vivax* apresentam intervalos diversificados entre a primeira infecção e a recaída. Em algumas cepas das zonas tropicais, são mais curtos, quando comparados aquelas das zonas temperadas. Na cepa Chesson, originária da Nova Guiné, o intervalo para recaída varia de 43 a 60 dias, quando usada a associação cloroquina e primaquina adequadamente. Na cepa St. Elizabeth, originária da América do Norte, o intervalo para recaída é mais longo, ocorrendo nove a dez meses após a exposição do esporozoíto (COATNEY *et al.*, 1950^a e 1950b; COOLINS & JEFFERY, 1996 e JEFFERY, 1956).

A resposta terapêutica a dosagem convencional de primaquina de 15 mg diárias, durante 14 dias, também é variada. Nas cepas da Coreia, obteve-se cura de 100%, ao contrário da cepa Chesson, na qual a cura radical foi cerca de 70% (COATNEY & GETZ, 1962).

Alguns trabalhos chamam atenção para resistência dos hipnozoítos do *P. vivax* à primaquina em alguns Países, como os do sudeste asiático (KROTOSKI, 1980). A sensibilidade à primaquina depende principalmente das cepas, neste sentido, Bruce- Chwaat (1985) destacou que a resposta do parasita não depende apenas da espécie, como também das cepas, uma vez que algumas destas apresentam alto grau de tolerância ao tratamento e requerem doses mais altas.

Na Índia, o Programa Nacional de Erradicação da Malária recomenda o uso de 15mg/dia de primaquina durante cinco dias. Estudos realizados naquele país por Roy *et al.* em 1977, demonstraram que a recaída foi de 1,3%.

Gogtay *et al.* (1998) trataram 173 pacientes com malária vivax, destes 100 foram acompanhados por um período de seis meses e 65 durante um ano; no primeiro grupo, a parasitemia retornou em 11 indivíduos no período de um a três meses, e em dois, entre quatro a seis meses. Dois pacientes acompanhados por 12 meses apresentaram recidiva, um com sete e outro com nove meses. Todos foram retratados com primaquina durante 14 dias. O esquema terapêutico com primaquina durante cinco dias curou aproximadamente 87% dos pacientes. Outro estudo no mesmo País com 725 pacientes portadores de malária vivax, usando 15 mg de primaquina ao dia, por cinco dias, demonstrou 6,9% de recaída (SINHA *ET AL.*,1989).

No Sudeste da Ásia (Tailândia), o tratamento convencional com primaquina resultou na recaída de 20% dos pacientes meses após o término, sugerindo assim, que o seguimento seja de seis meses (CHAROENLARP & HARINASUTA,1973; KROTOSKI, 1980).

Luzzi *et al.*, (1999) recomendaram nos pacientes com malária vivax recidivante oriundos da Papua Nova Guiné, Ilhas Salomão, Tailândia e outras áreas do Sudeste da Ásia, onde a taxa de recaída é de 30%, que a dose total de primaquina deve ser de 6 mg/Kg, ou 15 mg diários durante 21 dias, devendo-se levar em consideração, a possibilidade dos pacientes apresentarem deficiência da G6PD. Rieckmann *et al.* (1993) chamaram a atenção para a refratariedade do tratamento com primaquina em pacientes oriundos da Papua Nova Guiné (cepas Chesson).

Estudo realizado com uma 8-aminoquinoleína, a WR238605, análoga da primaquina, melhor tolerada e com menos efeitos gastrintestinais, para ser usada isolada ou em combinação com a cloroquina, demonstrou efeito

promissor contra as cepas resistentes a cloroquina e a primaquina. Esta droga está sendo testada em seres humanos (infecção natural) e em macacos inoculados com cepas de *P. vivax* resistentes à cloroquina, nos quais foi efetiva na cura dos trofozoítos eritrocitários (COOPER *et al.*, 1994; OBALDIA *et al.*; PETERS *et al.*, 1993).

Bunnang (1994) tratou pacientes com malária vivax usando primaquina em dois esquemas terapêuticos: 81 pacientes com dose diária de 15mg/dia e 86 com dose diária de 22,5 mg, durante 14 dias. A recaída no grupo de menor dose foi significativamente maior, quando comparada ao segundo grupo. Gascon *et al.* (1994) tratando pacientes procedentes da Guatemala com *P. vivax*, notaram resposta não satisfatória ao esquema tradicional e Signore *et al.*(1996) relataram a falência da primaquina em um paciente neste País. Pukrittayakamee *et al.*(1994) observaram recaída de 17% na Tailândia. Neste mesmo País, Tan-ariya *et al.* (1995) encontraram recidiva em 10% dos pacientes.

Smoak *et al.* (1997) investigaram 75 soldados após o retorno da Somália para os Estados Unidos. Destes, 60 foram selecionados para receber primaquina, objetivando a cura radical. Após o tratamento, 26 (43%) soldados apresentaram recidiva, com intervalo médio de 75 dias, variando de 22 a 193 dias. Oito pacientes apresentaram segunda recaída, com intervalo entre a primeira e a segunda de 31 a 127 dias, com média de 107 dias. Aqueles com mais de uma recaída, receberam altas doses de primaquina (30 mg/base por 14 dias) e três apresentaram nova recidiva. Os autores concluíram que três pacientes tinham cepas resistentes à primaquina oriundas da Somália.

Na literatura brasileira, existem poucos relatos sobre a frequência e o período das recaídas do *P. vivax*. Boulos *et al.* (1991a) fizeram um estudo retrospectivo em pacientes com malária vivax em São Paulo-SP tratados com primaquina na dosagem de 15 mg/dia, durante 14 dias, e a recaída foi de 24,5%. Pinto *et al.* (1994) acompanharam 37 pacientes com malária vivax, em Belém-PA, entretanto os autores tiveram dificuldades para separar recidiva de nova infecção. Villalobos, em 1999, acompanhou 61 pacientes, por um período de três meses, tratados com primaquina na dose de 15 mg, durante 14 dias, destes 10 destes apresentaram recaída.

1.4.5. Sistema de vigilância da resistência aos antimaláricos nas Américas

As recomendações da OMS (2003) e da OPAS (2004) para os estudos clínicos de resistência aos antimaláricos vêm sendo seguidas pelos Ministérios da Saúde de diversos Países nos quais a doença é endêmica, seus respectivos programas nacionais de controle da malária e centros de pesquisas. Os estudos *in vivo*, realizados com base nas diretrizes destes órgãos, são realizados quando se questiona a eficácia terapêutica dos esquemas de primeira e segunda linha para tratamento da doença, em uma determinada região ou País, ou da necessidade de mudança na política nacional de uso dos antimaláricos. O emprego de métodos padronizados assegura que os dados obtidos possam ser correlacionados com as informações de resistência de outras localidades, bem como comparados com outros Países (RUEBUSH II *et al.*, 2003b).

A metodologia dos estudos proposta pela OMS/OPAS adota, de maneira resumida, os seguintes critérios: 1) inclusão de pacientes ambulatoriais dos centros de saúde ou hospitais sem sinais ou sintomas de gravidade; 2) presença de febre ou história recente de febre; 3) gota espessa como diagnóstico (monoinfecção); 4) densidade parasitária mínima; 5) tratamento supervisionado após avaliação clínica; 7) dose-padrão ajustada ao peso; 8) qualidade do fármaco certificada; 9) seguimento clínico e parasitológico por 28 dias; e 10) monitoramento dos sinais, sintomas e efeitos adversos (OMS, 2003; RUEBUSH II *et al.*, 2003b; OPAS, 2004).

Nos últimos anos, o monitoramento da eficácia dos antimaláricos foi otimizado em diversas regiões da América Central e do Sul, a partir do estabelecimento dos sistemas de vigilância, estruturação das localidades sentinela (municípios) e emprego de protocolos de estudos de eficácia terapêutica dos antimaláricos de caráter multicêntrico. Estes esforços estão ajudando os países amazônicos na revisão e atualização de suas políticas nacionais de antimaláricos (OPAS, 2005b; OMS, 2005).

Desde 2001, para os fins supracitados, encontra-se em funcionamento na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela a RAVREDA - Rede Amazônica de Vigilância da Resistência às Drogas Antimaláricas- sob a supervisão da Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS, com suporte financeiro compartilhado entre os ministérios da saúde dos países participantes e a USAID – United States Agency for International Development. No Brasil, encontra-se sob a responsabilidade do Ministério da Saúde (MS) / Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) (OPAS 2005b; OMS, 2005).

No Brasil, a RAVREDA tem como objetivos principais: 1) estimar a magnitude e distribuição da fármaco resistência dos parasitos da malária aos medicamentos preconizados pelo Programa Nacional de Controle da Malária; 2) possibilitar a avaliação de novas terapêuticas; 3) validar novos métodos diagnósticos propostos para o controle da malária; e 4) subsidiar a tomada de decisão referente à política nacional de tratamento da malária (BRASIL, 2005).

1.4.6. Monitorização das concentrações plasmáticas de drogas antimaláricas

Os antimaláricos tem sido objeto de estudo a fim de estabelecer a correlação entre o insucesso no tratamento e sua respectiva concentração no plasma ou em outros fluidos biológicos. Uma vez que a resposta terapêutica inadequada pode está relacionada à resistência e/ou nível sanguíneo da droga insuficiente (BAIRD, 2004).

A monitorização das concentrações sanguíneas dos antimaláricos requer a coleta de amostras válidas, seguida de determinações oportunas e confiáveis e interpretação dos resultados cotejando-os com o esquema terapêutico proposto, para que sejam interpretados no contexto farmacocinético, uma vez que diversos fatores influenciam a farmacocinética dos medicamentos e, em consequência, na resposta farmacodinâmica do fármaco, como por exemplo, a história do paciente, com ênfase particular em seu estado fisiopatológico, a associação com outros fármacos, o surgimento de inúmeras drogas com largo espectro de atividade terapêutica, porém com estreita margem de segurança, o uso de programas de computadores com

dados farmacocinéticos, para prever esquemas de doses, dentre outros (BERGQVIST, Y.; HELLGREN, U.; CHURCHILL, F.C., 1988).

As vantagens de um programa de monitorização são: (BERGQVIST, Y.; CHURCHILL, F.1988; ZHAO, S.S. 1987):

1 - Podem ser identificados os pacientes nos quais as características de disposição do medicamento são incomuns, isto é, o perfil cinético de determinado fármaco em certos indivíduos pode se desviar consideravelmente dos parâmetros médios populacionais.

2 - Os esquemas terapêuticos podem ser ajustados durante os períodos de variação fisiológica contínua, como nas alterações normais do estado fisiológico (gravidez, obesidade e envelhecimento) ou variações fisiopatológicas ou hemodinâmica contínuas, resultantes de doenças, tratamento cirúrgico e do processo de cicatrização.

3 - Podem ser identificadas as linhas de base de concentrações associadas a um programa terapêutico ótimo.

4 – Individualização do esquema terapêutico.

2. JUSTIFICATIVA

O aparecimento de plasmódios resistentes aos fármacos é um dos mais graves obstáculos a quimioterapia da malária. O primeiro registro de resistência de plasmódios aos quimioterápicos foi feito no Brasil em 1910. A partir de 1961, constatou-se o surgimento de resistência à cloroquina no Brasil, na Colômbia, na Venezuela, no Panamá, no Peru e no Sudeste da Ásia. Após

1970, o problema se estendeu ao Sul da Ásia e, por fim, à África. (REY, L., 2002).

Tal fenômeno se associa à ocorrência de mutações espontâneas, pois nada demonstra que os antimaláricos usados na clínica exerçam efeitos mutagênicos sobre os plasmódios; e a pressão seletiva dos medicamentos sobre as populações de parasitos sensíveis (que vão desaparecendo) e dos resistentes (que passam a prevalecer), quando estes se encontram no plasma em concentrações sub-terapêuticas. (BAIRD K.; NALIM, S.; BASRI, H.; MASBAR S.; LEKSANA, B.; TJITRA, E.; DEWI, R. M.; KHAIRANI, M.; WIGNALL, F. S. 1996). Ao se considerar que não existem dados na literatura pertinente referentes aos níveis plasmáticos de cloroquina e primaquina em portadores de malária vivax oriundos do Estado do Pará, durante o seguimento recomendado pela OMS, justifica-se a realização deste estudo objetivando avaliar a resposta terapêutica a cloroquina e primaquina de pacientes com malária vivax, descrevendo seus aspectos epidemiológicos e correlacionando as concentrações plasmáticas com a parasitemia, e as funções hepática e renal, com vistas à otimização dos diversos esquemas terapêuticos empregados.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a eficácia e o perfil cinético da cloroquina e da primaquina no tratamento da malária causada pelo *P. vivax* em pacientes atendidos no ambulatório de Instituto Evandro Chagas.

3.2. Específicos

- ✓ Descrever as características epidemiológicas da população de estudo;
- ✓ Estimar as taxas de cura clínica e parasitológica nos pacientes avaliados;
- ✓ Determinar as concentrações sanguíneas e traçar o perfil cinético de cloroquina e primaquina;
- ✓ Avaliar as funções renais e hepáticas dos pacientes;
- ✓ Estabelecer associações entre as variáveis epidemiológicas, clínicas e laboratoriais com a resposta terapêutica observada.

4. METODOLOGIA

4.1. MODELO DE ESTUDO

Foi realizado um ensaio clínico prospectivo e não comparativo para avaliação do tratamento com cloroquina e primaquina em pacientes com malária por *P. vivax*.

4.2. UNIVERSO DE ESTUDO

4.2.1. Local do Estudo

Conduzido no ambulatório de malária do Instituto Evandro Chagas que é uma autarquia federal de referência para assistência, ensino e pesquisa em doenças tropicais, situada em Belém-Pará. É responsável pelo atendimento médico dos pacientes com diagnóstico de malária no município de Belém e de alguns provenientes do interior do Estado.

4.2.2. População do estudo

Constituída por pacientes de demanda espontânea com malária vivax, diagnosticados pelo exame da gota espessa no Laboratório de Malária do Instituto Evandro Chagas (IEC) no período de janeiro de 2008 a julho de 2010, e referenciados para atendimento médico no Ambulatório de Malária da referida instituição, independente do grau de imunidade. Os pacientes

receberam cloroquina e primaquina conforme preconizado pelo Ministério da Saúde.

4.2.3. Critérios de inclusão

A inclusão de pacientes na pesquisa foi de acordo com a livre demanda do ambulatório de malária do Instituto Evandro Chagas em conformidade com os critérios abaixo:

- ✓ Pacientes de ambos os sexos;
- ✓ Grupo etário de 16 a 66 anos;
- ✓ Temperatura axilar $\geq 37,5$ ° C ou história de febre nas últimas 48 horas;
- ✓ Exame da gota espessa positivo para *P. vivax* (monoinfecção), com parasitemia ≥ 250 parasitos assexuados/ μ L;
- ✓ Aceitar ou ser autorizado a participar do estudo (termo de consentimento livre e esclarecido);
- ✓ Ausência de sinais de malária grave;
- ✓ Possibilidade de retornar nos 28 dias de seguimento;
- ✓ Ausência de doenças crônicas associadas.

4.2.4 Critérios de exclusão

- ✓ Ser portador de co-morbidades, tais como cardiopatias, nefropatias, hepatopatias, AIDS, desnutrição grave, diabetes mellitus;
- ✓ Presença de sinais de malária grave;

- ✓ História de hipersensibilidade ao medicamento do mesmo grupo químico previsto na pesquisa;
- ✓ Gravidez.

4.2.5. Tratamento dos pacientes

4.2.5.1. Medicamentos utilizados

A cloroquina foi utilizada em comprimidos de 250mg de sal, sob a forma de cloridrato, equivalente a 150mg de base livre, e fez parte de um lote garantido por controle de qualidade físico-químico. Já a primaquina, sob a forma de difosfato, foi utilizada em comprimidos de 15mg do sal.

4.2.5.2. Esquema terapêutico

A cloroquina foi administrada sob supervisão médica e o cálculo da dosagem ajustado ao peso do paciente, de maneira a perfazer a dose total de 25mg/kg/peso, distribuída em três dias, quer seja: D0 - 10 mg/kg, D1 - 7,5mg/kg e D2 - 7,5mg/kg. E a primaquina em dose de 0,5mg/kg/dia, por sete dias (BRASIL, 2001).

Ressalta-se que quando necessário, foram administrados medicamentos sintomáticos aos pacientes nas seguintes situações:

Paracetamol ou dipirona para temperaturas maiores de 37, 8 °C e/ou algias;

Em caso de náuseas e vômitos foi prescrito metoclopramida.

4.3. PROCEDIMENTOS

4.3.1. Acompanhamento do paciente

A Ficha de Acompanhamento do Paciente (FAP) foi utilizada como instrumento de coleta de informações referentes aos dados demográficos, epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e parasitológicos dos pacientes incluídos (D0). No mesmo instrumento também foram registradas as informações do seguimento clínico e parasitológico nos diversos dias (D2, D7, D14, D28).

4.3.2. Avaliação clínica e laboratorial

Todo paciente incluído foi submetido a um exame clínico inicial para verificação do seu estado de saúde e para se avaliar a presença de sinais de gravidade e outras doenças associadas (critérios de exclusão).

4.3.2.1 Exame microscópico do sangue para determinação da parasitemia

As lâminas para diagnóstico da malária foram preparadas mediante punção da polpa digital do dedo indicador, previamente higienizado com álcool iodado, com lanceta estéril, identificadas e coradas por Giemsa (pH de 7,2). As leituras das mesmas foram realizadas pelos técnicos do Laboratório de Malária do IEC.

As gotas espessas foram coletadas, no momento da inclusão dos pacientes (D0) e nos dias de seguimento (D2, D7, D14, D30). O tamanho foi padronizado para aumentar a precisão da contagem, seguindo um gabarito modelo, recomendado pela OMS.

A determinação da parasitemia teve como base a contagem de parasitos assexuados por 200 leucócitos. Na presença de menos de 10 parasitos, a contagem prosseguiu até 500 leucócitos. Por outro lado, se a contagem microscópica foi superior a 500 parasitos, sem ter atingido o número de 200 leucócitos, a mesma foi interrompida após a leitura do último campo. Para determinação da fórmula parasitária foi considerada a quantificação de leucócitos de cada paciente (leucograma). Para o cálculo da parasitemia foi utilizada a seguinte fórmula (OPAS, 2004):

$$\text{Densidade parasitária}/\mu\text{L} = \frac{\text{número de parasitos contados}/(100 \text{ campos})}{\text{número de leucócitos contados}}$$

4.3.2.2. Amostras de sangue venoso

Uma amostra de 10 mL sangue venoso de cada paciente foi coletada com seringa estéril de polipropileno. Uma parte foi transferida para tubo de ensaio sem anticoagulante para as dosagens bioquímicas e outra para tubos contendo EDTA como anticoagulante, objetivando a realização dos exames hematológicos e as dosagens de cloroquina e primaquina.

4.3.2.3. Exame hematológico e bioquímico

Uma alíquota de sangue total (tubo com EDTA - 3 mL) foi empregada para a realização da contagem de leucócitos, plaquetas, hemácias, dosagem de hemoglobina e mensuração do hematócrito através do sistema automatizado pelo aparelho Pentra 120®, fabricado pela ABX Diagnostics.

A alíquota de soro (tubo sem coagulante - 5 mL) serviu para as provas bioquímicas (glicemia, bilirrubina total e frações, transaminases, uréia e creatinina), que foram realizadas em sistema automatizado de mensuração Dimension AR®, fabricado pela DADE Behring. O processamento do material foi executado no Laboratório de Análises Clínicas do IEC, segundo a recomendação de uso pelo fabricante dos equipamentos.

4.3.2.4. Dosagem de cloroquina e primaquina

Parte do sangue venoso (100 µL) foi coletado em papel de filtro para determinação dos teores de cloroquina e primaquina.

Foi empregada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando-se cromatógrafo líquido marca VARIAN®, modelo PRO STAR. As amostras foram processadas no Laboratório de Toxicologia da UFPA. A metodologia para determinação de cloroquina foi previamente validada por Nascimento, 2008 e a de primaquina por Ferreira, 2010.

5. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Considerando-se que as concentrações plasmáticas de quimioterápicos devem apresentar distribuição normal e variâncias iguais na população de

estudo, os testes estatísticos empregados para comparação das médias foram o teste “t”. O coeficiente de “Pearson” foi empregado na estimativa das correlações entre os diversos resultados obtidos no decorrer do estudo. Também foram empregados testes não paramétricos para associação entre as variáveis clínicas e epidemiológicas. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio dos programas EXCEL® E BIOESTAT 5.0. O nível de significância aceito foi de 5%.

6. PARECER DA COMISSÃO ÉTICA

O presente estudo foi avaliado e aprovado em 08 de outubro de 2007 pela Comissão de Ética do Instituto Evandro Chagas.

Na condução dos ensaios os pacientes foram informados na íntegra sobre a condução do ensaio e após aceitação, assinaram o Termo de consentimento livre e esclarecido.

7. RESULTADOS

7.1. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PARTICIPANTES

No decorrer do estudo foram acompanhados 40 pacientes no ambulatório de malária do IEC, destes 27 (67,5%) do gênero masculino e 13 (32,5%) do feminino (Tabela 1 e figura 3). A faixa etária variou de 16 a 69 anos, e a maior frequência dos indivíduos infectados foi entre 34-42 anos (figura 4).

Tabela 1: Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax* de acordo com o gênero, em relação faixa etária.

| Faixa Etária | Gênero | | Total (%) |
|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| | M | F | |
| 16 – 24 | 3 | 1 | 4 (10,0) |
| 25 – 33 | 6 | 3 | 9 (22,5) |
| 34 – 42 | 8 | 4 | 12 (30,0) |
| 43 – 51 | 5 | 3 | 8 (20,0) |
| 52 – 60 | 5 | 1 | 6 (15,0) |
| 61 – 69 | - | 1 | 1 (2,5) |
| Total (%) | 27 (67,5) | 13 (32,5) | 40 (100) |

Fonte: Pesquisa.

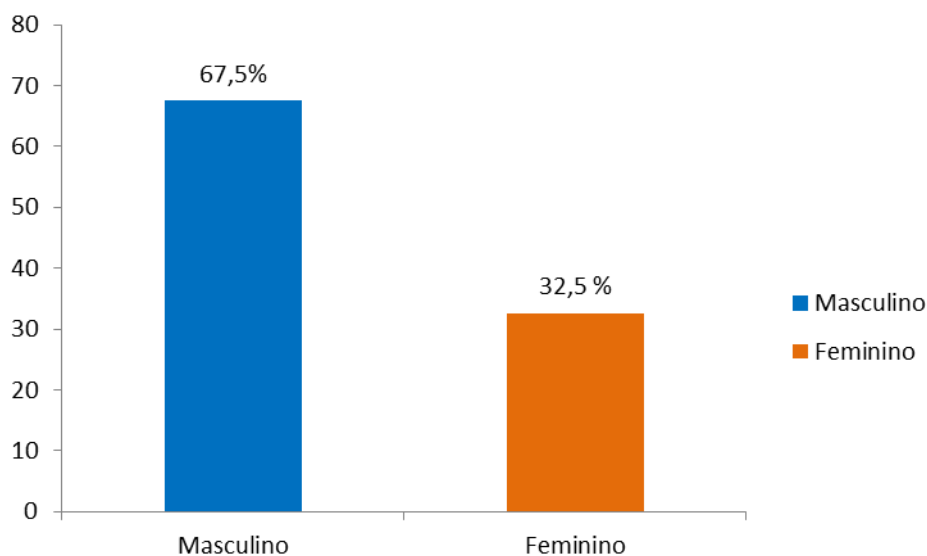


Figura 3. Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax*, segundo o gênero.
Fonte: Pesquisa.

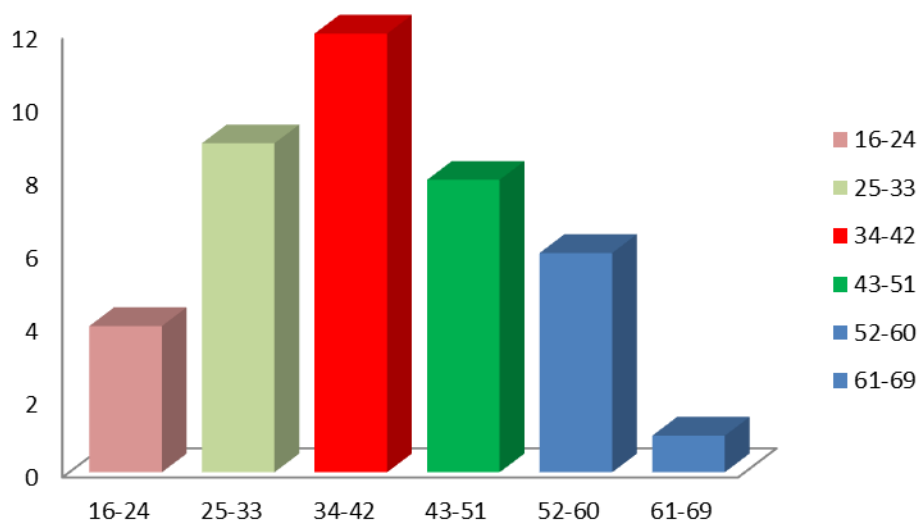


Figura 4. Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax*, segundo faixa etária.
Fonte: Pesquisa.

A maioria dos pacientes 34 (85%) residia em Belém, e o restante proveniente de outros municípios do estado do Pará, como Anajás, Ananindeua, e Castanhal, bem como de outros estados como Maracaçumé-MA, Santana-AP, Oiapoque-AP, Tabatinga-Am, Guajará-Mirim-RO e da zona

de fronteira com o Suriname, Perú, Guiana e Guiana Francesa (figura 5 e figura 6). No entanto, foram encontrados apenas dois casos autóctones.

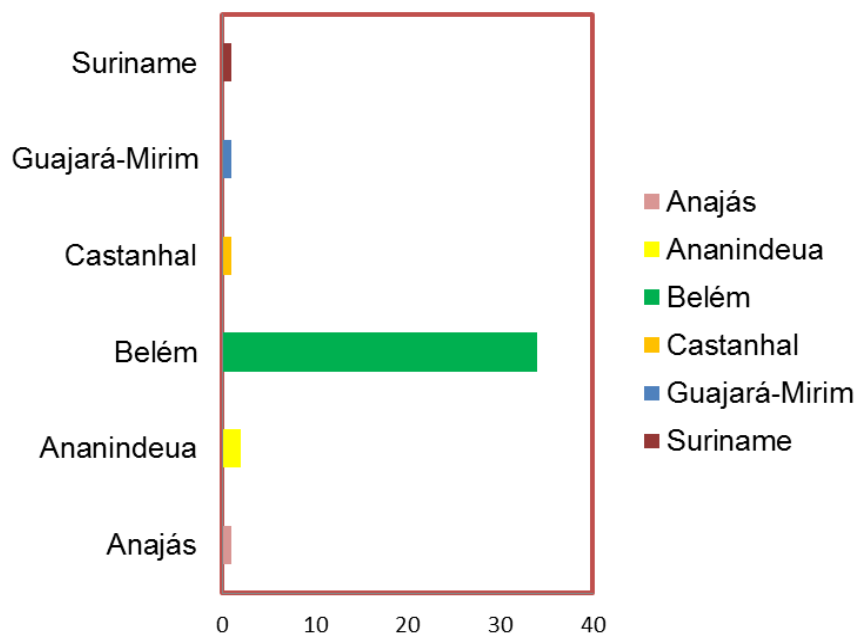


Figura 5. Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax* segundo residência fixa. Fonte: Pesquisa.

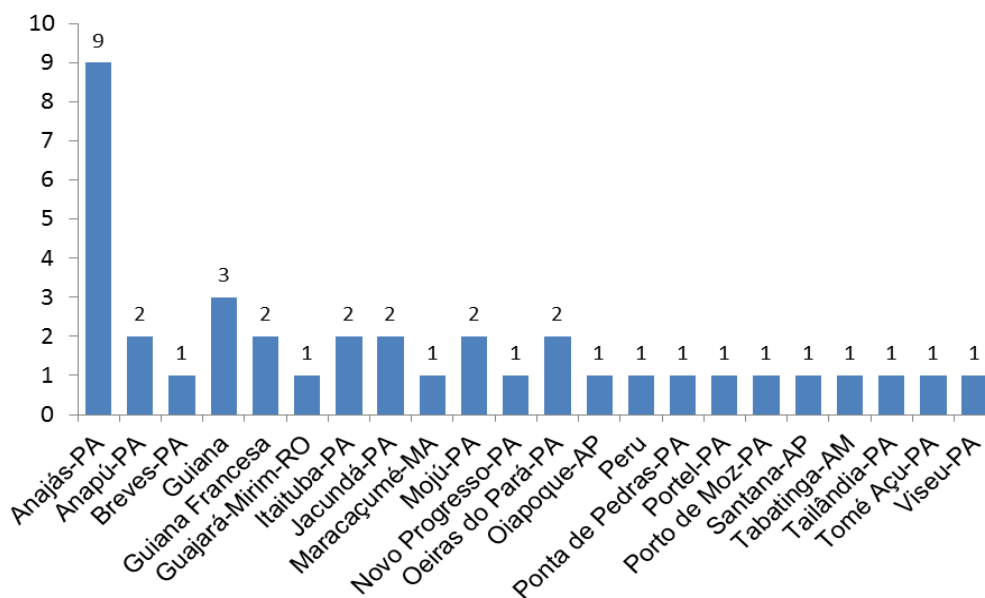


Figura 6. Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax* segundo local de infecção. Fonte: Pesquisa.

A ocupação principal dos pacientes foi variada, distribuindo-se entre várias classes sociais e apresentando maior frequência entre marítimos e vendedores (figura 7).

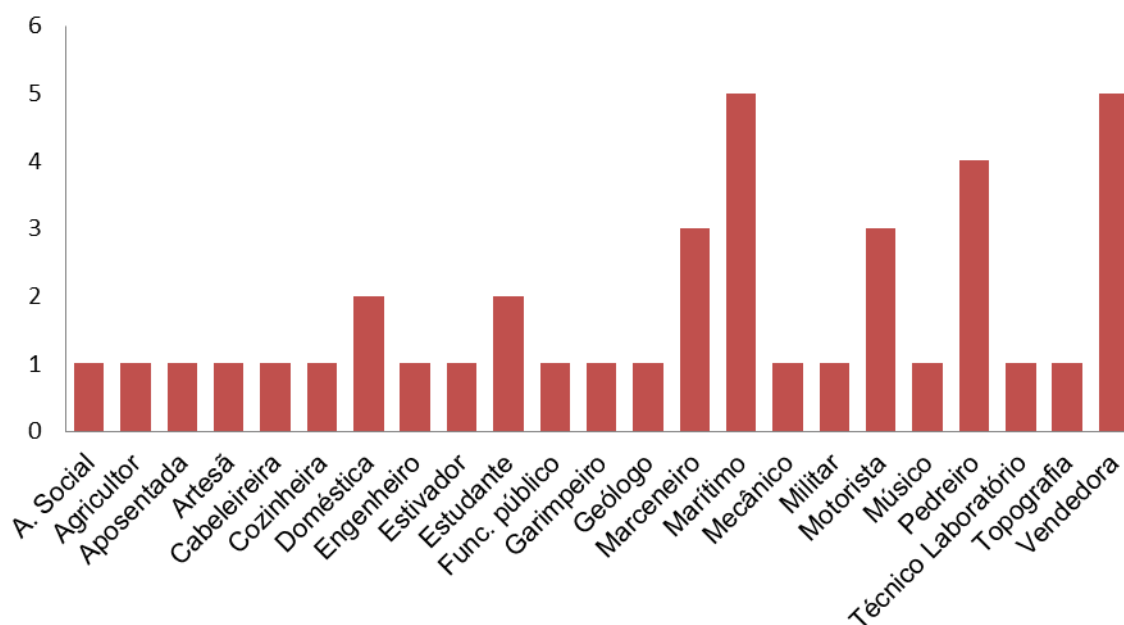


Figura 7. Prevalência dos infectados com malária pelo *P. vivax* segundo a ocupação principal.
Fonte: Pesquisa.

7.2. PARASITEMIA

A parasitemia foi determinada no primeiro dia de atendimento (D0), em todos os pacientes. A contagem média das formas assexuadas foi de $7.187,5 \pm 6.732,7$ parasitos/mm³, sendo a menor de 500 parasitas/mm³ de sangue e a maior de 30.000 parasitos/mm³ (figura 8).

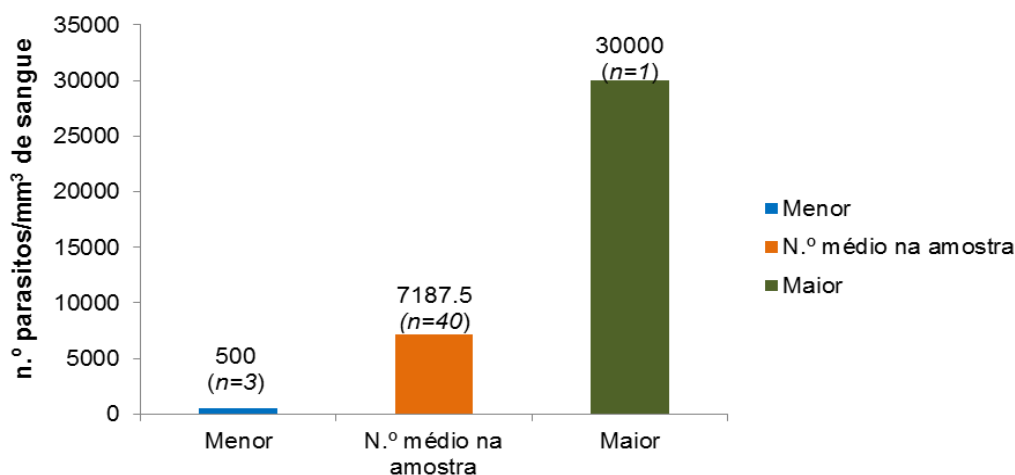


Figura 8. Densidade parasitária. Fonte: Pesquisa.

A classificação da densidade parasitária dos pacientes no dia zero (D0) revelou baixa parasitemia ($n.º \text{ parasitos/mm}^3 < 15.000$) em 38 pacientes (95%), média parasitemia ($n.º \text{ parasitos/mm}^3 15.001-60.000$) em dois pacientes (5%) e nenhuma ocorrência de alta parasitemia ($n.º \text{ parasitos/mm}^3 > 60.000$) (figura 9).

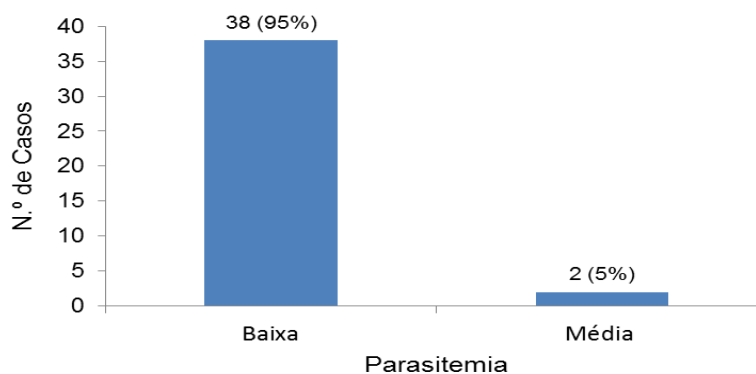


Figura 9. Classificação da parasitemia no primeiro dia de atendimento (D0). Fonte: Pesquisa.

Pacientes que apresentaram o primeiro episódio de malária foram considerados primoinfectados e aqueles com histórico de episódios da doença, recorrentes. O número de primoinfectados foi 17 (42,5%) e de recorrentes 23 (57,5%), No último grupo, 12 pacientes relataram até cinco infecções maláricas (figura 10).

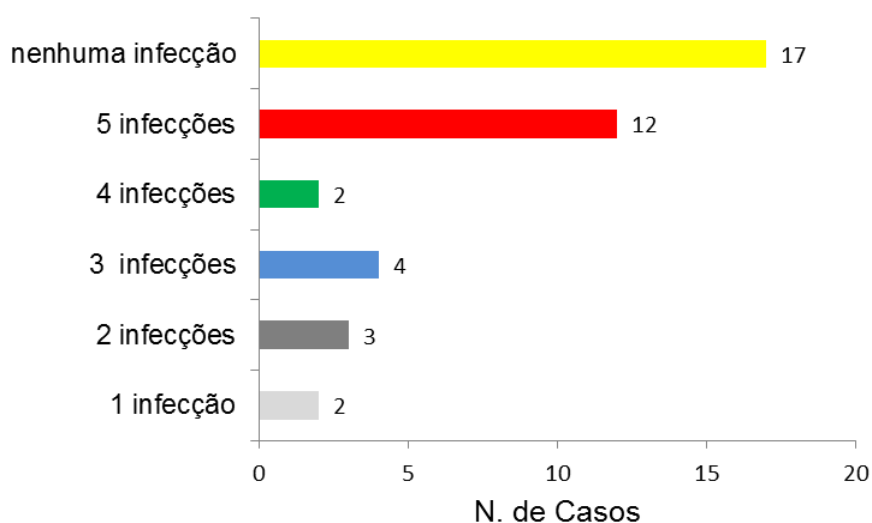


Figura 10. Distribuição dos pacientes quanto ao número de infecções maláricas.
Fonte: Pesquisa.

Não foi observada diferença estatística significativa entre a média das formas assexuadas de *P. vivax*, entre Primoinfectados e os Recorrentes. ($p = 0,1861$) assim como os teores de hemoglobina entre os dois grupos que foram similares ($p = 0,2287$) (Figura 11 e na Tabela 2).

Tabela 2: Parasitemia média e nível médio de hemoglobina entre primoinfectados e infectados recorrentes com malária pelo *P. vivax*.

| | Primoinfectados (Média ± E.P*) | Recorrentes (Média ± E.P*) | P |
|---------------------|---|---------------------------------------|----------|
| Parasitemia | 7.500 ± 1.174,2 | 6.956 ± 1.657,4 | 0,1861 |
| Hemoglobina (mg/dl) | 11,65 ± 0,51 | 12,23 ± 0,43 | 0,2287 |

* Erro padrão da média

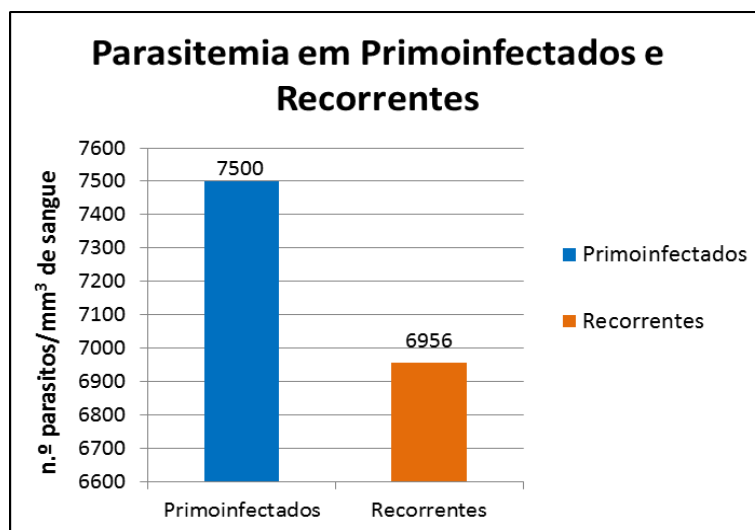


Figura 11. Parasitemia média entre pacientes primoinfectados e pacientes recorrentes de malária por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

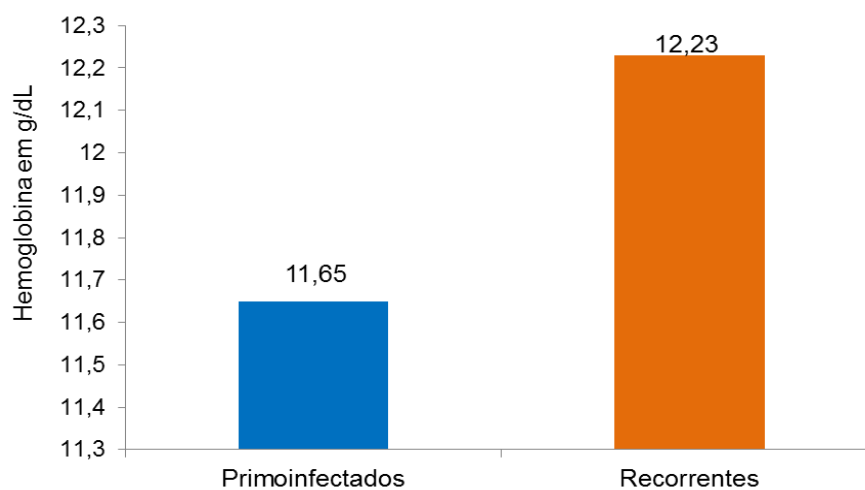


Figura 12. Níveis plasmáticos médios de hemoglobina entre pacientes primoinfectados e pacientes recorrentes de malária por *P. vivax*.

7.3. SEGUIMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL

Todos os pacientes apresentaram negatização da parasitemia com tempo de clareamento médio de 80 ± 32 horas. No seguimento de vinte e oito

dias não foram observados recorrência da parasitemia ou quaisquer outros sinais ou sintomas clínicos.

7.4. AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Em relação aos teores de hemoglobina, foram observados níveis abaixo dos valores de referência em 24 (60%) pacientes, sendo considerados anêmicos 16 pacientes do gênero masculino e oito do feminino. Não houve diferença significativa na prevalência de anemia entre os gêneros ($p = 0,8362$) (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição dos pacientes anêmicos e não anêmicos, conforme o gênero, com malária pelo *P. vivax*.

| Características | Anemia | | <i>p</i> |
|-----------------|----------------|----------------|----------|
| | Sim n (%) | Não n (%) | |
| Gênero | | | |
| Feminino | 8 (20) | 5 (12,5) | >0,836* |
| Masculino | 16 (40) | 11 (27,5) | |
| Total | 24 (60) | 16 (40) | |

* Teste do Qui-quadrado

A anemia foi considerada leve em 17 (70,8%) pacientes, com média de hemoglobina de $11,85 \pm 0,91$ g/dL e moderada em sete (29,2%), com média de hemoglobina de $8,37 \pm 0,85$ g/dL, sem ocorrência de forma grave. A maior prevalência de anemia foi na faixa etária entre 23 a 60 anos. O valor mínimo de hemoglobina entre os anêmicos foi de 8,0 g/dL. O percentual de anemia leve foi altamente significativo ($p < 0,0001$).

A maioria dos pacientes (57,5%) apresentou contagem de eritrócitos no intervalo de valores normais em ambos os gêneros. Na tabela 5 estão apresentados os índices hematológicos e os parâmetros bioquímicos dos participantes do estudo (Tabela 4).

Tabela 4: Características laboratoriais dos pacientes anêmicos e não anêmicos, infectados com malária por *P. vivax*.

| Características Hematológicas | Anêmicos (Média ± DP) | Não Anêmicos (Média ± DP) | p* |
|--|------------------------------|----------------------------------|-----------|
| Hematócrito (%) | 33,14 ± 5,74 | 41,71 ± 6,27 | <0,0001* |
| Eritrócitos (milhões/mm ³) | 3,92 ± 0,68 | 4,89 ± 0,35 | <0,0001* |
| VCM (u ³) | 83,54 ± 6,58 | 85,46 ± 4,80 | 0,3409 |
| HCM (pg) | 27,79 ± 2,40 | 28,15 ± 1,25 | 0,7300 |
| CHCM (%) | 33,16 ± 0,87 | 32,99 ± 0,74 | 0,5165 |
| Plaquetas (mil/mm ³) | 210,17 ± 130,77 | 188,81 ± 102,52 | 0,8252 |
| Leucócitos (/mm ³) | 5.050,00 ± 1.225,20 | 5.450,00 ± 912,14 | 0,1897 |
| Bioquímicas | (Média ± DP) | (Média ± DP) | |
| TGO | 34,29 ± 16,61 | 30,31 ± 15,43 | 0,4477 |
| TGP | 34,67 ± 16,15 | 34,75 ± 18,74 | 0,9121 |
| GGT | 63,04 ± 55,57 | 48,06 ± 46,44 | 0,3998 |
| Fosfatase alcalina | 82,04 ± 23,17 | 83,06 ± 33,40 | 0,5714 |
| Uréia | 27,50 ± 7,98 | 35,31 ± 17,99 | 0,1289 |
| Creatinina | 0,85 ± 0,20 | 0,83 ± 0,21 | 0,9670 |
| Albumina | 4,32 ± 1,68 | 3,88 ± 1,07 | 0,9780 |

*nível de significância

Em pacientes primoinfectados e infectados recorrentes, não foi verificada diferença significativa destes parâmetros (Tabela 5).

Tabela 5: Características laboratoriais dos pacientes primoinfectados e infectados recorrentes com malária por *P. vivax*.

| Parâmetros | Primoinfectados (Média ± DP) | Recorrentes (Média ± DP) | p* |
|--|---|-------------------------------------|-----------|
| Hematócrito (%) | 35,18 ± 6,35 | 37,60 ± 6,22 | 0,1470 |
| Eritrócitos (milhões/mm ³) | 4,17 ± 0,82 | 4,41 ± 0,68 | 0,4118 |
| VCM (u ³) | 84,46 ± 5,94 | 84,20 ± 6,08 | 0,7119 |
| HCM (pg) | 28,17 ± 1,88 | 28,11 ± 1,18 | 0,6032 |
| CHCM (%) | 33,34 ± 0,84 | 33,03 ± 0,77 | 0,1588 |
| Plaquetas (mil/mm ³) | 174,06 ± 120,71 | 214,83 ± 122,50 | 0,1509 |
| Leucócitos (/mm ³) | 5.147,06 ± 1.035,69 | 5.344,44 ± 910,22 | 0,6224 |
| Bioquímicas | Média ± DP | Média ± DP | |
| TGO | 35,35 ± 18,22 | 30,70 ± 14,38 | 0,3888 |
| TGP | 39,00 ± 13,99 | 37,35 ± 34,16 | 0,1800 |
| GGT | 67,00 ± 56,35 | 48,13 ± 49,49 | 0,1937 |
| Fosfatase | 72,12 ± 9,90 | 89,35 ± 33,67 | 0,0609 |
| Uréia | 34,53 ± 16,15 | 27,74 ± 10,18 | 0,1713 |
| Creatinina | 0,87 ± 0,15 | 0,82 ± 0,23 | 0,4601 |
| Albumina | 3,60 ± 1,55 | 4,55 ± 1,30 | 0,0537 |

* Nível de significância

7.5. MONITORAÇÃO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA

A determinação dos teores plasmáticos médios de cloroquina e de primaquina foi realizada em 34 pacientes e revelou perfis farmacocinéticos diferenciados. A cloroquina apresentou maior concentração (1.102,15 ± 313,52 ng/mL), seguida do decaimento a partir do segundo dia de tratamento (D2), enquanto que primaquina apresentou maior concentração em D7. Foram detectadas concentrações mínimas de cloroquina (98,6 ± 39,7 ng/mL) até trinta dias (D30), a partir da primeira dose. Porém, não foram detectadas concentrações de primaquina neste dia.

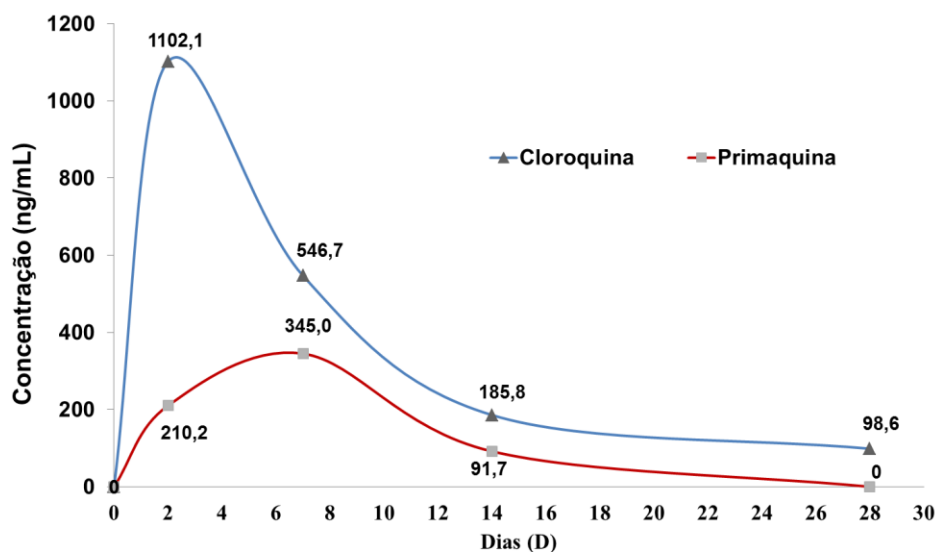


Figura 13. Níveis plasmáticos médios de cloroquina e primaquina determinados por CLAE em pacientes infectados por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

Todos os pacientes tiveram acompanhamento mínimo de 28 dias e foram classificados como sensíveis ao tratamento. O tempo de clareamento da parasitemia (TCP) pela gota espessa foi de 55,8 (\pm 19,88) horas com intervalo de 24 a 168 horas e com a negatização da parasitemia ocorrendo até o sétimo dia (D7) (Figura 16). A porcentagem de cura foi calculada com base nos 34 pacientes que completaram o seguimento de 28 dias.

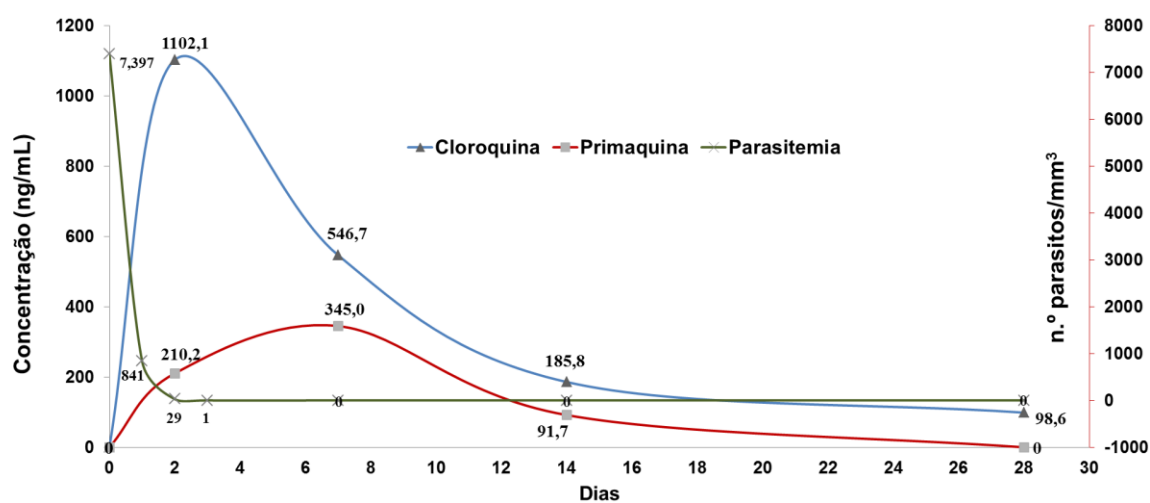


Figura 14. Níveis plasmáticos médios de Cloroquina e Primaquina determinados por CLAE em pacientes infectados com malária por *P. vivax* em relação à Parasitemia nos dias D0, D1, D2, D3, D7, D14 e D28. Fonte: Pesquisa.

Ao comparar os níveis plasmáticos de cloroquina e primaquina, entre homens e mulheres, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) somente nas concentrações médias de primaquina no segundo dia de tratamento (D2) com o esquema terapêutico adotado. As concentrações nos outros dias de ambos os fármacos foram similares entre os grupos.

Tabela 6: Níveis plasmáticos cloroquina e primaquina, entre homens e mulheres.

| Fármaco | Dias | Homens | | Mulheres | | P* |
|------------|------|---------------|----------|---------------|----------|------------------------|
| | | Média (ng/mL) | ± D.P | Média (ng/mL) | ± D.P | |
| Cloroquina | D0 | N.D | N.D | N.D | N.D | - |
| | D2 | 1055,67 | ± 315,37 | 1213,7 | ± 294,38 | 0,1845 ⁽¹⁾ |
| | D7 | 518,5 | ± 249,67 | 608,8 | ± 286,07 | 0,3717 ⁽¹⁾ |
| | D14 | 195,36 | ± 102,32 | 164,9 | ± 49,59 | 0,2999 ⁽²⁾ |
| | D30 | 95,23 | ± 41,45 | 106,0 | ± 36,32 | 0,4853 ⁽¹⁾ |
| Primaquina | D0 | N.D | N.D | N.D | N.D | - |
| | D2 | 190,08 | ± 72,23 | 258,5 | ± 122,16 | 0,0497 ^{(1)*} |
| | D7 | 349,91 | ± 111,88 | 334,1 | ± 113,05 | 0,7145 ⁽¹⁾ |
| | D14 | 93,00 | ± 25,30 | 88,9 | ± 22,65 | 0,6643 ⁽¹⁾ |
| | D30 | N.D | N.D | N.D | N.D | |

⁽¹⁾Teste t-Student; ⁽²⁾ N.D.: Não detectado. *nível de significância

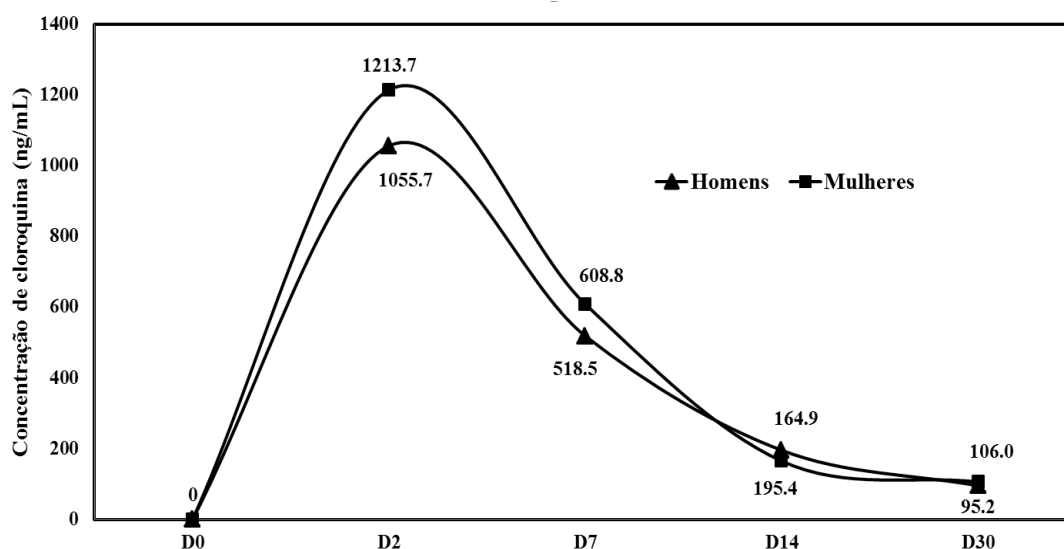


Figura 15. Níveis plasmáticos médios de cloroquina determinados por CLAE em homens e mulheres infectados por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

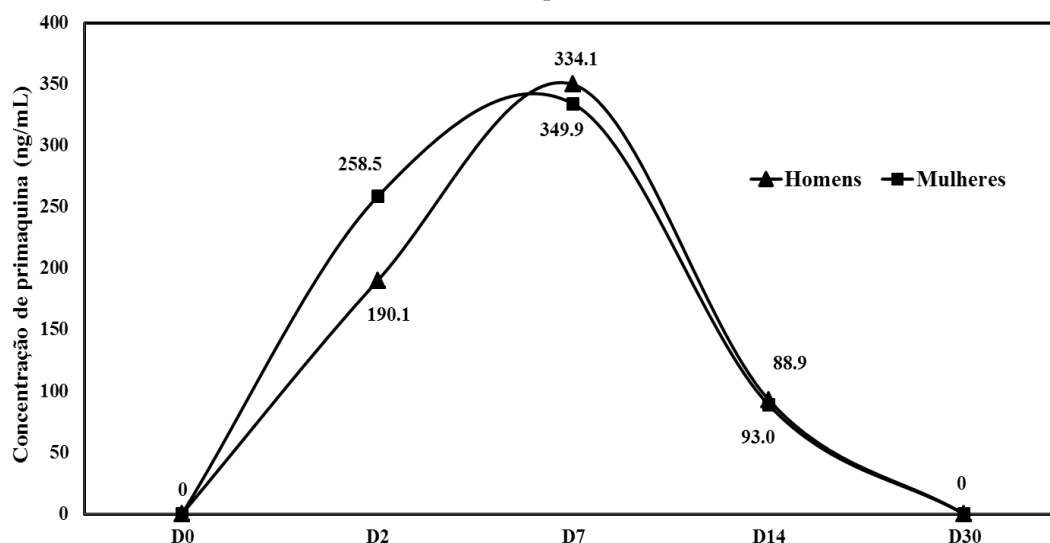


Figura 16. Níveis plasmáticos médios de primaquina determinados por CLAE em homens e mulheres infectados por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

Os perfis plasmáticos médios de cloroquina e primaquina não apresentaram diferença significativa entre os grupos de pacientes primoinfectados e aqueles recorrentes (Tabela 7).

Tabela 7: Níveis plasmáticos cloroquina e primaquina, entre pacientes primoinfectados e infectados recorrentes.

| Fármaco | Dias | Primoinfectados | | Recorrentes | | P* |
|------------|------|-----------------|----------|---------------|----------|-----------------------|
| | | Média (ng/mL) | ± D.P | Média (ng/mL) | ± D.P | |
| Cloroquina | D0 | N.D | N.D | N.D | N.D | - |
| | D2 | 1032,07 | ± 256,75 | 1157,47 | ± 348,73 | 0,2528 ⁽¹⁾ |
| | D7 | 486,85 | ± 279,19 | 587,68 | ± 245,84 | 0,2892 ⁽¹⁾ |
| | D14 | 171,79 | ± 43,56 | 196,78 | ± 113,44 | 0,9243 ⁽²⁾ |
| | D30 | 96,92 | ±39,00 | 99,74 | ± 41,12 | 0,8475 ⁽¹⁾ |
| Primaquina | D0 | N.D | N.D | N.D | N.D | - |
| | D2 | 209,07 | ± 70,23 | 211,10 | ± 110,12 | 0,9507 ⁽¹⁾ |
| | D7 | 354,54 | ± 101,92 | 338,42 | ± 118,54 | 0,6926 ⁽¹⁾ |
| | D14 | 90,07 | ± 24,40 | 86,0 | ± 23,12 | 0,1318 ⁽¹⁾ |
| | D30 | N.D | N.D | N.D | N.D | - |

⁽¹⁾Teste t-Student; N.D.: Não detectado. * significância estatística

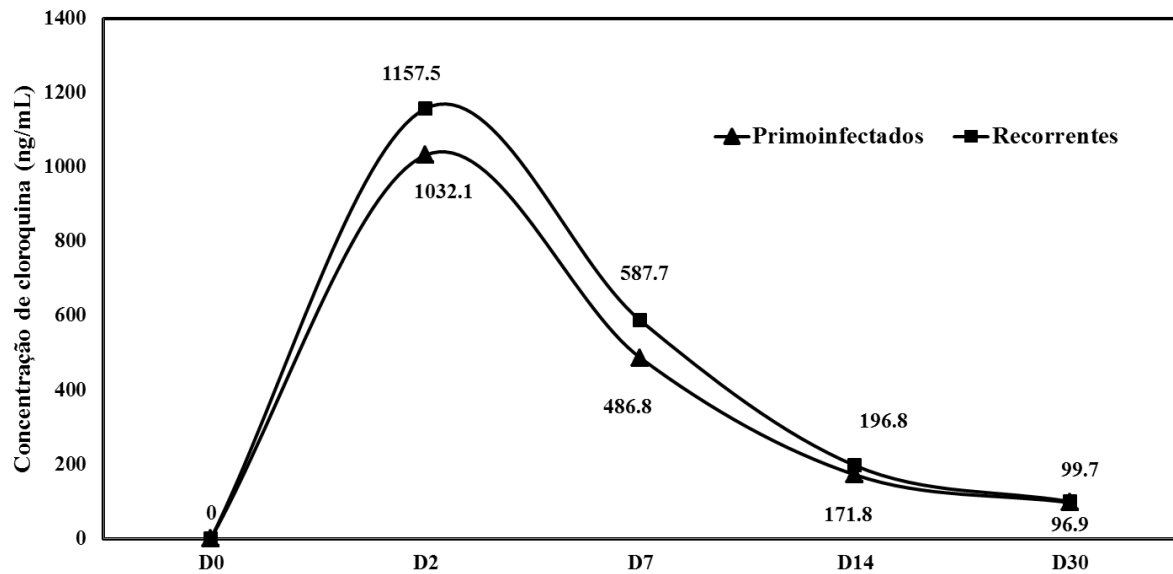


Figura 17. Níveis plasmáticos médios de cloroquina determinados por CLAE em pacientes primoinfectados e infectados recorrentes por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

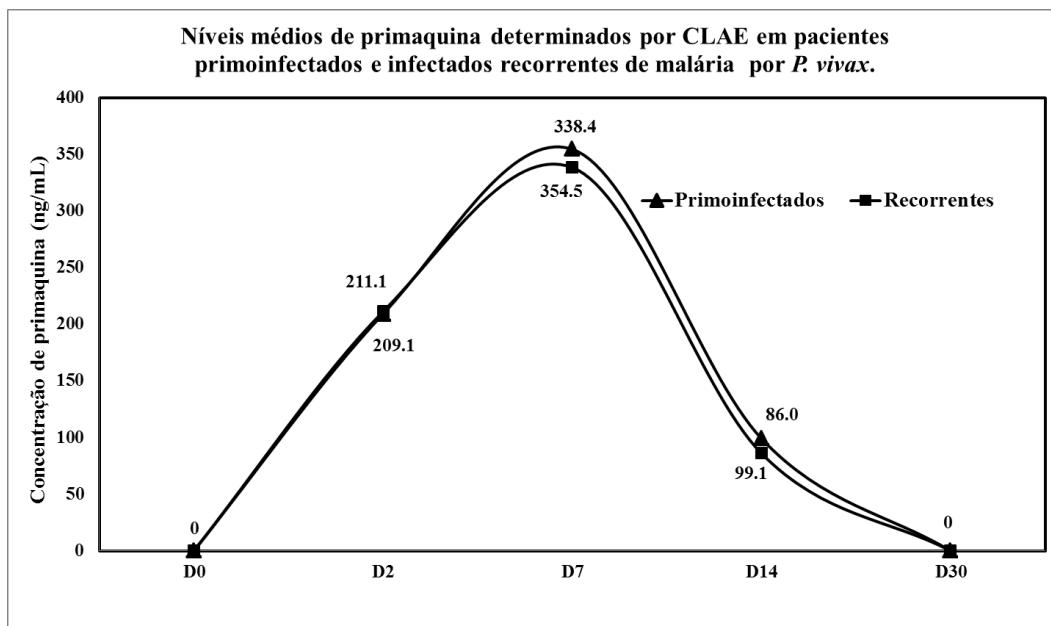


Figura 18. Níveis plasmáticos médios de primaquina determinados por CLAE em pacientes primoinfectados e infectados recorrentes por *P. vivax*. Fonte: Pesquisa.

8. DISCUSSÃO

Considerada doença de grande impacto sobre o desenvolvimento social e econômico desde a Antiguidade, a malária é amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, América do Sul e Oceania (FERREIRA; ÁVILA, 1996). Nas últimas décadas o aparecimento e a propagação de parasitas resistentes à grande parte dos antimaláricos disponíveis, como a cloroquina, é a principal causa da elevação da incidência da doença em alguns países tropicais, tornando-se uma ameaça ao sistema de saúde e um desafio à terapêutica antimalárica (CRAVO; ROSÁRIO, 2002; BJÖRKMAN E BHATTARAI 2005).

Características socioeconômicas e culturais, bem como as interferências do homem sobre o ambiente, influenciam significativamente o adoecimento por malária, uma vez que podem favorecer o contato do homem com o anofelino vetor. Logo, é fundamental para a compreensão da dinâmica da doença definir as características epidemiológicas, seu modo de transmissão e os fatores de risco para infecção (MARQUES e PINHEIRO, 1980). Conforme Barata (1995), a epidemiologia descritiva é fundamental para investigação da doença, pois um passo essencial é descrever precisamente sua ocorrência na população.

Este estudo descreve uma amostra de 40 casos de malária por *P. vivax* diagnosticados e acompanhados no ambulatório do IEC (Tabela 1) em Belém-PA no período de 2008 a 2010. O gênero masculino predominou com 67,5% da casuística, provavelmente o homem contrai malária por ingressar com maior frequência nas áreas de mata e floresta para desempenhar suas atividades laborais. No Brasil, a ocupação desordenada da região amazônica, incentivada

por diversos órgãos governamentais, a construção de usinas hidroelétricas, o desenvolvimento de projetos agropecuários e a instalação de inúmeros garimpos, provocaram um incremento considerável da transmissão da malária (FRANÇA; SANTOS; VILLAR, 2008).

Em estudo epidemiológico realizado com 40 pacientes em Belém, Barbosa *et al.* (2006) verificaram que a incidência maior foi de pacientes do gênero masculino (72,5%), com idade entre 21-40 anos (55%). Estes dados coincidem com os encontrados neste trabalho, no qual a faixa etária com maior frequência de indivíduos infectados foi entre 34-42 anos (30%).

O mesmo estudo, também mostrou que o maior número de infectados foram procedentes da Guiana Francesa (12,5%), seguido do município de Bragança (10%). Já neste trabalho, a maioria dos pacientes (85%) residia em Belém, e o restante foi proveniente de outros municípios do estado do Pará (Anajás, Ananindeua e Castanhal), de outros estados (Roraima, Amapá, Maranhão e Amazonas) e da zona de fronteira com Perú, Guiana, Guiana Francesa e Suriname. No entanto, foram encontrados apenas dois casos autóctones. Merece destaque os poucos estudos referentes ao acompanhamento detalhado dos pacientes oriundos das zonas de fronteira, que representam importante casuística no estado do Pará, principalmente pela possibilidade de circulação de cepas com perfil de suscetibilidade diferenciada aos antimaláricos utilizados no Brasil.

Nos anos de 2004 e 2005, RENAULT *et. al.*, (2007), demonstraram que a malária no município de Belém-Pará caracterizou-se por prevalência relativamente baixa; a maioria foi de casos alóctones, sendo os autóctones detectados, principalmente, nas localidades de Cotijuba (2004) e Bonfim

(2005). Os autores demonstraram que naqueles dois anos o número de casos alóctones foi superior aos autóctones, representando, aproximadamente o dobro em 2004 e o triplo em 2005, indicando que apesar da Região Amazônica brasileira concentrar quase a totalidade dos casos de malária do Brasil, curiosamente, não ocorre uma distribuição homogênea da doença na região, uma vez que se concentra em determinadas áreas com características específicas.

A distribuição da atividade ocupacional dos pacientes deste estudo foi variada, com maior frequência de marítimos e vendedores, enfatizando que o risco de contrair malária existe como subproduto do modo de vida e de trabalho da população, acrescido da ausência de ações na prevenção primária e secundária (SILVA et.al., 2006).

Em estudo realizado em Guarapiranga, município de São José de Ribamar- Maranhão, foi demonstrado que a lavoura e a pesca, representam a principal atividade ocupacional da população adulta que adoece de malária, sendo que 15% e 5,3%, respectivamente, as exercem como atividades econômicas exclusivas, além de 3,9% que exercem as duas de forma simultânea (SILVA et.al., 2006).

A Organização Mundial da Saúde constata que epidemias se estabelecem em condições ambientais propícias e de desequilíbrio ecológico. Desta forma, mostram-se de grande importância para o controle da doença, os cuidados com os deslocamentos frequentes dos indivíduos que, por razões ocupacionais principalmente, se movimentam entre a área endêmica e as diversas áreas indenes do país (OMS, 2004).

Os locais de infecção variaram entre os 14 municípios do estado do Pará, entretanto a maior prevalência foi em Anajás. Em anos epidêmicos, como 2001 e 2002, atingiu o patamar de 884 e 797 casos por mil habitantes, respectivamente (SANTOS et. al., 2005).

Najera e Rosenfield (1984) ressaltaram que a força de expansão de qualquer doença, em uma comunidade, depende da condição de vida e médico-sanitários que interagem no ambiente e que variáveis socioeconômicas e ambientais da população influenciam, significativamente, no controle da malária. O município de Anajás possui condições geográficas que, associadas ao saneamento básico precário, o tornam propício à proliferação vetorial e consequente transmissão da doença.

O município de Anajás foi responsável por cerca de 30% dos casos da doença no estado, com Índice Parasitário Anual (IPA) de 572, 534, 355 e 453, entre os anos de 2005 e 2008, respectivamente (SVS/MS, 2010). Até novembro de 2010, ele continua detendo o maior Índice Parasitário Anual (IPA), considerado área de alto risco de infecção da malária, segundo dados do SIVEP-Malária.

Assim como, em estudo realizado por Silva et. al. (2006), na Ilha de São Luis – Maranhão, talvez o número elevado de casos em Anajás esteja ligado ao modo de vida da população aliando - se a outros facilitadores da reinstalação da doença, destacando-se: borrifação inadequada dos domicílios; ausência de conhecimento da dinâmica vetorial; uso incorreto de antimaláricos; abandono do tratamento devido aos efeitos colaterais ou por falta de orientação e casas parcialmente protegidas ou desprotegidas em que foram diagnosticados casos de malária.

A parasitemia inicial (D0) variou de 500 a 30.000 parasitos/mm³ (formas assexuadas). O valor médio foi de 4.485,7 ± 6.732,7 parasitos/mm³ (figura 9). Na malária por *P. falciparum* a mortalidade está diretamente correlacionada à densidade parasitária. Assim uma maior habilidade do organismo em limitar a parasitemia reduz o risco de morbidade e mortalidade. Os pacientes infectados pelo *P. falciparum* apresentam, em média, maior densidade parasitária que aqueles pelo *P. vivax*, o que se associa ao fato do *P. falciparum* não selecionar hemácias jovens como o *P. vivax* e possuir ciclo eritrocitário mais curto (BRAGA et. al., 2006), corroborando com os achados deste trabalho, onde o D0 revelou baixa parasitemia (n.º parasitos/mm³ < 15.000) em 95% pacientes, média parasitemia (n.º parasitos/mm³ 15.001–60.000) em 5% pacientes e nenhuma ocorrência de alta parasitemia (n.º parasitos/mm³ > 60.000).

Cutis e Coura (2007) realizaram análise da densidade parasitária segundo a espécie de plasmódio em uma região do estado do Amazonas. Observaram que 29,4% das lâminas positivas para *P. vivax* tinham baixa densidade parasitária; Destas, 24% apresentaram baixa densidade parasitária no período epidêmico e 35% no pós-epidêmico. No caso do *P. falciparum*, 37,4% das gotas espessas tiveram baixa parasitemia, sendo 35,3% no período epidêmico e 44,9% no pós-epidêmico.

Os pacientes primoinfectados representaram 42,5% e os recorrentes 57,5% da casuística, destacando-se neste último grupo, 12 pacientes com registro de cinco infecções maláricas (figura 11). Braga et. al. (2006), estudando pacientes com co-infecção pelo plasmódio e o vírus da hepatite B demonstraram que 21,5% eram primoinfectados e 78,5% tinham história de um ou mais episódios de malária, sendo 54,9% deles no mesmo ano da inclusão

no estudo, em um período de intensa transmissão. Neste estudo, pacientes com um ou mais episódios anteriores, em média, apresentaram 1.449 parasitas/ μ L e os primoinfectados 777 parasitas/ μ L. Não foi observada diferença significativa entre a parasitemia dos primoinfectados e aqueles com episódios passados de malária ($p = 0,1861$),

A taxa de hemoglobina média foi similar entre os primoinfectados e recorrentes ($p = 0,2287$), conforme apresentado na figura 12 e na Tabela 2. A OMS preconiza o diagnóstico da anemia com base na taxa de hemoglobina, que varia de acordo com a idade e o gênero, sendo considerados para indivíduos com idade igual ou superior a 10 anos, valores inferiores a 13 g/dL para o sexo masculino e inferiores a 12 g/dL para o feminino (MAYER, 1989; DALLMAN, 1996).

Verificaram-se níveis de hemoglobina abaixo daqueles considerados de referência em 60% dos pacientes, sendo 16 do gênero masculino e oito do feminino, considerados anêmicos. Os demais apresentaram níveis de hemoglobina normais. Não houve diferença significativa na prevalência de anemia entre os gêneros ($p = 0,8362$) (Tabela 3).

Dentre os pacientes anêmicos, a intensidade da anemia foi leve em 70,8%, com média de hemoglobina de $11,85 \pm 0,91$ g/dL e moderada em 29,2%, com média de hemoglobina de $8,37 \pm 0,85$ g/dL, sem ocorrência de forma grave.

Considerando que a área de estudo está contida na Amazônia Legal, região conhecidamente endêmica de malária, que associada às precárias condições sanitárias das moradias, escassos recursos financeiros e

alimentação deficiente em micronutrientes fundamentais atuam simultaneamente para o quadro anêmico observado neste estudo (OMS, 2010).

Estudo no Distrito de Candeias, na região metropolitana de Porto Velho, encontrou 28% de anemia na população estudada. Destes, 26,8% apresentaram resultado positivo para exame protoparasitológico, porém não houve diferença significativa no grau de anemia entre os indivíduos que apresentavam ou não enteroparasitas, entretanto naqueles que relataram episódio de malária recente, o grau de anemia foi significativo (CARDOSO *et. al.*, 1992) Em outro trabalho foi sugerido que a malária e a deficiência de ferro são importantes fatores que contribuem para aumentar o grau da anemia na população (CARDOSO *et. al.*, 1994).

Ao avaliar a associação da anemia com a faixa etária, verificou-se maior prevalência em pacientes entre 23 a 60 anos. O valor mínimo de hemoglobina entre os anêmicos foi de 8,0 g/dL. O percentual de anemia leve foi altamente significativo ($p < 0,0001$). Taxa de hemoglobina inferior a 11g/dL representa um dos problemas intratáveis de saúde pública nas regiões malarígenas da África, relacionado a fatores como gravidez, dieta deficiente em micronutrientes, parasitoses intestinais, entre outros (CRAWLEY, 2004).

Nas regiões holoendêmicas de malária na África, estudo relatou que a anemia está altamente associada à malária falciparum em crianças, mas que os valores de hemoglobina são influenciados por fatores independentes, como efeito cumulativo por contínuas parasitemias assintomáticas e efeito agudo do episódio clínico, especialmente na falha terapêutica (EKVALL, 2001).

A maioria dos pacientes (57,5%) apresentou os demais parâmetros hematimétricos normais em ambos os gêneros, não havendo níveis acima do

normal. Katsuragawa *et al.*, (2009), avaliaram os índices hematimétricos de 111 pacientes com malária(25,8%) residentes em Rondônia, destes 84 (19,7%) apresentaram Volume Corpuscular Médio (VCM) abaixo de 80fL, indicativo da microcitose, os quais 44 eram do gênero masculino e 40 feminino ($p > 0,05$). A eosinofilia esteve presente em 65,7% dos hemogramas analisados.

Os parâmetros bioquímicos foram similares nos pacientes primoinfectados e recorrentes (Tabela 5). As espécies de *Plasmodium* atacam células do fígado e glóbulos vermelhos, que são destruídos ao serem utilizados para reprodução do protozoário. A destruição das hemácias pelo parasita da malária parece ser vital e maciça durante o desenvolvimento intra-eritrocitário. Um eficiente caminho metabólico permite a degradação da hemoglobina em aminoácidos, que serão utilizados como fonte de nutrientes pelo parasita. (TORRES; DOMINGOS, 2005). Justifica-se também a ausência de diferença significativa nos parâmetros bioquímicos avaliados, pelo fato da parasitemia ser leve a moderada e pela ausência de sinais ou sintomas de agravamento do quadro, que foi considerado um motivo de exclusão do estudo.

A quimioterapia na malária tem como objetivos interromper a esquizogonia sanguínea responsável pela patogenia e pelas manifestações clínicas da infecção; proporcionar a erradicação das formas latentes do parasito (hipnozoítos) do *P. vivax* e do *P. ovale* no ciclo tecidual, evitando as recaídas; e reduzir as fontes de infecção para os mosquitos, eliminando as formas sexuadas dos parasitos (BRASIL/SVS/GVE, 2005).

Na ausência de novos medicamentos, grande parte da produção científica atual se destina à busca por novas estratégias para o aperfeiçoamento das políticas de tratamento e controle da doença. Um

importante instrumento é a monitorização das concentrações plasmáticas dos medicamentos visando maior conhecimento da cinética dos diversos antimaláricos em grupos populacionais específicos, objetivando alcançar o tratamento ótimo, isto é, o efeito terapêutico rápido com reduzido riscos de toxicidade (MELLO, 2004). Ressalta-se, a importância da quantificação destas substâncias em amostras biológicas, como indicador de aderência ao tratamento auxiliando as ações de combate a malária.

O perfil cinético da cloroquina neste estudo demonstrou um pico de concentração plasmática de $1.102,15 \pm 313,52$ ng/mL, seguida do decaimento a partir do segundo dia de tratamento (D2). Foram detectadas concentrações terapêuticas de cloroquina ($98,6 \pm 35,88$ ng/mL) até trinta dias (D30), a partir da primeira dose, indicando assim, a eficácia do esquema terapêutico empregado, a qualidade dos medicamentos utilizados e as medidas de orientação, esclarecimento e seguimento do serviço de saúde nos quais os pacientes foram diagnosticados e tratados.

A caracterização das cepas de *P. vivax* resistentes à cloroquina requer ferramentas de biologia molecular para excluir casos de reinfecção e a permanência do parasito na circulação na presença de concentrações terapêuticas do fármaco, isto é, acima de 100ng/mL (AGYEPONG *et al.*, 2002; BAIRD, 2004).

Os resultados encontrados corroboraram o trabalho de Baird *et al.* (1996), que avaliaram a resistência do *P. vivax* a cloroquina na Indonésia, e obtiveram concentrações sanguíneas, no último dia do esquema terapêutico empregado (3 doses de 10 mg/kg, 10 mg/kg, 5 mg/kg em um intervalo de 24 horas), que variaram de 413 a 3248 ng/mL com média de 1141 ng/mL ± 616

ng/mL. Em outro estudo de resistência do *P. vivax* a cloroquina, a média da soma dos níveis de cloroquina e desetilcloroquina foi de 141 ng/ml, 28 dias após o início da terapia padrão (25 mg base/Kg) (BAIRD K., *et al.*,1997).

Os teores médios de primaquina em D2, D7 e D14 foram de 210,2 ng/mL, 345,0 ng/mL e 91,7 ng/mL, respectivamente. No dia D30 não foram detectadas concentrações. Estes resultados caracterizam a ausência de acúmulo do fármaco no organismo humano, o que é refletido na meia vida biológica reduzida, e independe do gênero, corroborando os estudos de Flether *et al.* (1982) e Bangchang *et al.* (1994) sobre a cinética do fármaco, que relataram que a primaquina é completamente eliminada durante 24h.

As concentrações plasmáticas de primaquina obtidas neste estudo corroboram o estudo de Flether *et al.* (1982), cujos teores médios do fármaco em pacientes tailandeses foram 233ng/mL, nos caucasianos de 162ng/mL e nos enzimopênicos de 199ng/mL, após 2,5h da administração de 45mg de primaquina durante 5 dias. Resultado semelhante foi obtido por Greaves *et al.* (1980), os quais obtiveram teor médio de primaquina de 190ng/ mL, utilizando cromatografia gasosa, em urina de pacientes caucasianos com malária vivax fazendo uso de primaquina 15mg durante 14 dias.

Por outro lado, Dua *et al.* (1996) relataram que a concentração média do fármaco no plasma de pacientes com malária vivax utilizando o mesmo esquema terapêutico deste estudo, foi 61,8 ng/mL. Pesquisa realizada por Bangchang *et al.* (1994) determinaram como concentração máxima 57,7ng/mL em pacientes sem deficiência enzimática, fazendo uso de 15mg de primaquina durante 14 dias. Tais discrepâncias podem ser creditadas aos horários de coleta do material biológico.

Ao comparar os níveis plasmáticos de cloroquina e primaquina, entre homens e mulheres, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) somente nas concentrações médias de primaquina no segundo dia de tratamento (D2) com o esquema terapêutico adotado. Nos demais dias de estudo as concentrações foram similares entre os grupos.

Os níveis plasmáticos médios de cloroquina e primaquina não apresentaram diferença significativa entre os grupos de pacientes primoinfectados e infectados recorrentes, com passados de malária.

O seguimento clínico e laboratorial dos pacientes não detectou recidiva da infecção após o seguimento de 28 dias, bem como não foi evidenciada sintomatologia clínica adicional neste período, o que aliado ao tempo médio de clareamento da parasitemia de 80 ± 32 horas indicam que o esquema terapêutico utilizado foi eficaz com taxa de cura de 100%.

Ao se associar as concentrações plasmáticas médias de cloroquina e primaquina, com os resultados das avaliações clínicas e parasitológicas no decorrer do seguimento sugerido pela OMS, percebe-se que estes fármacos, no esquema terapêutico empregado foram eficazes no tratamento da malária por *P. vivax* na região metropolitana de Belém. Outros estudos realizados em Manaus-Am e no município de Coari, indicaram a presença de parasitas circulantes mesmo na presença de concentrações terapêuticas efetivas de cloroquina (SIMÕES, 2007 e MELO, 2009). Contudo os referidos estudos foram fundamentados em propostas de novas estratégias terapêuticas.

Atualmente a necessidade de elucidar se as respostas terapêuticas ineficazes são devidas a resistência do *Plasmodium* à cloroquina ou a

presença de concentrações sub-terapêuticas dos fármacos, assegura a escolha posterior de um esquema terapêutico que possa garantir a eficácia do tratamento para a efetividade e alcance da meta de redução da morbimortalidade causada pela malária (BRASIL/MS/FUNASA/CENEPI, 2005).

A tomada de decisão para o tratamento adequado de um paciente com malária deve ser precedida de informações sobre a gravidade da doença, espécie de plasmódio, idade do paciente, histórico anterior de malária e a suscetibilidade dos parasitas aos antimaláricos convencionais (PIMENTEL, *et al.* 2007).

9. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitem concluir que:

- 1) Na casuística selecionada houve predomínio do sexo masculino (67,5%), a faixa etária de maior incidência foi de 34-42 anos (30%), refletindo a importância ocupacional da doença, cujas ocupações principais foram marítimos e vendedores; a maioria, (85%) residentes em Belém-PA; os primoinfectados representaram 42,5% e os recorrentes 57,5%.
- 2) A parasitemia inicial (D0) variou de 500 a 30.000 parasitos/mm³ (formas assexuadas), com média de $4.485,7 \pm 6.732,7$ parasitos/mm³. Foi observada baixa parasitemia em 95% pacientes e média em 5%. A parasitemia foi semelhante entre os primoinfectados e os recorrentes.
- 3) Foi observada anemia em 60% dos pacientes, sendo 16 do sexo masculino e oito do feminino; A faixa etária predominante foi entre 23 a 60 anos Destes, 70,8% apresentaram quadro anêmico leve e 29,2% moderado; 57,5% apresentaram os demais índices hematimétricos normais em ambos os gêneros. Os parâmetros bioquímicos foram similares nos pacientes primoinfectados e recorrentes;
- 4) O seguimento clínico e laboratorial dos pacientes não detectou recidiva da infecção após o seguimento de 28 dias, e não foram evidenciadas sintomatologia clínica adicional, o que aliado ao tempo

médio de clareamento da parasitemia de 80 ± 32 horas indicam que o esquema terapêutico utilizado foi eficaz com taxa de cura de 100%.

- 5) O perfil cinético da cloroquina demonstrou pico de concentração plasmática de $1.102,15 \pm 313,52$ ng/mL, seguida do decaimento a partir de D2 até D28, quando foram detectadas concentrações terapêuticas de cloroquina de $98,6 \pm 35,88$ ng/mL; não foi observada diferença entre os teores médios do fármaco entre os primoinfectados e recorrentes;
- 6) Os teores médios de primaquina em D2, D7 e D14 foram de 210,2 ng/mL, 345,0 ng/mL e 91,7 ng/mL, respectivamente. No dia D30 não foram detectadas concentrações. Foi observada diferença significativa nos teores médios de primaquina em D2 entre os gêneros masculino e feminino, contudo não foi observada diferença entre os teores médios do fármaco entre os primoinfectados e recorrentes;

As concentrações sanguíneas de cloroquina e primaquina observadas neste estudo aliadas a taxa de cura caracterizam a eficácia do esquema terapêutico empregado, a qualidade dos medicamentos utilizados e a qualidade das medidas de orientação, esclarecimento e seguimento do serviço de saúde nos quais os pacientes foram diagnosticados e tratados.

REFERÊNCIAS

ABDON, NP; PINTO, AYDN; SILVA, RDSUD; SOUZA, JMD. Avaliação da resposta aos esquemas de tratamento reduzidos para malária vivax. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.4, p. 343-348. 2001.

ADAK, T; VALECHA, N; SHARMA, VP. *Plasmodium vivax* Polymorphism in a Clinical Drug Trial. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 8, n. 5, p. 891 - 894. 2001.

AGYEPONG, I. A.; ANSAH, E.; GYAPONG, M.; ADJEI, S.; BARNISH, G.; EVANS, D. Strategies to Improve Adherence to Recommended Chloroquine Treated Regimes: A Quasi-Experiment in the Context of Integrated Primary Health Care Delivery in Ghana. **Revista Social Science & Medicine**, v. 55, n. p. 2215- 2226, 2002.

ALECRIM, MG; ALECRIM, W; MACÊDO, V; KORVES, CT; ROBERTS, RD; LI, J; SULLIVAN, M; MCCUTCHAN, TM. Description of a possible clonal expansion of *Plasmodium vivax* in Manaus- Amazonas-Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, p. 303-305. 1999^a.

ALECRIM, MG.; ALECRIM, W; MACÊDO, V. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine (R2) and mefloquine (R3) in Brazilian Amazon Region. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n. 1, p. 67-68. 1999^b.

ALECRIM, MGC. Estudo clínico, resistência e polimorfismo parasitário na malária pelo *Plasmodium vivax*, Manaus – AM. Brasília: UNB, 2000. **Tese de Doutorado**, Faculdade de Medicina, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília, 2000.

AMÉRICO, AL; VENTURA, AMRS; PINTO, AYN; VALENTE, MIA; LIBONATI, RMFC; JAIRO, AA; DE SOUZA, JM. Resistência do *P. vivax*: Existe esta ameaça? In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. XXXIX, 2003, Belém. **Anais**. Belém: SBMT, 2003. p.272.

ARÉVALO-HERRERA, M; PERLAZA, L; BOLENO, A; VALDERRAMA, A; HERRERA, S. Immunity and physio-pathogenesis of human malaria. **Immunologia**, v.21, n. 4, p. 1-11, 2002.

BARATA R. C. B. Malária no Brasil: panorama epidemiológico na última década. **Cadernos de Saúde Pública** 11: 128-136, 1995.

BARBOSA, H. H. M.M.; CARVALHO, D. R.; CANTANHEDE G.; SERRATE PEREIRA M. V, BATISTA R. A. S.; RODRIGUES, R. R. Epidemiologia dos pacientes atendidos no programa de malária na unidade de saúde da pedreira, em Belém. **Revista Paraense de Medicina**, vol.20, n°.1, p.58-58, 2006.

BANNISTER, L; MITCHELL, G. The ins, outs and roundabouts of malaria. **Trends in Parasitology**, v.19, n. 5, p. 209-213. 2003.

BERLINER, RW; EARLE JR, DP; TAGGART, JV; JUBROD, CG; WELCH, WJ; CONAN, NJ; BAUMAN E; SCUDDER, SI; SHANNON, JA. Studies on the chemotherapy of the human malarias. VI. The physiological deposition , antimalarial activity, and toxicity of several derivatives of 4-aminoquinolone. **Journal of Clinical Investigation**, v. 27, p. 98-107, 1948.

BAIRD, JK; CANETA-MIGUEL, E; S. MASBAR, DB; ABRENICA; J A; LAYAWEN, AVO; CALULU, T; LEKSANA, JMB; WIGNALL, FS. Survey of resistance to chloroquine of falciparum and vivax malaria in Palawan, the Philippines. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, p. 413–414. 1996.

BAIRD, JK; LEKSANA, B; MASBAR, S; FRYAUFF, DJ; SUTANIHARDJA, MA; SURADI WIGNALL, FS; HOFFMAN, SL. Diagnosis of resistance to chloroquine by Plasmodium vivax: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.56, n. 6, p.621-626. 1997.

BAIRD, JK; TIWARI, T; MARTIN, GJ; TAMMINGA, CL; PROUT, TM; TJADEN, J; BRAVET, PP; RAWLINS, S; FERREL, M; CARUCCI, D; HOFFMAN, SL. Chloroquine for the treatment of uncomplicated malaria in Guyana. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 96, n. 4, p. 339-48. 2002.

BAIRD, JK. Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 11 p. 4075–4083. 2004.

BERNAN, J. Toxicity of commonly-used antimalarial. **Revista Travel Medicine and Infectious Disease**, v.2, p. 171-184, 2004.

BJÖRKMAN, A.; BHATTARAI, A. Public health impact of drug resistant *Plasmodium falciparum* malaria. **Acta Tropica**, v. 94, p. 163-169, 2005.

BLAIR, S; ECHEVERRI, M; TOBON, A; ÁLVAREZ, G; CARMONA, J. Clinical and Laboratorial findings of *Plasmodium vivax* malaria in Colombia, 2001. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 2003.

BRAGA, W. S. M.; SOUZA, R. A. B. S; SILVA, E. B.; FONSECA, J. C. F. F. E TOSTA, C. E. Co-infecção humana pelo plasmódio e o vírus da hepatite B: aspectos clínicos, sorológicos e imunológicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 39(1), 27-31, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Terapêutica da Malária**. Brasília, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA / ASSESORIA DE DESCENTRALIZAÇÃO E CONTROLE DE ENDEMIAS / CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA. **1º Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6 ed., Brasília, 2005.

_____. SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE. **Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica - SIVEP**. Acessado em 22.02.04 na https://sis.funasa.gov.br/sivep_malaria. 2004.

_____. SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE. **Situação Epidemiológica da Malária no Brasil**. Acessado em 22.03.05 na https://sis.funasa.gov.br/sivep_malaria. 2005.

BRUCE-CHAWATT, L. J. Epidemiology of malaria. **Essencial Malariology**. Second edition. William heinemamm Medical Books, London, pp.135-175,1985.

CARDOSO, M. A; FERREIRA M. U; CAMARGO L. M. SZARFARC S. C. Anemia in a population from an endemic area of malaria, Rondonia (Brazil). *Revista de Saúde Pública*. 26:161-6,1992.

CAMARGO E. P. Malária, maleita, paludismo. *Ciência e Cultura*, v.55, n.1 São Paulo Jan./Mar, 2003.

CARDOSO MA, FERREIRA MU, CAMARGO LM, SZARFARC SC. Anemia, iron deficiency and malaria in a rural community in Brazilian Amazon. *European Journal of Clinical Nutrition*. 48:326-32, 1994.

CASTILLO, CM; OSORIO, LE; PALMA, GI. Assessment of therapeutic response of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* to chloroquine in a Malaria transmission free area in Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 4, p. 559-562. 2002.

CHOTIVANICH, KT; PUKRITTAYAKAMEE, S; SIMPSON, JÁ; WHITE, NJ; UDOMSANGPETCH, R. **Characteristics of *Plasmodium vivax*-infected erythrocyte rosettes**. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 59, p. 73. 1998.

COATNEY, G. R.; M.E. Primaquine and quinocida as curative agents against sporozoite-induced Chesson strain vivax malaria: preliminary report. **Journal of National Malaria Sociey**, 9: 285-292, 1962.

CORNEJO, O. E.; ESCALANTE, A. A. **The origin and age of *Plasmodium vivax***. *Trends in Parasitology* v.22, n.12, 2006.

CRAIG, AA.; KAIN, KC. Molecular analysis of strains of *Plasmodium vivax* from paired primary and relapse infections. **Journal of Infectious Diseases**, n. 174, p. 373-379. 1996.

CRAVO, P; ROSÁRIO, P. Aspectos da genética molecular da resistência aos fármacos antimaláricos. **Biomed Saúde Publica**, v. 73, p. 2-8, 2002.

CRAWLEY, J. Reducing the burden of malaria in infants and young children in malaria-endemic countries of Africa: from evidence to action. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**. 71, 2:25-34, 2004.

COATNEY, GR; RUHE, DS; COOPER, WC; JOSEPHESON, VS; YOUNG, MD. Studies in human malaria. X. The protective and therapeutic action of chloroquine (SN 7619) against St. Elizabeth strain of vivax malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, p. 49-59. 1949.

COSTA, EAP; SILVA JÚNIOR, CAD; MATOS, WB; BASTOS JÚNIOR, JL; ARAÚJO, RA; PORTELA, EGL; GONCALVES, EGRS; DA SILVA, AR. In:

Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. XXXIX, 2003, Belém. **Anais**. Belém: SBMT, 2003. p. 277.

CUI, L; ESCALANTE, AA; IMMWONG, M; SNOUNOU, G. The genetic diversity of *Plasmodium vivax* populations. **Trends in Parasitology**, v.19, n. 5, p. 220-226. 2003.

DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA DO SUS. **Resumo Epidemiológico**, 2008. Disponível em:

<http://dwsaude.gov.br/portal/page/portal/sivep_malaria/TAB9944?ano_ini_pos_n=2008&ano_fim_pos_n=2003>. Acesso em: 04 de março de 2010.

DAILY, J. P. Antimalarial Drug Therapy: The Role of Parasite Biology and Drug Resistance. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 46, p.1487-1497, 2006.

DJIMDE, AA; DOUMBO, OK; TRAORE, O; GUINDO, AB; KAYENTAO, K; DIOURTE, Y; NIARE-DOUMBO, S; COULIBALY, D; KONE, AK; CISSOKO, Y; TEKETE, M; FOFANA, B; DICKO, A; DIALLO, DA; WELLEMS, TE; KWIATKOWSKI, D; PLOWE, CV. Clearance of drug-resistant parasites as a model for protective immunity in *Plasmodium falciparum* malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, p. 558-563. 2003.

DUA, VK; KAR, PK; GUPTA, NC; SHARMA, VP. Determination of chloroquine and desethylchloroquine in plasma and blood cells of *Plasmodium vivax* malaria cases using liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 21, p. 199-205. 1999.

DUCHARME, J; FARINOTTI, R. Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine. Focus on recent advancements. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 31, n. 4, p. 257-74. 1996.

DUARTE, EC; PANG, L; FONTES, CJF. Validade interna de ensaios terapêuticos em malária: análise de estudos de avaliação da emergência de resistência in vivo do *Plasmodium vivax* a doses padronizadas de primaquina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n. 3, p. 383-386. 2003.

EKVALL, H.; PREMJI, Z.; BENNETT, S.; BJORKMAN, A. Hemoglobin concentration in children in a malaria holoendemic area is determined by cumulated *Plasmodium falciparum* parasite densities. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**. 64:58-66, 2001.

EREL, O; VURAL, H; AKSOY, N; ASLAN, G; ULUKANLIGIL, M. Oxidative stress of platelets and thrombocytopenia in patients with vivax malaria. **Clinical Biochemistry**, v. 34, n. 4, p. 341-344. 2001.

ERHART, LM; YINGYUEN, K; CHUANAK, N; BUATHONG, N; LAOBOONCHAI, A; MILLER, RS; MESHNICK, SR; GASSER, RA JR; WONGSRICHANALAI, C. Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand, ;v. 70, n. 1, p. 8-14. 2004.

FERNANDES DA MOTTA, E. Fatores Determinantes da Situação da Malária na Amazônia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.25, n. (supl. II): p. 27-32. 1992.

FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S. L. M. Malária. In: _____. **Diagnóstico Laboratorial**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1996. p.157-164; cap.18.

FERREIRA, ESF. Concentrações Plasmáticas de Primaquina e Metemoglobinemia em Pacientes com Malária por *plasmodium vivax* – Pará: UFPA, 2010. **Dissertação de Mestrado**, Faculdade de Farmácia, Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Pará Belém, 2010.

FORATTINI, OP. **Culicidologia Médica**, v. 2. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

FRANÇA T. C. C., SANTOS M. G. VILLAR J. D. F. - MALÁRIA: ASPECTOS HISTÓRICOS E QUIMIOTERAPIA - **Química Nova**, Vol. 31, No. 5, 1271-1278, 2008.

FRYAUFF, DJ; BAIRD, JK; CANDRADIKUSUMA, D; MASBAR, S; SUTAMIHARDJA, MA; LEKSANA, B; TUTI, S; MARWOTO, H; RICHIE, T; ROMZAN, A. Survey of in vivo sensitivity to chloroquine by Plasmodium falciparum and *P. vivax* in Lombok, Indonesia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 56, n. 2, p. 241-244.1997.

FRYAUFF; DJ, TUTI S; MARDI A; MASBAR, S; PATIPELOHI, R; LEKSANA, B; KAIN, KC; BANGS, MJ,; RICHIE, TL; BAIRD, JK. Chloroquine-resistant Plasmodium vivax in transmigration settlements of West Kalimantan, Indonésia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 4, p.513-518. 1998.

GALINSKI, MR; BARNWELL, JW. *Plasmodium vivax*: Merozoites, invasion of reticulocytes and considerations for malaria vaccine development. **Parasitology Today**, v.12, n. 1, p. 20-29. 1996.

GARAVELLI, PL; CORTI, E. Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*: the first case in Brazil. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.86, n. 128, p. 1992.

GARG, M; GOPINATHAN, N; BODHE, P; KSHIRSAGAR; NA.. *Vivax malaria resistant to chloroquine: case reports from Bombay*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p.656–657. 1995.

GARNHAM, PCC. Malaria parasites of man:life-cycles and morphology (excluding ultrastructure). *In: Malaria – Principles and Practice of Malariology*. London: Churchill Livingstone, 1998. v.1, p. 61-85.

GILLES, H. Malaria parasites. *In: GILLES, H; WARRELL, D. BRUCE-CHWATT's Essential Malariology*. 3. ed. London: Edward Arnold publishers, 1998, p. 12-34.

GOGTAY, N.; GARG, M.; KAMTEKAR, K.; KSHIRSAGAR, A. N. A 5 days primaquina as anti-relapse therapy for *Plasmodium vivax*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **92**: 341, 1998.

[HAMED, Y](#); [NATEGHPOUR, M](#); [SOONTHORNSTATA, B](#); [TAN-ARIYA, P](#); [KOJIMA](#); [CHINDANOND, D](#); [LOOAREESUWAN, S](#). Monitoring of *Plasmodium vivax* sensitivity to chloroquine *in vitro* in Thailand. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 4, p. 435-437. 2003.

HARINASUTA, T; BUNNAG, D. Clinical features of malaria. *In: Malaria – Principles and Practice of Malariology*. London: Churchill Livingstone, 1998. v.1, p. 709-734.

HASTINGS, IM. Malaria control and evolution of drug resistance: an intriguing link. **Trends of Parasitology**, v.19, n. 2, p. 70. 2003.

HASTINGS, IM. The origin of antimalarial drug resistance. **Trends in Parasitology**, v. 20, n.1, p. 514-518. 2004.

HOMEWOOD, CA; JEWSBURY, JM; CHANCE, ML. The pigment formed during haemoglobin digestion by malarial and schistosomal parasites.

Comparative **Biochemichemistry and Physiology** – Part B, v.43, n. 3, p. 517-523. 1972.

HOMEWOOD, CA; WARHURST, DC; PETERS, W; BAGGALEY; VC. Lysosomes, pH and the anti-malarial action of chloroquine. **Nature**, v. 235, n. 5332, p. 50-522. 1972.

KAPPE, SHI; KAISER, K; MATUSCHEWSKI, K. The Plasmodium sporozoite journey: a rite of passage. **Trends in Parasitology**, v.19, n. 3, p. 135-143. 2003.

KATSURAGAWA, T.H.; CUNHA, R. P. A.; SOUZA, D. C. A.; GIL, L. H. S.; CRUZ, R. B.; SILVA, A. A.;TADA, M.S.; SILVA, L. H. P.. Malária e aspectos hematológicos em moradores da área de influência dos futuros reservatórios das hidrelétricas de Santo Antônio e Jirau, Rondônia, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, 25(7),1486-1492, 2009.

KRICHGATTER, K; DEL PORTILLO, HÁ.. Molecular analysis of strain of Plasmodium vivax relapses using the MSP-1 molecules as genetic marker. **Journal of Infectious Diseases**, v. 177, p. 511-515. 1998.

KROTOSKI, W. A. Frequency of relapse and primaquine of resistance in Southeast Asian *vivax* malaria. **New England Journal of Medicine**, 303: 587, 1980.

KROTOSKI, W. Discovery of the hipnozoite and a new theory of malarial relapse. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.79, p. 1-11. 1985.

LEE, HK; LIM, J; KIM, M; LEE, S; OH, EJ; LEE, J; OH, J; KIM, Y; HAN, K; LEE, EJ; KANG, CS; KIM, BK. Immunological alterations associated with Plasmodium vivax malaria in South Korea. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 95, n. 1, p.32-39. 2001.

LOIOLA, CCP; SILVA, CJMD; TAUIL, PL. Controle da malária no Brasil: 1965-2001. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.11, n. 4, p. 235-244. 2002.
LOPEZ-ANTUNANO, FJ. **Malaria diagnosis**. Genebra, World Health Organization 1990.

LOPEZ-ANTUNANO, FJ. Is primaquine useful and safe as true exo-erythrocytic meronticidal, hypnozoiticidal and gametocidal antimalarial drug. **Salud Pública de Mexico**, v.41, n. (5): p. 1999.

LOOAREESUWAN, S; WILAIRATANA, P; KRUDSOOD, S; TREEPRASERTSUK, S; SINGHASIVANON, P; BUSSARATI D, V; CHOKJINDACHAI, W; VIRIYAVEJAKUL, P; CHALERMRUT, K; WALSH, D S; WHITE, J. Chloroquine sensitivity of *Plasmodium vivax* in Thailand. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 93, p. 225–230. 1999.

LUXEMBURGER, C; van VUGT, M; JONATHAN, S; MCGREADY, R; LOOAREESUWAN, S; WHITE, NJ; NOSTEN, F. Treatment of vivax malaria on the western border of Thailand. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.24, p. 433-438. 1999.

MACHADO, RL; DE FIGUEREDO FILHO, AF; CALVOSA VS; FIGUEREDO, MC; NASCIMENTO, JM; POVOA, MM. Correlation between Plasmodium vivax variants in Belem, Para State, Brazil and symptoms and clearance of parasitaemia. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 7, n. 3, p. 175-177.2003.

MARQUES AC, PINHEIRO EA. Fluxos de Casos de Malária no Brasil em 1980. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** 34:1-3,1982.

MARQUES; HO; OLIVEIRA; VA; MARREIRA; LECITA; ALEXANDRE; MA; ALECRIM; MGC; LORENCO; DA. Alterações na hemostasia em pacientes com malária. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. XL, 2004, Aracajú. **Anais**. Aracajú: SBMT, 2003. p. 49.

MELO M.M. Determinação das concentrações plasmáticas de cloroquina em pacientes com malária vivax atendidos na FMTAM – AM. Manaus: UEA, 2009. [Dissertação de Mestrado], Amazonas (AM): Universidade do Estado do Amazonas , 2009.

MELLO, Y. F. C. Novas abordagens sobre resistência *in vitro* do *P. falciparum* e diagnóstico da malária. **Revista Paraense de Medicina**, v.18, n.4, p.36, 2004.

MENDIS, K; SINA, BJ; MARCHESINI, P; CARTER, R. The Neglected Burden of Plasmodium vivax malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.64, n. (1,2 supplement): p. 97-106. 2001.

MILLER, LH; BARUCH, DI; MARSH, K; DOUMBO, OK. The pathogenic basis of malaria. **Nature**, v.415, p. 673-679. 2002.

NAJERA, A. J; ROPSENFELD, P. L. La **Epidemiologia Social de la Malaria Programa de Accion Antipaludica**, Organización Mundial de Saúde, Genebra, 1984.

NASCIMENTO, TS. Validação de Metodologia analítica para Determinação de Cloroquina e Desetilcloroquina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE, Belém – PA. Pará: UFPA, 2008. **Dissertação de Mestrado**, Faculdade de Medicina, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Federal do Pará, 2008.

NOEDL, H; WONGSRICHANALAI, C; WERNSDORFER, WH. Malaria drug-sensitivity testing: new assays, news perspectives. **Trends in Parasitology**, v.19, n. 4, p. 175. 2003.

OH, MD; SHIN, H; SHIN, D; KIM, U; LEE, S; KIM, N; CHOI, MH; CHAI, JY; CHOE, K. Clinical features of vivax malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.65, n. 2, p. 143-6. 2001.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Basic Malaria Microscopy**. Genebra, WHO. 1991.

_____. _____. **Chemotherapy of malaria and resistance to antimalarials**. Genebra, World Health Organization, 1973.

_____. _____. **The use of antimalarial drugs - report of a WHO informal consultation**. Geneva, World Health Organization, 2001a.

_____. _____. **World Health Report 2000**. Genebra, World Health Organization, 2001b.

_____. _____. Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy of uncomplicated malaria. Genebra, World Health Organization, 2003.

_____. _____. **Roll Back Malaria**. Acessado em 12.11.04 na <http://rbm.who.int>, 2004.

_____. _____. **World Malaria Report 2005** . World Health Organization.

2005.

_____. _____. Fund. La anemia como centro de atención: hacia un enfoque integrado para el control eficaz de la anemia. <http://www.who.int> (acessado em 05/Dez/2010).

OPAS. Organización Pan-americana de la Saúde. **Normas de protocolos genéricos para la eficacia de la cloroquina para el tratamiento de la malaria causada pelo *P. vivax***. Washington, Organización Pan-americana da Saude, 2004.

_____. _____. **Informe de la situación de los programas de malária en las Americas**. Washington, Organización Pan-americana de la Saude, 2003.

_____. _____. **Status of Malaria in the Americas: A series of data tables**. Acessado em janeiro de 2005 na <http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/malaria.htm>. 2005^a.

_____. _____. RAVREDA - **Rede Amazônica de Vigilância da Resistência às Drogas**. Acessado em abril de 2005 na <http://www.paho.org/spanish/AD/DPC>. 2005^b.

PAPALEXIS, V; SIOMOS, MA; CAMPANALE, N; GUO, XG; KOCAK, G; FOLEY, M; TILLEY, L. Histidine-rich protein 2 of the malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, is involved in detoxification of the by-products of haemoglobin degradation. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 115, p. 77–86. 2001.

PARK, JW; PARK, SH; YEOM JS; HUH, AJ; CHO, YK; AHN JY; MIN, GS; SONG, GY; KIM, YA; AHN, SY; WOO, SY; LEE, BE; HA, EH; HAN, HS; YOO, K; SEOH, JY. Serum cytokine profiles in patients with *Plasmodium vivax* malaria: a comparison between those who presented with and without thrombocytopenia. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97, n. 4, p. 339–344. 2003.

PATCHEN, LC; MOUNT, DL; SCHWARTZ, IK; CHURCHILL, FC. Analysis of filter-paper-absorbed, finger-stick blood samples for cloroquine and its major metabolite using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromathography**, v. 278, p. 81-89. 1983.

PHILLIPS, EJ. Failure and combined therapy for *P. vivax* malaria acquired in Guyana, South America. **Clinical Infectious Diseases**, v.23, p. 1171-1173. 1996.

PICOT, S; BREGA, S; GEROME, P; VELUT, G; DE MONBRISON, F; CHEMINEL, V; PEYRON, F. Absence of nucleotide polymorphism in a *Plasmodium vivax* multidrug resistance gene after failure of mefloquine prophylaxis in French Guyana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 3, p.234-237. 2005.

PINTO, AYN ; VENTURA, A. M. R. S. ; CALVOSA, V. S. P. ; SILVA, R. S. U. ; ABDON, N. ; SOUZA, J. M. . Avaliação clínico-terapêutica das recaídas de malária vivax. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Brasília, v. 29. p. 179-179, 1994.

PLOWE, CV. Monitoring antimalarial drug resistance: making the most of the tools at hand. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 21, p. 3745-3752. 2003.

PUKRITTAYAKAMEE, S; VANIJANONTA, S; CHANTRA, A; CLEMENS, R; WHITE, NJ. Blood stage antimalarial efficacy of primaquine in *Plasmodium vivax* malaria. **Journal of Infectious Diseases**, v.169, n. 4, p. 932-935. 1994.

PUKRITTAYAKAMEE, S; CHANTRA, A; SIMPSON, JA; VANIJANONTA, S; CLEMENS, R; LOOAREESUWAN, S; WHITE, NJ. Therapeutic Responses to Different Antimalarial Drugs in Vivax Malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.44, n. 6, p. 1680-1685. 2000.

PUKRITTAYAKAMEE, S; IMWONG, M; LOOAREESUWAN, S; WHITE, NJ. Therapeutic responses to antimalarial and antibacterial drugs in vivax malaria. **Acta Tropica**, n. 89, p. 351-356.2004.

RENAULT, C. S.; BASTOS, F. A.; FILGUEIRA, J. P.P. S.; HOMMA, T. K. Epidemiologia da Malária no Município de Belém – Pará. **Revista Paraense de Medicina**, V.21 (3), julho-setembro 2007.

RICHIE T. L, SAUL A. Progress and challenges for malaria vaccines. **Nature**, v. 415, p. 694-70, 2002.

RIDLEY, RG. Chemotherapeutic hope on the horizon for Plasmodium vivax malaria. **Proceedings of National Academy of Science**, v.99, n. 21, p. 13362-13364. 2002.

RIECKMANN, KH. Plasmodium vivax resistant to chloroquine? **The Lancet**, n. (supp II): p. 1183-1184. 1989.

RIGBY, MC; HECHINGER, RF; STEVENS, L. Why should parasite resistance be costly? **Trends in Parasitology**, v.18, n. 3, p. 116-118. 2002.

ROY. R. G.; CHAKRAPANI, K. P. ; DHINAGARAN, D. ; SITARAMAN, N. L. ; GHOSH, R. B. Efficacy of 5-day treatment of *Plasmodium vivax* infection in Tamil Nadu. **Indian Journal of Medical Research**, **65**: 652-656, 1977.

RUEBUSH II,; ZEGARRA, J; CAIRO, J; ANDERSEN, E; GREEN, M; PILLAI, DR; MARQUIÑO, W; HUILICA, M; AREVALO, E; GARCIA, C; SOLARY, L; KAIN, KC. Chloroquine-resistant Plasmodium vivax malaria in Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v .5, n. 69, p. 548-552. 2003a.

RUEBUSH II, TK; ZEGARRA, J; MARQUIÑO, W, NEYRA, D; VILLAROEL, R; AVILA; JC, DIÁZ, C; BELTRÁN, E. Practical aspects of in vivo antimalarial drug efficacy testing in the Americas. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, n. 68, p. 391–397. 2003b.

SANTOS R. C.; SUCUPIRA I. M. C.; LACERDA R.N. L. L.; FAYAL A. S. F.; PÓVOA M.M. Inquérito entomológico e infectividade durante epidemia de malária no município de Anajás, Estado do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 38(2), 202-204, 2005.

SCHUURKAMP, GJ. A mixed infection of vivax and falciparum malaria apparently resistant to 4-aminiquinoline: a case report. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, p. 607-608. 1989.

SCHUURKAMP, GJ; SPICER PE, KEREU; R.K; BULUGOL, PK; RIECKMANN, KH. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* in Papua New Guinea. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.86, p.121–122. 1992.

SILVA, A. R.; TAUIL, P. L.; BASTOS, J. L. J.; MATOS, W. B.; COSTA, E. A. P. GONÇALVES, E. G. R. Aspectos da transmissão focal de malária na Ilha de São Luis, Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 39(3), 250-254, 2006.

DA SILVA, AR; SILVA, CDE M; BRANCO, MDOS R; BRANCO FILHO, JR. Results of the use of a therapeutic protocol for Plasmodium vivax for 5 days in 3

municipalities of the Sao Luis Island, State of Maranhao, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 3, p. 131-136. 1989.

SIMÕES FSF, ARCANJO ARL, COSTA YMCR, Martinez-Espinosa FE, VIEIRA JL, BARBOSA MG, ALECRIM WD, ALECRIM MGC. Choloquine-restant *Plasmodium vivax*, Brazilian Amazon. **Emerging Infectious Diseases**.13 (7), 2007.

SNOUNOU, GEORGE; VIRIYAKOSOL, SUGANYA; ZHU, XIN PING; JARRA, WILLIAM; PINHEIRO, LUCILIA; DO ROSARIO, VIRGILIO; THAITHONG, SODSRI; BROWN, K. NEIL. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 61, 315-320, 1993.

SOUZA, J. M; COUTO, A. A. R. A; SILVA, E. B; ABDON, N. P; SILVA, R. S. V. Malária. In: LEÃO, R. N. Q. **Doenças infecciosas e Parasitárias – Enfoque Amazônico**. Belém: Cejup/UEPA/Instituto Evandro Chagas, 1997.

SULLIVAN JR, D.J., MATILE, H., RIDLEY, R.G., GOLDBERG, D.E. A common mechanism for blockade of heme polymerization by antimalarial quinolines. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, p. 31103–31107. 1998.

SULLIVAN, DJ. Theories on malarial pigment formation and quinoline action **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 1645–1653. 2002.

SUMAWINATA, IW; BERNADETA, BL; SUTAMIHARDJA, A; PURNOMO, BS; SEKARTUTI, DJF; BAIRD; JK. Very high risk of therapeutic failure with chloroquine for uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria in Indonesian Papua. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68:p. 416–420. 2002.

SOTO, J; TOLEDO, J; GUTIERREZ P; LUZZ, M; LLINAS, N; CEDEÑO, N; DUNNE, M; BERMAN, J. Plasmodium vivax clinically resistant o chloroquine in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 2, n. 65, p. 90-93. 2001.

SVS/MS - **Boletim Eletrônico Epidemiológico** - ano 10, nº 4, dezembro 2010. TADEI, WP; DUTARY – THATCHER, B. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: Anopheles and the *subgenerus Nyssorhynchus*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 2, p. 87- 94. 2000.

TAYLOR-ROBINSON, AW. A model of development of acquired immunity to malaria in humans living under unendemic conditions. **Medical Hypotheses**, v.58, n. 2, p. 148-156. 2002.

TAYLOR, WRJ; DOAN, HN; NGUYE, DT; TRAN, TU; FRYAUFF, DJ; GOMEZ-SALADIN, E; KAIN, KC; LE, DC; BAIRD, JK. Assessing drug sensitivity of *Plasmodium vivax* to halofantrine or chloroquine in southern, central Vietnam using an extended 28-day in vivo test and polymerase chain reaction genotyping. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, p. 663-697. 2000.

TAYLOR, WRJ; WHITE, NJ. Antimalarial drug toxicity. **Drug Safety**, v. 27, n. 1, p. 26-61. 2004.

THAN, M; PHONE-KYAW, M-, SOE, AY; GYI, KK; SABAI, M; OO, M. 1995. Development of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax* in Myanmar. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 89, p. 307-308. 1995.

THOMPSON, PE; WERBEL, ML. 4 aminoquinolines. *In: Antimalarial Agents - Chemistry and Pharmacology. Medicinal Chemistry – a series of monographs*, v.1. London: Academic Press, 1972, p. 151-196.

TORRES, F. R.; DOMINGOS, C. R. B. Hemoglobinas humanas – hipótese malária ou efeito materno? *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 27(1), 53-60, 2005.

UKO,E.K; UDOH, A. E; ETUKUDOH, M.H. Mathaemoglobin profile in malaria infected children in Calabar. **Journal of Medicine**.12 (2), 94-7, 2003.

VALE, N.; MOREIRA, R.; GOMES, P. Quimioterapia da Malária um Século de Desenvolvimento de antimaláricos. **Rev. Química**, v.99, p.57-69, Lisboa, 2005. VENTURA, AMR. Malária pelo *Plasmodium vivax* na criança – aspectos epidemiológicos, clínico-laboratoriais e terapêuticos. Estudo clínico, resistência e polimorfismo parasitário na Manaus – AM. Brasília: UNB, 2000. **Dissertação de Mestrado**, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, 1997.

VILLALOBO-SALCEDO, JM; TADA, MINISTÉRIO DA SAÚDE; KIMURA MENEZES, EMJ; PEREIRA-DA-SILVA; H. In vivo sensity of *Plasmodium vivax*

isolates from Rondônia (western Amazon region, Brazil) to regimens including chloroquine and primaquine. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 94, n. 8, p. 749-758. 2000.

WARRELL, DA. Clinical features of malaria. *In*: GILLES, H; WARRELL, D. **BRUCE-CHWATT's Essential Malariology**. 3. ed. London: Edward Arnold publishers, 1998, p. 35-45.

WARRELL, DA. Treatment and prevention of malaria. *In*: GILLES, H; WARRELL, D. **BRUCE-CHWATT's Essential Malariology**. 3. ed. London: Edward Arnold publishers, 1998, p. 164-195.

WHITBY, M. Drug resistant *Plasmodium vivax* malaria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.40, p. 749-752. 1997.

WHITE, NJ. Assessment of the pharmacodynamic properties of antimalarial drugs in vivo. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.41, p. 1413-1422. 1997.

_____. Drug resistance in malaria. **British Medical Bulletin**, v.54, n. 3, p. 703-715. 1998a.

_____. Why is it that antimalarial drug treatments do not always work? **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 449-458. 1998b.

_____. The assessment of antimalarial drug efficacy. **Trends in Parasitology**, v.18, n. 10, p. 458-464. 2002.

_____. Antimalarial drug resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v.113, p.1084-1092. 2004.

WICKRAMASINGHE SH; ABDALLA, SN. Blood and bone marrow changes in malaria. **Baillière's Clinical Haematology**, v. 13, n. 2, p. 277-299, 2000.

WONGSRICHANALAI, C. Epidemiology of drug-resistant malaria. **The Lancet**, v.2, p. 209-217. 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2009**. SUÍÇA: WHO, 2009b. p.26 – 40.(Relatório anual, 2009).

YAMAGUCHI, S; KUBOTA, T; YAMAGISHI, T; OKAMOTO, K; IZUMI, T; TAKADA, M; KANO, S; SUZUKI, M; TSUCHIYA, J; NARUSE, T. Severe thrombocytopenia suggesting immunological mechanisms in two cases of vivax malaria. **American Journal of Hematology**, v. 56, n.3, p.183-1986. 1997.

YONEMITSU, K; KOREEDA, A; KIBAYASHI, K; NG'WALALI, P; MBONDE, M; KITINYA, J; TSUNENARI, S. HPLC analysis of anti-malaria agent, chloroquine in blood and tissue from forensic autopsy cases in Tanzania. **Legal Medicine**, v. 7, n. 2,p.113-116. 2005.

ANEXOS

ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Obrigatório para Pesquisa Clínica em Seres Humanos – Resolução nº 196 de
10.10.1996 – CNS)

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

NOME (Paciente).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº

ENDEREÇO COMPLETO CEP

CIDADE ESTADO..... FONE.....

II – DADOS SOBRE O ESTUDO

1. Título: **AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA DA MALÁRIA POR *Plasmodium vivax*: PERFIL CINÉTICO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA**

2. Pesquisadores Principais: Dr. José Maria de Souza (Coordenador do Programa de Malária/IEC), Dr. José Luiz Fernandes Vieira (Pesquisador do Laboratório de Toxicologia da UFPA), Dr. José Ribamar Mesquita Teixeira (Professor Pesquisador em Farmacologia da UEPA).

3. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (IEC) - 08/10/2007.

III. EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE.

O(a) senhor(a) está sendo convidado a participar da pesquisa “AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA DA MALÁRIA POR *Plasmodium vivax*: PERFIL CINÉTICO DA CLOROQUINA E PRIMAQUINA”, que é parte da tese de doutorado sob responsabilidade do pesquisador José Ribamar Mesquita Teixeira, e orientação do Dr. José Maria de Souza, Coordenador do Programa de Malária do Instituto Evandro Chagas. Sua participação é voluntária, sigilosa, e sua desistência não trará qualquer prejuízo para você ou seu atendimento. Será muito importante para compreendermos melhor a questão da terapêutica com os medicamentos antimaláricos. A coleta de sangue (10 ml) para realização dos exames (hematológicos e bioquímicos) será feita com material esterilizado e descartável sem risco algum.

Qualquer dúvida pode entrar em contato com o(a) Dr. José Ribamar Mesquita Teixeira, telefone (91) 3274-0007/ 99872081.

Declaro que li ou leram para mim, e concordo em participar da pesquisa.

Local e data: / /

Assinatura do entrevistado: _____

Local e data: / /

Assinatura do entrevistador: _____.

ANEXO 2 – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS



Carta de nº 0021/2007
 Protocolo CEP/IEC - Nº 0020/07
 CAAE: 0021.0.072.000-07

Ananindeua/PA, 08 de outubro de 2007.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto: “Respostas terapêuticas inadequadas na malária por *Plasmodium vivax* com cloroquina por *Plasmodium vivax* tratados com cloroquina –resistência e/ ou nível sangüíneo da droga insuficiente?”.

Pesquisador Responsável: JOSE RIBAMAR MESQUITA TEIXEIRA

Conforme tramitação junto ao CEP/IEC, o projeto em questão foi considerado **aprovado**.

Recomenda-se ao coordenador que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto, inclusive, as fichas preenchidas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Relatório Final - deverá ser elaborado um consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da mesma.


 MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES
 Coordenador do CEP/IEC