

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

MARIA DEISE DE OLIVEIRA OHNISHI

**Comprometimento pulmonar na malária: associação com fatores epidemiológicos,
imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax***

NOVEMBRO/2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

MARIA DEISE DE OLIVEIRA OHNISHI

**Comprometimento pulmonar na malária: associação com fatores epidemiológicos,
imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do
Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do
Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de
doutor em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Rosana Maria Feio Libonati.

NOVEMBRO/2014

MARIA DEISE DE OLIVEIRA OHNISHI

**Comprometimento pulmonar na malária: associação com fatores epidemiológicos,
imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax***

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Rosana Maria Feio Libonati

Aprovada em: 20/11/2014

EXAMINADORES:

Prof^ª. Dr^ª. Edna A. Y. Ishikawa (NMT-UFPA)

Prof. Dr. Givago da Silva Souza (NMT-UFPA)

Prof^ª Dr^ª. Luisa Caricio Martins (NMT-UFPA)

Prof^ª Dr^ª. Maísa da Silva Souza (NMT-UFPA)

NOVEMBRO/2014

DEDICATÓRIA

À Deus, pela infinita bondade, luz e força nas horas difíceis.

À minha querida mãe (*em memória*) pelo exemplo de amor, paciência e generosidade com os semelhantes. A ela meu eterno amor e gratidão.

Ao meu querido pai (*em memória*) pelo ser humano que foi, sempre preocupado com o bem estar do próximo, exemplo de honestidade e justiça.

Aos meus queridos, marido e filhos, sem o amor, carinho e compreensão dos quais não seria possível a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Professora Dra. Rosana Maria Feio Libonati, pela amizade, por aceitar ser minha orientadora nesta tese de doutorado, pela confiança, competência, paciência e tranquilidade no período de orientação desta pesquisa. E ainda pelos ensinamentos da parte estatística. Meu profundo agradecimento.

“Ao Mestre com Carinho” Prof. Dr. José Maria de Souza, pelo incentivo à esta tese, pelo interesse no andamento da pesquisa, pelos seus ensinamentos como médico e como pessoa, pela amizade, os meus agradecimentos.

À Dra. Ana Maria Revoredo da Silva Ventura, coordenadora do Laboratório de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas, pela amizade, força, apoio e ajuda em todos os momentos da realização desta tese. Minha eterna gratidão.

À Dra. Maristela Gomes Cunha, coordenadora do Laboratório de Patologia da Universidade Federal do Pará, pela ajuda incontestável na realização da dosagem das citocinas para a nossa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ricardo Luiz Dantas Machado, pesquisador do Instituto Evandro Chagas, pela determinação das variantes do *Plasmodium vivax* através de métodos moleculares, imprescindível para a obtenção dos resultados.

Ao Prof. Dr. Alexandre Ferreira da Silva, conceituado radiologista, pela grandiosa colaboração, sempre disponibilizando seu precioso tempo para que pudéssemos analisar e realizar os laudos radiológicos dos casos clínicos.

À colega médica pneumologista Dra. Neuza Maria Dias Moreira pelo apoio na realização dos exames de Prova de Função Respiratória dos pacientes.

À Dra. Helena do HUIBB por facilitar o acesso dos pacientes para a realização dos exames de RX de tórax.

Ao Dr. Roger Normando e Dra. Valéria Normando pela amizade, generosidade, e compreensão pela disponibilização da Clínica Pulmocenter para os exames de prova de função respiratória (espirometria) de parte dos pacientes deste estudo.

À colega Dra. Tânia Chaves, médica infectologista do Instituto Evandro Chagas pela grande ajuda na triagem e consulta dos pacientes participantes do estudo.

Ao meu marido Olimpio Yugo Ohnishi, pelo amor, paciência, compreensão e incentivo, sem os quais não conseguiria realizar este trabalho.

Aos meus filhos muito amados Yugo, Yuji e Yumi, pelo amor, ajuda e colaboração em todos os sentidos.

À minha princesa, filha, amiga e colega de profissão Yumi pelas excelentes contribuições e ajuda no aperfeiçoamento deste trabalho.

À Universidade do Estado do Pará (UEPA) na pessoa do Magnífico Reitor Dr. Juarez Antonio Simões Quaresma, pelo incentivo e apoio.

Ao Hospital Universitário João de Barros Barreto, na pessoa do Dr. Paulo Rocha, pela autorização para a realização das radiografias de tórax e provas de função respiratória dos pacientes.

À coordenação do curso de Medicina da UEPA, na pessoa da Prof. Dra Elaine Prestes, pela enorme compreensão e apoio.

Ao bioquímico Manoel Gomes, chefe do Laboratório de Patologia Clínica do Instituto Evandro Chagas, pela imensa ajuda na realização das dosagens hematológicas nos dias D0 e D14 de todos os pacientes desta pesquisa.

À Maria Mirian França Mendes e Sônia Nogueira, técnicas de enfermagem do Instituto Evandro Chagas: sou-lhes muito grata pela amizade e pela imensa colaboração, principalmente na coleta de dados dos pacientes.

À Sra. Laura Nazaré Oliveira de Souza, pelo apoio junto à secretaria da Coordenação do Programa de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas.

Aos técnicos do Laboratório de Malária Agostinho Fernandes, Darci Rodrigues da Silva, Luiz Carlos Vitorino, Reinaldo Trindade, Benedito Pontes dos Santos, Luiz Alberto Gonçalves Lobo, pelo apoio nas atividades laboratoriais.

À professora Mariseth Carvalho de Andrade pela grande ajuda nos cálculos estatísticos.

Aos pacientes que participaram da pesquisa, pelo interesse e confiança.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

“A cada dia que vivo mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca, e que, esquivando-se do sofrimento, perdemos também a felicidade. A dor é inevitável. O sofrimento é opcional”.

(Carlos Drummond de Andrade)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela de knudson (Avaliação da prova de função respiratória).....	45
Tabela 2 - Distribuição de variáveis demográficas e epidemiológicas de portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	55
Tabela 3 - Relação entre o índice de massa corpórea e espirometria.....	57
Tabela 4 - Relação entre o índice de massa corpórea e dispnéia.	57
Tabela 5 - Parasitemia em portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no Instituto Evandro Chagas/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	59
Tabela 6 - Associação entre parasitemia e primo/reinfecção em pacientes com malária por <i>P. vivax</i> atendidos no Instituto Evandro Chagas/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	60
Tabela 7 - Associação entre parasitemia e tempo de doença nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	61
Tabela 8 - Associação entre desaparecimento da parasitemia e primo/reinfecção nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	61
Tabela 9 - Correlação entre tempo de desaparecimento da parasitemia e parasitemia em primo e reinfecção nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	62
Tabela 10 - Parâmetros hematológicos (média/desvio padrão) em D0 e D14 nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	70
Tabela 11 - Anemia e plaquetopenia em D0 e D14 nos pacientes com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013....	70
Tabela 12 - Associação entre tabagismo e alterações radiológicas nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013....	72
Tabela 13 - Associação entre pneumopatia anterior e alterações radiológicas nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	73
Tabela 14 - Associação entre alterações radiológicas e primo /reinfecção em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	73
Tabela 15 - Presença ou ausência de alterações na espirometria em pacientes com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição global da malária segundo o risco de transmissão.....	08
Figura 2 - Comparação da distribuição da malária no mundo em dois períodos distintos (1946 e 2008).....	09
Figura 3 - Casos de malária notificados, Brasil 2000 a 2011.....	10
Figura 4 - Óbitos ocorridos por malária nas regiões Amazônica e Extra-Amazônica. Brasil.....	12
Figura 5 - Mapa do Brasil destacando as áreas de risco para malária pelos diferentes níveis de incidência parasitária anual.....	13
Figura 6 - Incidência Parasitária Anual (IPA) por Unidade Federada na Região Amazônica. Brasil, 2010 e 2011.....	14
Figura 7 - Ciclo biológico do plasmodium sp.....	18
Figura 8 - Resposta Imune na Malária.....	19
Figura 9 - Desenho esquemático da ação do TNF na malária pulmonar por <i>P. vivax</i>	32
Figura 10 - Distribuição dos casos de portadores de malária vivax por local de infecção atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013, com destaque para região metropolitana de Belém.....	56
Figura 11 - Distribuição de primo e reinfectados com malária por <i>P. vivax</i> atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	58
Figura 12 - Distribuição por número de malárias anteriores em portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	58
Figura 13 - Distribuição do tempo de doença em portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no Instituto Evandro Chagas/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	59
Figura 14 - Associação entre tempo de doença e primo/reinfecção malárica nos pacientes atendidos no Instituto Evandro Chagas/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	63
Figura 15 - Tabagismo nos portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	64
Figura 16- Presença ou ausência de pneumopatias prévias em portadores de malária por <i>P. vivax</i> atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.....	65

LISTA DE FOTOS

Foto 1 - Padrões de bandas CS-PCR-RFLP.....	48
Foto 2 - Ensaio Imunoenzimático de captura (ELISA). Imagem mostrando concentração sérica da citocina IL-10 no D0 (dia do diagnóstico da malária vivax) através do espectro de densidade ótica (DO450).....	49
Foto 3 - Telerradiografia de tórax em PA mostrando condensação intersticial em hemitorax direito, no D0 (caso 1).....	95
Foto 4 - Telerradiografia de tórax normal (D14).....	95
Foto 5 - Derrame pleural bilateral.....	96
Foto 6 - D14 - RX de torax normal.....	96
Foto 7 - Telerradiografia de tórax em PA mostrando opacidade laminar em base pulmonar esquerda, no D0 (caso 3).....	98
Foto 8 - Telerradiografia de tórax em PA normal, no D14 (caso 3).....	98
Foto 9 - Infiltrado em bases pulmonares.....	100
Foto 10 - Estrias atelectásicas. Espessamento de paredes brônquicas. Apagamento dos seios costo e cardiofrênicos.....	100
Foto 11 - Tomografia de Torax (caso 4).....	101
Foto 12 - Tomografia de tórax de controle mostrando desaparecimento das lesões....	101
Foto 13 – D0- Rx de torax normal.....	102
Foto 14 – D4 – Derrame pleural a direita.....	102
Foto 15 – RX de torax em D2 (caso 6).....	104
Foto 16 - RX de torax em D14 (caso 6).....	104
Foto 17 - RX de torax em D0 (caso 7).....	104
Foto 18 - RX de torax em D5 (caso 7).....	105

LISTA DE ABREVIATURAS, UNIDADES E SÍMBOLOS

%	Percentual
µg	Micrograma
µL	Microlitro
ALT	Alanino aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CEM	Campanha de erradicação da malária
CEP	Comissão de ética em Pesquisa
CHCM	concentração da hemoglobina corpuscular média
CK- Mb	Creatinofosfoquinase fração Mb
CPK	Creatinofosfoquinase
CS	Proteína circunsporozoíta
D0	Data do diagnóstico e primeiro dia de tratamento
D1	Segundo dia de tratamento
D14	Decimo quinto dia de tratamento e primeiro controle de cura Protocolo
D2	Terceiro dia de tratamento
D3	Quarto dia de tratamento
D30	Primeiro controle de cura ministério da saúde ou 31º dia do início do tratamento
D4	Quinto dia de tratamento
D5	Sexto dia de tratamento
D6	Sétimo dia de tratamento
D7	Oitavo dia de tratamento e primeiro controle de cura
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FEF 25-75	<i>Forced Midexpiratory flow rate</i> (média de fluxo expiratório forçado (em L/s) durante a metade de FVC)
FEF 75-85	<i>Forced Midexpiratory flow rate</i> (média de fluxo expiratório forçado (em L/s) entre 75- 85% de FVC)
FEV1	<i>Forced Expiratory volume in 1 second</i> (volume expiratório forçado no primeiro segundo)
FEV1/FVC	Razão entre o volume expiratório forçado e capacidade vital forçada;
FVC	<i>Forced Vital Capacity</i> (capacidade vital forçada)
g%.	gramas por cento
g/dL	gramas por decilitro
GMAP	The global malária action plan
HbF	Hemoglobina fetal
HCM	hemoglobina corpuscular média
HIV	Vírus da imunodeficiência Humana
HUJBB	Hospital Universitário João de Barros Barreto
IEC	Instituto Evandro Chagas
IFN-γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina um
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12

IL-12	Interleucina 12
Il-18	Interleucina 18
IL-18	Interleucina 18
IL-1 β	Interleucina um beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IMC	Índice de Massa corporal
IPA	Incidência Parasitária Anual
irm	incursões respiratórias por minuto
LECEM	Láboratorio de ensaios clínicos em malária
Linfócitos NK	Linfócito Natural Killer
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm ³	Milímetro cúbico
MS	Ministério da Saúde
MSP1	Proteína de Superfície do merozoíto do <i>Plasmodium sp.</i> '
MVV	<i>Maximun voluntary ventilation</i> (ventilação voluntária máxima)
NaCl	Cloreto de sódio
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
pb	pares de base
PBS	Tampão fosfato salino
PBS-SBF	Soro Bovino Fetal
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PEF	<i>Peak Expiratory Flow</i> (pico de fluxo expiratório)
PEGM	Programa de Erradicação Global da malária
PIF	<i>Peak Inspiratory Flow</i> (fluxo inspiratório máximo)
Pv-like	Variante de <i>Plasmodium vivax</i> PVlike
RBM	Roll Bach Malaria
RDW	<i>Red width distribution</i> (variação no volume dos eritrócitos)
RFLP	<i>Restriction Fragment Lenght Polymorphism</i>
RIP	Proteína Integrante do Receptor
RX	Raio-X
SDS	Sódio duodecilsulfato
SUCAM	Superintendência de Campanhas de saúde
SVC	<i>Slow Vital Capacity</i> (capacidade vital lenta)
SVS	Secretaria de Vigilancia em Saúde
T CD4+	Linfócitos T CD4
T CD8	Linfocitos T CD8
TC	Tomografia Computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β	Fator de crescimento tumoral beta
TH1	Linfócitos T Helper 1

TMB	tetrametilbenzidina
TNF- α	Fator de Necrose tumoral alfa
Tween 20	Ésteres de sorbitan etoxilados (solução tampão)
UFPA	Universidade Federal do Para
USG	Ultrassonografia
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VCM	volume corpuscular médio
VK210	Variante de <i>Plasmodium vivax</i> VK210
VK247	Variante de <i>Plasmodium vivax</i> VK247
WHO	World Health Organization

Sumário

	LISTA DE TABELA.....	viii
	LISTA DE FIGURAS.....	xii
	LISTA DE FOTOS.....	xiv
	LISTA DE ABREVIATURAS, UNIDADES E SÍMBOLOS.....	xv
	RESUMO.....	xxiii
	ABSTRACT.....	xxiv
I.	INTRODUÇÃO.....	01
II.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
	2.1 - MALÁRIA: ASPECTOS HISTÓRICOS.....	03
	2.2 - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	07
	2.2.1 - Distribuição da malária no mundo.....	07
	2.2.2 - Distribuição da malária no Brasil.....	09
	2.2.3 - Risco à malária no Brasil.....	12
	2.3 - OS PLASMÓDIOS HUMANOS - CICLO BIOLÓGICO.....	15
	2.3.1 - Ciclo de vida dos plasmódios humanos no hospedeiro vertebrado.....	16
	2.3.2 - Ciclo de vida dos plasmódios humanos no hospedeiro invertebrado.....	17
	2.4 - RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA MALÁRIA.....	18
	2.4.1 - Imunidade inata.....	18
	2.4.2 - Imunidade específica.....	21
	2.4.3 - O Fator de Necrose Tumoral (TNF) e malária.....	23
	2.4.4 - Interleucina 10 (IL-10) e malária.....	24
	2.4.5 - Interferon gama (IFN γ) e malária.....	25
	2.5 - VARIANTES DO PLASMODIUM VIVAX.....	26
	2.6 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA MALÁRIA.....	28
	2.7 - ACOMETIMENTO PULMONAR NA MALÁRIA VIVAX.....	29
	2.8 - OUTROS FATORES ASSOCIADOS.....	33
	2.8.1 - Primoinfecção malárica:	33
	2.8.2 - Tosse e doenças pulmonares prévias na malária vivax	33
	2.8.3 - Obesidade/sobrepeso na malária vivax:	34
III.	OBJETIVOS.....	35
	3.1 - OBJETIVO GERAL:	35
	3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	35
IV.	MATERIAL E MÉTODOS	36
	4.1 - TIPO E DELINEAMENTO DO ESTUDO	36
	4.2 - LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA	36

4.3 – INCLUSÃO E ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES	36
4.4 - LOCAIS DE REALIZAÇÃO DE EXAMES COMPLEMENTARES.....	38
4.5 - POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	38
4.5.1 - Critérios de inclusão	39
4.5.2 - Critérios de exclusão	39
4.6 - TAMANHO DA AMOSTRA	39
4.7 - DEFINIÇÃO DOS CASOS DO ESTUDO	39
4.8 - PROCEDIMENTOS PARA DIAGNÓSTICO E SEGUIMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL	40
4.8.1 - Avaliação clínica	40
4.8.2 - Avaliação laboratorial	41
4.9 - EXAME DE IMAGEM: RADIOGRAFIA DE TÓRAX	44
4.10 - PROVA DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA	44
4.11 - MÉTODOS MOLECULARES	46
4.11.1 - Extração do DNA	46
4.11.2 - Determinação do genótipo do parasito (genotipagem)	47
4.12 - DOSAGEM SÉRICA DAS CITOCINAS	49
4.13 - TRATAMENTO DOS PACIENTES	51
4.14 - ASPECTOS ÉTICOS	52
4.15 - ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
V. RESULTADOS	55
5.1 - CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	55
5.2 - ASPECTOS DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS	55
5.2.1 - Idade, sexo, procedência, local de infecção e atividade ocupacional.....	55
5.2.2 - Índice de massa corpórea (IMC)	57
5.2.3 - História anterior de malária	59
5.2.4 - Tempo de doença	59
5.2.5 – Parasitemia	60
5.2.6 - Associação entre parasitemia e histórico de malária.....	61
5.2.7 - Associação entre parasitemia e tempo médio de doença.....	61
5.2.8 - Associação entre desaparecimento da parasitemia e histórico de malária	62
5.2.9 - Associação entre tempo de desaparecimento da parasitemia e parasitemia em primo e reinfeção	63
5.2.10 - Associação entre tempo de doença e histórico de malária.....	63

5.2.11 – <i>Tabagismo</i>	64
5.2.12 - <i>Pneumopatias prévias</i>	65
5.3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	66
5.3.1 - <i>Sinais e sintomas Gerais</i>	66
5.3.2 - <i>Sinais e sintomas respiratórios</i>	67
5.3.3 - <i>Hepatomegalia e esplenomegalia</i>	68
5.3.4 - <i>Associação entre hepatomegalia e esplenomegalia com histórico de malária</i>	69
5.4 - EXAMES COMPLEMENTARES	70
5.4.1 - <i>Exames laboratoriais</i>	70
5.4.2 - <i>Exame de Imagem (radiografia de tórax)</i>	72
5.4.2.1 - <i>Frequência das alterações pulmonares na radiografia de tórax (RX)</i>	72
5.4.2.2 - <i>Associação entre alterações pulmonares (RX de tórax) e tabagismo</i>	73
5.4.2.3 - <i>Associação entre alterações radiológicas e pneumopatias prévias</i>	73
5.4.2.4 - <i>Associação entre alteração pulmonares (RX de tórax) e histórico de malária</i>	74
5.4.3 - <i>Prova de função respiratória (Espirometria)</i>	75
5.4.3.1 - <i>Frequência das alterações na espirometria em D0 e D14</i>	75
5.4.3.2 - <i>Média e desvio padrão das medidas de função pulmonar na espirometria em D0 e D14</i>	75
5.4.3.3 - <i>Associação entre os sintomas respiratórios e a prova de função respiratória (espirometria)</i>	76
5.4.4 - <i>Alterações pulmonares (RX de tórax e/ou espirometria)</i>	77
5.4.4.1 - <i>Frequência das alterações pulmonares no RX de tórax e/ou espirometria</i>	77
5.4.4.2 - <i>Frequência de sinais e sintomas respiratórios dentre os pacientes que apresentaram alterações pulmonares (RX e/ou espirometria)</i>	77
5.4.4.3 - <i>Associação de alterações pulmonares (RX e/ou espirometria) com histórico de malária</i>	78
5.4.4.4 - <i>Associação entre alterações pulmonares (RX e/ou espirometria) e Tempo de doença</i>	79
5.4.4.5 - <i>Associação entre alterações pulmonares (RX e/ou espirometria) com parasitemia</i>	79
5.5 – CITOCINAS	81

5.5.1 - Média e desvio padrão dos níveis séricos das citocinas (TNF, IFN γ , IL-10) em D0 e D14.....	81
5.5.2 - Correlação entre os níveis séricos de citocinas e o tempo de doença	81
5.5.3 - Correlação entre os níveis séricos de citocinas e histórico de malária	82
5.5.4 - Correlação das citocinas (TNF- α , IL-10, IFN- γ) em D0 e D14 com diferentes variáveis	83
5.5.5 - Associação das Citocinas (TNF- α , IL-10, IFN- γ) com a Espirometria	84
5.5.6 - Associação entre os níveis séricos de citocinas e alterações pulmonares (RX e/ou espirometria)	84
5.6 - VARIANTES	85
5.6.1 - Frequência das variantes de <i>Plasmodium vivax</i> (VK210 / VK 247 / <i>Pvivax-like</i>) no grupo de estudo	85
5.6.2 - Associação das variantes de <i>Plasmodium vivax</i> com histórico de malária (primo e reinfeção)	85
5.6.3 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> com desaparecimento da parasitemia	86
5.6.4 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> com tosse.....	87
5.6.5 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> com sensação de falta de ar	87
5.6.6 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> e febre.....	88
5.6.7 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> e calafrio.....	89
5.6.8 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> e cefaleia.....	90
5.6.9 - Associação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> e alterações pulmonares (RX/espirometria)	90
5.6.10 - Correlação entre variantes do <i>Plasmodium vivax</i> e Plaquetopenia	91
5.6.11 - Associação entre os níveis séricos da citocina TNF em D0 e D14 com as variantes do <i>Plasmodium vivax</i>	92
5.6.12 - Correlação entre os níveis séricos da citocina INFgama em D0 e D14 com as variantes do <i>Plasmodium vivax</i>	93
5.6.13 - Correlação entre os níveis séricos da citocina IL-10 em D0 e D14 com as variantes do <i>Plasmodium vivax</i>	93

VI.	RELATO DE CASOS	95
VII.	DISCUSSÃO	107
	7.1 - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	107
	7.2 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	111
	7.2.1 - Sinais e sintomas Gerais.....	111
	7.2.2 - Sinais e sintomas respiratórios	112
	7.2.3 - Hepatomegalia e esplenomegalia	113
	7.3 - EXAMES COMPLEMENTARES	114
	7.3.1 - Exames laboratoriais	114
	7.3.2 - Exame de imagem (radiografia de tórax)	116
	7.3.3 - Provas de Função pulmonar (espirometria)	119
	7.4 – CITOCINAS	121
	7.5 - VARIANTES DO <i>PLASMODIUM VIVAX</i>	122
VIII.	CONCLUSÕES	126
	REFERÊNCIAS	130
	APÊNDICE	
	ANEXO	

RESUMO

A malária é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Plasmodium* e transmitida ao homem pela picada de mosquitos do gênero *Anopheles*. Em 2011 a Amazônia brasileira registrou 266.348 casos. No Brasil, a espécie mais prevalente é o *P. vivax* (80%), antes considerado responsável pelas formas benignas da malária. Relatos demonstram formas graves com manifestação pulmonar e óbitos. Os mecanismos fisiopatológicos não são bem compreendidos. Assim, analisou-se 247 pacientes portadores de malária *vivax*, recrutados do Programa de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas (IEC) Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013, objetivando avaliar parâmetros clínicos, epidemiológicos, parasitológicos, radiológicos, imunes e genéticos (variantes de *P. vivax*), associando-os ao comprometimento pulmonar na malária *vivax*. O Projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas. Foram analisados parâmetros hematológicos (hemograma, transaminases, bilirrubinas) e densidade parasitária, assim como foram dosados os níveis séricos das citocinas (TNF- α , IL-10 e INF γ) em D0 e D14, relacionando com as manifestações pulmonares. Em D0 foi determinada a prevalência das variantes do *P. vivax* (VK210 e VK247 e *P. vivax-like*) e estabelecido associação com os pacientes que apresentaram alterações na radiografia (RX) de tórax e/ou na espirometria. O estudo foi do tipo longitudinal, prospectivo e analítico envolvendo aspectos clínicos, imunológicos, hematológicos, radiológicos e de função respiratória. Pacientes com alterações pulmonares confirmadas por achados clínicos e/ou radiológicos e/ou funcionais constituíram o grupo de estudo, e os pacientes que não apresentaram tais achados, o grupo controle. Participaram: portadores de malária *vivax* diagnosticados pela gota espessa e confirmados por PCR, de 15 a 60 anos, de ambos os gêneros, sem doenças crônicas, sem uso de corticosteróides no momento do diagnóstico e que assinaram o TCLE. Nos resultados observou-se: 69,2% eram do sexo masculino; média de idade 35anos; 64,4% residiam em Belém; 79,8% contraiu malária no interior do estado do Pará; 42,5% eram primoinfectados; tempo médio de doença foi de 7,5 dias; média de parasitemia foi de 6.979 parasitos/mm³; 46,8% tinham sobrepeso ou obesidade I. Tabagismo e pneumopatias prévias não foram fatores de risco para o agravamento da doença nessa amostra. Da tríade malárica 92,3% apresentaram cefaléia; e a tosse foi o sintoma respiratório mais frequente (53,4%). Hepato e esplenomegalia foram mais frequentes entre os primoinfectados; e plaquetopenia foi significativa em D0. Alterações radiológicas foram encontradas em 9,7% dos casos e estavam relacionadas à malária. Falta de ar e tosse, tiveram significância estatística nos pacientes com alteração no RX e/ou espirometria. A Interleucina-10 (IL-10) e Interferon gama (INF γ) foram significativamente mais elevados em D0 em relação a D14, ao contrário e de forma curiosa o Fator de Necrose Tumoral (TNF) apresentou níveis séricos baixos em D0. A variante do *P. vivax* mais frequente foi VK210 (69,1%); não houve correlação significativa no aparecimento de alterações no RX e/ou espirometria relacionada a alguma das subespécies do plasmódio no estudo. Das citocinas, INF γ esteve significativamente elevado em D0 relacionado às variantes nas seguintes situações: (VK210; VK247; VK210/247). A IL-10 aumentou significativamente em D0 somente quando a subespécie foi VK210. Malária pulmonar é uma realidade ainda subestimada, principalmente as manifestações pulmonares menos exuberantes, sendo necessário investigar potenciais mecanismos envolvidos ligados ao hospedeiro e ao parasito, enfatizando a importância do diagnóstico precoce e assim evitando desfechos desfavoráveis.

Palavras-chave: Malária – *Plasmodium vivax* – Citocinas – Variantes do *Plasmodium vivax* - Manifestações pulmonares.

ABSTRACT

Malaria is a disease caused by protozoan parasites of the genus *Plasmodium* and transmitted to humans by mosquitoes of the genus *Anopheles*. In 2011, the Brazilian Amazon reported 266.348 cases. In Brazil, the most prevalent species is *Plasmodium vivax* (80%). It's considered responsible for benign forms of malaria, reports have shown severe forms of pulmonary malaria and deaths. The pathophysiological mechanisms are not well understood. Thus, we analyzed 247 patients with *vivax* malaria recruited from the Clinical Trials Program in Malaria Institute Evandro Chagas (IEC) Belém / PA) and malaria diagnosis service of the Secretariat of Health of the city of Goianésia / Pará between April / 2011 to October / 2013 to evaluate clinical, epidemiological, parasitological, radiological, genetic and immune (variants of *P. vivax*) parameters, associating them to the pulmonary involvement in *vivax* malaria. The project was approved by the Research Ethics Committee of the Instituto Evandro Chagas. Hematological parameters (blood count, transaminases, bilirubin), parasite density were analyzed as were measured at D0 and D14 serum levels of cytokines (TNF- α , IL-10 and INF γ), relating to the pulmonary manifestations. D0 was determined prevalence of *P. vivax* variants (VK210 and VK247 and *P. vivax*-like) and established association of these variants with patients who had an abnormal chest X-ray and / or spirometry. The study was longitudinal, prospective analytical type involving clinical, immunological, hematological, and radiological aspects of respiratory function. Patients with pulmonary involvement confirmed by clinical and / or radiological and / or functional findings constituted the study group, and patients without such findings, the control group. Participants: those with *vivax* malaria diagnosed by thick blood, confirmed by PCR, 15-60 years old, both genders, with no chronic diseases, no use of corticosteroids at diagnosis and who signed the consent form. Project approved by the CEP of the IEC. Observed: 69.2% were males; mean age 35 years old; 64.4% lived in Belém; 79.8% contracted malaria in the state of Pará; First infection 42.5%; mean duration of disease 7.5 ± 5.9 days; average of 6979.25 ± 8692.22 parasitaemia parasites / mm³; 46.8% were overweight or obese I; smoking and previous lung disease were not risk factors for worsening of the disease in this sample; 92.3% had headache from malaria triad; among respiratory symptoms, cough was the most frequent (53.4%); hepatomegaly and splenomegaly was more frequent among naïve malaria; Thrombocytopenia was significant in D0; radiological abnormalities in 9.7% of cases; changes in X-ray were related to malaria shortness of breath and cough had statistical significance in those with changes in the X-ray and / or spirometry; IL-10 INF γ and cytokines were significantly higher compared D0 to D14, unlike that serum TNF levels were low in D0. VK210 *P. vivax* variant was more frequent (69.1%); there was no significant correlation in the appearance of changes in RX in this sample and / or spirometry related to any of the *P. vivax* subspecies. Among the cytokines, INF γ was significantly elevated in D0 associated to variants in the following situations: (VK210, VK247, VK210 / 247). IL-10 also significantly increased in D0 only when the subspecies was VK210. Lung malaria is a reality still underestimated, especially less prominent pulmonary manifestations, being necessary to investigate potential mechanisms involved linked to the host and the parasite, emphasizing the importance of early diagnosis, avoiding unfavorable outcome.

Keywords: Malaria - *Plasmodium vivax* - Cytokines - Variants of *Plasmodium* - Pulmonary manifestations.

I- INTRODUÇÃO

A malária ainda hoje é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, afetando milhões de pessoas nas áreas tropicais e subtropicais do planeta, resultando em milhares de óbitos a cada ano, na grande maioria crianças menores de cinco anos e mulheres grávidas (WHO, 2008).

Pela sua elevada incidência e potencial de gravidade, a malária reveste-se de grande importância epidemiológica, levando a consideráveis perdas sociais e econômicas nas populações sob risco, principalmente aquelas que vivem em precárias condições de habitação e saneamento.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, atualmente as maiores taxas de incidência de malária observadas no mundo ocorrem principalmente em áreas situadas ao sul do deserto de Saara, nos países do sudeste asiático e nos da América Latina (WHO, 2009).

Na América Latina o maior registro se verifica na Amazônia Brasileira.

No Brasil a maior ocorrência de malária é registrada na Amazônia Legal, com 99,7% dos casos. A maioria (cerca de 80%) é determinada pelo *Plasmodium vivax* (BRASIL, 2011).

Apesar de o *Plasmodium falciparum* ser a espécie considerada com maior potencial patogênico, e o *Plasmodium vivax* ao longo do tempo ter sido considerado responsável por infecções benignas, atualmente o *Plasmodium vivax* vem sendo reconhecido como uma das causas de malária severa e fatal, demonstrado o comprometimento pulmonar como uma das formas graves de apresentação da malária *vivax* (ISLAN e QAMUDDIN, 1995; DA SILVA et al., 2003; PRICE et al., 2007), indicando inclusive alguns relatos que a severidade da malária *vivax* tem sido subestimada.

O diagnóstico da malária pulmonar nem sempre é reconhecido de imediato, e seus sintomas podem variar desde desconforto respiratório leve, até edema agudo de pulmão e morte (ISLAN e QAMUDDIN, 1995; DA SILVA et al., 2003; PRICE et al., 2007).

Por ser uma doença multifatorial, pela frequência e importância desse tipo de infecção, assim como pela forma grave como a malária *vivax* vem se apresentando, sobretudo a malária pulmonar, alguns estudos têm sido propostos para investigar potenciais mecanismos envolvidos, como aqueles ligados ao hospedeiro, ao parasito, à comoridades, que, acredita-se, devem contribuir de forma isolada ou conjuntamente, para o risco da doença severa e a mortalidade. Embora diversos fatores tenham sido implicados nos

mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelos eventos do pulmão na malária *vivax*, estes ainda não são bem compreendidos.

Nesse contexto, o presente estudo avalia 247 pacientes infectados por *P. vivax* procedentes de áreas endêmicas da Amazônia, observando-se os aspectos clínicos (com ênfase nas manifestações pulmonares), aspectos epidemiológicos, radiológicos e funcionais correlacionando-os com fatores imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax*, com a finalidade de demonstrar que o envolvimento pulmonar pode estar presente na malária *vivax* e que isso deve ser valorizado na clínica médica diária, considerando como um evento inerente à relação parasito-hospedeiro.

II – REFERENCIAL TEÓRICO

2.1- MALÁRIA: ASPECTOS HISTÓRICOS

A malária existe desde a mais remota antiguidade, acometendo o homem quando este passou a dividir os espaços onde antes existiam apenas os animais, passando a ser um hospedeiro ocasional, alvo preferido dos mosquitos transmissores da doença. Há 10.000 anos, o início da atividade agrícola contribuiu sobremaneira para o estreitamento da fronteira entre o homem e a malária (FAUSTINO, 2006; RICH, et al., 2009).

Foram muitas as tentativas de se estabelecer a origem da doença no mundo, admitindo-se, entretanto, que a malária tenha se originado na África tropical onde o parasito se adaptou bem aos hospedeiros. Os estudos arqueológicos demonstram a presença da doença nos relatos e inscrições em templos egípcios, sendo Hipócrates na era Pré-Cristã, o primeiro a descrever suas características de ocorrência sazonal, de febre com padrão paroxístico e intermitente, e esplenomegalia. (BRASIL, 2005a).

Foi somente no início do século XIX que surgiu o termo malária, quando escritores italianos defendiam a tese de que a doença era causada por vapores nocivos exalados dos pântanos tiberianos, designando-a “mal aria”, cujo sentido literal é “mau ar” (BRAGA e FONTES, 2005).

Apesar do longo período de convivência do homem com a malária foi somente a partir de 1880 que o avanço da ciência tornou possível o entendimento da natureza da doença, quando o médico do exército francês Charles Laveran identificou o agente etiológico em sangue de pacientes, observando corpos claros nos eritrócitos e a formação de gametas machos e fêmeas. A transmissão da malária por mosquitos só foi comprovada em 1898, por Ronaldo Ross, estudando a malária em aves (BRAGA e FONTES, 2005).

Os pesquisadores italianos Grassi, Bastianelli e Bignami, em 1898 e 1899, descobriram o ciclo completo das três espécies de plasmódio humano em anofelinos. Acredita-se que o auge da distribuição da malária pelo planeta ocorreu provavelmente em 1900. Foi nessa virada de século que o ciclo da doença ficou conhecido. A descoberta do agente etiológico, bem como o conhecimento dos mosquitos anofelinos como vetores da doença deram início à era moderna da malariologia (BRAGA e FONTES, 2005).

De acordo com os relatos de documentos coloniais, há evidências de que a entrada da malária nas Américas ocorreu a partir do contato com o conquistador europeu, na América do Norte, Central e do Sul, da mesma forma que ocorreu em outras doenças infecciosas como o sarampo, a rubéola e a varicela (KIPLE, 1993).

O avanço da malária no novo continente teve como dois dos principais limitadores a latitude e a longitude, as quais regulavam a proliferação dos vetores. Ao passo que, em outras regiões, com condições geográficas mais favoráveis, a doença tornava-se endêmica. Por volta do século XVIII e XIX a malária atingia da Califórnia ao Mississipi (América do Norte) e deste ao extremo sul da América do Sul (KIPLÉ, 1993). No Brasil, a malária alcançou seu auge no início do século XX, quando todo o território nacional se encontrava acometido pela doença (CAMARGO, 2003).

Historicamente, grandes surtos epidêmicos de malária foram registrados na área endêmica brasileira. A primeira grande epidemia, no final do século XIX, ocorreu em função da migração maciça de nordestinos para a Amazônia atraídos pelo sonho de riqueza durante o “Império” da borracha. Naquela época, o Brasil comprometeu-se em construir a estrada de Ferro Madeira-Mamoré (mais tarde conhecida como “Ferrovia do Diabo”) com a finalidade de dar vazão à grandiosa produção de látex. No período da construção dessa ferrovia, explodiu a segunda grande epidemia brasileira de malária, durante a qual milhares de pessoas contraíram a infecção chegando ao óbito (CAMARGO, 2003).

No ciclo da borracha, o Brasil passou a suprir a necessidade da emergente indústria automobilística, especialmente a norte-americana. Assim, para atender a demanda, um grande contingente de trabalhadores nordestinos foi deslocado para a Região Amazônica, principalmente os estados do Pará e Amazonas, em busca do Eldorado. A Amazônia passou a apresentar grande crescimento econômico devido a exploração da seringueira. Cidades como Belém e Manaus ganharam grande desenvolvimento com a construção de estradas, prédios, teatros e escolas. Na época, essas cidades possuíam mais infraestrutura que outras do sul do país: Belém ficou conhecida como Paris n’América, possuía bondes elétricos, avenidas pavimentadas sobre pântanos, sistema de água encanada e esgoto, e luz elétrica (DEAN, 1989).

Na década de 30, ocorreu outro grande surto, quando o *Anopheles gambiae*, principal vetor da malária humana no continente africano, foi introduzido no Brasil, mais precisamente no estado do Rio Grande do Norte. Dois anos após sua introdução, o número de casos de malária aumentou 12 vezes naquele estado, chegando a 10 mil casos em uma população em torno de 12 mil habitantes. No final da década de 30, o mosquito havia invadido também outras regiões nordestinas. Devido a uma intensiva ação de controle proporcionada pelos serviços de saúde, principalmente com a eliminação de criadouros com aplicações de larvicidas, o *Anopheles gambiae* foi erradicado do Brasil na década de 40. Cabe ressaltar, contudo, que alguns fatores contribuíram para que esse sucesso fosse alcançado, como o fato

de se tratar de uma espécie importada ainda não adaptada e, portanto, vulnerável às ações de controle estabelecidas (CAMARGO, 2003).

A partir de 1970, pela aceleração do processo migratório, a prevalência de malária na Amazônia Legal voltou a aumentar, ultrapassando os 50.000 casos registrados naquele ano e atingindo mais de 630.000 em 1999. Dentre as várias razões que contribuíram para essa tragédia social podem ser destacados os incentivos às atividades econômicas locais, que incluem a agricultura, os desmatamentos, a construção de estradas, a extração de madeira e a mineração às margens da floresta. Esse aumento na prevalência da doença também pode ser atribuído à seleção de cepas de parasitos, principalmente de *P. falciparum*, resistentes a drogas antimaláricas (LOIOLA, SILVA, TAUIL, 2002).

Após a Segunda Guerra Mundial, com o surgimento de inseticidas de ação residual (DDT), e com base nos conhecimentos adquiridos sobre o comportamento dos mosquitos vetores, os quais apresentavam atividade no interior dos domicílios repousando sobre as paredes após o repasto sanguíneo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou, em 1957, as bases para a Campanha de Erradicação da Malária (CEM). Essa campanha teve como pilares além do uso de inseticidas de ação residual, o tratamento dos indivíduos acometidos e a melhoria das condições sanitárias. Como consequência, em meados dos anos 70, observou-se um acentuado declínio no número de casos em muitos países da Europa e em outros países como o Brasil, onde a malária tornou-se restrita à Amazônia Legal (CAMARGO, 2003).

Dentre as várias razões que podem explicar a distribuição geográfica da doença no Brasil, destacam-se as características climático-ambientais, o deslocamento populacional desordenado com consequentes condições precárias de vida dificultando as medidas tradicionais de controle como o uso de inseticida de ação residual e de proteção individual contra o mosquito vetor, o diagnóstico tardio e o tratamento incompleto dos doentes (OPAS, 1996; TAUIL e LIMA, 1992; DE SOUZA et al., 1997; BRASIL, 2005b).

O esforço mundial para erradicar a malária, embora sendo eliminada com sucesso em muitos países, particularmente aqueles de clima temperado (WHO, 2000), apresentou efeito limitado em extensas regiões da África, Ásia e América do Sul, incluindo a Amazônia brasileira. A emergência da resistência de parasitos aos antimaláricos e as limitações ao uso de inseticidas, associados ao panorama político-econômico mundial, desencadearam um agravamento da situação epidemiológica da malária nas três últimas décadas (FERREIRA, 2002; BRAGA e FONTES, 2005).

Dentre as estratégias para a erradicação da malária, em 1955 a OMS lançou o Programa de Erradicação Global da Malária (PEGM), o qual se baseava principalmente no tratamento à

base de cloroquina e na utilização do DDT intradomiciliar com ação residual sobre os anofelinos, atuando dessa forma na prevenção dos casos novos (WHO, 1956). Apesar do sucesso do programa em áreas de baixa transmissão, bem como na redução da incidência em muitas regiões, o PEGM até hoje sofre duras críticas por não ter atingido certas regiões da África, onde a malária apresenta-se de forma epidêmica (GREENWOOD, et al, 2008).

O equívoco adotado pela OMS dentro do PEGM foi o de utilizar a mesma metodologia para todas as áreas malarígenas. Não foram levadas em consideração peculiaridades econômicas, geográficas, políticas e comportamentais. Acreditava-se que a técnica e o conhecimento científico garantiriam o sucesso do programa (SILVA, 2008).

Em 1969 a estratégia de erradicação da malária foi abandonada pela OMS e a incidência da doença retornou em níveis alarmantes em certas regiões, como na Tailândia, no Sri Lanka e em Madagascar (CHAREONVIRIYAPHAP et al., 2000; ROBERTS et al., 2000).

Dentre as causas atribuídas ao fim do PEGM estão a resistência desenvolvida pelo plasmódio à cloroquina e do anofelino ao DDT (BRITO, 2001).

A adesão do Brasil à PEGM da OMS só foi efetivada em 1965, mudando-se o enfoque de controle para erradicação, criando-se a Campanha de Erradicação da Malária (CEM) através da Lei 4.709, de 06/09/1965. A CEM tinha autonomia administrativa e financeira, quadro de pessoal e orçamento próprios. Era organizada dentro dos princípios rígidos da disciplina e hierarquia e tinha capacidade técnica e operacional suficientes para executar verticalmente suas ações de cobertura integral das medidas de controle em todas as áreas maláricas do país (LOIOLA e SILVA e TAUIL, 2002).

Contudo, em 1970 a CEM foi extinta para a criação da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), que embora tenha obtido grande avanço na interrupção da transmissão no nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do país, não conseguiu atingir a erradicação da malária no território brasileiro (SILVA, 2008).

Mesmo com o PEGM, a malária se manteve em níveis elevados nas áreas endêmicas remanescentes do globo terrestre. Assim, a OMS abandonou essa política de erradicação da doença em prol de seu controle, mediante combate ao vetor, diagnóstico precoce e tratamento imediato e adequado aos pacientes. Em 2008, com o intuito de promover uma parceria entre todos os países endêmicos e eliminar a malária do planeta, a longo prazo, foi criado o Plano de Ação Global contra a Malária (GMAP do inglês, *The Global Malaria Action Plan*) promovido pelo Roll Back Malaria (RBM) - é uma organização formada por mais de 500 países, endêmicos e não endêmicos, organizações não governamentais, fundações e instituições de pesquisa acadêmicas (RBM, 2008).

O objetivo do GMAP é a redução de 50% dos casos e dos óbitos evitáveis por malária, a curto e médio prazo (2010) e de 75% para próximo de zero as mortes (2015), tendo como referência os níveis de malária do ano 2000 (RBM, 2008).

O diferencial do enfoque utilizado pelo GMAP é a compreensão de que as regiões globais endêmicas de malária são diferentes entre si, sendo necessário que os programas de intervenção a serem implementados nas diversas áreas, sejam uma decisão de cada país, considerando as áreas de alta e baixa transmissão da doença e a espécie prevalente de plasmódio, *P. falciparum*, *P. vivax* ou infecção mista (RBM, 2008; WHO, 2009).

2.2- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

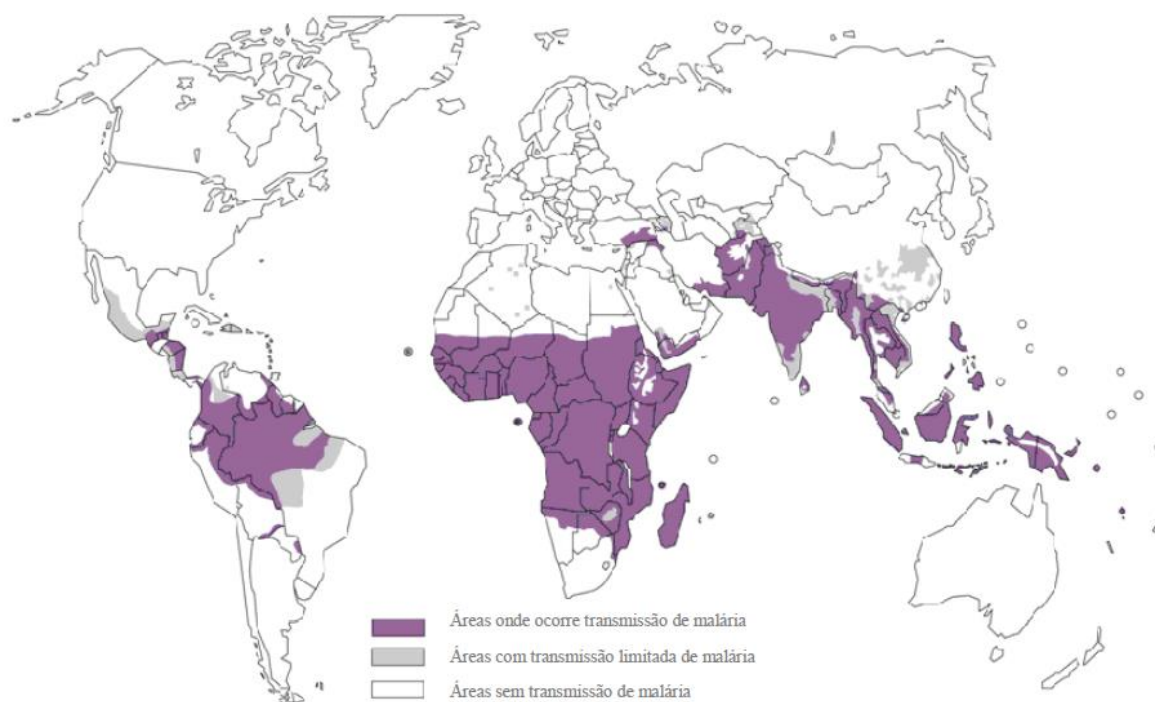
2.2.1- Distribuição da malária no mundo

Das doenças parasitárias, a malária é considerada a mais importante (WHO, 2009), devido suas elevadas taxas de mortalidade e morbidade e consideráveis perdas sociais e econômicas nas populações sob risco, principalmente aquelas que vivem em precárias condições de habitação e saneamento (SACHES e MALANEY, 2002; WHO, 2008; 2009; CARLTON et al, 2011).

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde, atualmente as maiores taxas de incidência de malária observadas no mundo, ocorrem principalmente nos países tropicais e subtropicais, ao longo de uma larga faixa ao redor do equador, situados ao sul do deserto de Saara, nos países do sudeste asiático e nos da América Latina.

A Organização Mundial de Saúde informa que em 2011, 3,3 bilhões de pessoas no mundo estavam sob risco de contrair malária (WHO, 2012).

O continente africano é responsável por aproximadamente 90% dos casos de malária, onde a espécie predominante é o *P. falciparum* e os 10% restantes são distribuídos entre o sudeste asiático, América Latina e Oceania. No continente americano a malária se distribui particularmente na região da Amazônia Legal. Em todas essas áreas, a transmissão da doença não ocorre de forma homogênea, havendo regiões com menor ou maior risco de infecção, conforme distribuição geográfica descrita na Figura 1 (WHO, 2009).



Fonte: WHO (2009).

Figura 1- Distribuição global da malária segundo o risco de transmissão.

Os esforços no combate ao vetor, a procura de medicamentos eficazes no tratamento da malária e a mudança na estratégia de controle priorizando o diagnóstico precoce e o tratamento imediato dos indivíduos com malária, determinaram a redução geográfica da doença em todo o globo, entre 1946 e 2008, como mostram os mapas da Figura 2 (WHO, 2009).

Em 2008, as estimativas da OMS no mundo foram respectivamente de 243 milhões de casos de malária e de 863.000 óbitos, dos quais 767.000 ocorreram na África, predominantemente em menores de cinco anos (733.550 óbitos) (WHO, 2009).

Atualmente, a preocupação com a malária não está restrita aos países endêmicos e sim a todas as regiões do planeta, inclusive àquelas livres de transmissão, devido ao processo de globalização, que proporciona um trânsito intenso de pessoas, o que favorece a dispersão de diversas doenças, incluindo a malária (TRIGG e KONDRACHINE, 1998; BUSS et al., 2007; ERDMAN e KAIN, 2008; WHO, 2009).

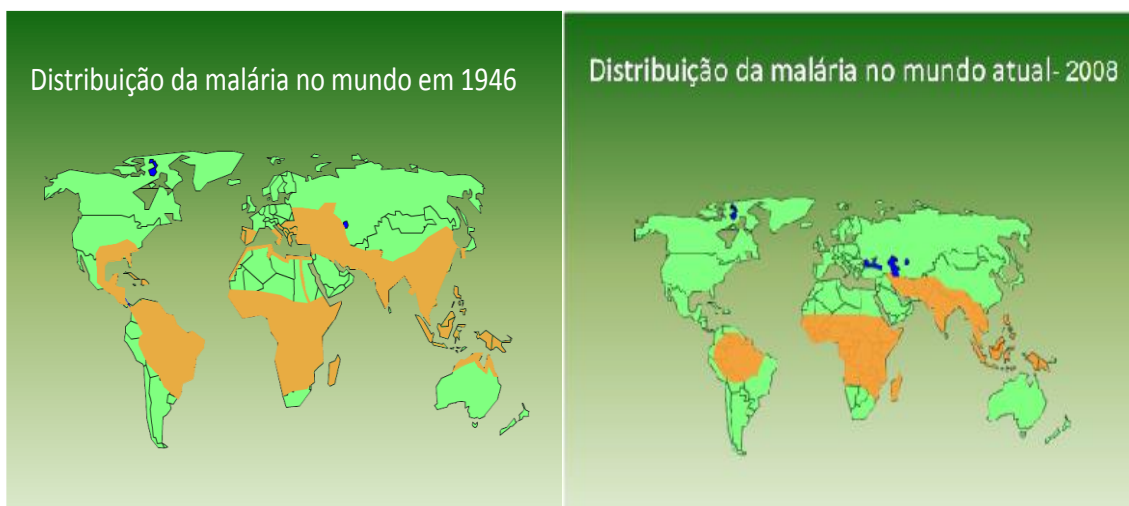


Figura 2 - Comparação da distribuição da malária no mundo em dois períodos distintos (1946 e 2008)

Fonte: WHO, 2009

2.2.2- Distribuição da malária no Brasil

O Brasil tem uma situação epidemiológica peculiar, como um dos poucos países do mundo com predominância de *Plasmodium vivax*, com distribuição heterogênea, sendo que 99,7% dos casos registrados estão concentrados na Amazônia Legal, divisão política do território nacional que engloba nove estados: Amazonas, Amapá, Acre, Pará, Rondônia, Roraima, Mato Grosso, Tocantins e Maranhão (BRASIL, 2013).

As infecções pelo *Plasmodium vivax* predominam sobre as outras espécies encontradas no Brasil, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malariae*. No período de 2000 a 2011, as infecções por *P. vivax* representaram aproximadamente 80,0% dos casos notificados. As infecções por *P. falciparum*, sabidamente responsável pela forma grave e letal da doença, tem apresentado redução importante nos últimos anos: em 2006 concorreram com mais de 20,0% dos casos notificados na região Amazônica, decrescendo para menos de 12,0% em 2011. Atribui-se essa expressiva redução, a partir de 2006, à instituição dos derivados da artemisinina associados a outros antimaláricos como tratamento de primeira escolha para essa espécie de plasmódio (BRASIL, 2009; OPAS, 2010).

As características epidemiológicas da malária, incluindo a prevalência, envolvem fatores ligados ao hospedeiro, ao parasito, ao vetor, ao meio ambiente, às condições sanitárias da região e às características socioeconômicas e culturais da população. Dentro desse contexto multifatorial destacam-se as espécies de plasmódio e o vetor, incluindo-se a distribuição dos seus locais de procriação, a constituição genética e a resposta imunológica dos indivíduos à

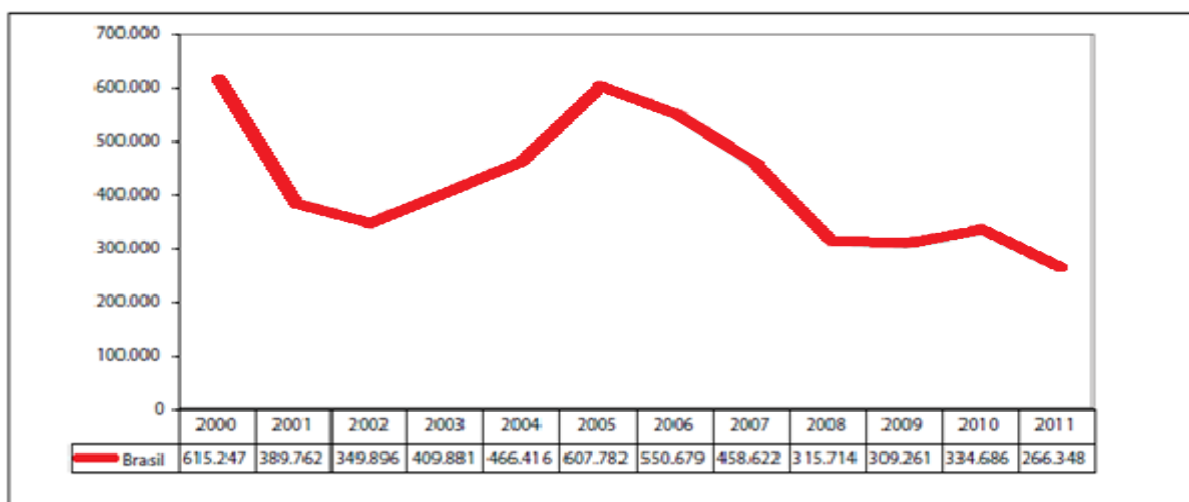
infecção, o nível de precipitação pluviométrica, a temperatura e as medidas de controle adotadas (MARQUES e GUTIERREZ, 1994; BRASIL, 2005a).

Na Amazônia Brasileira, prevalecem características ambientais altamente favoráveis à permanência dos plasmódios, principalmente porque há bons criadouros naturais do vetor, ocorrendo assim, a maioria dos casos da doença em áreas rurais, embora haja registro também em áreas urbanas (OPAS, 1996; BRASIL, 2005a).

A partir de 2000, o Ministério da Saúde desencadeou o processo de descentralização das ações de vigilância em saúde com a finalidade de suprir as dificuldades operacionais na Amazônia com o reforço de recursos financeiros e materiais e de conhecimento. Esse processo foi se efetivando anualmente, com o fortalecimento da estrutura dos serviços de saúde e da capacidade de gestão dos estados e municípios (BRASIL, 2010; OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Nesse contexto, ao se avaliar o gráfico da Figura 3 que mostra a distribuição dos casos de malária notificados no Brasil no período de 2000 a 2011 pode-se constatar que houve redução de 56,7%, o que representou uma diminuição total de 348.899 casos da doença (Brasil, 2010).

Figura 3 - Casos de malária notificados, Brasil 2000 a 2011.



Fonte: Sivep-Malária/SVS/MS,2013

Contudo, na análise da incidência anual de casos, como ainda se verifica na Figura 3, é possível perceber os avanços e as dificuldades para o controle da malária no país: por exemplo, entre 2000 e 2002, houve redução do número de casos notificados, porém entre 2002 a 2005, a malária apresentou significativo aumento até chegar a 607.782 casos (2005), representando um incremento de 73,7% se comparado ao ano de 2002. Entretanto, os esforços

nas esferas estadual, municipal e federal fizeram com que houvesse mudança nesse panorama, de modo que a partir de 2006, houve redução média de 56.866 casos a cada ano (BRASIL, 2013).

Segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013) em todos os estados da Região Amazônica houve redução do número de casos de malária no período de 2000 a 2011, com exceção do estado do Acre que apresentou um incremento final de 4,8%. O estado que registrou maior queda no número de casos foi o Maranhão, com 95,5%, seguido pelos estados de Tocantins, Mato Grosso, Roraima, Pará, Amapá, Rondônia e Amazonas (Quadro 1).

Quadro 1-Casos de malária notificados na Região Amazônica por Estado. Brasil, 2000 a 2011.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
AC	21.560	7.774	9.216	12.264	31.720	57.242	93.864	51.277	27.706	27.568	36.905	22.586
AM	96.026	48.385	70.223	141.005	147.579	226.413	185.622	197.140	133.786	100.216	74.135	59.431
AP	35.278	24.487	16.257	16.651	20.670	28.059	29.290	21.975	15.131	15.504	15.388	18.978
MA	78.818	39.507	16.000	11.432	14.505	11.196	9.519	6.621	4.757	5.708	3.904	3.510
MT	11.767	6.832	7.085	5.022	6.484	8.437	6.650	6.760	4.081	3.276	2.365	1.631
PA	278.204	186.367	149.088	115.510	109.777	123.406	101.763	76.207	69.212	99.609	135.246	114.752
RO	54.074	57.679	71.224	93.853	107.115	118.635	101.646	81.929	49.807	41.366	43.276	30.412
RR	35.874	16.028	8.036	11.818	26.200	31.964	20.646	15.236	10.235	15.032	21.806	14.006
TO	1.640	1.244	1.130	1.211	850	717	379	288	165	129	104	76

Fonte:Sivep-Malária/SVS/MS, 2013

Embora em declínio (Figura 3, Quadro 1), o quadro epidemiológico da malária no Brasil continua sendo preocupante nos dias atuais, pois as condições propícias à aquisição da doença na Região Amazônica se mantêm, tais como desmatamento para extração de madeira, criação de gado, agricultura e assentamentos, algumas realizadas de modo clandestino (OPAS, 2008).

Como citado anteriormente, na Amazônia, a malária ocorre predominantemente na área rural, entretanto, a ocupação desordenada dos espaços periurbanos tem sido relatada como um importante fator para a ocorrência de casos de malária em áreas urbanas. Cita-se como exemplo, a atividade de piscicultura com a construção de tanques artificiais em quintais de domicílios ou nas periferias de diversas cidades amazônicas principalmente Manaus, que corroboraram para aumentar o criadouro do mosquito vetor (OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Seguindo a tendência observada na redução total de casos de malária no país entre 2003 e 2011, o percentual de casos em áreas urbanas sofreu uma redução de 23%. No ano de 2011, a malária urbana foi responsável por 14,4% dos casos e apresentou uma redução de 25,0% em relação a 2010. (BRASIL, 2010; 2013).

Na Extra-Amazônia, a presença do anofelino vetor em determinadas áreas, a existência de suscetíveis e a presença do plasmódio em indivíduos que adquiriram a doença na Amazônia ou em outros países sabidamente endêmicos - e que retornam ao seu local de origem - são condições propícias para que ocorra malária e/ou que seja reintroduzida em áreas onde está erradicada, impondo-se assim um permanente sistema de vigilância por parte do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005b).

De acordo com o Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013), as internações por malária em hospitais do Sistema Único de Saúde/SUS reduziram em torno de 63% (10.690 casos/2003 para 3.911 casos/ 2008).

O principal objetivo do Programa Nacional de Controle da Malária é evitar os óbitos. Segundo o Ministério da Saúde houve redução em números absolutos, de 245 para 69 óbitos em 2000 e 2011 respectivamente, representando uma redução de 71,8%, atentando-se que essa redução ocorreu principalmente por conta da região Amazônica. Entretanto, merece destaque a maior mortalidade relativa pela doença na região extra-Amazônica (Figura 4), devido provavelmente à escassez de informação sobre os aspectos clínicos e epidemiológicos da malária nos Estados que a compõem, com conseqüente retardo no diagnóstico e instituição da terapêutica.

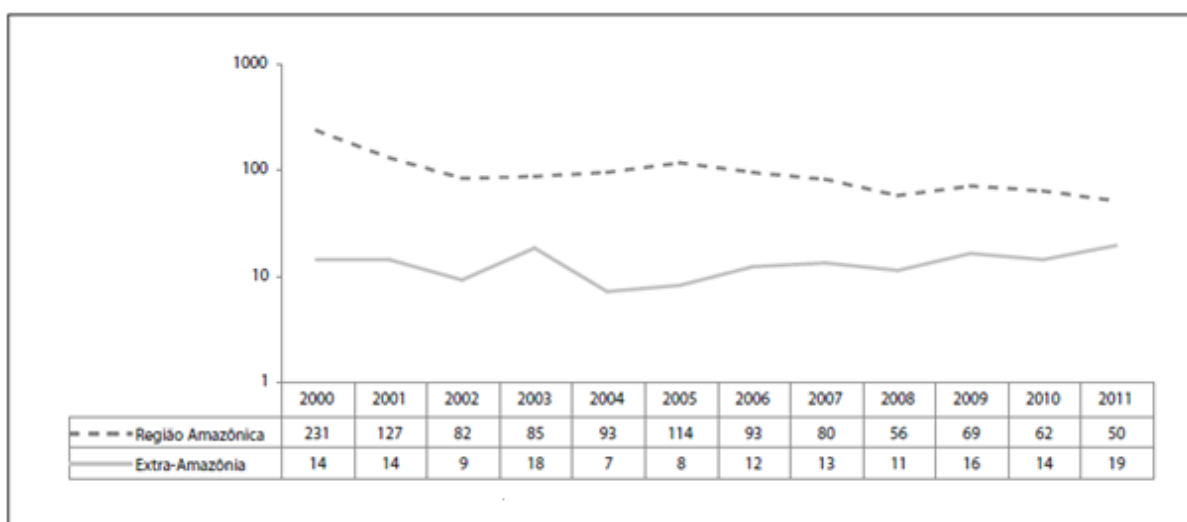


Figura 4 - Óbitos ocorridos por malária nas regiões Amazônica e Extra-Amazônica. Brasil.

Fonte: Sistema de Informação sobre Mortalidade/MS, 2013

2.2.3- Risco à malária no Brasil

No Brasil, os graus de risco para adoecer de malária são classificados de acordo com a Incidência Parasitária Anual (IPA), que expressa o número de exames positivos para malária por mil habitantes em determinado lugar e período. A Figura 5 mostra os quatro estratos com níveis endêmicos diferenciados que classificam as áreas de transmissão de malária em alto risco (IPA $\geq 50/1.000$ hab.), médio risco (IPA entre 10 e 49/1.000 hab.), baixo risco (IPA $< 10/1.000$ hab.) e sem risco (ausência de transmissão). Entretanto, mesmo nas áreas sem transmissão, há um risco teórico de introdução/reintrodução da malária, se indivíduos adquirirem a infecção em áreas endêmicas e não realizarem o tratamento de modo adequado. Permanecem assim albergando o parasita na corrente sanguínea podendo transmiti-lo para o anofelino (eventualmente presente nessas áreas) quando este realiza seu repasto sanguíneo, tornando-se infectante e desse modo com capacidade de transmissão para indivíduos suscetíveis (BRASIL, 2010; 2013).

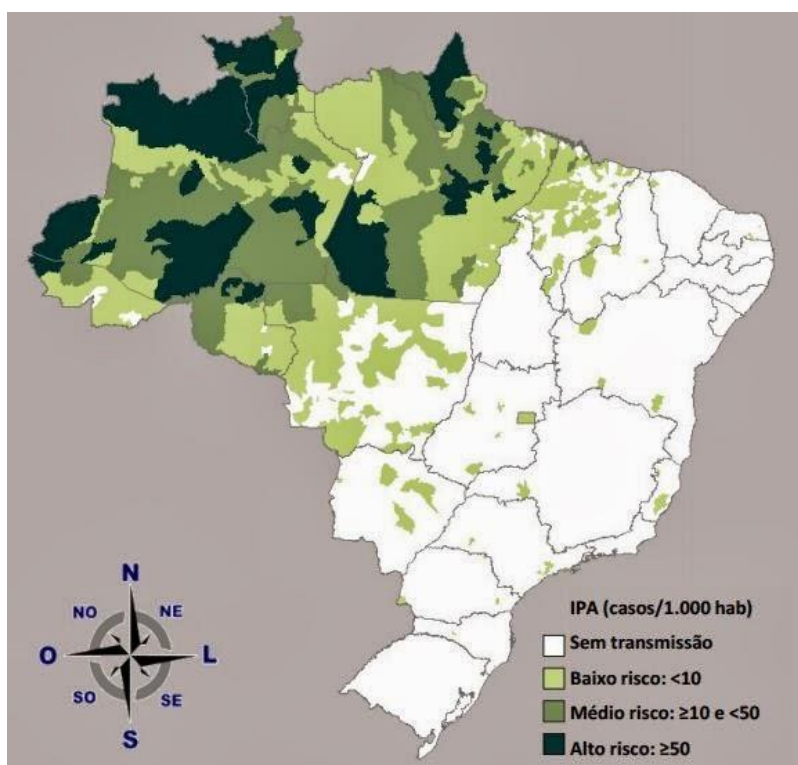


Figura 5 - Mapa do Brasil destacando as áreas de risco para malária pelos diferentes níveis de Incidência parasitária anual.

Fonte: Brasil, 2011.

Apesar da redução de casos de malária no período de 2000 a 2011, a região Amazônica como um todo continua sendo de médio risco para malária, como mostra o Quadro 2 (BRASIL, 2013).

Quadro 2 - Incidência Parasitária Anual - Brasil e Região Amazônica. (2000 a 2011)

Período	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
IPA Brasil	3,6	2,3	2,0	2,3	2,6	3,3	2,9	2,4	1,7	1,6	1,8	1,4
IPA R. Amazônica	29,1	18,0	15,9	18,3	20,5	25,7	22,8	18,7	12,9	12,5	13,1	10,3

Fonte: SIVEP-malária/SVS/MS, 2013

Considerando a IPA, três estados da região Amazônica no ano de 2011 foram considerados de baixo risco para adoecer por malária: Maranhão, Mato Grosso e Tocantins. Os demais estados apresentaram risco médio. Quando se compara com a IPA de 2010, nota-se redução na incidência para todos os estados, exceto o Amapá. A maior redução foi observada no estado do Acre, passando de alto para médio risco, como demonstrado na Figura 6.

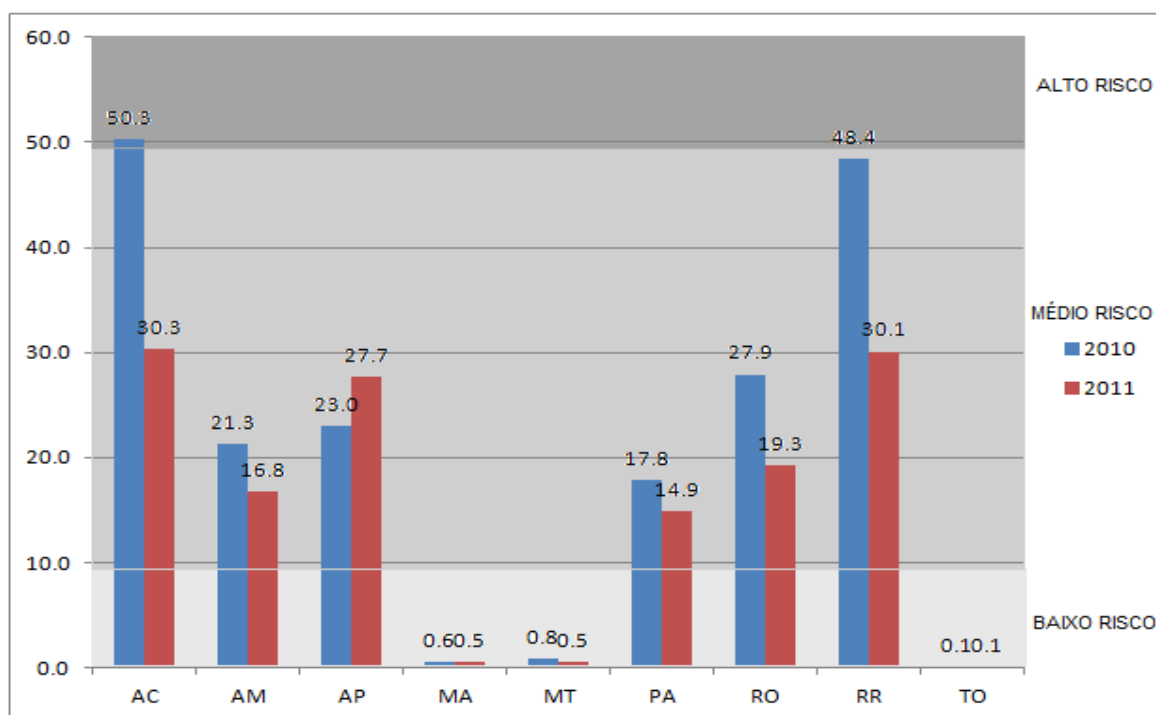


Figura 6 - Incidência Parasitária Anual (IPA) por Unidade Federada na Região Amazônica. Brasil, 2010 e 2011.

Fonte: SIVEP-malária/SVS/MS, 2013.

Estratificando-se as áreas de risco para malária por municípios, observa-se que em 2011, foram classificados como alto, médio e baixo risco respectivamente 45, 82 e 370 municípios (BRASIL, 2013).

A redução de casos de malária e conseqüentemente do IPA pode estar principalmente relacionada à expansão da rede de diagnóstico, melhor acesso ao tratamento, instituição dos derivados de artemisinina como tratamento eletivo para *P. falciparum*, sistemático monitoramento da situação epidemiológica, e crescimento no número de profissionais de saúde trabalhando no programa de controle da malária (BRASIL, 2009). Não obstante esse êxito, o surto de malária em 2009 no município de Anajás, localizado no extremo norte da Ilha do Marajó-Pará, exemplifica a necessidade de fortalecer ainda mais as ações de prevenção e controle da doença para manter uma redução sustentável de sua incidência, principalmente nos municípios mais vulneráveis à sua transmissão (BRASIL, 2010).

2.3- OS PLASMÓDIOS HUMANOS – CICLO BIOLÓGICO

A malária é a doença parasitária que tem como agente etiológico, protozoários pertencentes ao filo *Apicomplexa*, família *Plasmodiidae*, do gênero *Plasmodium sp.* Atualmente são conhecidas cerca de 150 espécies de plasmódios causadoras de malária em diferentes hospedeiros vertebrados. São cinco as espécies de protozoários reconhecidas como parasitas naturais dos seres humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, e mais recentemente, *Plasmodium knowlesi*. O *P. ovale* ocorre apenas em regiões restritas do continente africano (BRAGA e FONTES, 2005).

Os plasmódios são transmitidos pela picada de mosquitos vetores do gênero *Anopheles* destacando-se o *Anopheles darlingi*, vetor de importância epidemiológica para a região Amazônica. (REY, 2001; BRAGA e FONTES, 2005; MAGRIS et al, 2007).

Os plasmódios possuem ciclo biológico complexo que se caracterizam por apresentarem duas formas de reprodução que definem dois ciclos distintos em sua evolução, a sexuada ou ciclo esporogônico, que se passa no hospedeiro invertebrado (vetor) e a reprodução assexuada, ou ciclo esquizogônico que ocorre no hospedeiro vertebrado (homem). O ciclo esquizogônico acontece em duas etapas, no fígado (esquizogonia tecidual) e nas hemácias (esquizogonia sanguínea) (REY, 2001; TRAMPUZ et al, 2003; BRASIL, 2005a).

O homem é o único hospedeiro natural dessas espécies de plasmódios, sendo o ciclo biológico demonstrado na Figura 7.

Outras formas de transmissão incluem sangue ou hemoderivados, seringas e agulhas reutilizadas ou acidentes de laboratório (BRASIL, 2001). Nestes casos, o ciclo exo-eritrocítico não é observado. A infecção neonatal tem sido também raramente descrita (BRAGA e FONTES, 2005).

2.3.1- Ciclo de vida dos plasmódios humanos no hospedeiro vertebrado

A transmissão ocorre quando fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* inoculam no hospedeiro vertebrado durante seu repasto sanguíneo, as formas infectantes do parasito, denominadas esporozoítos. Estas formas desaparecem da circulação sanguínea do indivíduo susceptível dentro de uma hora para alcançar os hepatócitos, onde evoluem (REY, 2001). Acredita-se que poucos esporozoítos sejam inoculados durante o repasto infectante. A eficiência da invasão e a especificidade da célula hospedeira sugerem a participação de receptores específicos nesse processo. Embora o mecanismo de invasão não seja totalmente compreendido, sabe-se que uma proteína amplamente expressa na superfície dos esporozoítos, a *proteína* circunsporozoíta (CS) está envolvida no processo (BRAGA e FONTES, 2005).

Após invadir o hepatócito, os esporozoítos se multiplicam por reprodução assexuada (esquizogonia), originando os esquizontes teciduais e posteriormente a milhares de merozoítos que invadirão os eritrócitos. Esta primeira fase do ciclo é denominada exo-eritrocítica, pré-eritrocítica ou tissular e, portanto, precede o ciclo sanguíneo do parasito (BRAGA e FONTES, 2005).

O desenvolvimento nas células do fígado requer aproximadamente uma semana para o *P. falciparum* e *P. vivax* e cerca de duas semanas para o *P. malariae*. Nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, o mosquito vetor pode inocular populações geneticamente distintas de esporozoítos: algumas se desenvolvem rapidamente, enquanto outras ficam em estado de latência no fígado, sendo por isso, denominadas hipnozoítos (do grego *hypnos*, sono), os quais são responsáveis pelas recaídas tardias da doença, que ocorrem após períodos variáveis de incubação, em geral dentro de seis meses para a maioria das cepas de *P. vivax*. (KROTOSHI, 1985; BRASIL, 2001).

O ciclo eritrocítico inicia-se quando os merozoitos tissulares invadem os eritrócitos. A interação dos merozoitos com os eritrócitos envolve o reconhecimento de receptores específicos. Para o *P. falciparum*, o principal receptor são as glicoforinas (glicoproteínas

presentes no eritrócito) e para o *P. vivax*, a glicoproteína do grupo sanguíneo *Duffy*. O desenvolvimento intra-eritrocítico do parasito se dá por esquizogonia, com consequente formação de merozoítos que invadirão novos eritrócitos. Depois de algumas gerações de merozoítos sanguíneos, ocorre a diferenciação em estágios sexuados, os gametócitos, que não mais se dividem e que seguirão o seu desenvolvimento no mosquito vetor, dando origem aos esporozoítos (FERREIRA, 2002; BRAGA e FONTES, 2005).

Recentemente novas tecnologias utilizando ferramentas da genética são utilizadas nas pesquisas e assim novas descobertas têm sido feitas no sentido de ampliar o conhecimento sobre o ciclo biológico do *Plasmodium*. Até há pouco tempo pensava-se que o esporozoíto, ao ser inoculado na pele, dirigia-se diretamente para o fígado, diferenciando-se e multiplicando-se dentro dos hepatócitos e migrando para a corrente sanguínea (MENÁRD et al., 2006).

Atualmente, sabe-se que os esporozoítos têm muitos destinos, dentre esses o fígado. Alguns esporozoítos permanecem na pele, perdem sua mobilidade e se diferenciam. Outros fazem um desvio para o sistema linfático alojando-se nos linfonodos, onde não evoluem para formas infectantes para os eritrócitos. Nos linfonodos, interagem com células imunes ou se degradam, sendo controverso se induziriam proteção ou tolerância imunológica. No hepatócito, o parasita se aloja em vacúolos denominados de merozomos para se proteger de macrófagos e células dendríticas, num sofisticado e importante mecanismo de evasão imunológica e, caso complete sua maturação evoluindo para merozoíto, induz o rompimento da célula hepática com consequente invasão dos vasos hepáticos com destino aos eritrócitos, dando início ao ciclo eritrocítico do parasita (MENÁRD et al., 2006).

2.3.2- Ciclo de vida dos plasmódios humanos no hospedeiro invertebrado

Por ocasião da fase eritrocítica em que alguns parasitos se diferenciam em gametócitos masculino e feminino, e são ingeridos pelo mosquito no momento do repasto sanguíneo em indivíduo infectado, esses gametócitos alcançam o trato digestivo do inseto, onde as hemácias são digeridas e os gametócitos são liberados. Ocorre a fecundação entre os gametas masculino e feminino formando o zigoto, única forma diplóide deste parasito. Este se diferencia em oocineto que é uma forma amebóide capaz de atravessar a membrana peritrófica e se instalar na parede interna do trato digestivo, entre o epitélio e a lâmina basal. O oocineto forma um envoltório protetor se transformando num oocisto, que sofrerá uma primeira meiose redutora seguida de inúmeras mitoses, liberando os esporozoítos haplóides na hemolinfa do

inseto (Figura 7). Estes esporozoítos migram e se instalam na glândula salivar do mosquito até que este realize uma nova alimentação sangüínea, podendo então infectar outro indivíduo (BRAGA e FONTES, 2005).

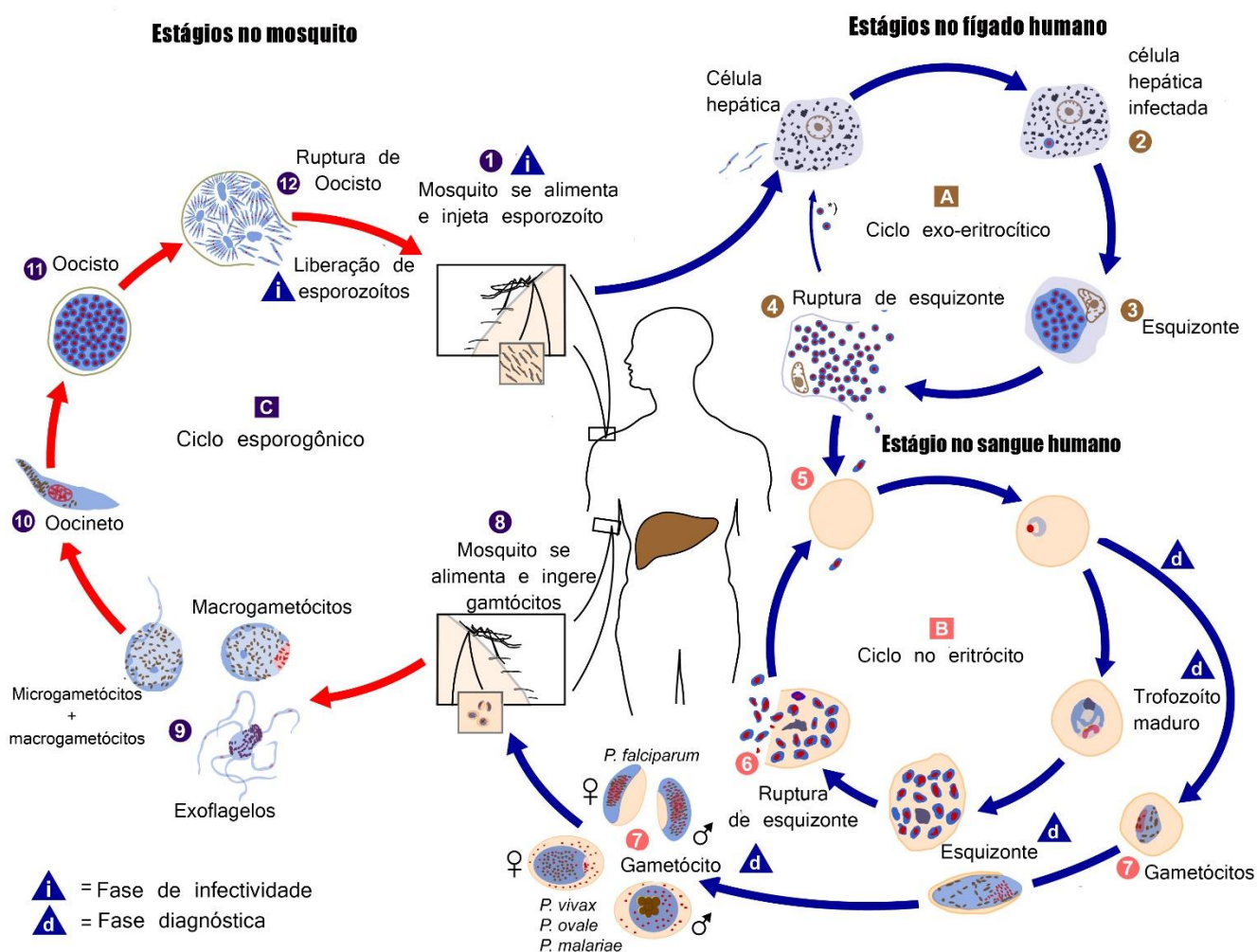


Figura 7 – Ciclo biológico do *Plasmodium* sp

2.4- RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA MALÁRIA

2.4.1- Imunidade inata

A resistência de um hospedeiro contra uma infecção depende de uma complexa interação entre mecanismos imunes inatos e adquiridos. O sistema imune inato atua na primeira linha de defesa do organismo, controlando a infecção até que a imunidade adaptativa ou

adquirida seja estabelecida. Portanto, a indução dos mecanismos que caracterizam a imunidade inata independe do contato prévio do indivíduo com o patógeno. (STEVENSON & RILEY, 2004).

Como em toda doença provocada por um agente externo, o plasmódio é responsável pela ativação de vários mecanismos imunogênicos, como demonstrado na Figura 8, podendo envolver resistência inata e imunidade adquirida (TARGET, 1992; BRAGA, 2005).

A imunidade inata, também chamada resposta inespecífica, se caracteriza pela estimulação de células fagocitárias sanguíneas (neutrófilos e monócitos), teciduais (macrófagos), e de células que liberam mediadores inflamatórios (basófilos, mastócitos e eosinófilos) e linfócitos do tipo “*natural-killer*” (NK). Componentes moleculares também estão presentes e compreendem fatores do complemento, proteínas da fase inflamatória aguda, citocinas, quimiocinas e radicais livres de oxigênio (TOSTA E SANTOS-NETO, 1989; MUNIZ-JUNQUEIRA E TOSTA, 1996; DELVIS e ROITT, 2000a; 2000b; HEDDINI, 2002; MILLER et al, 2002).

Em estudos sobre a imunidade inespecífica na malária não letal de camundongos, foi demonstrado que o macrófago é a célula mais estimulada durante a resposta inata, de maneira cíclica, num interessante sincronismo com os linfócitos NK inespecíficos e linfócitos NK parcialmente específicos. Esses linfócitos também produzem Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e Interferon Gama (INF- γ), contribuindo para o aumento dessas citocinas a nível sérico (GYSIN, 1992; CHOUDHURY, et al., 2000).

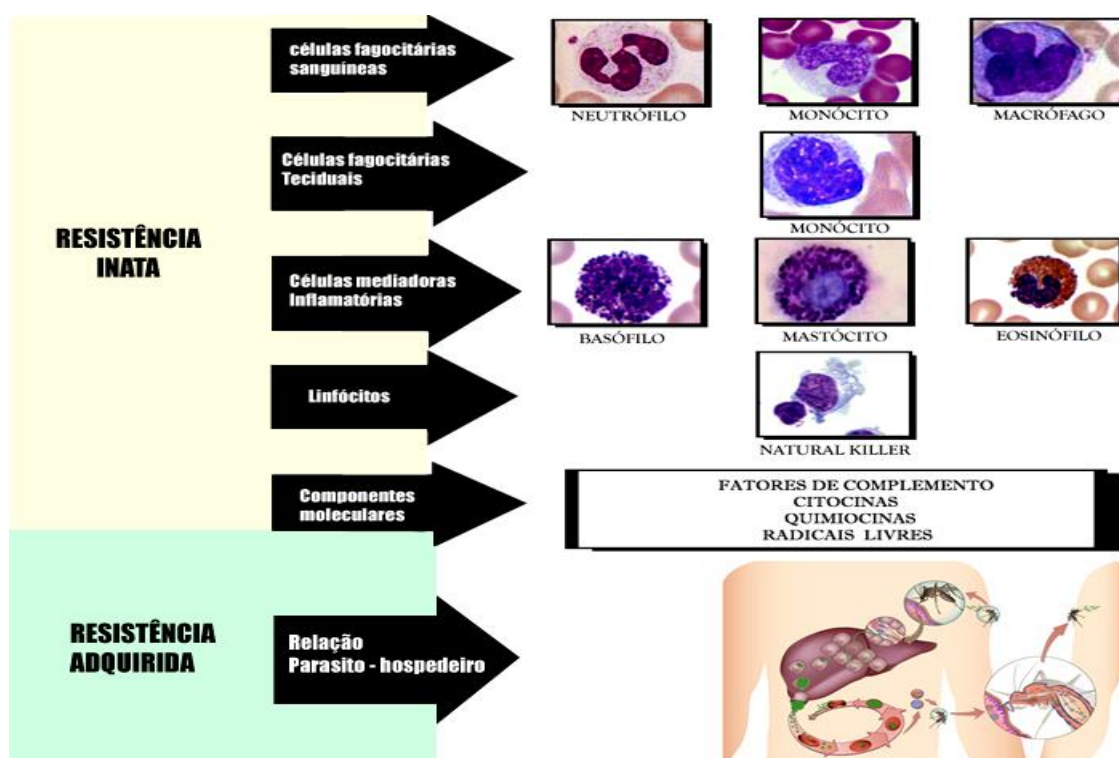


Figura 8- Resposta imune na malária.

Fonte: Adaptado de Imunologia Básica (Abbas), 2014.

As citocinas, dentre estas o $\text{TNF-}\alpha$, o $\text{INF-}\gamma$ e as interleucinas, como também as quimiocinas, são substâncias polipeptídicas que estimulam vários tipos de células e contribuem para o seu desenvolvimento, metabolismo e funcionalidade. Produzidas por células específicas do sistema imunológico, estão presentes no sangue ou em tecidos tais como linfóide, osteo-articular, interstício pulmonar, parênquima renal e tecido nervoso, entre outros (DINARELLO e MIER, 1987; AGGARWAL e PURI, 1995).

O $\text{TNF-}\alpha$ e a $\text{IL-1}\beta$ regulam respostas da imunidade inata, além de participarem de respostas específicas celulares. Ao ativar a IL-10 inibem os macrófagos e contribuem com a imunidade celular; agindo sobre $\text{INF-}\gamma$ contribuem para as respostas específicas celulares; atuando sobre as quimiocinas mobilizam os leucócitos para o local da infecção e regulam a migração de linfócitos para os tecidos linfóides periféricos. A maior parte desses componentes age em sincronismo e o $\text{TNF-}\alpha$, a $\text{IL-1}\beta$ e o $\text{INF-}\gamma$ têm ações pleiotróficas (DINARELLO e MIER, 1987; DELVES e ROITT, 2000a; DELVES e ROITT, 2000b; ABBAS et al., 2003).

A interleucina 1 (IL-1) atua em sinergismo com o $\text{TNF-}\alpha$ nos eventos imunológicos e fisiopatológicos da malária. Pequenas concentrações dessa citocina são suficientes para aumentar a efetividade do $\text{TNF-}\alpha$, principalmente quanto à geração de óxido nítrico que

participa tanto da ação parasiticida quanto dos efeitos deletérios ao organismo na infecção malárica (ROCKETT et al., 1994).

2.4.2- Imunidade específica

A imunidade adquirida contra os estágios sanguíneos do *Plasmodium* envolve dois grandes mecanismos: a resposta imune humoral e a resposta imune mediada por células (TARGETT, 1992; BRAGA, 2005).

Após a fase exo-eritrocítica do ciclo de vida dos plasmódios, a invasão dos eritrócitos é o passo fundamental para o prosseguimento da infecção, constituindo um dos principais alvos para a resposta imune protetora. Durante esse processo, é iniciada uma cascata de eventos que envolvem uma complexa interação entre a célula hospedeira e proteínas do parasito, sobretudo proteínas de superfície do merozoito do *Plasmodium sp* – MSP1, que é a parte mais antigênica do parasito da malária quanto a capacidade de induzir resposta humoral. Considerando-se que os eritrócitos são incapazes de processar e apresentar antígenos, e o fato das proteínas do parasito serem expostas ao sistema imune do hospedeiro por um curto período de tempo, os anticorpos são considerados as principais moléculas responsáveis pela imunidade adquirida contra os estágios sanguíneos do *Plasmodium* (MARSH & KINYANJUI, 2006; YAZDANI et al., 2006).

Produzidos por linfócitos B ativados, os anticorpos podem atuar promovendo distintos mecanismos, como a fagocitose de eritrócitos infectados e o bloqueio da invasão dos eritrócitos pelos merozoítos (BOUHAROUN-TAYOUN et al., 1995; O'DONNELL et al., 2001).

Os anticorpos de IgG que se formam contra os antígenos de superfície do merozoíto são inaptos para proteger o indivíduo de outras infecções pelo mesmo parasito ou de outro tipo, independentemente do número de episódios de malária contraídos. No entanto, eles são responsáveis pelo quadro de semi-imunidade, caracterizado pela infecção e pouca ou nenhuma sintomatologia, fenômeno muito frequente na África, onde comunidades inteiras vivem, periodicamente, adquirindo malária ou hospedando o parasito (KARUNAWEEERA et al., 1998; DANIEL-RIBEIRO, 2000; FERREIRA, 2002; CRUZ & RIBEIRO, 2002).

A história natural da malária em regiões de alta transmissão, como na África e algumas regiões da Ásia, ilustra bem a complexidade da resposta imunológica naturalmente adquirida pelo homem contra o plasmódio e a dinâmica relação parasito-hospedeiro que se desenvolve nos indivíduos constante e cronicamente expostos à doença. Nessas áreas, onde o *P.*

falciparum é predominante, as crianças são protegidas de malária grave durante os seis primeiros meses de vida. A transferência passiva de anticorpos IgG da mãe imune para o filho é considerada um dos principais fatores responsáveis pela resistência do recém-nascido. Outros fatores também podem estar envolvidos como a presença de eritrócitos contendo grandes quantidades de hemoglobina fetal (HbF), gerando um microambiente desfavorável ao crescimento parasitário. Após esse período, as crianças são altamente suscetíveis à malária grave, sendo frequentes as infecções fatais durante os dois a três primeiros anos de vida. Com o aumento da idade, as crianças sofrem progressivamente menos episódios de malária, embora possam apresentar altas parasitemias, na ausência de sintomas. Atingindo a idade adulta, os sintomas clínicos da doença são menos pronunciados e os níveis de parasitos sanguíneos muito baixos, refletindo então, o desenvolvimento de uma imunidade “antiparasito”, embora os mecanismos envolvidos neste estado de equilíbrio imune ainda não sejam totalmente elucidados (GYSIN, 1992; TARGETT, 1992; CRUZ e RIBEIRO, 2002).

Não se sabe quantos episódios de malária são necessários para o desenvolvimento da semi-imunidade, existindo com certeza um hiato entre a imunidade transmitida pela mãe e aquela adquirida mais tarde na infância e na fase adulta devido a frequente exposição (GYSIN, 1992; TARGETT, 1992; CRUZ e RIBEIRO, 2002).

Não existe até o momento evidência consistente quanto à formação de anticorpos suficientes e capazes de proporcionar imunidade permanente ao indivíduo que é acometido pela malária, independentemente do número de episódios por ele acometidos (KARUNAWEEERA *et al.*, 1998; DANIEL-RIBEIRO, 2000; FERREIRA, 2002; CRUZ & RIBEIRO, 2002; BRAGA e FONTES, 2005). Portanto, a fisiopatologia da malária ainda é pouco compreendida, embora estudos tenham demonstrado a importância do sistema imunológico na susceptibilidade/resistência à infecção malárica, inclusive aquela causada pelo *P. vivax* (SORTICA *et al.*, 2012).

As citocinas envolvidas na imunidade celular são originadas, principalmente, da ativação de células T CD4+ e podem atuar tanto na proteção quanto em mecanismos patológicos. Isso sugere a necessidade de um balanço nos níveis dessas substâncias durante as respostas inflamatórias, de forma a propiciar o controle da infecção e a prevenção da patologia associada à doença (GONÇALVES *et al.*, 2012). Citocinas pró-inflamatórias (tais como INF γ , TNF α , IL-12 e IL-18) mostram-se essenciais para o controle da infecção, enquanto citocinas antiinflamatórias (tais como IL-10 e TGF- β) são requeridas para reprimir os efeitos patológicos da infecção associados a quadros graves da doença, como malária cerebral e anemia grave (revisto por YAZDANI *et al.*, 2006).

Assim, são considerados fatores que contribuem para a apresentação clínica da malária em formas mais brandas ou mais graves, a falha do sistema imunológico para controlar a esmagadora replicação do parasito ou a imunopatologia resultante da excessiva inflamação (LANGHORNE, et al, 2008). Destruir parasitas da malária sem induzir maior patologia ao hospedeiro requer um equilíbrio afinado entre resposta de citocinas inflamatórias e regulatórias cujo tempo e magnitude são cruciais na determinação do resultado do paciente com malária (WYKES et al, 2007).

As respostas imunológicas, inata e adquirida, são moduladas por fatores não completamente elucidados que interagem desencadeando mecanismos que podem contribuir ou não para o controle da infecção. Assim, torna-se evidente que o entendimento detalhado dos processos imunorreguladores da imunidade antimalárica pode facilitar a busca racional por estratégias de controle (YAZDANI et al., 2006).

2.4.3- O fator de necrose tumoral (TNF) e malária

Além dos fatores inerentes ao parasito, acredita-se que, citocinas tais como o TNF- α , IL-10 e IFN- γ , desempenham um importante papel na fisiopatologia da malária (KANURAWEEERA, 1992).

O TNF é uma proteína produzida principalmente pelos monócitos, macrófagos e linfócitos, diante do estímulo imune (MATTHEWS, 1981; BEUTLER et al., 1985; BEUTHER & CERAMI, 1987). Possui duas formas ativas, uma ligada à membrana e outra solúvel, presente na corrente sanguínea. A proteína de membrana é maior que a sanguínea, pois possui três segmentos (homotrímero): um grupamento aminado terminal intracelular, um grupamento acoplado à membrana e um grande domínio terminal carboxilado extracelular. Para adquirir a forma solúvel, o domínio terminal carboxilado é clivado pela enzima conversora do TNF, resultando num polipeptídeo menor, que é liberado na corrente sanguínea (ABBAS *et al.*, 2003).

Em condições normais existe pouca quantidade de TNF- α sendo produzida pelos macrófagos e monócitos. Diante do estímulo apropriado, este é liberado vindo a apresentar vida média plasmática de aproximadamente 17 minutos em seres humanos (BEUTLER & CERAMI, 1987).

Quando infundido diretamente em ratos o TNF- α causa ereção dos pêlos, diarreia, debilidade física, hemoconcentração, acidose metabólica, choque, hiperglicemia transitória seguida de hipoglicemia e hiperpotassemia. Ocorre obliteração das artérias pulmonares por leucócitos polimorfonucleares, seguida de pneumonite intersticial. Ao nível renal, provoca

necrose tubular aguda e, no trato digestivo, pâncreas e adrenais, ocorrem lesões isquêmicas e hemorrágicas (OLD, 1985; BEAUTLER & CERAMI, 1987).

Na malária, sabe-se que dentre as funções do TNF- α estão vários mecanismos efetores que contribuem para o controle da parasitemia, tais como: febre, estímulo à fagocitose, ativação de eosinófilos, liberação de radicais livres de oxigênio e de óxido nítrico. Porém, não se sabe até que ponto esses mecanismos agem em benefício do hospedeiro (KWIATKOWSKI et al., 1997, ANDRADE et al., 2010).

Para atuar na via apoptótica, o TNF- α lança mão de uma cascata de eventos intracelulares, que envolve várias proteínas e enzimas, entre estas as caspases (proteases de aspartato cisteína) e a RIP (proteína integrante do receptor), caracterizadas por possuírem domínio de morte, ricos em cisteína (LIN et al., 1999).

O TNF- α é uma das citocinas que mais se elevam na malária, apresentando ação pirogênica potente, além de efetivar outras funções ligadas à resposta imunológica celular. Níveis circulantes elevados são observados nos paroxismos febris da infecção malárica, independente do agente etiológico. Outras citocinas também têm propriedades pirogênicas como as IL-1 e IL-6 que também se encontram elevadas na circulação de pacientes com malária, porém nenhuma é mais abundante que o TNF- α . A febre relaciona-se com os níveis de TNF- α circulantes (BUTCHER et al., 1990; MENDIS e CARTER, 1992; KARUNAWEERA et al., 1992; KWIATKOWSKI, 1995).

Em um levantamento quantitativo do TNF- α em indivíduos saudáveis, com infecções e com neoplasias diversas, os níveis mais elevados foram observados na infecção por *Leishmania donovani* e pelo *Plasmodium sp.* (SCUDERI et al., 1986).

2.4.4- Interleucina 10 (IL-10) e malária

A interleucina-10 (IL-10) é uma das citocinas com características antiinflamatórias mais destacadas do sistema imune humano. Ela inibe tanto a síntese de citocinas pró-inflamatórias maiores, incluindo o TNF- α , como também de outras citocinas pró-inflamatórias liberadas a partir de monócitos e macrófagos, como a IL-6, a IL-8, e a IL-12. Também inibe a produção de citocinas produzidas por neutrófilos e células “natural killer” e atenua a expressão de superfície dos receptores de necrose tumoral na circulação sistêmica. Além disso, pode inibir várias atividades das células apresentadoras de antígenos (DE WAAL, et al., 1991; CASSATELLA, 1999).

Estudos demonstram que níveis elevados de IL-10 no sangue estão associados à mortalidade por doença meningocócica (LEHMANN et al., 1995; WESTENDORP et al., 1997). Por outro lado, níveis baixos de IL-10 no pulmão aumentam o risco de síndrome da angústia respiratória do adulto. Como pode se verificar por esses dados, diferentes respostas de IL-10 podem ter tanto um papel protetor em relação a infecções e danos teciduais ao hospedeiro, como podem torná-lo suscetível a respostas inflamatórias exacerbadas (DONNELLY et al., 1996).

2.4.5- Interferon gama (IFN γ) e malária

Na malária humana, a resposta imune adquirida naturalmente, pode resultar ou na eliminação do agente infeccioso, ou em uma resposta persistente mediada por citocinas, que leva a imunopatologia (DAY et al., 1999; ANDRADE, et al., 2010). Muitos aspectos deste processo permanecem por ser compreendidos, incluindo os efeitos de citocinas no controle da resposta imune e as diferenças entre os efeitos protetores e patológicos moduladores (COUPER, et al., 2008; LANGHORNE, et al., 2008).

Na malária causada pelo *Plasmodium falciparum*, vários estudos têm descrito uma associação entre infecções severas e aumento da resposta de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina 1 β (IL-1 β), a interleucina 6 (IL-6), e o interferon gama (IFN- γ) (DAY et al., 1999; CLARK et al., 2006; PRAKASH et al., 2006), enquanto que os baixos níveis de citocinas reguladoras, tais como o fator de crescimento β (TGF- β) e a interleucina 10 (IL-10), têm sido associadas com a malária aguda (PEYRON et al., 1994; HANSEN, 2010).

Estas citocinas são responsáveis por todos os sintomas e alterações patológicas e o resultado da infecção depende da regulação recíproca das citocinas pró e anti-inflamatórias. No entanto, o equilíbrio entre a resposta pró inflamatória e anti-inflamatória pode ser favorável para a proteção mediada por citocinas como o IFN- γ (Mc CALL, 2010; PERLAZA et al., 2011).

A citocina IL-10 tem um papel importante como um imunorregulador de infecções provocadas pelo plasmódio, por neutralizar os efeitos das outras citocinas produzidas por células Th1 e CD8, que são responsáveis pela imunopatologia associada com o excesso de produção de IFN- γ (COUPER et al., 2008; LANGHORNE, et al., 2008).

Embora muitos estudos têm investigado os níveis séricos e envolvimento de citocinas na malária causada por *P. falciparum*, pouco se sabe sobre o balanço pró-inflamatório e

regulador durante uma resposta imune natural em indivíduos infectados pelo *P. vivax*. A infecção por *Plasmodium vivax* induz uma resposta imune específica, estimulando a liberação de citocinas de células T e outras células mononucleares, que pode ter um papel importante na depuração do parasita ativando mecanismos imunes efetores (ANSTEY, 2009). Esta produção de citocinas é um estímulo importante da fagocitose que aumenta a folga de eritrócitos parasitados, mas as citocinas inflamatórias também podem mediar as alterações patológicas que determinam a manifestação de sintomas (ANDRADE, et al., 2010; ZEYREK et al., 2006).

Na malária causada pelo *Plasmodium vivax*, citocinas são liberadas após os esquizontes romperem, e níveis elevados de TNF foram detectados sendo liberado em pulsos nos paroxismos de *P. vivax* e parecem estar envolvidos na patogênese da febre da malária (KARUNAWEEERA et al., 1992a; ZEYREK et al., 2006). Outras citocinas foram detectadas na malária *vivax*, incluindo IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12 (KARUNAWEEERA et al., 1992). Mais recentemente, a participação de células T reguladoras na infecção pelo *P. vivax* foi mostrado (BUENO, et al., 2010), o que sugere que o equilíbrio entre as citocinas proinflamatórias e anti-inflamatórias é necessário para controlar as alterações patológicas.

Comparando indivíduos assintomáticos e os casos descritos como malária grave, um estudo realizado no Brasil mostrou que a razão IFN- γ : IL-10 foi maior nos casos mais graves, enquanto que os níveis de IL-10 foram elevados em indivíduos assintomáticos (ANDRADE, et al., 2010).

2.5- VARIANTES DO *PLASMODIUM VIVAX*

O *Plasmodium vivax* é uma das quatro espécies de parasita da malária que comumente infectam os seres humanos. Na microscopia tem aparência típica das hemácias por ele infectadas (reticulócitos), com pontos cor-de-rosa múltiplos (pontos de Schuffner) e aspecto esférico com maior volume (DVORAK e MILLER, 1975). Ainda ao exame microscópico de gota espessa corada com Giemsa podem-se encontrar todas as formas do ciclo sanguíneo do parasito: merozoítos, trofozoítos, pré-esquizontes, esquizontes e gametócitos, porém nem sempre todas estão presentes simultaneamente. Em algumas infecções, quando a parasitemia é recente, os gametócitos podem estar ausentes, visto que estes se formam após alguns ciclos eritrocíticos do plasmódio (BRASIL, 2006).

A diversidade de *P. vivax* tem sido relatada em termos de padrões de recidiva, morfologia e bioquímica (FIGTREE et al. 2000). Vários estudos têm sido propostos para

investigar a diversidade genética do *P. vivax*, pela importância dessa infecção, além do que, dada a possibilidade de mutações, pode surgir resistência às drogas. Portanto, o estudo da diversidade da população de parasitos da malária, não tem somente interesse acadêmico, tem também importância prática no desenvolvimento e formação de estratégias de controle (CUI et al, 2003; DE SOUZA-NEIRAS et al, 2007).

A análise da sequência de proteínas de superfície do circunsporozoítio (CSP) do *P. vivax* revelou que parasitos têm repetições pertencentes a um dos dois tipos de unidades de repetição nonapeptídeo, GDRA (A/D) GQPA ou ANGA (G/D) (N/D) QPG, nomeados **VK210** e **VK247**, respectivamente (ARNOT et al.,1985; ROSENBERG et al., 1989). Em 1993, CUI e colaboradores identificaram um novo parasito da malária humana a partir de uma pessoa infectada com *P. vivax*, e o nomearam *P. vivax-like*. A sequência CSP desse parasita tem uma sequência APGANQ (E/G) GGAA, e é diferente dos dois genótipos descritos anteriormente. Esta sequência do gene CSP é semelhante ao de *P. simiovale*, um parasita da malária de macaco encontrado originalmente na *Macaca sinica* no Sri Lanka (QARI et al. 1993). Todos os genótipos CSP variante têm uma distribuição mundial (KAIN et al. 1992, GONZÁLES et al., 2001; IMWONG et al., 2005; ZAKERI et al., 2006).

No Brasil, MACHADO e PÓVOA (2000), usando diagnóstico molecular, confirmaram a presença dos tipos variantes nos estados de Rondônia, Amapá e Pará, descrevendo a ocorrência de VK210 em infecções puras, enquanto que as variantes VK247 e *P. vivax-like*, estavam evidentes em infecções mistas.

Testes sorológicos têm identificado a presença de três variantes em amostras do estado de São Paulo (CURADO et al., 1995, 2006) e comunidades indígenas da região amazônica (ARRUDA et al., 1996, 1998).

Estudos têm também demonstrado diferenças na infectividade da variante de Anopheles, indicando que *Anopheles darlingi* eram os mais susceptíveis à infecção por VK210 (DA SILVA, et al., 2006). Na malária endêmica no mundo, GONZÁLES CERON et al., (1999), observaram a susceptibilidade dos mosquitos *Anopheles pseudopunctipennis* e *Anopheles albimanus* à infecção por genótipo VK210 e VK247, respectivamente. O genótipo VK247 também foi detectado em anofelinos originados do estado de São Paulo (BRANQUINHO et al., 1997) e Acre (MARRELI et al, 1998). Estes achados poderiam ser consequência das diferenças no surgimento desses genótipos em regiões geográficas específicas ou sugerem que o genótipo VK210 é a variante melhor adaptada no mundo (MACHADO e PÓVOA, 2000).

Embora tenham poucos estudos nessa área, têm-se tentado demonstrar que variantes do *P. vivax* podem produzir sinais clínicos e respostas diferentes ao tratamento e apresentar uma correlação entre os genótipos do *P. vivax* e a intensidade dos sintomas e a preferência do vetor, o que pode afetar a resistência à droga e conseqüente falência nas medidas de controle (GOPINATH, 1994), no entanto, POVOA et al., 2003, não observaram associação das variantes com a intensidade dos sintomas em pacientes com malária por *P. vivax*.

2.6- MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA MALÁRIA

A malária é uma patologia que, se o paciente não for atendido prontamente e tratado adequadamente, pode evoluir com complicações e até mesmo o óbito (TRAMPUZ et al., 2003). As manifestações clínicas se iniciam após um período de incubação que varia segundo a espécie de plasmódio: média de 12 dias para o *P. vivax* e de 15 dias para o *P. falciparum* (REY, 2001; DE SOUZA et al., 1997).

Os principais sinais e sintomas são: febre, calafrios, cefaleia e sudorese, sendo que outros também podem ser observados tais como: astenia, tonturas, mialgia, palidez cutâneo-mucosa, náuseas, vômitos, sinais de desidratação, dor abdominal, diarreia, tosse seca, dispneia, taquicardia, icterícia, colúria, hepato e esplenomegalia (TRAMPUZ et al., 2003). O quadro clássico é caracterizado pela tríade sintomática (crise malárica) formada por febre, calafrios e cefaléia, em episódios intermitentes. A febre invariavelmente está presente durante o paroxismo (KROGSTAD, 1995; DE SOUZA et al., 1997).

O paroxismo febril pode variar na dependência da espécie de plasmódio. Nas infecções causadas pelo *P. vivax* ou *P. ovale*, diz-se febre terçã benigna e os acessos da febre podem ter uma periodicidade de 48 horas (febre num determinado dia e apirexia nas 24 horas seguintes; já nas infecções onde o agente etiológico é o *P. falciparum*, diz-se febre terçã maligna (pela maior possibilidade de complicações e óbito), cujos acessos febris acontecem em períodos de 72 horas (febre num determinado dia, apirexia nas 48 horas seguintes). O termo febre quartã benigna é utilizado para designar as infecções causadas pelo *P. malariae* (REY, 2001).

Um evento importante para a patogenia da malária é a invasão das hemácias, pois permite a continuação do ciclo biológico do parasito e o aumento da parasitemia. Existem vários receptores na superfície das hemácias e a ligação inicial entre a célula e o merozoito se dá através da interação entre o ácido ciálico e a proteína de superfície do merozoito 1 (MSP-1) (HEDDINE, 2002).

Anemia e trombocitopenia são os achados laboratoriais mais frequentes, estando a intensidade dessas alterações relacionada com a gravidade da doença (TRAMPUZ et al, 2003; DA SILVA et al, 2004a). Distúrbios na eritropoiese e o aumento da destruição de hemácias são os principais eventos que provocam a anemia grave, e são causados diretamente pelo parasito, com eritrócitos infectados e até mesmo os não infectados que são removidos da circulação através da fagocitose e lise mediada pelo sistema complemento. A redução na produção de eritrócitos está relacionada com a baixa atividade da eritropoetina, refletindo em um baixo número de reticulócitos nos pacientes infectados (MENDIS et al., 2001; MACKINTOSH et al., 2004; VENTURA, et al.,1999, 2010).

Embora haja hipertrofia e hiperplasia do sistema retículoendotelial resultante da defesa do organismo na fagocitose de eritrócitos parasitados, nem sempre se observa hepatoesplenomegalia à palpação do abdome (MOURA et al, 1988).

Na grande maioria dos casos de malária as plaquetas estão diminuídas na corrente sanguínea, porém, distúrbios hemorrágicos são mais frequentes nas formas graves de malária *falciparum* (HILL & KNIGHT, 1964).

2.7- ACOMETIMENTO PULMONAR NA MALÁRIA *VIVAX*

Relatos de dano pulmonar e Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), relacionados à infecção malárica causada pelo *Plasmodium vivax* têm aumentado, sobretudo na última década (SALERI et al, 2006).

A malária provocada pelo *Plasmodium vivax*, ao longo do tempo foi considerada comumente como branda e de curso febril (KOH et al, 2004), porém ultimamente casos graves da doença vêm sendo relatados com acometimento pulmonar, coagulação intravascular disseminada, falência renal, choque, malária cerebral e óbito; (ANSTEY, 2009), tendo sido documentado sobretudo o comprometimento pulmonar como uma das formas graves de apresentação da malária *vivax*, semelhantes aquelas causadas pelo *P. falciparum* (PRICE et al, 2007).

Até recentemente considerada como doença benigna, a morte causada pelo *P. vivax* foi geralmente atribuída ou à ruptura traumática do baço em infecções agudas ou crônicas ou a suposta infecção mista com *P. falciparum*. Entretanto, doença grave relacionada somente com *P. vivax* tem sido descrita na literatura (MAGUIRE, 2007).

O envolvimento pulmonar na malária *vivax* é fato, porém a literatura tem relatado primordialmente as formas graves desse acometimento, incluindo dano pulmonar agudo e

SDRA (Da SILVA et al, 2003; PRICE et al, 2007), já as formas benignas de acometimento pulmonar (casos tratados ambulatorialmente) tem poucos relatos e pode incluir desconforto respiratório leve, acometimento do trato respiratório superior, derrame pleural de pequeno volume, edema intersticial ou consolidação lobar, podendo algumas vezes até passar despercebido, embora apresente potencial de evoluir para formas mais graves se não tratado a tempo e adequadamente (MARTINS et al, 1998).

Segundo alguns autores, o espectro de acometimento pulmonar inclui desde formas subclínicas, caracterizadas por hipóxia e hipocapnia de padrão restritivo, bronquite, infiltrado intersticial ou alveolar e derrame pleural, podendo chegar até ao edema pulmonar (HOVETTE, 1998; BOTELLA, 1998), complicação grave encontrada em até 1/3 dos casos fatais de malária (BOULOS, 1993; GODARD e HANSEN, 1971). Sua fisiopatologia, apesar de ainda não completamente conhecida, parece decorrer de causas variadas como: alteração da permeabilidade capilar (infecção, substâncias vasoativas, coagulação intravascular disseminada, reações imunológicas, alterações hemodinâmicas e uremia), por aumento da pressão hidrostática (administração excessiva de líquido), por diminuição da pressão oncótica (hypoalbuminemia), por insuficiência linfática ou por outros mecanismos (neurogênico e doença parenquimatosa) (BOULOS, 1993).

Embora vários fatores tenham sido implicados nos mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelos eventos do pulmão na malária *vivax*, estes ainda não são bem compreendidos (PRICE et al, 2007). A exemplo, BOTELHO et al, 1988, selecionaram 110 pacientes portadores de malária *falciparum* e *vivax* em Cuiabá, para estudar comprometimento pulmonar nessas duas espécies de plasmódio elencando os sintomas respiratórios e verificando a gasometria e espirometria dos pacientes e observaram a nítida associação entre a malária produzida pelo *P. vivax* e *P. falciparum* com as manifestações respiratórias apresentadas pela população de estudo.

Outro estudo realizado por Ohnishi e colaboradores em 2008 na tentativa de melhor compreender os mecanismos fisiopatológicos da malária pulmonar causada por *P. vivax*, selecionaram 83 pacientes para análise de polimorfismo dos genes de duas citocinas envolvidas na malária (TNF- α e IL-12 β), não encontrando associação significativa no grupo estudado.

Indivíduos sem imunidade geralmente desenvolvem doença clínica, inclusive severa quando infectados pela primeira vez, ao contrário daqueles que vivem em áreas endêmicas para malária, que estão constantemente expostos ao parasito, parecem adquirir um certo grau de proteção, o que explicaria parcialmente a baixa frequência dessas complicações nessas

áreas (LOMAR et al, 2005). Dessa forma a imunidade contra a malária não só modifica a prevalência da doença no decorrer da idade como tem um forte efeito no espectro clínico da doença (MARSH & SNOW, 1999).

Muitos aspectos da imunidade contra a malária não são completamente conhecidos e acredita-se que uma imunidade natural efetiva leve anos para se desenvolver em indivíduos expostos a sucessivas infecções (ARTAVANIS-TSAKONAS *et al.*, 2003; STEVENSON & ZAVALA 2006).

Porém essa resposta imune está sujeita a interferência de outros fatores relacionados ao parasito como o estágio evolutivo e também de fatores do hospedeiro como polimorfismos genéticos em genes do sistema imunológico, idade, estado nutricional, entre outros, e que podem afetar a natureza da resposta e o curso da infecção (RILEY *et al.*, 2006; STEVENSON & ZAVALA, 2006, RILEY, 2013).

Dentro desse contexto multifatorial, os estudos têm apontado na direção de que as citocinas, dentre elas o TNF α , desempenham um importante papel no quadro fisiológico e/ou patológico da malária, induzindo inclusive ao comprometimento pulmonar (KARUNAWEEERA, 1992b; PRICE, 2007). Por conseguinte, quando um indivíduo é infectado pelo parasito (em especial os primoinfectados), por ocasião do rompimento das hemácias infectadas, vai haver liberação de enzimas celulares e também pela própria presença do merozoita ocorre ativação de mecanismos de defesa inespecíficos com intensa estimulação de monócitos e macrófagos (BEUTLER et al, 1985; BEUTLER e CERAMI, 1987; BATE et al, 1994; DA SILVA, et al 2004c).

Uma vez estimulados, os monócitos e macrófagos vão produzir citocinas no sangue e nos tecidos, assim como fagocitar parasitos. As citocinas da fase aguda, dentre elas o Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) têm um papel relevante na apresentação do quadro clínico e também no controle da parasitemia. Vale ressaltar que o TNF-alfa quando elevado em níveis moderados, pode trazer benefícios ao hospedeiro, na medida em que age no controle da parasitemia. Já níveis excessivamente elevados, têm ações deletérias que contribuem para as complicações clínicas ou até mesmo o óbito (MANTOVANI e DEJANA, 1989; DANIEL-RIBEIRO e CRUZ, 2000; PRICE, 2009).

O TNF age também sobre as células endoteliais estimulando a produção de superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico. Esses fatores inibem a proliferação dos parasitos e também favorecem a morte desses parasitos, induzindo conseqüentemente à apoptose (morte celular programada) que em quantidades excessivas desses fatores, leva à

morte de células sanguíneas e teciduais (PRICE, et al, 2007; LOMAR, 2005, DA SILVA et al, 2004a).

A Figura 9 mostra que o TNF-alfa induz também à infiltração de leucócitos polimorfonucleares, sendo o pulmão um dos órgãos mais afetados por essa infiltração, pois essas células são lesivas ao interstício pulmonar e ao endotélio vascular. Lembrando que, a lesão do endotélio vascular favorece a permeabilidade capilar e o seqüestro de líquido do espaço intra para o extravascular, com formação de edema (DINARELLO e MIER, 1987; MANTOVANI e DEJANA, 1989).

O TNF-alfa inibe a expressão da trombomodulina e induz à plaquetopenia, concorrendo para fenômenos hemorrágicos e tromboembólicos- o que explica a hemorragia alveolar (MANTOVANI e DEJANA, 1989; DANIEL-RIBEIRO e CRUZ, 2008; DA SILVA et al, 2004b).

Embora diversos aspectos tais como densidade parasitária, fatores imunes, genéticos e tempo para início da terapêutica antimalárica tenham sido considerados na tentativa de explicar os eventos pulmonares na malária *vivax*, seus mecanismos ainda não são bem compreendidos (KARUNAWEEERA, 1998).

Esses fenômenos em conjunto, explicam em parte as formas graves de apresentação da malária pulmonar pelo *Plasmodium vivax*.

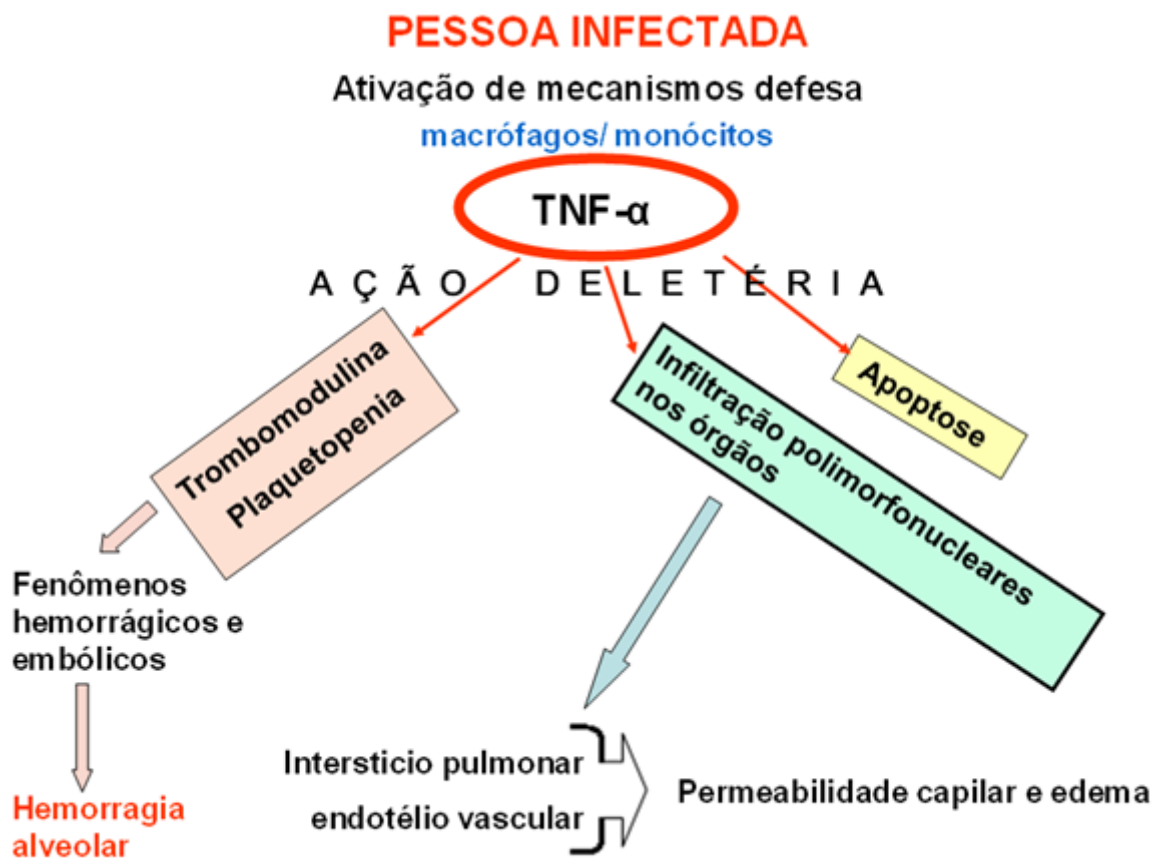


Figura 9 - Desenho esquemático da ação do TNF na malária pulmonar por *P. vivax*.

Fonte: Adaptado do texto Casos Atípicos de Malária *vivax* –Barroso *et al*, 2007.

2.8- OUTROS FATORES ASSOCIADOS

2.8.1- Primoinfecção malárica

Dados da literatura parecem sustentar a noção de que primoinfectados têm um maior risco de manifestações pulmonares causadas pelo plasmódio do que os reinfectedos. A primoinfecção malárica é um evento altamente patológico, principalmente devido ao parasita ter acesso à corrente sanguínea dentro das hemácias. A interação parasita-hospedeiro é capaz de determinar variações fenotípicas quanto à intensidade da resposta imunológica (KWIATKOWSKI *et al.*, 1997; TOSTA, 2001).

2.8.2- Tosse e doenças pulmonares prévias

Sendo a tosse um sintoma proeminente num quadro respiratório, este fato sugere um “alerta” na clínica médica diária. Tomando como protótipo de uma pneumopatia prévia, a

asma brônquica, sabe-se que do ponto de vista anatomopatológico a alteração predominante é a presença de inflamação das vias aéreas (SILVA et al., 2002). Com relação à tosse, e o fato de um paciente com malária *vivax* ter sido acometido previamente por outras pneumopatias, o que é comum esse achado em pacientes da região Amazônica como por exemplo, a tuberculose residual e a asma brônquica, foram demonstradas serem indícios de susceptibilidade ao comprometimento pulmonar na malária *vivax* (OHNISHI, 2008).

2.8.3- Obesidade ou sobrepeso

Desde a década de 90, vários estudos têm tentado mostrar associação entre o aumento do índice de massa corporal (IMC) e a prevalência de asma, (SCHACHTER et al, 2001; AKERMAN, 2004). Sabe-se que, a asma é uma doença inflamatória crônica caracterizada por hiperresponsividade das vias aéreas inferiores e por limitação variável ao fluxo aéreo, sendo reversível espontaneamente ou com tratamento (SBPT, 2002).

Recentemente, as alterações inflamatórias descritas em indivíduos obesos têm sido citadas como fatores passíveis de interferir nas manifestações clínicas da asma nestes indivíduos (BEUTHER et al, 2006). A condição inflamatória própria dos indivíduos obesos que inclui aumento do TNF- α e de outras citocinas pró-inflamatórias determina sobreposição destes mecanismos inflamatórios com os envolvidos na asma, acentuando a influência na contratilidade da musculatura das vias aéreas. (SHORE e FREDBERG, 2005; BEUTHER et al, 2006).

Mudanças na mecânica respiratória, diminuições da capacidade residual funcional e do volume corrente secundárias à obesidade, além do estilo de vida sedentário e da baixa capacidade para realizar atividades físicas dos obesos podem ocasionar piora dos sintomas de asma. Entretanto, a relação causal entre a obesidade e a gravidade da asma permanece controversa e estudos adicionais são necessários para o melhor esclarecimento da associação entre as duas doenças (HUOVINEN, 2003).

III- OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GERAL

Estudar os fatores epidemiológicos, imunológicos e parasitológicos associados ao comprometimento pulmonar na malária por *Plasmodium vivax*.

3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar parâmetros epidemiológicos, clínicos, funcionais e radiológicos, com ênfase nas manifestações pulmonares em pacientes infectados pelo *P. vivax*;
- Avaliar a influência da densidade parasitária e do *clearance* da parasitemia nas manifestações pulmonares;
- Avaliar a relação dos níveis séricos das citocinas: Fator de Necrose Tumoral (TNF), da Interleucina-10 (IL-10) e do Interferon gama (INF γ) com alterações pulmonares na malária *vivax*;
- Determinar a prevalência das variantes de *Plasmodium vivax* (VK210, VK247 e *P. vivax-like*) em pacientes infectados por essa espécie de plasmódio.
- Avaliar a associação entre as variantes de *P. vivax* e manifestações clínicas, com ênfase no comprometimento pulmonar;
- Correlacionar alterações radiológicas e de espirometria com as variantes do *P. vivax*;
- Correlacionar os níveis séricos das citocinas TNF, IL-10 e INF γ com as variantes de *P. vivax*.

IV- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- TIPO E DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo foi do tipo longitudinal, prospectivo, analítico e descritivo, envolvendo aspectos clínicos, epidemiológicos, imunológicos, laboratoriais (parasitológico, bioquímicos, de biologia molecular), radiológicos e de função pulmonar em pacientes portadores de malária *vivax*.

4.2- LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

A seleção de pacientes foi obtida primordialmente da demanda espontânea de indivíduos com malária atendidos no Laboratório de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas (LECEM/IEC/SVS/MS) e complementado com pacientes do serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará. Assim completou-se o tamanho amostral sendo incluídos de modo sequencial um total de 247 pacientes com malária por *P. vivax* no período de abril/2011 a outubro de 2013.

O Instituto está localizado no município de Ananindeua, no eixo da Rodovia BR 316, Km 7, município contíguo à cidade de Belém, capital do Estado do Pará, Brasil.

O Instituto Evandro Chagas, órgão vinculado à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde (MS), atua nas áreas de pesquisas biomédicas e na prestação de serviços em saúde pública. Sua área de atuação está relacionada às investigações e pesquisas nas áreas de Ciências Biológicas, Meio Ambiente e Medicina Tropical. O IEC tem se notabilizado por inúmeras descobertas, o que o torna referência mundial como centro de excelência em pesquisas científicas. O LECEM recebe pacientes de demanda espontânea ou referenciada de vários municípios vizinhos, ou mesmo de outros estados.

O município de Goianésia, localizado a 274 km de Belém, iniciou a ocupação de sua área na década de 1970 com o advento das obras da hidroelétrica de Tucuruí. A área beneficiou-se da necessidade da construção dos linhões de transmissões que levariam energia à Marabá e às minas de ferro da Serra dos Carajás e manutenção da rede elétrica e ligação rodoviária de Tucuruí com o restante do território nacional.

4.3- INCLUSÃO E ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES

O acompanhamento dos pacientes foi realizado desde o dia da inclusão (D0) até o 15º dia do início do tratamento (D14), segundo aprazamento mostrado no quadro 3. Em D0, os pacientes foram avaliados clínica e laboratorialmente, realizando gota espessa e exames

complementares. O controle da parasitemia mediante coleta de gota espessa foi realizada diariamente até que fossem observados resultados negativos em duas lâminas realizadas em dias consecutivos. O paciente então era dispensado, admoestado para manter o tratamento em domicílio e retornar no 8º dia de tratamento (D7), realizando gota espessa, reavaliação clínica e aprazamento do controle de cura, conforme preconizado pelo protocolo de rotina do LECCEM/IEC/SVS/MS (Anexo A). Seguindo o protocolo de pesquisa (Apêndice A), o paciente retornava no D14, para nova avaliação clínica, entrega dos exames complementares realizados em D0 e repetição dos exames laboratoriais, radiológico e espirometria para efeito de comparação. No 1º controle de cura (D30), após avaliação clínica, os pacientes recebiam os demais exames laboratoriais, comparando-se e explicando-lhes os resultados.

Quadro 3 - Inclusão e acompanhamento dos pacientes (atividades realizadas)

Atividades	D0	D1	D2	D3 ou até negativação de 2 lâminas em dias consecutivos	D7	D14
Gota espessa	X	X	X	X	X	X
História Clínica inicial e Exame Físico	X					
Consulta médica de acompanhamento		X	X	X	X	X
Determinação molecular das variantes do <i>P. vivax</i>	X					
Outros exames laboratoriais*	X					X
Dosagem de citocinas **	X					X
RX de tórax	X					X
Espirometria	X					X

*Hemograma, contagem de plaquetas, AST, ALT, Bilirrubinas.

** TNF, IL-10, IFN γ .

Fonte: Dados primários

4.4- LOCAIS DE REALIZAÇÃO DE EXAMES COMPLEMENTARE

- Os exames de gota espessa, hemograma, contagem de plaquetas, AST, ALT e bilirrubinas foram efetuados no Serviço de Patologia do Instituto Evandro Chagas.
- As dosagens das citocinas foram realizadas no Departamento de Patologia da Universidade Federal do Pará.
- A extração do DNA e genotipagem para identificação das subespécies do *Plasmodium vivax* (VK210, VK247 e *P. vivax-like*) foram realizadas no Laboratório de Doenças Infecto Parasitárias da Universidade de São José do Rio Preto – SP.
- As radiografias de tórax e as espirometrias foram realizadas no Hospital Universitário João de Barros Barreto, Belém – PA.

4.5- POPULAÇÃO DE ESTUDO

Os pacientes incluídos na pesquisa foram provenientes dos diversos municípios do estado do Pará e de outros estados ou países vizinhos onde a malária é endêmica. Foram incluídos pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de malária por *P. vivax* que procuraram voluntariamente atendimento nos serviços de diagnóstico de malária mencionados, entre abril/2011 a outubro de 2013. Os indivíduos procuraram o serviço por apresentarem queixas sugestivas de malária, cujo diagnóstico foi dado pelo encontro do parasita (*P. vivax*) pela técnica da gota espessa, com coloração pelo Giemsa, após leitura ao microscópio ótico, realizado por microscopistas experientes do serviço.

A confirmação do diagnóstico por biologia molecular aconteceu por ocasião da genotipagem para identificação das variantes do *P. vivax*.

Os pacientes que concordaram em participar do estudo foram submetidos a uma entrevista com um profissional médico, quando foram explicados os objetivos da pesquisa, os exames que seriam realizados em D0 e D14: exames laboratoriais de rotina (hemograma, AST, ALT, bilirrubinas), RX de tórax e prova de função respiratória (espirometria).

Os pacientes que cumpriram todos os critérios de inclusão e concordaram em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice B), sendo então incluídos de forma sequencial até completar o tamanho da amostra.

4.5.1- Critérios de inclusão:

- Indivíduos de ambos os gêneros;
- Com idade entre 15 e 60 anos;
- Com diagnóstico clínico e laboratorial de malária por *P. vivax*.
- Primoinfectados ou com infecção prévia por malária há mais de 30 dias;
- Parasitemia mínima de 500 V/mm³;
- Os que aceitaram participar do estudo e assinaram o TCLE (Apêndice B). No caso de menores o termo foi assinado pelo responsável legal.

4.5.2- Critérios de exclusão:

- Grávidas e nutrízes;
 - Pacientes com evidência de doença de base grave, descompensadas ou não controladas (cardíaca, renal, hepática, neoplasias); ou infecciosas (tuberculose, hanseníase, Doença de Chagas e outras); ou portadores de doenças autoimunes (pênfigo, psoríase, lúpus e outras); ou ainda em uso de drogas imunossupressoras como corticosteroides e citotóxicos.
 - Os que apresentavam malária causada por *P. falciparum*, *P. malariae* ou malária mista (*P. vivax* + *P. falciparum*);
 - Pacientes que não se comprometiam em realizar os exames no D14;
 - Pacientes que abandonaram o estudo antes da verificação do desfecho.
- Aqueles pacientes, excluídos da seleção, foram atendidos conforme a rotina do serviço.

4.6- TAMANHO DA AMOSTRA

Para cálculo do tamanho amostral considerou-se dados de projeto anteriormente realizado (OHNISHI, 2008) no mesmo local onde observou-se prevalência de achados de alteração na espirometria e Rx de torax de 28%.

Considerando a prevalência esperada de 28%, um Intervalo de Confiança de 95% e amplitude do Intervalo de Confiança de 12%, obteve-se um tamanho amostral de 216 pacientes. Considerando-se 10% de não respondedores, obteve-se o tamanho amostral de 236 pacientes.

4.7- DEFINIÇÃO DOS CASOS DO ESTUDO

O grupo de estudo foi constituído por pacientes com diagnóstico de malária *vivax* através do exame da gota espessa e confirmados por PCR, que apresentavam um ou mais sintomas respiratórios (tosse, dispneia, dor torácica, cianose) e/ou alterações pulmonares aos RX, e/ou alterações na espirometria.

Os pacientes com diagnóstico de malária *vivax* confirmados por PCR e que não apresentavam os critérios acima referidos, constituíram o grupo controle.

Foi avaliado o paciente no pré-tratamento (D0) e reavaliado no D14 (15º após início do tratamento) nas mesmas condições anteriores em que foram avaliados em D0 (amostras pareadas).

4.8- PROCEDIMENTOS PARA DIAGNÓSTICO E SEGUIMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL

4.8.1- Avaliação clínica

Os pacientes foram avaliados clinicamente pela pesquisadora ou outro profissional médico. Foram registrados nos instrumentos de coleta, dados referentes à identificação, anamnese, exame físico, informações epidemiológicas, tratamento instituído, evolução e resultados de exames.

Em relação aos dados epidemiológicos foram coletadas informações referentes a idade, gênero, procedência, atividade laboral, tempo de doença e número de infecções maláricas prévias.

O tempo de doença, a parasitemia, o hábito tabágico, o Índice de Massa Corpórea (IMC) e os antecedentes de doenças pulmonares também foram investigados.

Estabeleceu-se como tempo de doença o intervalo decorrido entre a data dos primeiros sintomas e a data da realização do exame da gota espessa para o diagnóstico de malária *vivax* (D0).

O Índice de Massa Corpórea (IMC) foi calculado com base nos parâmetros definidos pela Organização Mundial de Saúde (2006). Os dados antropométricos de peso e altura para o cálculo do IMC foram retirados dos prontuários/protocolo ou das fichas padrão do IEC.

O IMC foi calculado, em D0, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg)} / (\text{altura em metro}^2)$$

IMC= Peso adequado $>18,5$ <25 ; sobrepeso $\text{IMC} < 25$; $< \text{IMC} > 30$; obesidade $\text{IMC} \geq 30$.

A parasitemia foi avaliada diariamente até que fossem observados resultados negativos em duas lâminas realizadas em dias consecutivos.

Foi avaliada a presença da tríade da malária: febre, calafrio e cefaleia, assim como outros sinais e sintomas tais como astenia, mialgia, náuseas, vômitos, colúria, oligúria,

petéquias, sangramentos, icterícia, hepatomegalia, esplenomegalia e manifestações de comprometimento pulmonar.

Considerou-se febre quando o paciente apresentava temperatura axilar igual ou superior a 38°C.

Quanto ao aparelho respiratório, foram relatados e investigados sinais e sintomas como tosse, dor torácica, sensação de falta de ar, tiragem intercostal, dispnéia e cianose.

Para o exame físico do aparelho respiratório, avaliando-se assim um possível comprometimento pulmonar nos pacientes com malária *vivax*, utilizou-se métodos propedêuticos habitualmente empregados: inspeção do tórax, palpação, percussão, ausculta e verificação da frequência respiratória (em um minuto).

Para a frequência respiratória utilizou-se como referência os parâmetros de normalidade do número de incursões respiratórias em um minuto (irm) que para um indivíduo adulto corresponde a 16-20 irm (Zin, 2002).

A distinção entre sensação de falta de ar e dispnéia foi realizada mediante associação de dados de anamnese e de exame físico: “sensação de falta de ar” (anamnese) e alteração da frequência respiratória (exame físico), que na ausência de febre, interpretou-se como dispnéia. Por outro lado, “sensação de falta de ar” (anamnese) mediante frequência respiratória dentro dos parâmetros da normalidade (exame físico), interpretou-se como “falta de ar” de natureza física (subjetiva) ou psicogênica (Zin, 2002).

Os demais dias de avaliação foram denominados de D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, período em que os pacientes da pesquisa foram avaliados nos aspectos clínicos, segundo as normas adotadas pelo LECHEM/IEC/SVS/MS.

Como já referido, os pacientes retornaram no D14 para reavaliação clínica e realização dos exames complementares para comparação com aqueles realizados no primeiro dia de atendimento (D0).

4.8.2- Avaliação laboratorial

Acompanhamento parasitológico

* Exame direto da gota espessa

A pesquisa quantitativa do *Plasmodium vivax* foi realizada pelo método da gota espessa em D0, para o diagnóstico da doença, início do tratamento e inclusão do paciente na pesquisa. E posteriormente o exame era realizado diariamente até o momento em que os resultados mostrassem duas lâminas negativas em dias consecutivos, e em D7, ao final do tratamento. Este exame também foi realizado no D14, seguindo o protocolo do estudo.

O método da gota espessa (Procedimento Operacional Padrão do Laboratório do Programa de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas) segue a metodologia de Antunãno (1988), conforme abaixo:

- a) realizar assepsia da face lateral do dedo indicador (de preferência) com algodão embebido em álcool a 70%;
- b) limpar o local da punção com algodão seco, para retirada do álcool;
- c) fazer punção digital, com lanceta descartável;
- d) desprezar a primeira gota de sangue evitando dessa maneira que possa haver resto de álcool que fixe o sangue, e aproveitar a gota seguinte, estendendo-a sobre uma das extremidades da lâmina em área de aproximadamente 1 cm²
- e) identificar a lâmina (nome completo do paciente, data do exame e dia do tratamento: D0, D1, etc.);
- f) secar a lâmina ou no ambiente ou com uso de secador de cabelo com baixa temperatura ou dentro de uma estufa graduada a 30°C;
- g) realizar coloração da lâmina pela técnica de Walker, em dois tempos:
 - g1) Primeiro tempo: imersão da lâmina em solução de azul de metileno fosfatado para ruptura das hemácias e liberação da hemoglobina (melhor visualização do plasmódio), lavando-a em seguida para retirada do excesso de material, com uma solução de água tamponada;
 - g2) Segundo tempo: colocação do corante de Giemsa, aguardando-se um intervalo de tempo de sete a dez minutos, findo os quais, procede-se a imersão da lâmina em solução de água tamponada para limpeza da mesma;
- h) secar a lâmina;
- i) realizar a leitura da lâmina em microscópio óptico com auxílio da objetiva de imersão.

Na leitura da lâmina foram percorridos 100 campos microscópicos (correspondente 0,2 mm³ de sangue). O resultado expressa a média de parasitas / mm³ de sangue, ao multiplicar-se por 5 o número de parasitas visualizados nos 100 campos microscópicos.

Hematologia

Hemograma, com destaque para a taxa de hemoglobina (anemia) contagem de plaquetas (plaquetopenia); dosagem de AST, ALT e bilirrubinas para detectar comprometimento da função hepática, foram realizados em todos os sujeitos da pesquisa em D0 e D14.

***Hemograma**

Hemograma: (Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Patologia do Instituto Evandro Chagas).

O sangue coletado foi armazenado em tubo com EDTA (ácido etileno diamino tetracético), para realização de hemograma com contagem de plaquetas. O hemograma foi realizado num Contador Automático de Células Sanguíneas, Modelo Pentra 120 Retix – Abx Diagnostics, no Laboratório de Patologia Clínica do Instituto Evandro Chagas. O sangue foi coletado de veia periférica e armazenado em frasco com EDTA. A amostra foi enviada para realização de hemograma, em geral, imediatamente após a coleta, ou no máximo em 24 horas (sangue conservado em geladeira, 4 °C a 8°C). No hemograma, foram obtidos os seguintes parâmetros: dosagem espectrofotométrica de hemoglobina (método de cianometahemoglobina) (g/dl), contagem total de eritrócitos (em milímetro cúbico), determinação do hematócrito (em percentual), do volume corpuscular médio (VCM) (em fentolitros), da hemoglobina corpuscular média (HCM) (em picograma), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (em percentual), do índice de anisocitose (RDW) (em percentual), contagem total de leucócitos (em milímetro cúbico), contagem diferencial dos leucócitos, em valores absolutos (em milímetro cúbico) e em valores relativos (em percentual), contagem total de plaquetas (em milímetro cúbico).

Os dados relativos ao hemograma foram analisados de uma forma integral, mas utilizados como parâmetros para a pesquisa os dados relativos principalmente a presença ou não de anemia (hemoglobina) e presença ou não de plaquetopenia (contagem de plaquetas).

Os valores de referência da Organização Mundial de Saúde/OMS (DALLMAN, 1996), indicam anemia quando a taxa de hemoglobina se encontra menor que 12 g% nos indivíduos do sexo feminino com idade igual ou maior que 10 anos. E para os indivíduos do sexo masculino com idade igual ou maior que 10 anos, quando a taxa de hemoglobina está menor que 13g%.

Os valores de referência para a contagem de plaquetas, baseada na Tabela de Lorenzi, 2003, mostra normalidade das plaquetas, quando estas estiverem na faixa de 150.000 - 450.000/mm³ para ambos os gêneros e com idade igual ou superior a 10 anos. Considerou-se, portanto plaquetopenia quando os níveis de plaquetas dos pacientes estavam abaixo de 150.000 plaquetas/mm³.

***ALT, AST e Bilirrubinas**

Foram dosadas as enzimas ALT (Alanina Aminotransferase) e AST (Aspartato Aminotransferase), assim como, as bilirrubinas diretas, indireta, e total em todos os pacientes

da pesquisa, no equipamento COBRAS INTEGRA 400, seguindo as orientações do Kit do fabricante *Diagnostics*®.

Foi coletado amostra de sangue periférico (6 mL) utilizando-se seringa e agulha descartáveis, e foi acondicionado em tubo a vácuo contendo o anticoagulante etileno diamino tetracético (EDTA). Com o material obteve-se os seguintes exames: 2 mL para realização de hemograma, dosagem de AST, ALT e bilirrubinas; 2 mL para extração do DNA e genotipagem para identificação das variantes do *Plasmodium vivax* (VK210, VK247 e *P. vivax-like*) e 2 mL para a dosagem das citocinas do estudo (TNF, IL-10 e INF γ).

Os pacientes foram avaliados e acompanhados de acordo com a ficha de Vigilância da Resposta dos Parasitas da Malária do IEC (Anexo A) e com a ficha prontuário do protocolo de pesquisa (Apêndice A).

4.9- EXAME DE IMAGEM: RADIOGRAFIA DE TÓRAX

Os pacientes do estudo realizaram radiografias de tórax em posição posteroanterior e perfil nos dias D0 e D14, em aparelho INTECAL-630 mA. As leituras e laudos dos achados radiológicos foram realizados por um único radiologista do Hospital Universitário João de Barros Barreto, com larga experiência em radiologia, juntamente com a pesquisadora.

As radiografias de tórax têm sido utilizadas como o primeiro método na avaliação das doenças cardiorrespiratórias e também na investigação do mediastino. Ainda nos dias de hoje, a radiologia convencional desempenha um importante papel na investigação de imagens especialmente por seu baixo custo, simples realização e alto rendimento diagnóstico, assim como por sua disponibilidade universal (SBPT, 2002; Silva e Nascimento, 2013).

4.10 - PROVA DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA

Na avaliação da função pulmonar foi utilizada a prova de função respiratória (espirometria). Foram realizadas espirometrias no momento do diagnóstico (D0) e em D14.

A prova de função respiratória foi executada com aparelho VITALOGRAPH SPIROTRAC IV - versão: Spirotrac 2170, versão 4.02. O aparelho acoplado a um computador realizou os testes de função pulmonar de forma padronizada e, portanto, com menor chance de erros.

Os valores obtidos foram comparados a valores previstos adequados para a população avaliada. Assim, a interpretação desse exame foi realizada à luz dos dados clínicos e epidemiológicos, utilizando-se valores de referência teóricos para adultos, tendo sido dado o diagnóstico da função respiratória do paciente utilizando-se a Tabela de Knudson (Tabela 1) (PEREIRA, 2002).

Os resultados das espirometrias dos pacientes obtidos nesse exame foram comparados aqueles obtidos de uma população saudável com as mesmas características: sexo, idade, raça, peso e altura, conforme Tabela de Knudson.

Foram considerados na avaliação da espirometria os seguintes valores:

- Capacidade vital forçada (CVF);
- Volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1);
- Relação VEF1/CVF (ou Índice de Tiffeneau);
- Fluxo expiratório forçado médio na faixa intermediária da CVF (FEF25-75%).

Posteriormente os dados foram classificados de acordo com os padrões da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (2002).

Tabela 1 - Tabela de Knudson (Avaliação da prova de função respiratória).

parâmetros	Teórico	Pre	%Teór	Post	%Teór	Cambio	%cambio
SVC							
FVC							
FEV1							
FEV1/FVC							
PEF							
FEF25-75							
FEF75-85							
PIF							
MVV							

SVC (Slow Vital Capacity): capacidade vital lenta; FVC (Forced Vital Capacity): capacidade vital forçada; FEV1 (Forced Expiratory volume in 1 second): volume expiratório forçado no primeiro segundo; FEV1/FVC: razão entre o volume expiratório forçado e capacidade vital forçada; PEF (Peak Expiratory Flow): pico de fluxo expiratório; FEF 25-75 (Forced Midexpiratory flow rate): média de fluxo expiratório forçado (em L/s) durante a metade de FVC; FEF 75-85 (Forced Midexpiratory flow rate): média de fluxo expiratório forçado (em L/s) entre 75- 85% de FVC; PIF (Peak Inspiratory Flow): fluxo inspiratório máximo; MVV (Maximum voluntary ventilation): ventilação voluntária máxima.

Fonte: Pereira (2002)

4.11- MÉTODOS MOLECULARES

A identificação das subespécies (variantes) do *Plasmodium vivax* foi realizada no material colhido no D0 (dia do diagnóstico, em que os parasitos estavam presentes no sangue periférico).

A técnica de biologia molecular para identificação das variantes do *Plasmodium vivax* foi desenvolvida em duas etapas: a extração do DNA e a determinação do genótipo do parasito (PCR-RFLP).

4.11.1- Extração do DNA

A extração de DNA foi feita segundo o método descrito por Old & Higgs (1993), consistindo nos seguintes passos:

- a) Colocar sangue total (5 mL) em um tubo de 15 mL;
- b) Completar com solução salina (9g/L de NaCl) até 14 mL;
- c) Proceder centrifugação (3000 rotações por minuto durante 10 minutos);
- d) Desprezar o sobrenadante;
- e) Adicionar ao “pellet” 5 mL de tampão de lise de hemácias (5mmol/L de MgCl₂, 20 mmol/L de Tris-HCl, pH: 7,8);

- f) Realizar nova centrifugação (3000 rotações por minuto durante 10 minutos);
- g) Desprezar o sobrenadante;
- h) Adicionar ao “pellet” 5 mL de lise de leucócitos (0,2 mol/L de NaCl, 1mmol/L de EDTA e 10 mmol/L de Tris-HCl, pH: 7,8);
- i) Adicionar então 500µL de SDS (sódio duodecilsulfato) a 10% e 10µL de proteinase K (20mg/mL);
- j) Agitar o material durante 2h a temperatura ambiente;
- k) Adicionar um volume de fenol, sendo então agitado por 10 minutos; centrifugado (3000 rotações por minuto durante 10 minutos);
- l) Transferir o sobrenadante para um outro tubo e adicionar um volume de clorofórmio-isopropanol (24:1) e agitado por 10’;
- m) Centrifugar o material (3000 rotações por minuto durante 10 minutos);
- n) Transferir o sobrenadante para outro tubo de 15 mL e adicionar 2,5x o volume de isopropanol e misturado por inversão até a precipitação do DNA;
- o) Retirar o DNA precipitado e transferir para um outro tubo;
- p) Deixar o DNA secando a temperatura ambiente por aproximadamente 12h;
- q) Adicionar água para hidratar;
- r) Deixar o DNA durante 12 h em banho-maria (37° C) ou em temperatura ambiente até que sua dissolução tenha se completado.

4.11.2- Determinação do genótipo do parasito (genotipagem)

Para o diagnóstico molecular das variantes da proteína circunsporozoíta (CS) do *Plasmodium vivax*, o protocolo utilizado foi o descrito por Alves et al (2007). O DNA de todas as amostras de *P. vivax* incluídos neste estudo foi amplificado com os seguintes iniciadores:

- PR1(5’ - TCCATCCTGTTGGTGGACTT-3’) e
- PR2 (5’ - TCACAACGTTAAATATGCCAG-3’).

a) amplificar o DNA (1,5 µL) em um volume total de reação consistindo de 50 µL 1x PCR buffer (10mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl), 1,0 mM de MgCl₂, 0,5 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 100 µM dNTPs, 1 U ampli-Taq DNA.

b) realizar trinta e cinco ciclos de amplificação (Termocycler, DNA Master Cycler, Eppendorf, E.U.A.);

c) posteriormente iniciar a desnaturação do DNA a 94 ° C por 5 min. Cada ciclo consiste de uma desnaturação a 93°C por 60s, um anelamento a 60°C por 90s e uma extensão a 72°C por 1 min, com uma extensão final a 72°C por 10 min após o último ciclo.

d) analisar os produtos de PCR por eletroforese utilizando géis de agarose a 1,5% e corados com brometo de etídio. Como controle negativo foram utilizadas amostras de sangue de paciente diagnosticado com presença de *P. falciparum* e de doadores de sangue que vivem em áreas com resultados moleculares negativos para *Plasmodium*.

e) as enzimas de restrição selecionadas são obrigadas a ter pelo menos um sítio de clivagem no produto de amplificação de cada variante, resultando em fragmentos de DNA facilmente visíveis em gel de poliacrilamida.

f) os produtos digeridos são criados com 10 µL do produto PCR e 1 U da respectiva enzima (Alu I e Dpn I, Promega, E.U.A.) e incubada por 1 h a 37° C.

g) separar os fragmentos de restrição por eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5%.

h) a seguir corar os géis com brometo de etídio e analisar, com um gel iluminador Doc 2000 (Bio-Rad, E.U.A.) (foto 1).

i) utilizar RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Alu I, para distinguir os três genótipos de *P. vivax*, sendo então identificados fragmentos de 243, 135, 133, 108, 90, 78, 57, 54, 30, 27 pares de base (pb) para o genótipo VK210; fragmentos de 673, 243, 90, 78 (pb) para *P. vivax* VK247 e fragmentos de 786, 101, 83, 70 e 62 (pb) para o *P. vivax*-like.

j) na utilização de RFLP Dpn I, são observados fragmentos com tamanhos de 969, 71 e 50 pb para *P. vivax* VK210; e fragmentos de 360, 225, 108, 81, 71, 54, 50, 27 pb para *P. vivax* VK247. Para o *P. vivax*-like é esperado a obtenção dos fragmentos de 883, 169 e 50 (pb)

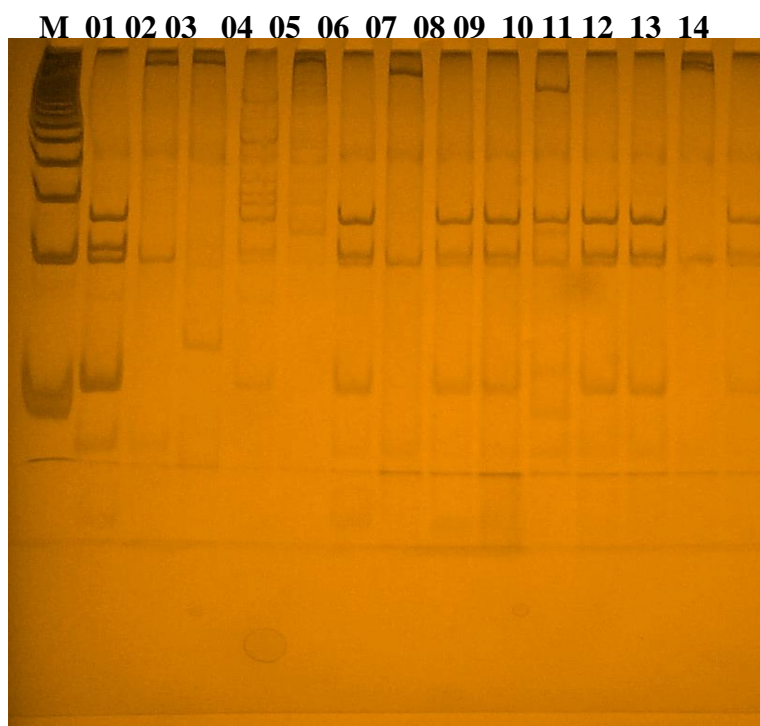


Foto 1- Padrões de bandas CS-PCR-RFLP. A digestão dos produtos amplificados de variantes *P. vivax*. Imagem mostrando os fragmentos de digestão com Alu I. M: 50 ladder pb. Os produtos correram em gel de poliacrilamida a 12,5%. PCR-RFLP para *P. vivax* variante VK 210 mostrou fragmentos de 135, 106, 100, 54, 43 e 27 pb. Três fragmentos de 691, 100 e 43 pb foram específicos para a variante *P. vivax* VK247, entretanto para *P. vivax-like* foram formados fragmentos de 731, 62 e 41 pb. As amostras 01, 02 e 03 são controles de VK 210, VK247 e *P. vivax-like*, respectivamente. As amostras 06, 08, 09, 11, 12 e 14 são VK 210, as amostras de 07 e 13 são VK247 e a amostra 10 é VK 210 + VK247.

Fonte: Dados primários

4.12- DOSAGEM SÉRICA DAS CITOCINAS

A determinação da concentração sérica das citocinas foi realizada por ensaio imunoenzimático (ELISA) de captura, conforme recomendado pelo fabricante do kit (BD Biosciences – Pharmingen, San Diego, USA), nas seguintes etapas:

- a) A placa foi sensibilizada com anticorpos monoclonais diluídos em tampão carbonato a 0,05 M (ph 9,6) para detecção das citocinas, TNF, IL-10 e IFN γ ;
- b) A placa contendo os anticorpos de captura foi incubada a 4°C por 16 horas;
- c) Após a incubação, a placa foi lavada três vezes com PBS-Tween 20 (tampão de lavagem concentrado contendo NaCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ e Tween 20), 0,05%;
- d) Foram adicionados 200 μ L de PBS-SBF (Soro Bovino Fetal) 10%, durante uma hora, a temperatura ambiente;
- e) Após esta etapa, foram adicionados 100 μ L de soro em cada poço, e a placa permaneceu à temperatura ambiente por duas horas;

- f) As amostras foram analisadas em duplicata.
- g) Após o período de incubação, a placa foi lavada cinco vezes com PBS-Tween 20 0,05%;
- h) Em seguida, foi adicionado o anticorpo de detecção específico para a citocina a ser pesquisada. Este anticorpo foi conjugado à estreptavidina-peroxidase;
- i) Após uma hora, a reação enzimática foi revelada pela adição de 1 mg/mL de tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio;
- j) Em seguida, a placa ficou incubada por 30 minutos;
- k) A reação enzimática foi interrompida pela adição de 50 μ L de HCl 2N;
- l) Para a determinação da concentração sérica em pg/mL das citocinas, TNF, IL-10, e IFN γ foram estabelecidas curvas padrão utilizando-se citocinas recombinantes nas concentrações que variaram de 4,7 a 500 pg/mL, obtidas por diluição seriada em PBS-SBF 10%;
- m) Desta forma, foram obtidas as seguintes concentrações para as curvas padrão:
 - TNF: 300; 150; 75; 37,5; 18,8; 9,4 e 4,7 pg/mL.
 - IL-10: 500; 250; 125; 62,5; 31,3; 15,6; 7,8 pg/mL.
 - IFN γ : 300; 150; 75; 37,5; 18,8; 9,4; e 4,7 pg/mL;
- n) A densidade ótica (DO) foi determinada em um leitor de placas de ELISA (BioTek, USA) em comprimento de onda de 450 nm (DO₄₅₀), como mostra a Foto 2 no caso da IL-10 em D0.
- o) Para transformar os valores de densidade ótica em pg/mL, foi utilizado o software GraphPad InStat (versão 3.01, 1998).

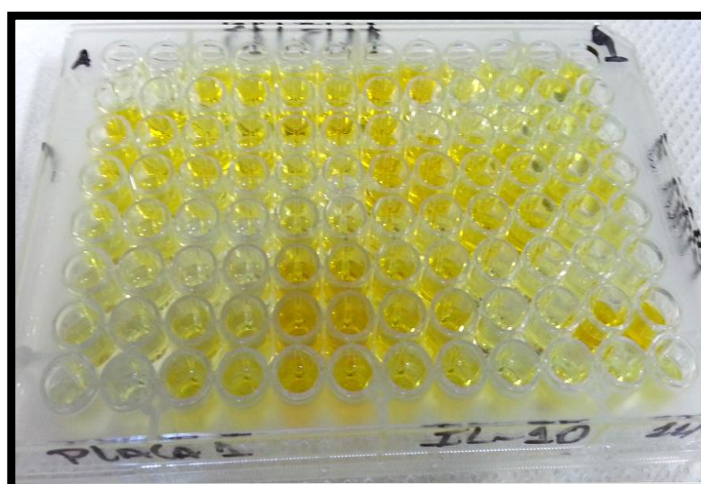


Foto 2 – Ensaio Imunoenzimático de captura (ELISA)

Ensaio Imunoenzimático de captura (ELISA). Imagem mostrando concentração sérica da citocina IL-10 no D0 (dia do diagnóstico da malária vivax) através do espectro de densidade ótica (DO₄₅₀)

Fonte: Dados primários

4.13- TRATAMENTO DOS PACIENTES

Os casos de malária por *Plasmodium vivax* foram tratados com cloroquina associada à primaquina, segundo o que preconiza o Ministério da Saúde do Brasil através do Guia para o Tratamento da Malária (2010) para um paciente adulto (quadro 4), ajustando as doses aos respectivos pesos dos pacientes como mostra o quadro 5.

Como hipnozoitocida do *P. vivax*, a primaquina é eficaz na dose de 0,50 mg de base/kg de peso durante sete dias. O esquema curto, em 7 dias com a dose dobrada, foi proposto para minimizar a baixa adesão ao tratamento, geralmente ocorrendo com o tempo mais prolongado de uso da droga. Em caso de pacientes com mais de 70 kg de peso, a dose de primaquina pode ser ajustada, calculando-se a dose total de 3,2 mg/kg de peso, que pode ser atingida num período maior de dias (Quadro 5).

Quadro 4- Tratamento das infecções pelo *P. vivax* com cloroquina em 3 dias e primaquina em 7 dias.

Idade/Peso	Número de comprimidos por medicamento por dia						
	1º dia		2º dia		3º dia		4º ao 7º dias
	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Primaquina INFANTIL
6-11 meses 5-9 kg	1/2	1	1/4	1	1/4	1	1/2
1-3 anos 10-14 kg	1	2	1/2	1	1/2	1	1
4-8 anos 15-24 kg	1	2	1	2	1	2	2
Idade/ Peso	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Primaquina ADULTO
9-11 anos 25-34 kg	2	1	2	1	2	1	1
12-14 anos 35-49 kg	3	2	2	2	2	2	1
≥ 15 anos ≥ 50 kg	4	2	3	2	3	2	2

- Cloroquina: comprimidos de 150 mg, Primaquina infantil: comprimidos de 5 mg e Primaquina adulto: comprimidos de 15 mg.
 - Sempre dar preferência ao peso para a escolha da dose.
 - Todos os medicamentos devem ser administrados em dose única diária.
 - Administrar os medicamentos preferencialmente às refeições.
 - Não administrar primaquina para gestantes ou crianças menores de 6 meses
 - Se surgir icterícia, suspender a primaquina.
 - Se o paciente tiver mais de 70 kg, ajustar a dose de primaquina

Fonte: (M. da Saúde, 2010)

Quadro 5 - Ajuste da dose e tempo de administração da Primaquina para pacientes com peso igual ou superior a 70 Kg.

Faixa de peso (kg)	Dose total de primaquina (mg)	Tempo de administração (dias)	
		Esquema longo (15 mg/dia)	Esquema curto (30 mg/dia)
70-79	240	16	8
80-89	272	18	9
90-99	304	20	10
100-109	336	22	11
110-120	368	24	12

Fonte: (M. da Saúde, 2010)

4.14- ASPECTOS ÉTICOS:

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas – Parecer de aprovação nº 005/2010 de 26 de fevereiro de 2010 (Anexo B).

O projeto cumpriu todas as recomendações da resolução Nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos. A privacidade e o sigilo de todos os dados e informações recolhidas dos participantes do estudo, incluindo as provenientes de amostras clínicas foram garantidos.

Os exames foram executados dentro do rigor ético, sendo garantida assistência médica durante o acompanhamento. Foi indicado um telefone de referência para comunicar possíveis eventualidades. Os objetivos da pesquisa foram explicados para todos os pacientes ou para seus responsáveis legais, no caso de menores de idade. Aqueles que aceitaram participação voluntária assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apendice B).

4.15- ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações coletadas da pesquisa foram inseridas no programa EPI INFO versão 6.04 (DEAN *et al.*, 1996) para análise estatística. As tabelas e gráficos foram construídos no Microsoft EXCEL 2007. Na avaliação dos resultados foram utilizados métodos estatísticos descritivos (média, desvio padrão) e/ou analíticos, adotando-se 95% como nível de significância, calculadas através do software Bio Estat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

Para seleção do teste estatístico realizou-se o teste d'Agostino para verificar se havia uma distribuição normal dos resultados. Em caso afirmativo, testes paramétricos foram

utilizados. Por outro lado, se os dados estavam dispostos de modo assimétrico, testes não paramétricos foram empregados.

Utilizou-se o teste do Qui-Quadrado e o Teste G para a análise das variáveis qualitativas.

Assim, o **Qui-Quadrado** foi utilizado para verificar:

- a) A maior precocidade no estabelecimento do diagnóstico da malária nos reinfectedos se comparados com aqueles que tinham a primeira infecção malárica;
- b) A associação entre o tempo de desaparecimento da parasitemia com o histórico de malária;
- c) Se havia ou não influência do tabagismo e das pneumopatias prévias nos pacientes com alterações no RX de tórax;
- d) Se havia associação entre alterações radiológicas e o fato de o paciente ser primo ou reinfectedo por malária;
- e) A relação entre sintomas respiratórios com a espirometria normal ou alterada;
- f) Se havia associação entre primo e reinfecção, assim como, tempo de doença e parasitemia com alterações pulmonares no RX e/ou espirometria.

O **Teste G** foi utilizado para:

- a) Verificar a relação entre IMC e dispneia;
- b) Verificar anemia e plaquetopenia em D0 e D14;
- c) Demonstrar estatisticamente as alterações pulmonares na radiografia de tórax em D0 comparando com o D14 (após tratamento antimalárico);
- d) Verificar associação entre variantes do *P. vivax* e alterações pulmonares (RX e/ou espirometria).

O **Teste t-Student** foi utilizado para análise das variáveis quantitativas com distribuição normal, e verificou:

- a) A relação entre parasitemia e histórico de malária;
- b) O impacto da malária nos parâmetros laboratoriais normais comparando D0 e D14 (antes e após tratamento, respectivamente);
- c) Comparação dos níveis séricos das três citocinas estudadas em D0 com D14;
- d) As médias dos níveis séricos das citocinas em primo e reinfectedos;
- e) Associação entre as médias das citocinas e a espirometria (se normal ou alterada), assim como com as médias dessas citocinas com as alterações pulmonares observadas no RX de torax e/ou espirometria;
- f) Relação dos níveis séricos das citocinas com as variantes do *P. vivax*.

O **Teste G (Williams)** foi utilizado para:

- a) Verificar a relação entre o IMC e a espirometria;
- b) Observar associação das variantes do *P. vivax* com indivíduos primo e reinfectedos;
- c) Verificar associação das variantes do plasmódio com o clearance de parasitemia;
- d) Verificar associação entre as variantes do plasmódio e os sintomas respiratórios, assim como com os sintomas da tríade malárica;
- e) Demonstrar a correlação das variantes do plasmódio com plaquetopenia em D0.

A **Correlação de Spearman** foi utilizada para:

- a) Verificar associação entre o tempo de desaparecimento da parasitemia e a parasitemia em primo e reinfectedos;
- b) Verificar associação da parasitemia com o tempo de doença;
- c) Verificar a relação dos níveis séricos das citocinas em D0 e D14, assim como com o tempo de doença e as citocinas entre si em D0 e D14.

O **Teste de Kappa** foi utilizado para verificar a frequência da espirometria normal e alterada em D0 e D14.

Anova foi utilizado para verificar os níveis séricos da citocinas relacionando-os com o tempo de doença (em dias).

Teste Binominal Duas Proporções para verificar a presença de plaquetopenia entre as variantes do *P. vivax*.

V- RESULTADOS

5.1- CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Inicialmente foram eleitos pelos critérios de inclusão 249 pacientes, dos quais foram excluídos dois, onde um deles na lâmina de controle de tratamento do D1 (2º dia) apresentou malária mista (*P. vivax* + *P. falciparum*) e o outro caso evoluiu com tuberculose, realizando antimaláricos e posteriormente sendo matriculado no ambulatório de pneumologia do HUIBB para tratamento específico.

Realizou-se estudo longitudinal constituído de 247 pacientes, com *Plasmodium vivax*, recrutados do Programa de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas, Belém/Pará- (90,3%) e os demais no Serviço de Diagnóstico de Malária do município de Goianésia/Pará (9,7%). Todos tiveram o diagnóstico de malária *vivax* através do exame da gota espessa e a confirmação do agente etiológico através de métodos moleculares (PCR) por ocasião da identificação das subespécies (variantes) do *Plasmodium vivax*.

5.2- ASPECTOS DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS:

5.2.1- Idade, sexo, procedência, local de infecção e atividade ocupacional.

A tabela 2 mostra a distribuição epidemiológica e social dos participantes da pesquisa. A maior ocorrência foi no gênero masculino (69,2%). Predominaram as faixas etárias até 50 anos, com média de idade de $35 \pm 13,2$ anos. A maioria dos pacientes (64,4%) residia em Belém e adquiriu malária no interior do Estado do Pará (79,8%) (APÊNDICE C) ou em outros estados da federação (10,9%) ou mesmo no exterior (9,3%), para onde viajaram, principalmente a trabalho. Casos autóctones (área metropolitana de Belém) de malária *vivax* representaram 3,0% e foram decorrentes de um surto de malária ocorrido no bairro de Icuí Guajará, município de Ananindeua/Pará, em 2013 (figura 10).

A atividade ocupacional foi variada, encontrando-se casos entre agricultores, extrativistas, estudantes, trabalhadores do lar e outros (cozinheiros, vendedores ambulantes, garimpeiros, geólogos, etc.).

Tabela 2 - Distribuição de variáveis demográficas e epidemiológicas de portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

IDENTIFICAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA	FREQUÊNCIA	%
SEXO		
Masculino*	171	69,2%
Feminino	76	30,8%
FAIXA ETÁRIA		
< = 20	35	14,2%
21 a 30	68	27,5%
31 a 40	61	24,7%
41 a 50	47	19,0%
51 a 60	29	11,7%
> 60	7	2,8%
Média/ DP	35± 13,2 anos	
ATIVIDADE		
Estudante	29	11,7%
Do Lar	28	11,3%
Agricultor/Extrativista	25	10,1%
Garimpeiro	6	2,4%
Prof.nível superior	4	1,6%
Outros	154	62,3%
LOCAL DA INFECCÃO		
Pará*	197	79,8%
Outros estados	27	10,9%
Exterior	23	9,3%
RESIDÊNCIA		
Belém*	159	64,4%
Municípios do Pará	76	30,8%
Outros estados	12	4,9%

*p < 0,05 (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

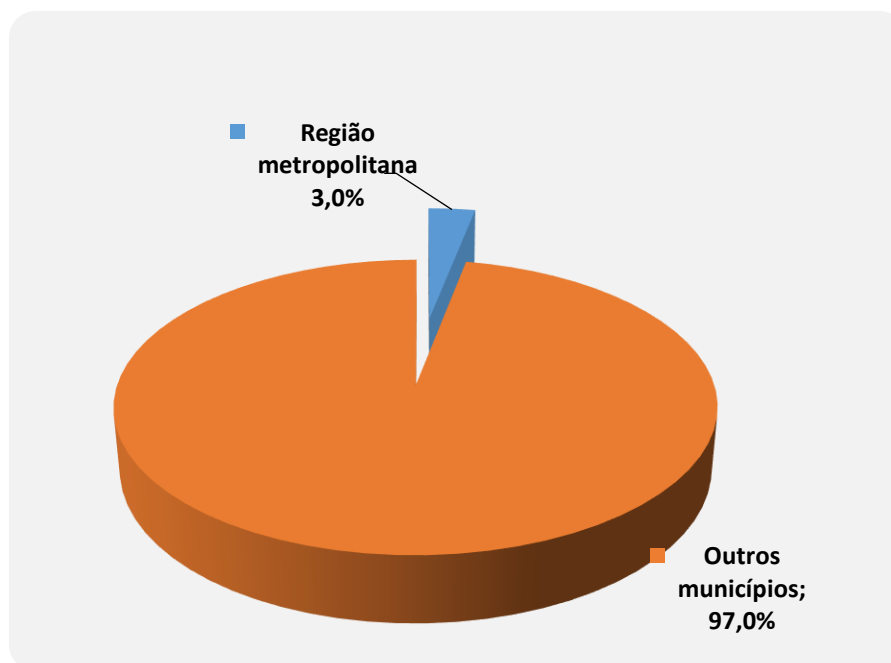


Figura 10 - Distribuição dos casos de portadores de malária vivax por local de infecção atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013, com destaque para região metropolitana de Belém.

Fonte: Dados primários

5.2.2- Índice de massa corpórea (IMC)

a) Frequência do IMC e relação entre IMC e espirometria

O IMC (Índice de Massa Corpórea) foi verificado em 63,16% (156/247) dos pacientes: 46,8% com sobrepeso ou obesidade grau I, 48,7% eutróficos e 4,5% com baixo peso.

Quanto à espirometria nem todos os pacientes realizaram o exame por diversos motivos dentre eles o fato de o paciente não se sentir bem no momento da realização do exame pela condição da doença que em D0, o paciente encontrava-se muito astênico com febre e mal-estar geral, dificultando assim a realização do exame para o qual necessita compreensão e esforço físico. Assim, algumas vezes o resultado ficava prejudicado.

Como mostra a tabela 3, essa casuística não identificou correlação entre os parâmetros espirométricos e os parâmetros de classificação do índice de massa corpórea.

Tabela 3 - Relação entre o índice de massa corpórea e espirometria em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Classificação IMC	Espiriometria			
	Alterado	%	Normal	%
Baixo peso	1	6,2	2	3,6
Eutrófico	7	43,8	27	48,2
Sobrepeso	6	37,5	19	33,9
Obesidade I	2	12,5	8	14,3
TOTAL	16	100	56	100

Teste-G (Williams) = 1,1296

(p) = 0,7699

Fonte: Dados primários

b) Relação entre IMC e dispnéia

Para verificar associação do IMC com sintomas respiratórios, escolheu-se a dispnéia para fazer esta correlação. Como mostra a tabela 4, não foi encontrada correlação entre dispnéia e o índice de massa corpórea no presente estudo ($p > 0,634$).

Tabela 4- Relação entre o índice de massa corpórea e dispnéia em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Classificação IMC	Dispnéia			
	SIM	%	NÃO	%
Baixo peso	3	7,1	4	3,6
Eutrófico	22	52,4	51	46,4
Sobrepeso	12	28,6	42	38,2
Obesidade I	5	11,9	13	11,8
TOTAL	42	100	110	100

Teste G (p) = 0,634

Fonte: Dados primários

5.2.3- História anterior de malária

A primeira infecção foi observada em 42,1% (104/247) e reinfeção em 57,9% (143/247) (figura 11). Entre um a cinco ou mais episódios de malária, foram observados com maior frequência para o relato de uma ou duas malárias anteriores (figura 12).

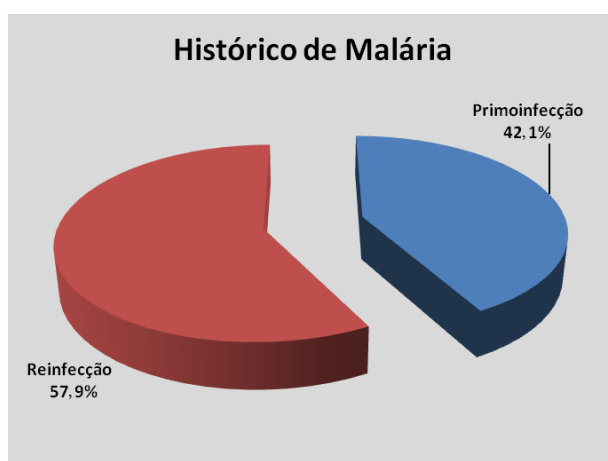


Figura 11 - Distribuição de primo e reinfectados com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

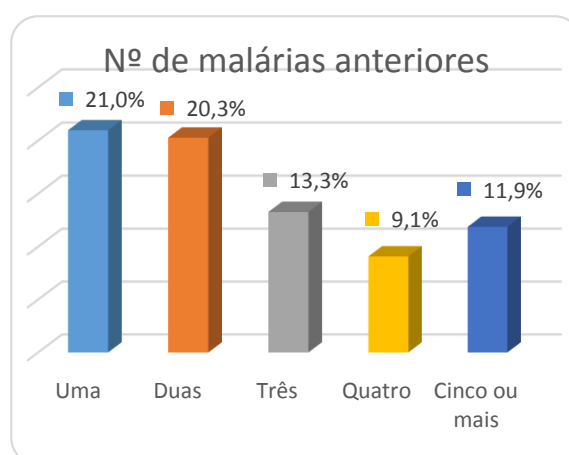


Figura 12 - Distribuição por número de malárias anteriores em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.2.4- Tempo de doença

O tempo médio de doença foi de $7,5 \pm 5,9$ dias. Observou-se que para a maioria dos pacientes (65,6%; 162/247) o tempo entre o aparecimento dos sinais e sintomas e o diagnóstico foi de até sete dias. Retardo no diagnóstico representado por duas semanas ou mais ocorreu em 33,7% (figura 13).

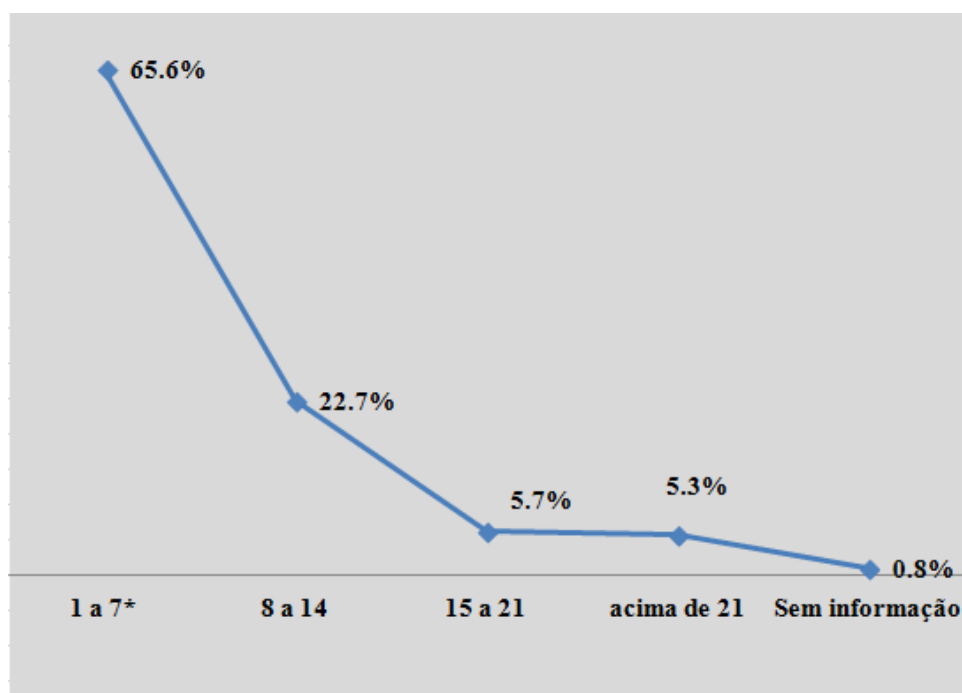


Figura 13 - Distribuição do tempo de doença (em dias) em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.2.5- Parasitemia

Ao primeiro dia de atendimento, a parasitemia dos pacientes foi quantificada em número de parasitos (formas assexuadas) por mm^3 de sangue. A média da parasitemia foi de $6.979,25 \pm 8.692,22$ parasitos/ mm^3 de sangue. Na tabela 5, a estratificação mostra que a maior frequência de pacientes apresentava 7.000 ou mais parasitos/ mm^3 de sangue. O maior valor de parasitemia encontrado foi de 70.000 parasitos/ mm^3 e o menor, 500 parasitos/ mm^3 .

Tabela 5 - Parasitemia em portadores de malária por *P. vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará,

	FREQUÊNCIA	%	Media	DP
< = 1000	53	21,4%	610,85	318,93
1001 a 3000	55	22,3%	2.309,09	531,34
3001 a 5000	40	16,2%	4.412,50	587,12
5001 a 7000	14	5,7%	6.142,85	497,24
> 7000	85	34,4%	15.317,64	10.360,71
TOTAL	247	100%	6.979,25	$\pm 8.692,22$

Fonte: Dados primários

5.2.6- Associação entre parasitemia e histórico de malária

A tabela 6 mostra que o número médio de formas assexuadas na faixa igual ou maior que 7.000 parasitos / mm³ foi similar entre os pacientes com infecção primária e aqueles com passado de malária, podendo-se observar respectivamente 39,4% (41/104) e 30,8% (44/143).

Tabela 6 - Associação entre parasitemia e primo/reinfecção em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

PARASITEMIA	PRIMOINFECTADO		REINFECTADO	
<= 1000	21	20,2%	32	22,4%
1001 a 3000	17	16,3%	38	26,6%
3001 a 5000	18	17,3%	22	15,4%
5001 a 7000	7	6,7%	7	4,9%
> 7000	41	39,4%	44	30,8%
TOTAL	104	42,1%	143	57,9%
MEDIA DE PARASITEMIA	7.791		6.407	

p = 0,1142 (Teste *t Student*)

Fonte: Dados primários

5.2.7- Associação entre parasitemia e tempo de doença

A parasitemia foi quantificada ao primeiro dia de atendimento dos pacientes, em número de parasitos (formas assexuadas) por mm³. Para verificar a relação do tempo de doença com a parasitemia, estabeleceu-se faixas de parasitemia como mostra a tabela 7, sendo observado que o maior tempo médio de doença (10,3 dias) estava relacionado à faixa de parasitemia entre 5001 a 7000 parasitos/mm³, embora a Correlação de Spearman: $r_s = 0,0299$; $p=0,467$ não tenha mostrado diferença significativa entre as faixas de parasitemia.

Tabela 7 - Associação entre parasitemia e tempo de doença nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

PARASITEMIA	Tempo Médio da Doença (dias)
< = 1000	8.1
1001 a 3000	7.2
3001 a 5000	7.2
5001 a 7000	10.3
> 7000	7.0
MÉDIA GERAL	7.5

Correlação de Spearman: $r_s = 0,0299$; $p=0,467$

Fonte: Dados primários

5.2.8- Associação entre desaparecimento da parasitemia e histórico de malária

O desaparecimento da parasitemia (gota espessa negativa) foi significativamente mais precoce nos pacientes com malária anterior do que naqueles que relatavam o primeiro episódio de malária, observando-se, no grupo de pacientes com reinfeção malárica, 97,6% já negativaram até D3 em comparação com 84.8% do grupo de primoinfectados (tabela 8).

Tabela 8 - Associação entre desaparecimento da parasitemia e primo/reinfeção nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

DESAPARECIMENTO DA PARASITEMIA	PRIMOINFECTADO		REINFECTADO*	
	N = 99		N = 125	
D1	2	2,0%	6	4,8%
D2	34	34,3%	76	60,8%
D3	48	48,5%	40	32,0%
D4	15	15,2%	3	2,4%

* $p < 0,0001$ (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.2.9- Associação entre tempo de desaparecimento da parasitemia e parasitemia em primo e reinfeção

A tabela 9 mostra, através da correlação linear de Spearman, que a associação entre o tempo de desaparecimento da parasitemia com o nível de parasitemia em D0, quando se trata de reinfectados, a correlação é mais fraca do que nos primoinfectados.

Tabela 9 - Correlação entre tempo de desaparecimento da parasitemia e parasitemia em primo e reinfeção nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Variáveis	Teste Estatístico	Valor de p
Tempo para o desaparecimento da parasitemia x Parasitemia primoinfectado (99/225)	Coefficiente de Spearman (rs= 0,6269)	*P<0,0001
Parasitemia reinfectado x Tempo para o desaparecimento da parasitemia (125/225)	Correlação de Spearman (rs= 0,3654)	*P<0,0001

Fonte: Dados primários

5.2.10 - Associação entre tempo de doença e histórico de malária

A Figura 14 demonstra que os pacientes com reinfeção tiveram diagnóstico da doença mais precocemente estabelecido do que aqueles com infecção primária.

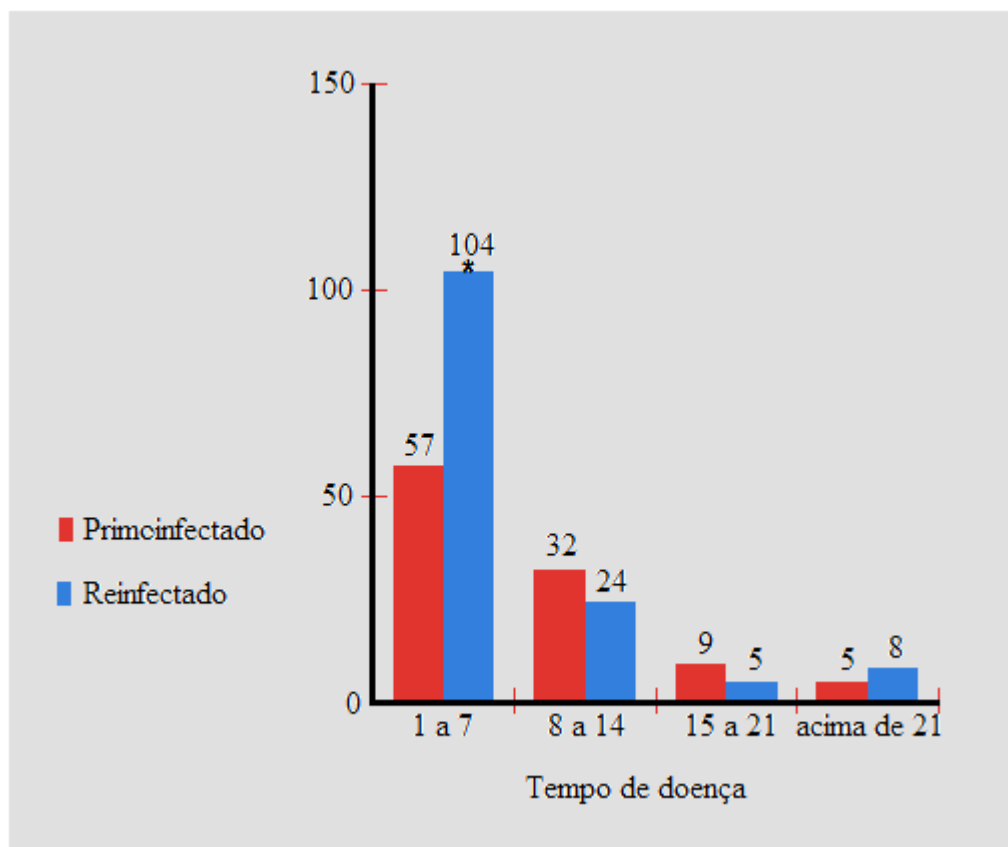


Figura 14 - Associação entre tempo de doença e primo/reinfecção malárica nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

* $p = 0,0115^*$ (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.2.11- Tabagismo

A Figura 15 mostra que o hábito tabágico foi encontrado em apenas 19,26% (47) dos casos, referindo-se exclusivamente ao uso de cigarros.

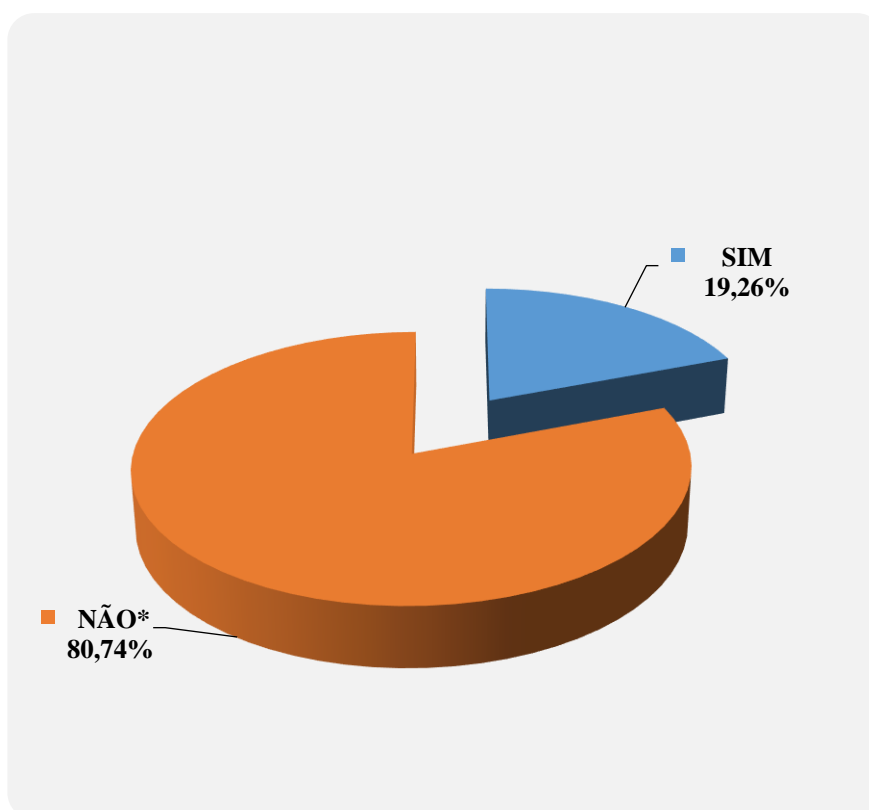


Figura 15 - Tabagismo nos portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.2.12- Pneumopatias prévias

No interrogatório sobre presença ou ausência de alguma doença pulmonar anterior ao atual episódio de malária, 92,2% (226/245) dos pacientes relataram não ter apresentado anteriormente nenhuma patologia pulmonar, e somente 7,76% (19/245) afirmaram ter apresentado pneumopatia como bronquite, asma ou bronquiectasia (figura 16).

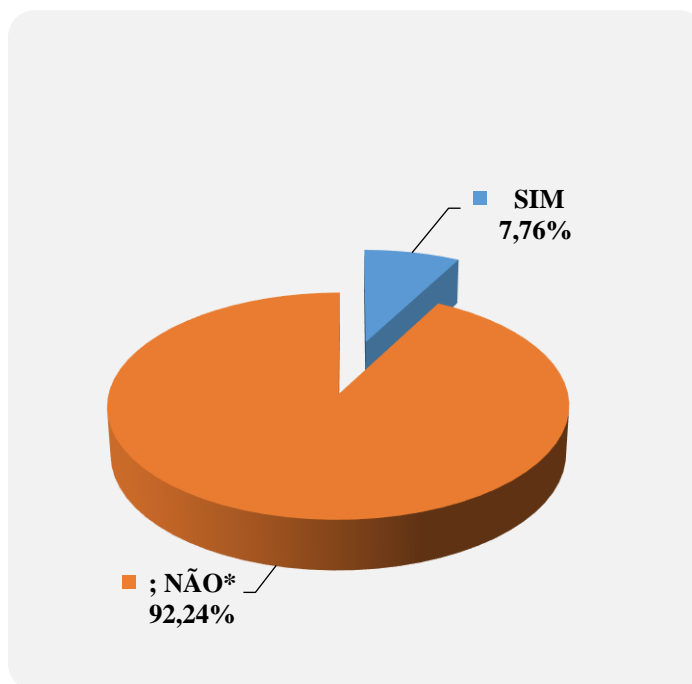


Figura 16- Presença ou ausência de pneumopatias prévias em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.3- MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS:

5.3.1- Sinais e sintomas gerais

Na malária, sinais e sintomas gerais como tonturas, mialgia, náuseas, vômitos, diarreia, icterícia, hepato e esplenomegalia podem ocorrer, porém, os sinais e sintomas que mais chamam a atenção na doença são conhecidos como tríade sintomática da malária.

A tríade malárica (febre, calafrio e cefaleia) como observado na figura 17, esteve presente no primeiro dia de atendimento (D0), respectivamente em 87,9% (217/247), 87,0% (215/247) e em 92,3% (228/247) dos casos. A cefaléia foi o sintoma mais frequente no grupo estudado.

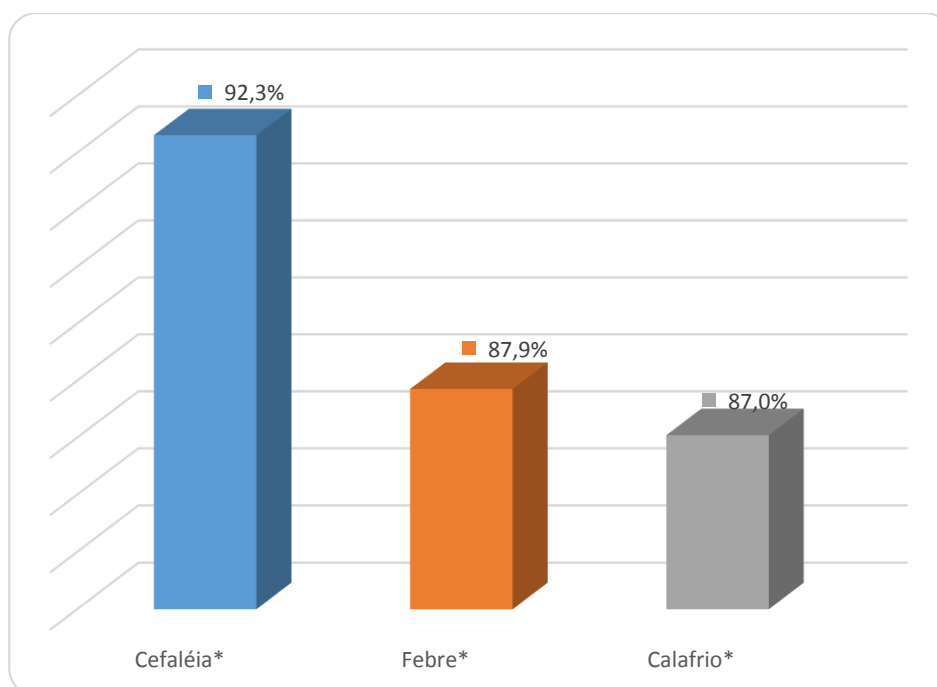


Figura 17 - Presença de sinais/sintomas da tríade malárica em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.3.2- Sinais e sintomas respiratórios

O espectro do envolvimento pulmonar na malária *vivax* pode incluir desde injúria do trato respiratório superior, tosse, dor torácica, dispneia, até formas graves como dano pulmonar agudo e síndrome do desconforto respiratório agudo.

O sintoma respiratório encontrado com maior frequência foi tosse, presente em 132 pacientes (53,4%) como mostra a figura 18; seguido da sensação de falta de ar (44,1%) (109). Outros sintomas respiratórios estiveram presentes em menor frequência: dispneia, dor torácica e alteração na ausculta pulmonar.

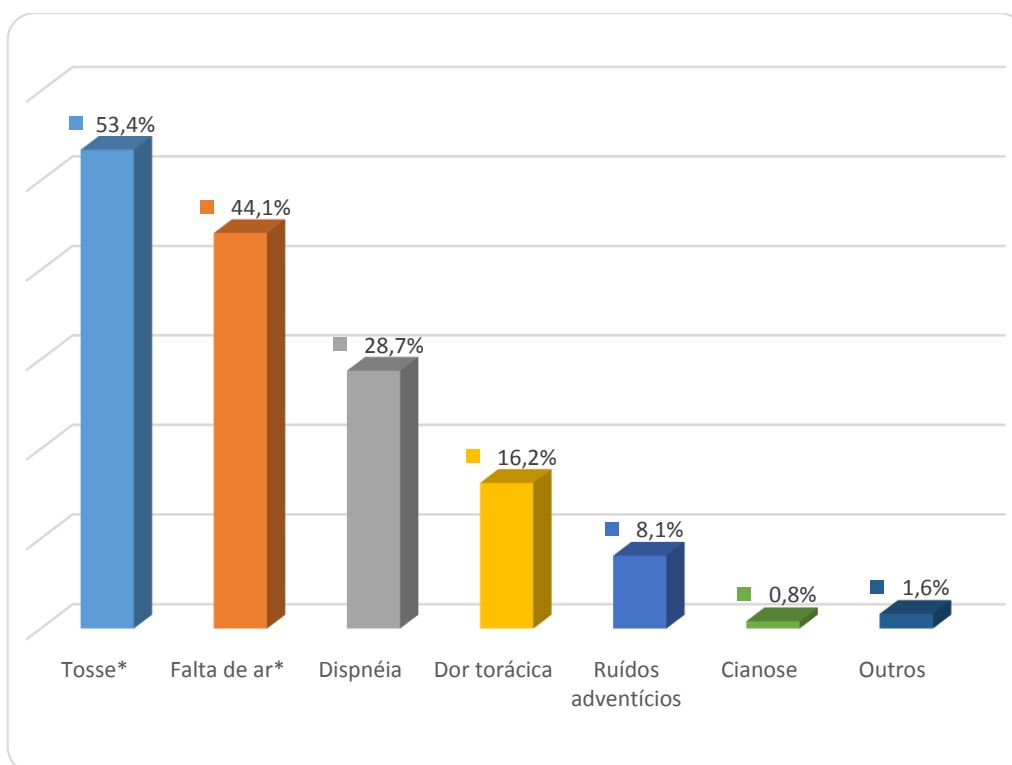


Figura 18 - Sinais e sintomas respiratórios em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.3.3- Hepatomegalia e esplenomegalia

A palpação abdominal revelou hepatomegalia em 15% (35/247) dos pacientes (média de $1,68 \pm 0,73$ cm abaixo do rebordo costal direito) e esplenomegalia em aproximadamente 10% (23/247) ($1,66 \pm 0,59$ cm rebordo costal esquerdo) (figura 19).

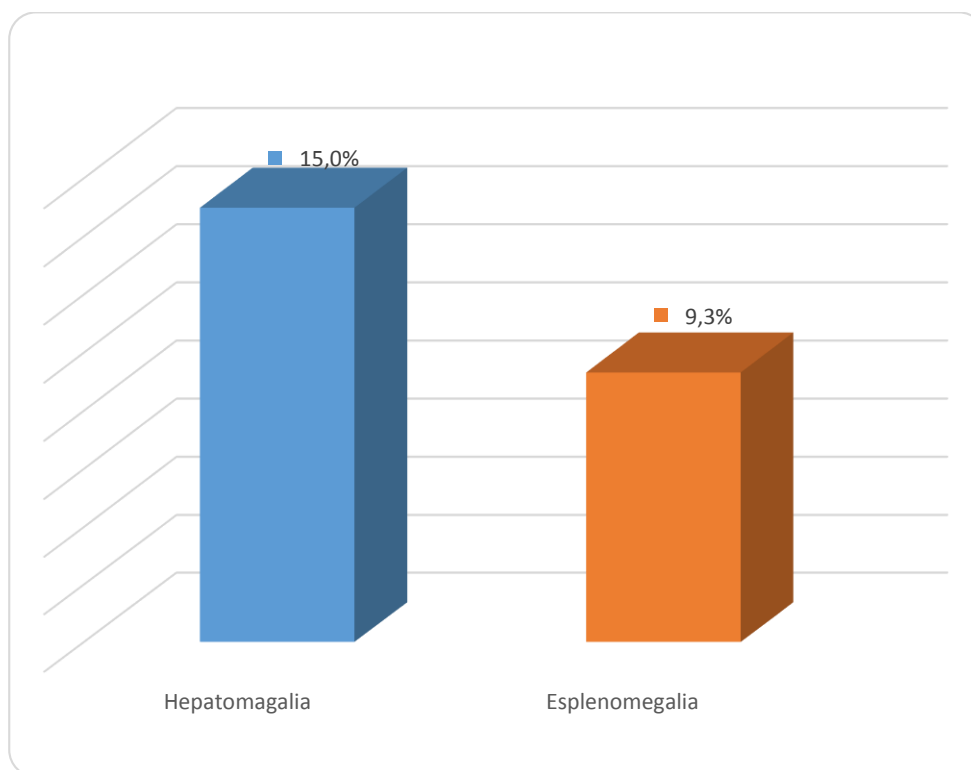


Figura 19 - Presença de hepatomegalia e esplenomegalia em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.3.4- Associação entre hepatomegalia e esplenomegalia com histórico de malária

Os sinais clínicos de esplenomegalia e hepatomegalia surgiram com frequência de 60,9% (esplenomegalia) e 54,1% (hepatomegalia) entre os primoinfectados, maior quando comparados com reinfectados que apresentaram respectivamente 39,1% e 45,9% (figura 20).

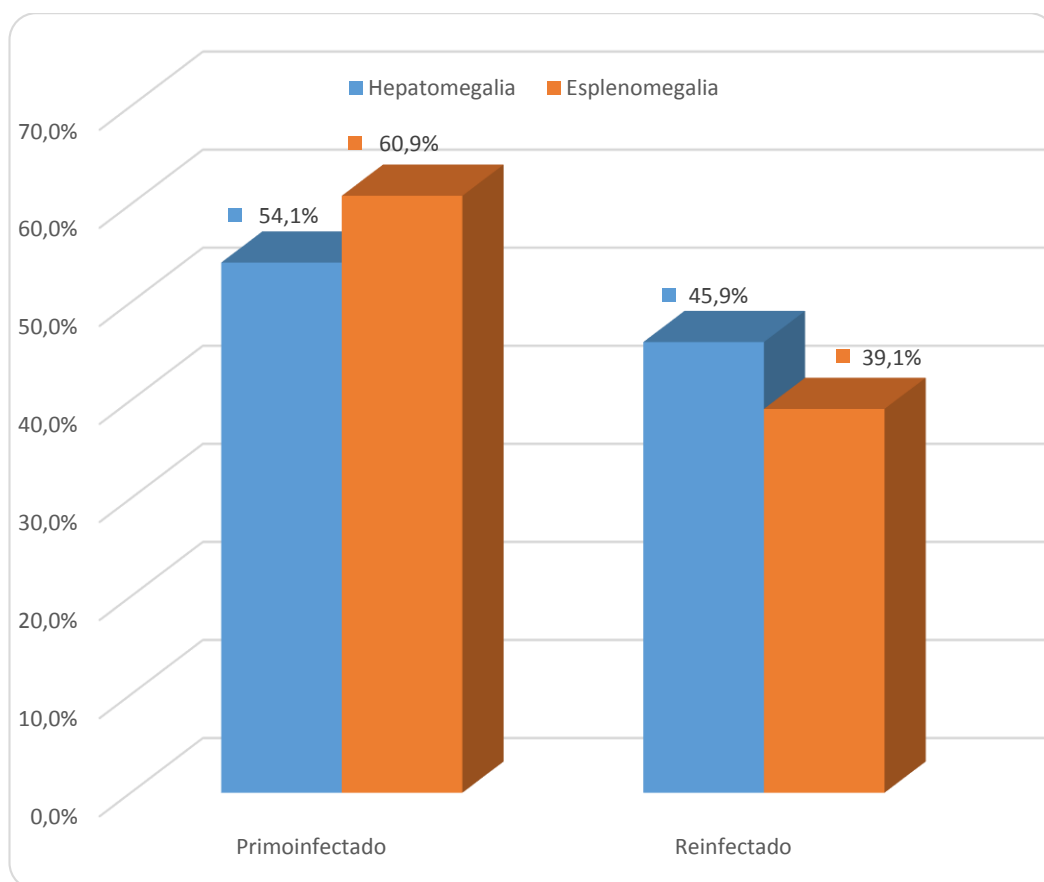


Figura 20 - Presença de hepatomegalia e esplenomegalia em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Fonte: Dados primários

5.4- EXAMES COMPLEMENTARES

5.4.1- Exames laboratoriais

A tabela 10 mostra os valores médios e desvio padrão de hemoglobina, plaquetas, transaminases e bilirrubinas em D0 e D14. É possível observar significância estatística relacionada a plaquetopenia em D0, cuja média de plaquetas/mm³ foi de 119.714 quando comparado ao D14, em que a média dos níveis de plaquetas dos pacientes estava normal (282.290 plaquetas/ mm³) ($p < 0,001$ no Teste *t-Student*). O mesmo não se observou nos índices de hemoglobina, transaminases (AST e ALT) ou bilirrubinas circulantes nos pacientes pesquisados.

Tabela 10 - Parâmetros hematológicos (média/desvio padrão) em D0 e D14 nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

EXAMES LABORATORIAIS	DIA 0		DIA 14	
	Média	DP	Média	DP
Hemoglobina	12,4	2,0	12,5	1,7
Hematócrito	37,2	5,8	37,4	5,5
Plaquetas *	119.714	58,387	282.290	87.269
TGO	32,02	23,52	22,83	11,09
TGP	35,22	24,7	28,75	22,51
Bilirrubina	1,07	0,93	0,56	0,37

p < 0,001 (Teste t-Student)

Fonte: Dados primários

A tabela 11 mostra que a anemia foi encontrada em 33,3% dos pacientes (75/225) no momento do diagnóstico de malária *vivax* (D0). Em D14, 66 pacientes (29,5%) permaneciam com anemia. Diferente dos índices de plaquetas, onde 75,8% (172/225) dos participantes da pesquisa apresentaram plaquetopenia em D0, e praticamente desaparecendo em D14 (p < 0,0001 teste G).

Tabela 11 - Anemia e plaquetopenia em D0 e D14 nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

EXAMES	DIA 0		DIA 14		p-valor (Teste G)
	N	%	N	%	
PLAQUETOPENIA					< 0,0001*
Sim	172	75,8%	3	1,4%	
Não	53	24,2%	211	98,6%	
ANEMIA					0,3924
Sim	75	33,3%	66	29,5%	
Não	150	66,7%	159	70,5%	

Fonte: Dados primários

5.4.2- Exame de Imagem (radiografia de tórax)

5.4.2.1- Frequência das alterações pulmonares na radiografia de tórax (RX)

A figura 21 mostra as alterações encontradas nos raios-X de tórax em 9.7% (18) dos pacientes no dia do diagnóstico de malária *vivax* (D0). No D14 (data estipulada para controle clínico, radiológico, laboratorial e espirométrico), o quadro radiológico destes pacientes já havia revertido completamente (teste G, $p=0.0002$), com exceção de dois casos que demoraram mais de 15 dias para normalizar (1,2%): um deles permaneceu mais de 15 dias hospitalizado, incluindo UTI, e o outro, a alteração ocorreu após início do tratamento, em D4. Ambos evoluíram com regressão completa das lesões em avaliação posterior a D14.

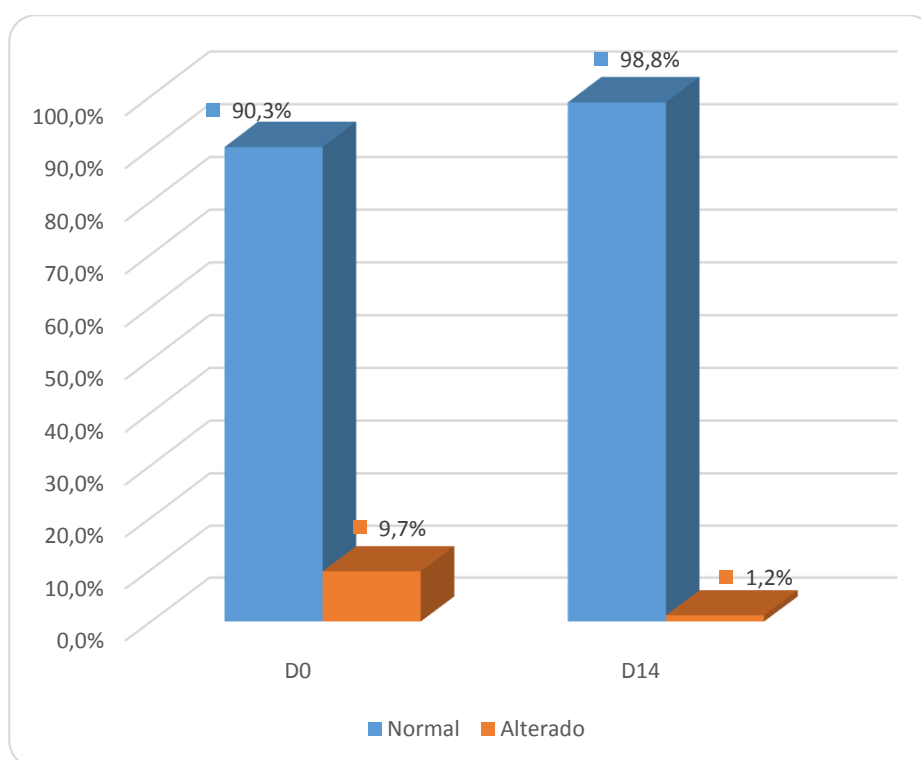


Figura 21 - Presença ou ausência de alterações nos RX em D0 e D14 em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Teste G, *p valor= 0,0002

Fonte: Dados primários

5.4.2.2- Associação entre alterações pulmonares (RX de tórax) e tabagismo

Na tabela 12 pode ser observado que dos 18 pacientes com alterações radiológicas em D0, apenas 10% (4) eram fumantes, enquanto que 90% (14) dos que apresentaram essas alterações, não fumavam.

Tabela 12 - Associação entre tabagismo e alterações radiológicas nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

TABAGISMO	RAIOS -X ALTERADO				TOTAL	
	SIM		NÃO			
	N	%	N	%		
SIM	4	10,0%	36	90,0%	40	21,87%
NÃO	14	9,8%	129	90,2%	143	78,13%
TOTAL	18	9,8%	165	90,2%	183	100%

$p < 0,05$ (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.4.2.3- Associação entre alterações radiológicas e pneumopatias prévias

A tabela 13 mostra que, dos 18 pacientes que apresentaram alterações no RX de tórax em D0, apenas 01 tinha história de pneumopatia anterior ao atual episódio de malária.

Estatisticamente, demonstrou-se na presente amostra, que o fato de o paciente ter sido acometido por alguma doença pulmonar prévia, não foi determinante para o aparecimento de alterações radiológicas.

Tabela 13 - Associação entre pneumopatia anterior e alterações radiológicas nos pacientes atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

RX ALTERADO	PNEUMOPATIAS PRÉVIAS				TOTAL	
	SIM		NÃO			
SIM	1	5,5%	17	94,5%	18	100,0%
NÃO	18	10,5%	153	89,5%	171	100,0%
TOTAL	19	100,0%	170	100,0%	189	100,0%

p = 0,4361 (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.4.2.4- Associação entre alterações pulmonares (RX de tórax) e histórico de malária

A tabela 14 mostra que nos pacientes no presente estudo, o fato de ser primo ou reinfectado não influenciou na presença de alteração radiológica, pois dos 18 pacientes que apresentaram alteração na radiografia de tórax, 50% experimentavam a primeira infecção malárica e os outros 50% eram reinfectados.

Tabela 14 – Associação entre alterações radiológicas e primo /reinfecção em portadores de malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

RX ALTERADO	N	PRIMOINFECTADO	REINFECTADO
SIM	18	9 50,0%	9 50,0%
NÃO	168	69 41,1%	99 58,9%

Qui-Quadrado: p = 0,633

Fonte: Dados primários

5.4.3- Prova de função respiratória (Espirometria)

5.4.3.1- Frequência de alterações na espirometria em D0 e D14

A tabela 15 mostra que em D0, 20,5% (23) dos pacientes apresentaram alteração na espirometria do tipo obstrutivo ou restritivo, e em D14 apenas 8,9% (10) ainda permaneciam com tais alterações.

Tabela 15- Presença ou ausência de alterações na espirometria em pacientes com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

ESPIROMETRIA	D0		D14	
	N	%	N	%
NORMAL	89	79,5 %	102	91,1 %
ALTERADO	23	20,5 %	10	8,9 %
TOTAL	112	100 %	112	100

Teste Kappa: $p = 0,0071$

Fonte: Dados primários

5.4.3.2- Medidas de função pulmonar na espirometria em D0 e D14

A média dos valores das medidas de função pulmonar (espirometria) encontravam-se dentro dos valores preditos, conforme tabela 16. A média dos valores de capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) e a Razão entre VEF1/CVF (índice de *tiffeneau*) foram semelhantes quando comparados D0 e D14. A média do Fluxo expiratório médio forçado (FEF25-75%), embora normal em D0 e D14, melhorou em D14 após, tratamento antimalárico.

Tabela 16 - Média dos parâmetros de espirometria em D0 e D14 nos pacientes com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

MEDIDAS DE FUNÇÃO PULMONAR	ESPIROMETRIA (Media/DP)		
	D0	D14	p valor (unilateral)
CVF	91,25	99,85	0,0024
VEF1	89,05	97,50	0,0034
VEF1/CVF	98,76	97,58	0,2317
FEF 25-75%	96,19	105,47	0,0035

Mann-Whitney

Fonte: Dados primários

5.4.3.3- Associação entre os sintomas respiratórios e a prova de função respiratória (espirometria)

A tabela 17 mostra que nos pacientes deste estudo que realizaram a espirometria em D0 os sintomas tosse, dor torácica e dispnéia não estavam estatisticamente relacionados com alteração na prova de função respiratória (espirometria).

Tabela 17 - Associação entre sintomas respiratórios e presença ou ausência de alterações na espirometria em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

SINAIS E SINTOMAS	N	PROVA DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA			
		NORMAL		ALTERADA	
Tosse	59	47	79,7%	12	20,3%
Dor Torácica	23	14	60,9%	9	39,1%
Dispnéia	32	23	71,9%	9	28,1%

p = 0,2134 (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.4.4- RX de tórax e/ou espirometria

5.4.4.1- Frequência das alterações pulmonares no RX de tórax e/ou espirometria

A figura 22 mostra que quando reunimos em um só grupo aqueles pacientes que apresentaram alterações na radiografia de tórax e/ou espirometria, passou-se a observar um universo maior de comprometidos do ponto de vista pulmonar, num total de 39 casos (15,79%).

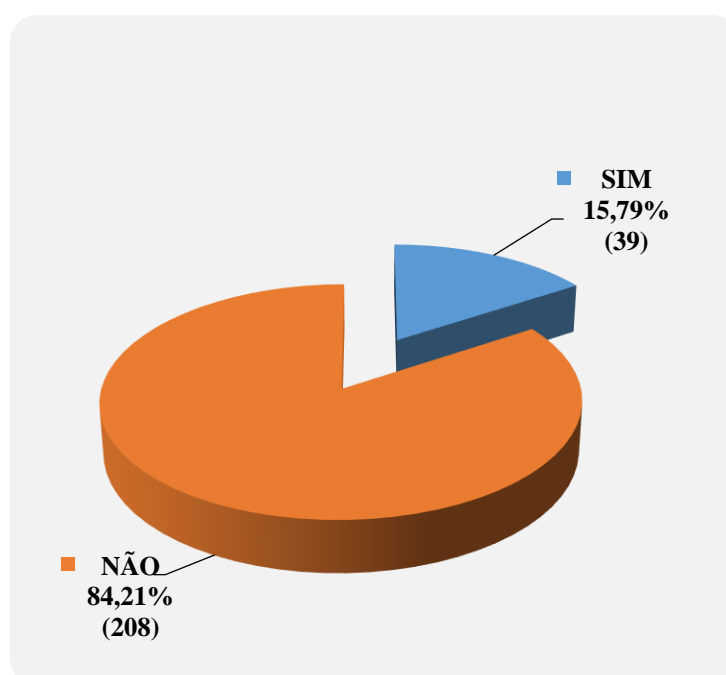


Figura 22 - Alterações no RX de tórax e/ou espirometria em D0 nos portadores de malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013

Fonte: Dados primários

5.4.4.2- Frequência de sinais e sintomas respiratórios dentre os pacientes que apresentaram alterações pulmonares (RX e/ou espirometria)

A tabela 18 demonstra que o sintoma mais frequente relatado pelos pacientes que apresentaram alteração radiológica e/ou na espirometria foi sensação de falta de ar (66,7%), seguido pela tosse (61,5%) e dispneia (56,6%).

Tabela 18 - Frequência dos sinais e sintomas respiratórios nos pacientes com malária *vivax* com alterações radiológicas e/ou espirométricas atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

SINAIS / SINTOMAS	FREQUÊNCIA	% (N = 39)
Sinais e Sintomas respiratórios		
Falta de ar*	26	66,7%
Tosse*	24	61,5%
Dispnéia (FR alterada) *	22	56,6%
Dor torácica*	15	38,5%
Ruídos adventícios	09	23,1%
Cianose	01	2,6%

*p < 0,0001 (Qui-Quadrado uma amostra)

FR (frequência respiratória)

Fonte: Dados primários

5.4.4.3- Associação de alterações no RX e/ou espirometria com histórico de malária

Pode-se verificar na tabela 19 que, dos 39 pacientes que apresentaram alteração no RX de tórax e/ou na espirometria, 16 (41,0%) eram primoinfectados e 23 (59,0%) eram pacientes que já haviam sofrido uma ou mais infecções maláricas prévias.

Tabela 19 - Associação entre alterações radiológicas e/ou espirométricas com histórico de malária em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

RX e/ou PFR ALTERADOS	N	PRIMOINFECTADO	REINFECTADO
SIM	39	16 41,0%	23 59,0%
NÃO	208	88 42,3%	120 57,7%

Qui-quadrado

P=0,9777

Fonte: Dados primários

5.4.4.4- Associação entre alterações no RX e/ou espirometria com o tempo de doença

A maioria dos pacientes do estudo teve diagnóstico da doença na primeira semana, independentemente de ter ou não alteração radiológica e/ou espirométrica. A tabela 20 mostra que dos 39 pacientes com alterações pulmonares observadas através dos RX de tórax e/ou espirometria, 79,5% (31) receberam diagnóstico de malária *vivax* mais precocemente, ou seja, dentro do período de 1 a 7 dias, da mesma forma que o grupo que não apresentou essas alterações (63,6%).

Tabela 20 - Associação entre alterações radiológicas e/ou espirométricas com o tempo de doença em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

TEMPO DE DOENÇA (Dias)	RX e/ou PFR ALTERADOS			
	SIM	N = 39	NÃO	N = 206
1 a 7	31	79,5%	131	63,6%
8 a 14	7	17,9%	49	23,8%
15 a 21	0	0,0%	14	6,8%
acima de 21	1	2,6%	12	5,8%

p = 0,0741 (Qui-Quadrado)

Fonte: Dados primários

5.4.4.5- Associação entre alterações no RX e/ou espirometria com parasitemia

Pode ser observado na tabela 21 que, dos 39 pacientes que tiveram alterações radiológicas e/ou espirométricas, 33,3% tinham parasitemia na faixa maior que 7.000 parasitos/mm³, e aqueles com RX de tórax e espirometria normais eram 35,5% (p= 0,4861).

Tabela 21 - Associação entre alterações radiológicas e/ou espirométricas com parasitemia em pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/PA, no período de abril/2011 a outubro/2013.

PARASITEMIA (parasitos/mm ³)	Alteração pulmonar (RX/espirometria)			
	SIM	N = 39	NÃO	N = 211
<= 1000	09	23,1%	44	20,9%
1001 a 3000	12	30,8%	43	20,4%
3001 a 5000	04	10,3%	36	17,1%
5001 a 7000	01	2,6%	13	6,2%
> 7000	13	33,3%	75	35,5%

p = 0,4861 (Qui quadrado)

Fonte: Dados primários

5.5- CITOCINAS

5.5.1- Média e desvio padrão dos níveis séricos das citocinas (TNF, IFN γ , IL-10) em D0 e D14

Foram calculadas as médias e DP das citocinas estudadas: TNF, IFN γ , IL-10 em D0 e D14. A tabela 22 mostra que a média do fator de necrose tumoral (TNF) em D0 foi de $9,9 \pm 30,9$ pg/mL, enquanto que no D14 foi $28,3 \pm 59,1$ pg/mL. Interferon gama (IFN γ) em D0 foi $213 \pm 242,2$ pg/mL e em D14 resultou em $4,3 \pm 25,2$ pg/mL. Interleucina-10 (IL-10) em D0 foi $60,3 \pm 295,2$ pg/mL e em D14 ($390,2 \pm 4.110,7$ pg/mL).

Curiosamente, a média do fator de necrose tumoral (TNF) foi menor antes do início do tratamento antimalárico.

Tabela 22 - Média das citocinas em D0 e D14 nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

CITOCINAS	N	DIA 0		DIA 14		p-valor
		Média (pg/mL)	DP	Média (pg/mL)	DP	
TNF	73	9,9	30,9	28,3	59,1	0,0006*
INF gama	119	213	247,2	4,3	25,2	< 0,0001*
IL - 10	120	60,3	295,2	390,2	4110,7	0,0474*

Teste *t* Student

Fonte: Dados primários

5.5.2- Associação entre os níveis séricos de citocinas e o tempo de doença

Estabeleceu-se a associação entre a média dos níveis séricos das três citocinas estudadas correlacionando-as com o tempo de doença, isto é, com o tempo em que o paciente já apresentava os primeiros sintomas até iniciar-se o tratamento (D0). Verifica-se na tabela 23 que, com relação ao TNF, os níveis dessa citocina se apresentaram mais elevados naqueles que tinham tempo médio de doença entre 8 e 21 dias, e que acima de 21 dias o nível dessa citocina caiu. A respeito do INF γ os níveis dessa citocina foram significativamente maiores naqueles que tinham o diagnóstico da doença malárica até 7 dias e caindo significativamente nas faixas de tempo para o diagnóstico maiores que 1 semana. Quanto a IL-10 essa citocina

mostrou-se significativamente elevada em todas as faixas de tempo em que o paciente demorou mais ou menos para o diagnóstico.

Tabela 23 - Associação entre média das citocinas por intervalo de tempo doença nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

TEMPO DE DOENÇA (Dias)	TNF (pg/mL)	INF gama (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
1 a 7	12,6	2774,8	199,0
8 a 14	26,9	19,1	152,9
15 a 21	34,5	10,6	302,3
acima de 21	10,7	58,7	149,2
p-valor (ANOVA)	0,0893	< 0,0001*	0,0012*

Fonte: Dados primários

5.5.3- Associação entre os níveis séricos de citocinas e histórico de malária

A tabela 24 mostra a associação entre a média dos níveis séricos das três citocinas com o histórico de malária (primo e reinfeção). O TNF mostrou níveis mais elevados em primoinfectados (27,9 pg/mL) do que em reinfectedos (10,6 pg/mL). O Interferon gama, da mesma forma, apresentou níveis mais elevados em primoinfectados (61,5 pg/mL) que nos reinfectedos (24,1 pg/mL). Já a IL-10 mostrou níveis bastante semelhantes em primo e reinfectedos: (178,1 pg/mL) e 199,8 pg/mL respectivamente, com leve aumento no segundo grupo. Só foi encontrado diferença significativa em relação a histórico anterior de malária, no INF gama.

Tabela 24 - Associação entre média das citocinas com primo e reinfeção nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

HISTÓRIA ANTERIOR DE MALÁRIA	TNF (pg/mL)	INF gama (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
Primoinfectados	27,9	61,5	178,1
Re-infectedos	10,6	24,1	199,8
Geral	16,1	62,8	191,3
p-valor (t - Student)	0,0781	< 0,0001*	0,0635

Fonte: Dados primários

5.5.4- Correlação das citocinas (TNF- α , IL-10, IFN- γ) em D0 e D14 com diferentes variáveis

Tabela 25- Correlação entre média das citocinas em D0 e D14 com diferentes variáveis dos pacientes com malária vivax atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará

Correlações	Coefficiente de Correlação de Spearman	p-valor
TNF-α		
Temperatura x TNF- α (D0)	$r_s = - 0,226$	0,165
Tempo de doença x TNF- α (D0)	$r_s = - 0,175$	0,392
TNF- α (D0) x TNF- α (D14)	$r_s = 0,666$	0,0002
IL-10		
Tempo de doença x IL-10 (D0)	$r_s = 0,343$	0,092
IL-10 (D0) x IL-10 (D14)	$r_s = 0,113$	0,589
IL-10 (D0) x TNF- α (D0)	$r_s = - 0,040$	0,840
IL-10 (D14) x TNF- α (D14)	$r_s = 0,417$	0,041
IFN-γ		
Tempo de doença x IFN- γ D0	$r_s = - 0,116$	0,139
IFN- γ (D0) x IFN- γ (D14)	$r_s = 0,223$	0,014
IFN- γ (D0) x TNF- α (D0)	$r_s = - 0,016$	0,878
IFN- γ (D0) x IL-10 (D0)	$r_s = 0,205$	0,048
IFN- γ (D14) x TNF- α (D14)	$r_s = 0,369$	0,001
IFN- γ (D14) x IL-10 (D14)	$r_s = 0,210$	0,019

Fonte: Dados primários

5.5.5- Associação das citocinas (TNF, IL-10, IFN- γ) com a prova de função respiratória (espirometria)

A tabela 26 mostra a associação entre as médias dos níveis séricos das citocinas estudadas com a prova de função respiratória (espirometria), considerando a espirometria como dentro dos padrões da normalidade para cada indivíduo, ou alterada, para aqueles pacientes que realizaram ao mesmo tempo os exames e o teste de função pulmonar. Não sendo, portanto, observado associação entre esses parâmetros.

Tabela 26 - Associação entre as médias das citocinas e a espirometria nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

PROVA DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA (Espirometria)	TNF (pg/mL)	INF Gama (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
NORMAL	18,0	32,5	200,1
ALTERADA	11,7	34,8	225,3
p-valor (t - Student)	0,3509	0,4587	0,3274

Fonte: Dados primários

5.5.6- Associação entre os níveis séricos de citocinas e alterações nos RX e/ou espirometria.

A tabela 27 mostra associação entre as médias dos níveis séricos de citocinas naqueles doentes que tiveram ou não alteração pulmonar mostrada através da radiografia de tórax e/ou espirometria. Como pode ser observado, não houve diferença significativa entre os dois grupos.

Tabela 27 – Associação entre médias das citocinas e alterações em RX e/ou espirometria nos pacientes com malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro de 2013.

RX e/ou PFR ALTERADOS	TNF (pg/mL)	INF Gama (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
SIM	11,4	47,2	162,7
NÃO	17,1	40,5	179,9
p-valor (t - Student)	0,2942	0,3678	0,3246

Fonte: Dados primários

5.6- VARIANTES

5.6.1- Frequência das variantes de *Plasmodium vivax* (VK210 / VK 247 / Pvivax-like) no grupo de estudo

A tabela 28 mostra que a variante do *Plasmodium vivax* mais encontrada em nossa amostra foi VK210 (69,1%); esta variante esteve presente também em combinação com outras subespécies. A variante VK247 apareceu isoladamente com frequência de 11,2%. A variante Pv-like não foi encontrada isoladamente nessa casuística.

Não foi possível realizar o isolamento das subespécies do *Plasmodium vivax* em alguns pacientes envolvidos no estudo.

Tabela 28 - Frequência das variantes do *Plasmodium vivax* nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	FREQUÊNCIA	%
VK210	105	69,1%
VK210/VK247	25	16,4%
VK247	17	11,2%
VK210/PV LIKE	3	2,0%
VK 210/VK247/PV LIKE	1	0,7%
VK247/PV-LIKE	1	0,7%
TOTAL	152	100,0%

Fonte: Dados primários

5.6.2- Associação das variantes de *Plasmodium vivax* com histórico de malária (primo e reinfeção)

Na tabela 29 pode ser observado que no grupo de pacientes da pesquisa, a variante VK210 aparece em 65,5% dos primoinfectados, semelhante ao grupo de pacientes com reinfeção por malária (71,0%). Da mesma forma, não houve diferença entre ser primo ou reinfectado dentre as outras variantes do plasmódio.

Tabela 29 – Associação das variantes do *Plasmódium vivax* com primo e reinfeção nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	Histórico de malária				
	PRIMOINFECCAO	%	REINFECCÃO	%	N
VK210	38	65,5	67	71,2	105
VK210/VK247	11	19,0	14	15,0	25
VK247	07	12,1	10	10,6	17
VK210/PV LIKE	01	1,7	02	2,2	03
VK 210/VK247/PV LIKE	0	0	01	1,0	1
VK247/PV-LIKE	01	1,7	0	0	1
TOTAL	58	100	94	100	152

Teste-G (Williams) = 2,7346

(p) = 0,7408

Fonte: Dados primários

5.6.3- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* com desaparecimento da parasitemia

Observa-se na tabela 30 que não houve correlação entre o clearance de parasitemia relacionado aos diferentes genótipos (variantes) do *P. vivax* no presente estudo.

Tabela 30 - Correlação das variantes do *Plasmódium vivax* com o clearance de parasitemia nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTE	PARASITEMIA									
	D1		D2		D3		D4		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
VK210	3,0	3,3	47,0	52,2	33,0	36,7	7,0	7,8	90,0	68,2
VK210/VK247	0,0	0,0	10,0	45,5	12,0	54,5	0,0	0,0	22,0	16,7
VK247	2,0	13,3	11,0	73,3	2,0	13,3	0,0	0,0	15,0	11,4
VK210/PV LIKE	0,0	0,0	2,0	66,7	1,0	33,3	0,0	0,0	3,0	2,3
VK210/VK247/PV LIKE	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	100,0	0,0	0,0	1,0	0,8
VK247/PV-LIKE	0,0	0,0	1,0	100,0	0,0	0,0	1,0	100,0	1,0	0,8
TOTAL	5,0	3,8	71,0	53,8	49,0	37,1	7,0	5,3	132,0	100,0

Teste-G (Williams) = 7,9451

(p) = 0,9260

Fonte: Dados primários

5.6.4- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* e tosse

A tosse é um sintoma frequente nas doenças respiratórias. Na malária, a tosse pode passar despercebida como um sintoma que poderá estar relacionado à malária.

Na tabela 31 observa-se que a tosse esteve presente em 72,2% dos pacientes que apresentavam unicamente a variante VK210, e 65,7% não referiam tosse. Não houve diferença na ausência ou na presença de tosse quando comparados os diferentes grupos de variantes do plasmódio.

Tabela 31 – Associação das variantes do *Plasmódium vivax* com tosse nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	TOSSE			
	SIM	%	NAO	%
VK210	57	72,2	48	65,8
VK210/VK247	10	12,7	15	20,5
VK247	11	13,9	6	8,2
VK210/PV LIKE	0	0	3	4,1
VK 210/VK247/PV LIKE	0	0	1	1,4
VK247/PV-LIKE	1	1,3	0	0
TOTAL	79	100	25	100

Teste-G (Williams) = 8,0114

(p) = 0,1556

Fonte: Dados primários

5.6.5- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* com sensação de falta de ar

Na observação da tabela 32, verifica-se que não houve diferença estatística na presença ou ausência da sensação de falta de ar referida pelos pacientes nas diferentes variantes, isoladamente ou mesmo em infecções mistas (duas ou mais variantes).

Tabela 32 - Associação das variantes do *Plasmódium vivax* com sensação de falta de ar nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	SENSAÇÃO DE FALTA DE AR			
	SIM	%	NAO	%
VK210	39	70,9	66	68
VK210/VK247	8	14,5	17	17,5
VK247	6	10,9	11	11,3
VK210/PV LIKE	1	1,8	2	2,1
VK 210/VK247/PV LIKE	1	1,8	0	0
VK247/PV-LIKE	0	0	1	1,0
TOTAL	55	100	97	100

Teste G (p) =0,7646

Fonte: Dados primários

5.6.6- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* e febre

A febre é um sinal clínico que faz parte da tríade clássica da sintomatologia da malária. No presente estudo, a febre esteve presente em aproximadamente 88% dos casos. Porém, quando se estabelece a correlação estatística da febre com os diferentes genótipos, como pode ser observado na tabela 33, não houve correlação tanto da variante VK210, como as demais variantes isoladas ou em combinação, para o aparecimento ou não da febre.

Tabela 33 - Associação das variantes do *Plasmódium vivax* e febre nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	FEBRE			
	SIM	%	NAO	%
VK210	93	68,9	12	70,6
VK210/VK247	23	17,0	2	11,8
VK247	15	11,1	2	11,8
VK210/PV LIKE	2	1,5	1	5,9
VK 210/VK247/PV LIKE	1	0,7	0	0
VK247/PV-LIKE	1	0,7	0	0
TOTAL	135	100	17	100

Teste-G (Williams) = 1,0387

(p) = 0,9594

Fonte: Dados primários

5.6.7- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* e calafrio

A tabela 34 mostra a taxa de aparecimento de calafrio na amostra estudada de acordo com os diferentes genótipos do *P. vivax*. De maneira semelhante à febre e à sensação de falta de ar, o surgimento de calafrio não sofreu influência com a subespécie do plasmódio.

Tabela 34 – Associação das variantes do *Plasmódium vivax* e calafrio nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	CALAFRIO			
	SIM	%	NAO	%
VK210	90	68,2	15	75,0
VK210/VK247	25	18,9	0	0
VK247	13	9,8	4	20
VK210/PV LIKE	2	1,5	1	5,0
VK 210/VK247/PV LIKE	1	0,8	0	0
VK247/PV-LIKE	1	0,8	0	0
TOTAL	132	100	20	

Teste-G (Williams) = 6,0625

(p) = 0,3002

Fonte: Dados primários

5.6.8- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* e cefaléia

A tabela 35 mostra que a presença ou ausência da cefaléia foi semelhante em todas as variantes do plasmódio, portanto não havendo correlação do aparecimento deste sintoma com nenhuma das diferentes subespécies.

Tabela 35 - Associação das variantes do *Plasmódium vivax* e cefaléia nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	CEFALÉIA			
	SIM	%	NAO	%
VK210	97	69,8	8	61,5
VK210/VK247	24	17,3	1	7,7
VK247	14	10,1	3	23,1
VK210/PV LIKE	2	1,4	1	7,7
VK 210/VK247/PV LIKE	1	0,7	0	0
VK247/PV-LIKE	1	0,7	0	0
TOTAL	139	100	13	100

Teste-G (Williams) = 2,1262

(p) = 0,8314

Fonte: Dados primários

5.6.9- Associação entre variantes do *Plasmodium vivax* e alterações pulmonares nos raios -X e espirometria

A tabela 36 mostra que a maioria dos pacientes tinha infecção malárica pelo *P. vivax* com o genótipo *VK210*. Na associação genotípica com as alterações pulmonares evidenciadas através da radiografia de tórax e/ou espirometria, observa-se que não se estabeleceu esta associação com nenhuma das variantes.

Tabela 36 - Associação das variantes do *Plasmódium vivax* e alterações radiológicas nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	N	RX e/ou espirometria			
		SIM	%	NÃO	%
VK210	105	17	77.3%	88	67.7%
VK210/VK247	25	3	13.6%	22	16.9%
VK247	17	2	9.1%	15	11.5%
VK210/PV LIKE	3	0	0.0%	3	2.3%
VK 210/VK247/PV LIKE	1	0	0.0%	1	0.8%
VK247/PV-LIKE	1	0	0.0%	1	0.8%

Teste G (p) = 0,9352

Fonte: Dados primários

5.6.10- Correlação entre variantes do *Plasmodium vivax* e Plaquetopenia

A figura 23 demonstra que no teste binomial duas proporções, os pacientes infectados apenas com a variante VK 210 tem em termos proporcionais menos plaquetopenia em D0 de forma significativa quando comparado às demais variantes e em associação a outras variantes. Quando se avalia as amostras de VK210 (VK210 isolado ou associado a outras variantes) com as amostras sem VK 210 (VK247 + Pv-like) o resultado deixa de ser significativo (tabela 37).

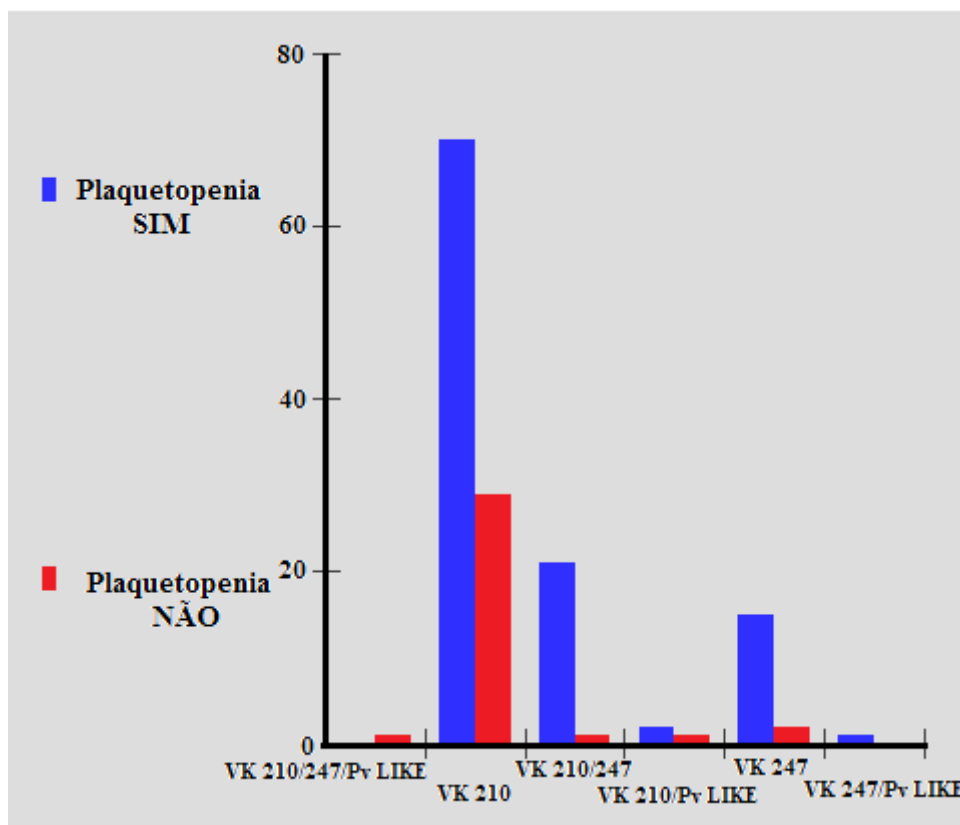


Figura 23 - Presença de plaquetopenia entre as variantes de plasmódio nos portadores de malária *vivax* atendidos no IEC/SVS/Ministério da Saúde (Belém/PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

Teste Binomial: Duas proporções $p = 0,0101$

Fonte: Dados primários

Tabela 37 – Associação entre variantes do *Plasmódium vivax* e plaquetopenia em D0 nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	PLAQUETOPENIA (D0)			
	SIM	%	NAO	%
VK210	70	64,2	29	85,3
VK210/VK247	21	19,3	1	2,9
VK247	05	13,8	2	5,9
VK210/PV LIKE	02	1,8	1	2,9
VK 210/VK247/PV LIKE	0	0	1	2,9
VK247/PV-LIKE	1	0,9	0	0
TOTAL	99	100	34	100

Teste-G (Williams) = 9,4006

(p) = 0,0941

Fonte: Dados primários

5.6.11- Associação entre os níveis séricos da citocina TNF em D0 e D14 com as variantes do *Plasmodium vivax*.

Pode ser observado na tabela 38 que a média dos níveis séricos de TNF aumentou em D14 quando comparada a D0, mas este aumento foi estatisticamente significativo apenas relacionado ao genótipo VK210 isolado.

Tabela 38 - Associação das variantes do *Plasmódium vivax* e com média de TNF em D0 e D14 nos pacientes com malária atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	N	MÉDIA TNF		
		D0	D14	p-valor
VK210	43	0.0	7.9	0,0393*
VK210/VK247	8	21.0	28.8	0.2789
VK247	5	0.0	50.4	0.1869
VK210/PV LIKE	1	-----	-----	-----
VK 210/VK247/PV LIKE	0	-----	-----	-----
VK247/PV-LIKE	0	-----	-----	-----

Teste *t Student* amostras pareadas

Fonte: Dados primários

5.6.12- Correlação entre os níveis séricos da citocina INF γ em D0 e D14 com as variantes do *Plasmodium vivax*.

A tabela 39 mostra que a média dos níveis séricos da citocina INF γ foi significativamente maior em D0 do que em D14, nas variantes do plasmódio *vivax*: VK210 isolada (P<0,0001), VK247 isolada (p=0,0190) e VK210/VK247 (p= 0,0074).

Tabela 39 - Correlação das variantes do *Plasmódio vivax* com a média de INF γ em D0 e D14 nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	N	MÉDIA INF Gama		
		D0	D14	p-valor
VK210	64	204.0	5.7	< 0,0001*
VK210/VK247	14	180.3	9.4	0,0074*
VK247	9	125.2	0.0	0,0190*
VK210/PV LIKE	1	-----	-----	-----
VK 210/VK247/PV LIKE	0	-----	-----	-----
VK247/PV-LIKE	0	-----	-----	-----

Teste *t* de Student amostras pareadas

Fonte: Dados primários

5.6.13- Correlação entre os níveis séricos da citocina IL-10 em D0 e D14 com as variantes do *Plasmodium vivax*.

A tabela 40 demonstra que a média dos níveis séricos da IL-10 foi significativamente maior em D0 quando comparado a D14 no grupo de pacientes infectados com a variante VK210 isolada (Teste G Williams *p= 0,0237).

Tabela 40: Comparação das variantes do *Plasmódium vivax* com a média de IL-10 em D0 e D14 nos pacientes com malária, atendidos no IEC/SVS/MS (PA) e serviço de diagnóstico de malária da Secretaria de Saúde do município de Goianésia/Pará, no período de abril/2011 a outubro/2013.

VARIANTES	N	MÉDIA IL-10		
		D0	D14	p-valor
VK210	63	21.6	7.8	0,0237*
VK210/VK247	14	46.5	29.4	0.3231
VK247	9	78.8	22.7	0.0554
VK210/PV LIKE	1	-----	-----	-----
VK 210/VK247/PV LIKE	0	-----	-----	-----
VK247/PV-LIKE	0	-----	-----	-----

Teste G (Williams)

Fonte: Dados primários

VI- RELATO DE CASOS

Passaremos a relatar 07 casos dos 21 que apresentaram alterações na radiografia de tórax. Essas alterações mostraram o espectro radiológico que pode se apresentar na malária *vivax* e variaram das mais leves, como opacidade pulmonar intersticial (pneumonite), infiltrado pulmonar, opacidade alveolar, passando por derrame pleural de pequeno e grande volume, atelectasia subsegmentar, opacidades em “vidro fosco” até edema agudo de pulmão caracterizado pela Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) com desfecho em óbito.

CASO 1

L.C.R., masculino, 34 anos, pardo, casado, técnico em mecânica, residente em Belém, deu entrada para internação em hospital particular com impressão diagnóstica inicial de hepatite viral devido apresentar a uma semana febre diária, calafrios, mialgia, astenia, inapetência, icterícia e colúria.

Encontrava-se orientado, eupneico, hidratado, sendo prescrito dieta para hepatite. Evoluiu com febre elevada (39,5°C), cefaléia intensa e astenia, PA=110x60 mm Hg. Inicialmente foi solicitado hemograma, sorologia para hepatite A, B e C. O resultado desses exames mostrou leucopenia com plaquetopenia, sem anemia; a sorologia mostrou-se negativa para hepatite A, B e C.

Devido paciente ter passado duas semanas trabalhando em área de mata (município de Itaituba/Pará), foi então solicitado no hospital de internação pesquisa de *Plasmodium*, com resultado negativo. Paciente continuou evoluindo com febre elevada e calafrios, realizando RX de tórax que mostrou condensação fina (infiltrado) em base de hemitórax direito (Foto 3). Na ausculta pulmonar, apresentou estertores crepitantes em base pulmonar direita. Com este resultado foi iniciado ciprofloxacina, cuja evolução não foi satisfatória, e no terceiro dia de antimicrobiano, insistiu-se na pesquisa de *Plasmodium*, resultando a pesquisa positiva para malária *vivax*. No dia seguinte foi acionado o Instituto Evandro Chagas que confirmou resultado (parasitemia=22.500 V + 150 Vg / mm³) e iniciou esquema terapêutico antimalárico com cloroquina e primaquina, conforme esquema padronizado pelo Ministério da Saúde, sendo suspenso o antimicrobiano (ciprofloxacino).

Paciente continuava febril e embora se encontrasse astênico e sonolento apresentava melhora do estado geral. A icterícia e colúria que foram regredindo gradativamente. Nos dias seguintes apresentou melhora clínica considerável. Feito RX de tórax evidenciou-se o desaparecimento das lesões iniciais de condensação (Foto 4).

Hemograma: sem anemia e sem plaquetopenia. Recebeu alta hospitalar e foi encaminhado para o PECEM / IEC para controle e acompanhamento de prevenção à recaída.

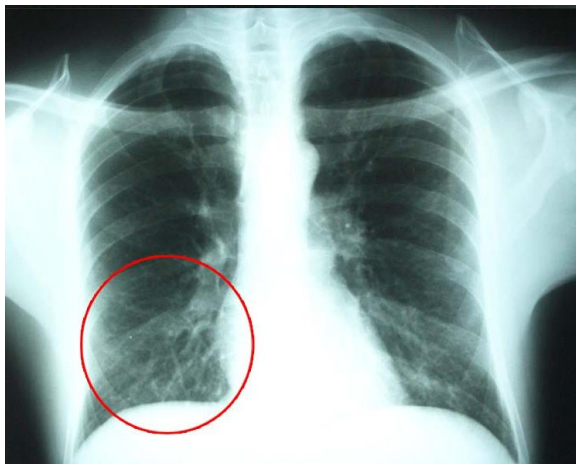


Foto 3- Telerradiografia de tórax em PA mostrando condensação intersticial em hemitorax direito, no D0 (caso 1).

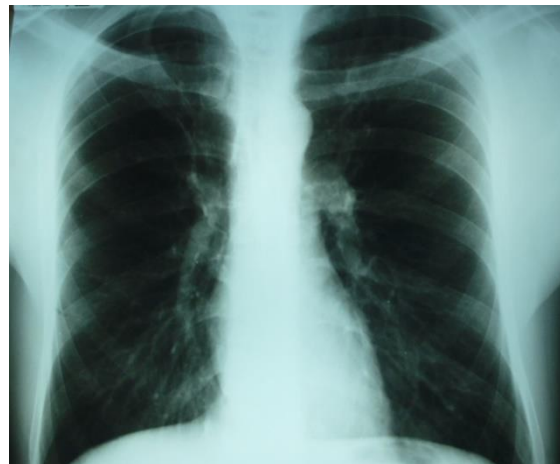


Foto 4 - Telerradiografia de tórax normal (D14).

CASO 2

V.L.M.V., 49 anos, mulher, representante comercial, residente em Belém. Viajou no final de semana a passeio para visitar a família em Cametá (Rio Guajará) onde passou 3 dias. Doze dias após ter retornado a Belém, começou a apresentar febre acompanhada de calafrios e cefaléia intensa. Fez uso por conta própria de analgésico (paracetamol) sem melhora. Com o retorno dos acessos febris e o surgimento de dor abdominal, sentindo que seu quadro clínico estava se agravando, procurou serviço médico em emergência particular onde foi medicada com sintomáticos, recebendo diagnóstico de virose. Evoluiu com piora do quadro anterior e na terceira vez que retornou à emergência foi internada no Hospital da Beneficente Portuguesa e recebeu de início medicação sintomática e hidratação endovenosa.

Na admissão paciente apresentava febre, cefaléia e continuava com dor abdominal; ausência de diarreia ou vômitos. Encontrava-se orientada, anictérica e acianótica; ausculta pulmonar com murmúrio vesicular discretamente diminuído em base pulmonar direita, frequência respiratória de 20 ipm; ausculta cardíaca com bulhas normofonéticas, ritmo de 2 tempos, sem sopros. No interrogatório paciente não tabagista, não alcoolista e sem histórico de doenças pulmonares prévias.

No segundo dia de internação houve piora da dor abdominal e aparecimento de desconforto respiratório, principalmente ao deitar-se. Exames de rotina foram solicitados, pesquisa de *Plasmodium* em gota espessa, assim como RX de tórax e ultrassonografia (USG) do abdome total.

Os exames mostraram: hemograma com de 11,1g% de hemoglobina, leucócitos de 4.400/mm³ e plaquetopenia de 22.000/mm³; TGO de 143 U/L e TGP de 102 U/L. A radiografia de tórax revelou derrame pleural bilateral de pequeno volume e parênquima pulmonar normal (Foto 5). No exame de ultrassom de abdome mostrou fígado de forma normal e dimensões discretamente aumentadas, com parênquima de textura homogênea sem evidência de lesões focais. Baço, rins, grandes vasos e bexiga sem lesões, porém o derrame pleural encontrado no RX foi confirmado pelo ultrassom, com estimativa de cerca de 50 ml de líquido pleural.

O exame de gota espessa foi positivo, sendo acionado o Instituto Evandro Chagas (IEC) que repetiu o exame e confirmou malária *vivax* com uma parasitemia de 70.000 V/mm³. Esta era a primeira infecção malárica da paciente. O IEC levou o esquema terapêutico com cloroquina e primaquina nas doses preconizadas pelo Ministério da Saúde, que foi iniciado imediatamente à paciente, que aceitou participar da pesquisa assinando o TCLE. Após 3 dias do início da terapêutica e melhora do quadro clínico, paciente recebeu alta com orientação de acompanhamento no Ambulatório de Ensaios Clínicos do IEC. No D3 realizou espirometria que apresentava distúrbio ventilatório restritivo leve. No D14, paciente encontrava-se assintomática, hemograma com 12,0g% de hemoglobina, leucócitos 6.450/mm³ e plaqueta de 292.000/mm³, TGO de 19 U/L e TGP de 15 U/L.

A radiografia de tórax apresentando regressão completa do derrame pleural no D14 (Foto 6), assim como a espirometria normal, paciente continuou sendo acompanhada no ambulatório de malária do IEC para o controle de cura, de acordo com o protocolo do Ministério da Saúde.



Foto 5 - Derrame pleural bilateral.



Foto 6 - D14 - RX de torax normal

CASO 3

A.C.J., 29 anos, masculino, pardo, solteiro, pedreiro, residente em Belém. Na história clínica relatou que tinha viajado em final de semana prolongado para visitar familiares na Ilha das Onças, município de Barcarena/Pará. Dez dias após seu retorno começou a apresentar cefaléia intensa febre e dor lombar, o que o levou a procurar a unidade básica de saúde mais próxima à sua casa, sendo medicado com paracetamol obtendo discreta melhora da febre. Após tentativa com uso de remédios caseiros sem sucesso, e com a piora do quadro, procurou o Programa de Ensaio Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas (PECEM/IEC), onde foi realizada a pesquisa de *Plasmodium* pelo método da gota espessa com resultado positivo para *P. vivax*. Paciente era primo-infectado. Estava sintomático há sete dias e sua parasitemia demonstrou 2.000V/mm³. Paciente referia tonturas, zumbidos, febre, calafrios, lombalgia, tosse seca irritativa, sensação de falta de ar e dor torácica ventilatório- dependente à esquerda. Negou pneumopatias prévias e tabagismo.

Ao exame físico, apresentava pele e mucosas hipocoradas, sem icterícia ao exame das escleróticas; encontrava-se afebril no momento do exame; sua pressão arterial estava 110 x 60 mm Hg e a ausculta cardíaca mostrava bulhas normofonéticas, ritmo de dois tempos, sem sopros; o exame do aparelho respiratório na inspeção estática e dinâmica não se observou alterações no tórax; a amplitude das excursões respiratórias encontrava-se normal, porém com a frequência respiratória um pouco acima da normalidade (24 ipm) ; ausculta pulmonar com murmúrio vesicular rude e estertores crepitantes finos em base pulmonar esquerda e limpo nas demais áreas do pulmão. O exame do abdômen estava normal, sem visceromegalias à palpação. Iniciado esquema terapêutico para malária *vivax*, via oral, com cloroquina 150mg (quatro comprimidos no primeiro dia + três comprimidos no segundo dia + três comprimidos no terceiro dia) e primaquina 15mg (dois comprimidos por dia durante sete dias) concomitantes.

Colheu sangue para realização de hemograma com contagem de plaquetas e extração do DNA para identificação das variantes do *Plasmodium vivax*, e depois paciente foi então encaminhado para o Hospital Universitário João de Barros Barreto onde realizou RX de tórax e a espirometria. A telerradiografia de tórax mostrou em D0 opacidade laminar em base do pulmão esquerdo (Foto 7).

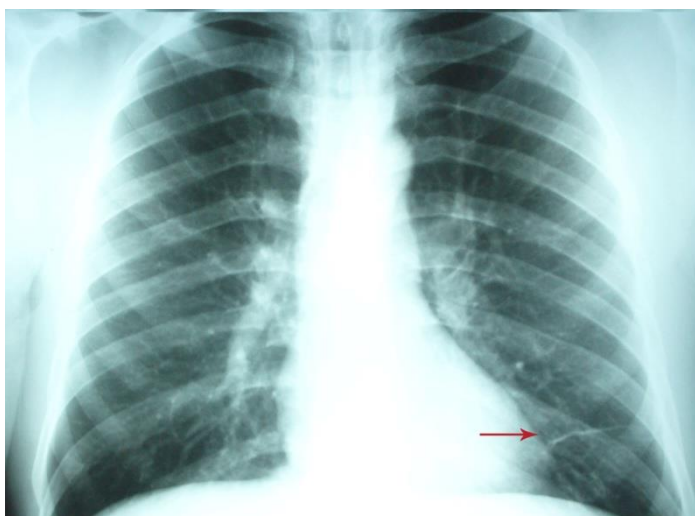


Foto 7 - Telerradiografia de tórax em PA mostrando opacidade laminar em base pulmonar esquerda, no D0 (caso 3).



Foto 8 - Telerradiografia de tórax em PA normal, no D14 (caso 3).

No dia seguinte (D1) paciente continuava com febre, calafrios e cefaléia de menor intensidade, permanecendo a tosse seca, dor torácica e dispneia.

No terceiro dia (D2), a temperatura axilar era de 37,5 °C e o paciente negava os sintomas iniciais de tonturas, zumbidos e lombalgia. Permaneciam ainda a tosse, dispneia e dor torácica, porém com melhora desses sintomas. No quarto dia, a parasitemia estava negativa e o paciente encontrava-se afebril, permaneciam ainda a tosse e discreta sensação de falta de ar, embora sua frequência respiratória estivesse normal (18ipm).

No quinto dia, com parasitemia negativa, foi orientado a que voltasse no D7 para controle. Nesse dia, a parasitemia estava negativa, paciente já não apresentava mais os sintomas da tríade malárica, porém permanecia com discreta dor torácica ao respirar profundamente.

No D14 o paciente encontrava-se totalmente assintomático, RX de tórax (Foto 8) e espirometria estavam normais e os dados relativos ao hemograma estavam dentro dos padrões de normalidade.

CASO 4

M.B.V.B., 42 anos, masculino, pardo, casado, policial, residente em Belém. Viajou para o município de São Caetano de Odivelas onde permaneceu por dois dias para atividade de lazer (pescaria). Uma semana após a viagem, iniciou quadro de cefaléia, seguido de febre e calafrio. Fez uso de medicação sintomática, porém com piora acentuada do quadro clínico foi internado em hospital privado com suspeita de dengue. Exames na admissão mostravam hemograma com hemoglobina de 10.5 g%, leucopenia (3.900) e plaquetopenia (80.000 / mm³), Gama GT de 59 U/L, Fosfatase alcalina de 49 U/L, TGO 24 U/L, TGP 23 U/L. Bilirrubinas totais de 1.14. Ureia de 42 mg/dL, Creatinina era 1.35 mg/dL. Afastado dengue após sorologia negativa e confirmado diagnóstico de malária por *Plasmodium vivax* através de gota espessa no 4º dia de internação hospitalar. Iniciado tratamento específico com cloroquina 150mg e primaquina 15mg. No 5º dia de internação, evoluiu com desconforto respiratório, os raios- X com discreto infiltrado pulmonar bilateral (Foto 9), sendo transferido para UTI onde foi admitido com Glasgow 15, dispnéia (FR=30 ipm), hipotensão e cianose. Exames laboratoriais mostraram hemograma com hemoglobina de 8,5 g%, leucócitos de 5.600 e plaquetas de 121.000 /mm³; albumina 2,5g/dL, CK-Mb < 0.80, troponina negativa (>0,01 mg/dL). TGO e TGP normais.



Foto 9 - Infiltrado em bases pulmonares.

A ausculta pulmonar apresentava roncos e estertores creptantes em bases pulmonares. Houve piora do padrão radiológico, com derrame pleural bilateral (Foto10). A tomografia de tórax mostrava opacidades distribuídas esparsamente em ambos os pulmões, opacidades em vidro fosco, pequeno derrame pleural. Coração de configuração e dimensões normais (Foto 11).



Foto 10 - Estrias atelectásicas. Espessamento de paredes brônquicas. Apagamento dos seios costo e cardiofrênicos.

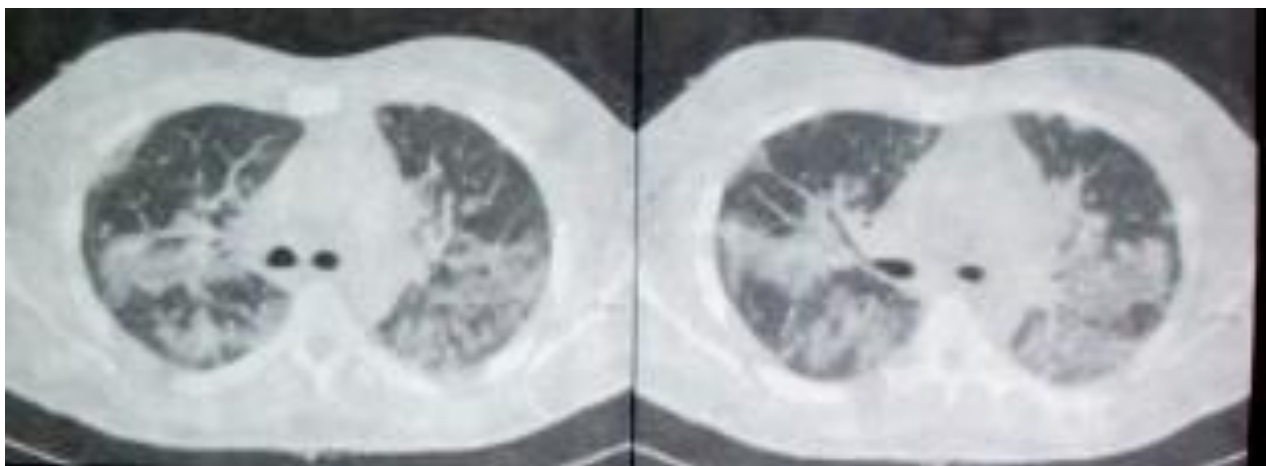


Foto 11 - Tomografia com opacidades reticulares confluentes e irregulares distribuídas esparsamente em ambos os pulmões com predomínio nos lobos inferiores onde apresentam-se com algumas opacidades em vidro fosco. Sinéquias pleurais bilaterais. Atelectasia subsegmentar no segmento basal posterior do lobo inferior do pulmão esquerdo associado a pequeno derrame pleural. Coração de configuração e dimensões normais para a idade e biótipo.

Desde a admissão em UTI permaneceu sob macronebulização de O₂, com tentativas de desmame sem sucesso. Iniciado antibioticoterapia (piperacilina + tazobactam na dose de 4,5 mg 6/6h).

Permaneceu em UTI por seis dias evoluindo com melhora do quadro, sem necessidade de macronebulização e normalização da ausculta pulmonar, recebendo alta para enfermaria.

A TC de tórax de controle mostrou regressão completa das alterações, conforme mostra a foto 12.

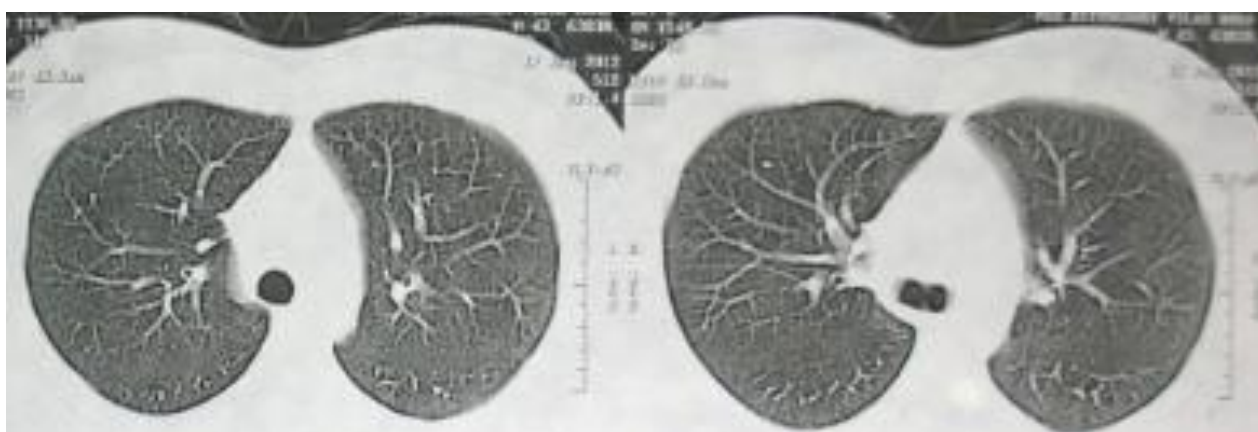


Foto 12 - Tomografia de tórax de controle mostrando desaparecimento das lesões.

CASO 5

V.L.S.V., gênero feminino, 63 anos, casada, professora, residente em Manaus, capital do Amazonas.

Em abril de 2013 viajou para Belém a passeio, e dois dias depois, iniciou febre, calafrio e cefaléia. Diante dos sintomas, e por já ter apresentado 2 episódios anteriores de malária, a própria paciente suspeitou de nova infecção malárica, sendo levada por seus familiares ao Instituto Evandro Chagas. Na primeira consulta apresentava-se consciente, orientada, eupnéica (FR=16 ipm), pressão arterial de 130 x 80 mm Hg, pulso 80 bpm; abdome estava normotenso, sem visceromegalias. Referia lombalgia, artralgia e hiporexia. Paciente informou como hábito, viagens regulares aos finais de semana para seu sítio no interior de Manaus, localizado em Rio Preto da Eva (área endêmica para malária). Realizado exame de gota espessa com resultado positivo para malária *vivax* (4.500 parasitos/mm³), iniciando tratamento com cloroquina 150 mg + primaquina 15mg, nas doses preconizadas pelo MS.

No D0, o hemograma apresentava 11,2 g% de hemoglobina, 35,40 mg/dL de hematócrito, plaquetas de 324.000/ mm³, leucócitos de 5.900, TGO 17 U/L; TGP 21 U/L e bilirrubinas totais de 0,46 mg/dL. A radiografia de tórax (Foto 13) e espirometria estavam normais.



Foto 13 – D0- Rx de torax normal

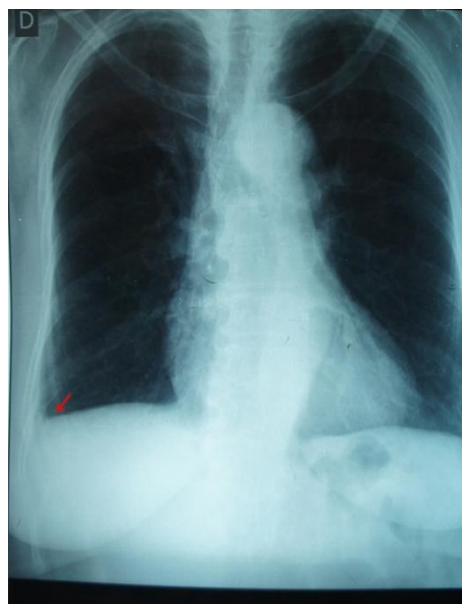


Foto 14 – D4 – Derrame pleural a direita

Evoluiu com melhora dos sintomas iniciais de febre, calafrio e cefaleia. Em D4, durante o controle diário, paciente referiu sensação de incômodo em peso em hemitórax direito. Foi realizado radiografia de tórax na mesma data que mostrou derrame pleural de pequeno volume em hemitórax direito (Foto 14).

Manteve tratamento regular, sem sintomas adicionais e evoluiu com melhora do desconforto torácico, comprometendo-se em dar continuidade aos controles de cura, já que necessitava retornar a sua cidade de origem. Posteriormente paciente entrou em contato com ambulatório de malária do IEC informando estar assintomática, parasitemia negativa, e a radiografia de tórax de controle estava normal.

CASO 6

N.S.P., 42 anos, masculino, casado, dono de garimpo (Itaituba), obesidade tipo 1. Em seu local de origem iniciou sintomas de febre diária, acompanhada de cefaleia intensa, fazendo uso de analgésicos e antitérmicos sem obter melhora. Viajou para Belém em busca de tratamento e foi internado em hospital particular com suspeita de dengue.

Exames realizados no dia de admissão mostraram anemia com hemoglobina de 10.1g%, 72.000 plaquetas/mm³. No exame físico, ausculta cardíaca e pulmonar normais. Radiografia de tórax sem alterações e sorologia para dengue estava negativa.

No 5º dia de hospitalização, na suspeita de malária, foi acionado o IEC que realizou exame de gota espessa com resultado positivo para *Plasmodium vivax* (12.000 parasitos/mm³). Iniciou tratamento com antimalárico (cloroquina 150mg + primaquina 15 mg) melhorando consideravelmente seu quadro clínico.

Em D2, (3º dia de tratamento), apresentou subitamente tosse seca, desconforto respiratório, dispnéia (FR de 34 ipm), e tiragem intercostal necessitando uso de macronebulização. O Rx de tórax (Foto 15) mostrou pulmões pouco expandidos, discretas opacidades lineares nas bases pulmonares com obliteração dos seios costo-frênicos.

Foi suspensa hidratação endovenosa, e iniciado medicação diurética (furosemida 40 mg/ml). Evoluiu com melhora clínica e radiológica (Foto 16), recebendo alta hospitalar após 10 dias de internação.



Foto 15 - D2 - Opacidades em bases pulmonares obliterando os seios custo e cardiofrênicos. Derrame pleural de pequeno volume bilateralmente.

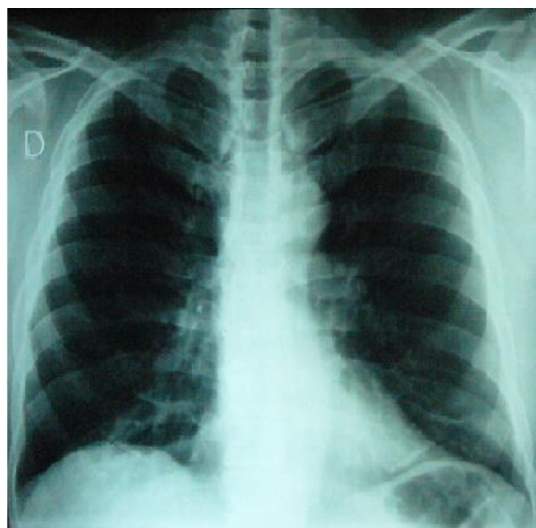


Foto 16 - Raio- X normal.

CASO 7

E.P.S, 16 anos, feminino, natural de Belém, procedente da ilha do Marajó, internada em Hospital de Referência de Doenças Infecciosas, após 11 dias de febre, calafrio, cefaleia e urina com aspecto hematórico.

Na admissão apresentava-se consciente, orientada normotensa, desconforto respiratório (taquipnéia) e dor abdominal. Rx com opacidades tênues em bases pulmonares (Foto 17).



Foto 17 - D0 – Opacidades tênues em bases pulmonares.

Os exames iniciais mostraram hemograma com hemoglobina de 10,5g%, plaquetas de 33.000 parasitos/mm³. Gota espessa positiva para *P. vivax* (parasitemia não quantificada no hospital). Iniciado esquema terapêutico para malária *vivax* com cloroquina 150mg + primaquina 15 mg. Houve piora clínica com aumento de desconforto respiratório, vômitos biliosos, além de icterícia (bilirrubina total de 5,7mg /dL, fração direta de 3,4 e indireta de 2,3) e anasarca. No 4º dia de internação foi transferida para UTI com insuficiência respiratória, onde foi submetida a intubação orotraqueal. Mantido esquema antimalárico e iniciado antibioticoterapia (Cefepime 2g EV 12/12h + Clindamicina 600 mg EV 6/6h). Permaneceu grave com piora progressiva do quadro pulmonar, Raio-x na UTI com opacidades difusas em campos pulmonares, caracterizando congestão pulmonar (Foto 18).

Evoluiu com insuficiência renal (creatinina de 7,0 mg/dL), hipotensão, disfunção de múltiplos órgãos, indo a óbito no 7º dia de internação hospitalar.

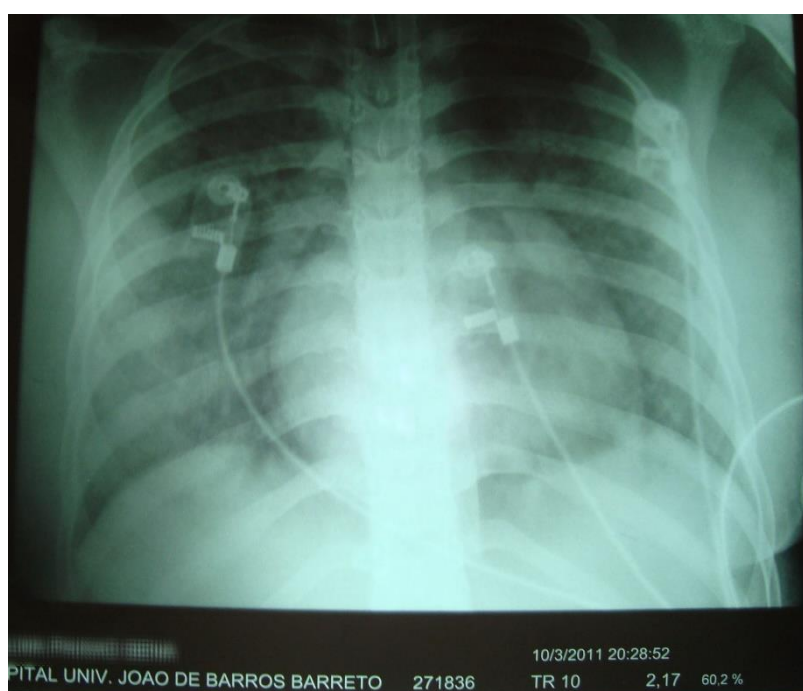


Foto 18 - D5 – Opacidades difusas, congestão pulmonar.

VII- DISCUSSÃO

Em 247 pacientes com malária por *Plasmodium vivax* foram analisados o comprometimento pulmonar e sua associação com fatores epidemiológicos, imunológicos (TNF, IL-10 e INF gama), correlacionando esses achados com as variantes do parasito (VK210, VK247, Pvlike).

O diagnóstico de malária foi realizado pela técnica da gota espessa seguida de PCR realizado em D0 para confirmação da espécie e identificação das subespécies (variantes). Os pacientes tiveram acompanhamento clínico e laboratorial por até 14 dias. Em D0 e D14 realizaram hemograma com contagem de plaquetas, dosagem de transaminases, bilirrubinas, RX de tórax, espirometria e dosagem sérica de citocinas (TNF, IL-10 e INF gama).

7.1-ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Neste estudo, predominaram indivíduos do gênero masculino (69,2%) e acima dos 20 anos (85,7%). Os dados referidos pelo Sistema de Vigilância Epidemiológica da Malária para o estado do Pará no ano de 2013 foram similares no que se refere ao gênero (67,9%), porém inferiores (54,8%) para a faixa etária (SIVEP/Malária, 2014). Ainda sobre a idade dos pacientes acometidos, as faixas etárias predominantes foram as de 21 a 50 anos de idade, (71,2%), semelhante ao encontrado por Éldi e colaboradores (2011) (73,41%) ao estudarem o perfil epidemiológico da malária no estado do Tocantins (Brasil), no período de 2003 a 2008, confirmando que a doença costuma incidir com maior frequência nos homens e na faixa etária produtiva de trabalho relacionado às atividades no campo, o que reforça a necessidade de manter medidas efetivas de vigilância em toda área endêmica de malária e aprimorar ações educativas no sentido de orientar a população na busca pelo atendimento precoce.

A maioria dos pacientes (64,4%) residia em Belém e adquiriu malária ou no interior do Estado do Pará (77,3%) em áreas endêmicas como Anajás, Itaituba, Tucuruí; ou em outros estados da federação (10,9%) como Amapá, Maranhão, Porto Velho, Amazonas, ou mesmo no exterior (9,3%), em países como Guiana Francesa, Guiana Inglesa e Suriname, para onde os pacientes da pesquisa viajaram, principalmente a trabalho, diferente do citado por Lopes et al (2013), que ao analisarem fatores relacionados com a transmissão da malária no estado do Maranhão no período de 2005 a 2009, verificaram maior número de casos autóctones (57,5%) sobre não autóctones.

Nesta casuística, os casos autóctones representaram 3,0%, percentual superior a 0,78% (198/25.497) da contribuição da área metropolitana de Belém (que compreende a capital do estado e mais cinco municípios) no total de casos notificados no estado do Pará em 2013 (SIVEP/Malária, 2014), em consequência do surto de malária *vivax* ocorrido no município de Ananindeua, neste mesmo ano. A facilidade de acesso, pela localização do Instituto Evandro Chagas no próprio município favoreceu a inclusão destes pacientes no estudo.

Na Amazônia, a ocorrência da malária não é homogênea, havendo diferentes situações epidemiológicas em função das diferentes formas de ocupação do solo e das diversas modalidades de exploração econômica informal. A propósito, no interrogatório dos pacientes sobre a atividade ocupacional, muitos informaram ser cozinheiros, pilotos de barcos ou vendedores ambulantes que não tinham uma atividade diretamente relacionada ao extrativismo, mas realizavam frequente e periodicamente viagens ao interior do estado devido suas atividades econômicas de sobrevivência e assim, adquirindo por vezes várias malárias. A atividade ocupacional de menor incidência na amostra foi a de garimpagem com 2,4% dos casos.

A primeira infecção foi observada em 42,1% (104/247) dos casos e reinfecção em 57,9% (143/247), similar ao observado por OHNISHI, (2008), que ao estudar o polimorfismo de citocinas relacionando com manifestações pulmonares em pacientes com malária *vivax* em área endêmica da Amazônia, encontrou na amostra 45,8% de primoinfectados, contra 54,2% de reinfecções. Entre os reinfecções, observou-se com maior frequência um a três episódios de malária.

O tempo médio de doença foi de $7,5 \pm 5,9$ dias. Para a maioria dos pacientes (65,6%; 162/247), o tempo entre o aparecimento dos sinais e sintomas e o diagnóstico de malária, ocorreu principalmente na primeira semana. Retardo no diagnóstico representado por duas semanas ou mais ocorreu em 33,7%, diferentemente do observado por Raposo et al, (2013), quando relatou fatores de severidade para malária *vivax* no Estado do Maranhão encontrando o tempo médio de doença de 3 dias, sendo o tempo máximo de 10 dias.

O Ministério da Saúde orienta e estabelece para o controle da malária no Brasil, o diagnóstico e tratamento precoces como pilares para a redução da transmissão, gravidade e mortalidade. Observa-se que, embora o Estado do Pará tenha reduzido seus índices de malária nos últimos anos (SIVEP/Malária, 2014), ainda tem dificuldades no diagnóstico dentro das 48 horas do início dos sintomas.

Pacientes reinfectados, 57,9% (143/247), tiveram significativamente (Qui-Quadrado $p=0,0115$) o diagnóstico de sua doença estabelecido mais precocemente do que aqueles com infecção primária, provavelmente por já terem experimentado infecções maláricas anteriores, e assim, aos primeiros sinais e sintomas da doença, procuraram diretamente os serviços de saúde que prestam atendimento a esses casos específicos.

A média da parasitemia foi de $6.979,25 \pm 8.692,22$ parasitos/ mm^3 de sangue. Na estratificação verifica-se que a maior frequência de pacientes (34,4%) apresentava 7.000 ou mais parasitos/ mm^3 de sangue. O maior valor de parasitemia encontrado foi de 70.000 parasitos/ mm^3 e o menor de 500 parasitos/ mm^3 . Ao comparar os níveis de parasitemia dos nossos pacientes com os de Raposo e colaboradores (2013), a parasitemia de 92,8% dos seus pacientes, não excedeu 10.000 parasitos/ mm^3 , o que pode ser compreendido pelo menor tempo do início dos sintomas até a deflagração do diagnóstico.

Na nossa casuística, parasitemia igual ou maior que 7.000 parasitos / mm^3 no grupo de pacientes primoinfectados foi discretamente superior aqueles com reinfeção, presumivelmente, devido a ausência de imunidade adquirida em contato prévio com o *Plasmodium sp* nos primoinfectados, com uma frequência entre os dois grupos de respectivamente 39,4% (41/104) e 30,8% (44/143), embora estatisticamente essa diferença não tenha sido significativa (Teste t-Student $p=0,1142$). Semelhante ao relato de Raposo que embora os primoinfectados também tivessem apresentado níveis mais elevados de parasitemia, estes não foram estatisticamente significativos ($p=0,176$). A demora na confirmação do diagnóstico não se refletiu na alta da parasitemia (Correlação de Spearman: $r_s = 0,0299$; $p = 0,467$).

O desaparecimento da parasitemia (gota espessa negativa) foi significativamente mais precoce nos pacientes com reinfeção malárica do que naqueles que relataram o primeiro episódio da doença, observando-se que no grupo de pacientes com reinfeção malárica, 60,8% já estavam negativos até D2 em comparação com 34,3% do grupo de primoinfectados.

Na correlação tempo de desaparecimento da parasitemia com o nível de parasitemia em D0, quando se trata dos reinfectados a correlação foi mais fraca ($p<0,0001$ (r_s) =0,3654), correlação linear de Spearman), do que nos primoinfectados ($p<0,0001$ (r_s) =0,6269 correlação linear de Spearman), sugerindo que outros fatores, como provavelmente, a resposta imune, além da parasitemia inicial, possam estar associados. Já nos primoinfectados, esta correlação sugere que o nível de parasitemia em D0 é um fator mais importante para o desaparecimento da parasitemia que nos reinfectados.

Arévalo-Herrera (2014), na quase totalidade dos pacientes da sua amostra em voluntários da Colômbia, o clearance de parasitemia ocorreu entre 24 e 48 h (D1 e D2) após início do tratamento antimalárico. O Ministério da Saúde através do Manual de Terapêutica Antimalárica (2010) refere que o atraso no diagnóstico e no tratamento têm sido decisivos para aumentar o risco de quadros graves e de óbitos por malária, e, não é infrequente, que o atraso no tratamento se deve a erro de diagnóstico.

Alterações inflamatórias descritas em indivíduos obesos têm sido citadas como fatores que podem interferir nas manifestações clínicas da asma nesses pacientes (BEUTHER et al, 2006). A condição inflamatória própria dos indivíduos obesos, que inclui aumento do TNF- α e de outras citocinas pró-inflamatórias, determina sobreposição destes mecanismos inflamatórios com os envolvidos na asma, acentuando a influência na contratilidade da musculatura das vias aéreas (SHORE E FREDBERG, 2005; BEUTHER et al, 2006).

Extrapolando da asma, e partindo-se do princípio que a malária cursa com processos inflamatórios envolvendo citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias por mecanismos fisiopatológicos não muito bem compreendidos e que a condição inflamatória própria dos indivíduos obesos que inclui aumento de TNF e de outras citocinas pró-inflamatórias, poderia também determinar superposição desses mecanismos inflamatórios podendo se acentuar esses efeitos. Assim, foram registrados peso e altura dos pacientes para verificar a distribuição desses indivíduos de acordo com o IMC.

O índice de massa corpórea foi pesquisado em 63,16% (156/247) dos pacientes, dos quais 46,8% (73/156) apresentaram sobrepeso ou obesidade grau I; 48,7% (76/156) eram eutróficos e 4,5% (7/156) tinham baixo peso. Quando se correlacionou o IMC com a função respiratória (espirometria), não observamos do ponto de vista estatístico relação direta do peso influenciando nos valores de CVF, VEF1, VEF1/CVF e FEF25-75% que indicariam a presença de obstrução, restrição ou comprometimento das pequenas vias aéreas no grupo como um todo. Entretanto, quando nos reportamos para aqueles casos que apresentaram manifestação pulmonar evidenciado através de alterações no RX de tórax (18) encontramos 61,1% (11/18) com o índice de massa corpórea acima do normal, sendo sete deles obesidade tipo I e quatro, sobrepeso.

Não podemos deixar de considerar esse fato, uma vez que as lesões que ocorrem no pulmão desses pacientes são consequência do provável processo inflamatório desencadeado pelo desequilíbrio de citocinas pro e anti-inflamatórias (SORTICA, 2012), e cujo desaparecimento, ocorre com o tratamento antimalárico, não deixando portanto nenhum tipo de seqüela radiológica, mostrando assim que a injúria pulmonar na malária está relacionada

além de outros possíveis fatores, ao processo inflamatório, uma vez que as lesões se caracterizam como tal: lesões intersticiais (pneumonite), derrame pleural, etc.

Assim como mudanças na mecânica respiratória, diminuições da capacidade residual funcional e do volume corrente secundárias à obesidade, além do estilo de vida sedentário e da baixa capacidade para realizar atividades físicas dos obesos podem ocasionar piora dos sintomas de asma (HUOVINEN, 2003), da mesma forma esses mecanismos poderiam acentuar o processo inflamatório da malária em pacientes obesos. Entretanto a relação causal entre a obesidade e a gravidade da malária ainda não pode ser afirmada. Estudos adicionais são necessários para o melhor esclarecimento da associação entre essas patologias.

7.2- MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

7.2.1- Sinais e sintomas gerais

Os sinais e sintomas que mais chamam a atenção da doença são conhecidos como tríade sintomática da malária. A tríade malárica (febre, calafrio e cefaleia) foi observada nos pacientes no primeiro dia de atendimento (D0), respectivamente em 87,9% (217/247), 87,0% (215/247) e em 92,3% (228/247). A cefaléia foi o sintoma mais frequente no grupo estudado, semelhante ao encontrado por Ohnishi em 2008, em pacientes infectados por malária *vivax* na Amazônia, onde a cefaléia também foi o sintoma da tríade malária mais preponderante.

Quando os pacientes foram interrogados na consulta inicial sobre presença ou ausência de febre, foi relatado positivamente em 87,9%, inclusive com relatos de acessos febris com tremores intensos. Ao exame físico, por ocasião da tomada dos sinais vitais, em D0 a febre foi observada em apenas 24,8% dos casos, com média de $37,14 \pm 1,63$ °C (menor valor 33,5°C e maior valor 41°C), provavelmente devido aos acessos febris nem sempre coincidirem com o momento da consulta, ou mesmo devido ao uso prévio de antitérmicos orais por conta própria. Esses dados corroboraram com os de O'Brien et al, (2014), na Colômbia, que encontraram na admissão dos pacientes do seu estudo, temperatura corporal média de 37,0°C (menor 34,5°C e maior 39,5°C) e atribuiu tais achados à automedicação (antitérmicos) antes da consulta mascarando a febre, ou a um certo grau de imunidade em áreas endêmicas com consequente baixa na severidade dos sintomas.

Na malária, sinais e sintomas gerais como tonturas, mialgia, náuseas, vômitos, diarreia, inapetência, icterícia, hepatomegalia e esplenomegalia podem ocorrer, e muitas vezes o quadro clínico mostra semelhança podendo confundir com algumas arboviroses como dengue, febre amarela, febre hemorrágica e leptospirose. Porém, durante a anamnese, quando

associado ao local de procedência do paciente, torna-se mais claro para suspeitar como caso de malária. Lacerda (2007) refere que, a despeito dos sintomas clínicos de malária e de dengue serem realmente muito semelhantes, podendo o diagnóstico rápido de dengue ser falsamente positivo em pacientes com malária, torna-se indispensável a solicitação do exame de gota espessa para esclarecer não apenas o diagnóstico da doença como também para distinguir a espécie do plasmódio que está causando a infecção, uma vez que os tratamentos são distintos.

7.2.2- Sinais e sintomas respiratórios

O sintoma respiratório encontrado com maior frequência foi tosse, presente em 132 pacientes (53,4%), seguida pela sensação de falta de ar (44,1%) (109). Outros sintomas respiratórios estiveram presentes com menor frequência: dispneia, dor torácica e alteração da ausculta pulmonar.

Maguire et al, 2005, estudando lesão pulmonar na malária grave e sem complicações, em Papua (Indonésia), se refere à tosse como um sintoma dominante e comum tanto em pacientes com malária não complicada como aqueles com malária grave, em crianças ou adultos, residentes ou não em áreas endêmicas.

Os dados de tosse na presente casuística foram semelhantes aos de Ohnishi (2008) ao estudar polimorfismo genético de citocinas em portadores de malária *vivax*, encontrou a tosse como sintoma respiratório mais preponderante (59%), tendo sido excluído como fator de confusão, o tabagismo. De forma similar ao da presente casuística, os sintomas respiratórios incluindo a tosse foram resolvidos com o tratamento antimalárico dentro de duas semanas.

Pela sua biologia, o *Plasmodium vivax* é o mais amplamente transmitido por adaptar-se melhor em latitudes temperadas, regiões áridas e outros ambientes inóspitos ao *P. falciparum* (CARVALHO et al, 2012). Ao longo do tempo a malária *vivax* era considerada benigna se comparada com o *P. falciparum*. Com a mudança de espectro da apresentação clínica da malária, relatos recentes têm documentado o comprometimento pulmonar como uma das formas graves de apresentação da malária *vivax*, embora ainda seja subdiagnosticado (PRICE et al., 2007).

O envolvimento pulmonar na malária *vivax* pode incluir desde injúria do trato respiratório superior, tosse, dor torácica, dispneia, até formas graves como dano pulmonar agudo e síndrome do desconforto respiratório agudo (SRDA) (ANSTEY et al., 2002). E assim,

esta complicação da infecção por *P. vivax* está sendo cada vez mais reconhecida pelos pesquisadores (NAYAK et al, 2011).

A literatura disponível tem apresentado primordialmente as formas graves de manifestações pulmonares da malária *vivax*, já as formas benignas de acometimento pulmonar têm poucos relatos, talvez ou por passarem despercebidas ou por serem atribuídas a outras causas.

É importante ressaltar que os sintomas respiratórios apresentados pelos nossos pacientes em D0, desapareceram em D14, mostrando a direta relação dos sintomas com a presença do plasmódio no organismo.

Na Índia, Nayak et al, (2011) no seu estudo de manifestações pulmonares em pacientes com malária, observou que nos acometidos por malária *vivax*, 7% apresentavam envolvimento pulmonar: tosse, dispnéia, bronquite, pneumonite, obstrução das pequenas vias aéreas, baixa saturação de oxigênio, alterações no RX de tórax e SDRA, sem história prévia de doença pulmonar, concluindo que o plasmódio por si só é capaz de causar pneumonia, e que se estas apresentações clínicas forem ignoradas poderá levar ao atraso no diagnóstico e alterar o resultado e prognóstico da doença.

Nesse aspecto, Valecha (2009) relata um caso ocorrido em Goa, na Índia, em que uma mulher de 20 anos de idade, sem comorbidades, foi diagnosticada inicialmente com infecção do trato respiratório superior, sendo submetida a antibioticoterapia. Com piora do quadro, posteriormente teve diagnóstico de malária *vivax*. A paciente evoluiu com desconforto respiratório, choque e óbito. Em dois laboratórios independentes mais tarde, foi confirmado por microscopia *P. vivax* (140.000 parasitos/ microL) e PCR. O exame histopatológico da necropsia mostrou congestão dos capilares alveolares por intenso infiltrado monocítico, com dano difuso para membranas alveolares, condizente com síndrome de angústia respiratória aguda. Parasitos vistos no tecido pulmonar foram proporcionais a hiperparasitemia periférica e observados em outros órgãos sem lesões. Naquela paciente, a malária *vivax* causou um desconforto respiratório rapidamente fatal.

7.2.3- Hepatomegalia e esplenomegalia

O exame do abdome dos pacientes envolvidos no estudo revelou hepatomegalia em 15% (35/247) (média de $1,68 \pm 0,73$ cm abaixo do rebordo costal direito) e esplenomegalia em aproximadamente 10% (23/247) ($1,66 \pm 0,59$ cm rebordo costal esquerdo). Não tão diferente dos achados de (VENTURA, 2010) ao estudar anemia na malária *vivax* em 81 crianças e

adolescentes, onde encontrou 9,9% (8/81) de hepatomegalia (média de 1,5 cm, abaixo do rebordo costal direito) e 14,8% (12/81) de esplenomegalia (média de 2 cm, abaixo do rebordo costal esquerdo).

Na nossa casuística, os pacientes que apresentaram aumento do fígado e/ou baço na primeira consulta, dentre os primoinfectados, a esplenomegalia foi mais frequente (60,9%) do que a hepatomegalia (54,1%). Já entre os que sofreram mais de uma infecção malárica, a hepatomegalia se apresentou em (45,9%) e esplenomegalia em (39,1%) dos casos.

Em estudo descritivo realizado por O'Brien (2014), dos 16 casos de malária, quatro apresentaram hepatomegalia e dois tiveram esplenomegalia.

Em revisão sistemática da literatura referente a infarto do baço por espécie de plasmódio, Hwang (2014), nos 40 casos coletados observou que 23 tinham envolvimento com o *P. vivax*, 11 estavam relacionados a *P. Falciparum*, 01 casos ao *P. ovale* e 05 devidos à malária mista (*P. vivax* + *P. falciparum*).

7.3- EXAMES COMPLEMENTARES

7.3.1- Exames laboratoriais

- Anemia:

Todos os pacientes foram avaliados com hemograma no momento da admissão e em D1. Anemia foi encontrada em 33,3% dos pacientes (75/225) no momento do diagnóstico (D0). Em D14, 88% dos que tinham anemia ainda permaneciam com anemia. Neste estudo, a média da hemoglobina em D0 foi de (12,4 ±2,0 g%) e em D14 (12,5 ±1,7g%), sendo o menor valor 6,4 g%.

Os dados relativos à taxa média de hemoglobina foram similares aos de Siqueira et al (2014), quando da análise da concentração de hemoglobina e prevalência de anemia na malária, observou média de concentração de hemoglobina em pacientes infectados por *P. vivax* (12,4g%).

Em estudo realizado por Ventura (2010), para analisar anemia da malária por *Plasmodium vivax* em Crianças e Adolescentes, encontrou anemia em 75% das crianças e adolescentes, observando ainda que a anemia naquele grupo persistiu durante todo o acompanhamento clínico das crianças e adolescentes com malária, assemelhando-se nesse aspecto aos nossos dados.

Em inquéritos epidemiológicos envolvendo somente os grupos de maior risco para anemia na malária (crianças e/ou grávidas), essa entidade clínica é ainda mais frequente, como

evidenciado por Hedberg et al. (1993) que observaram 43% de anemia em crianças menores de cinco anos.

Anemia e malária coexistem em diversas regiões do mundo. A incidência de anemia na infecção malárica tem sido relatada em 80% dos casos da doença. Essa manifestação clínica é comum em todas as espécies de malária, porém, os quadros mais graves de anemia, são predominantemente observados nas infecções por *P. falciparum*. As infecções por *P. vivax* são frequentemente mais brandas já que essa espécie de plasmódio tem preferência pelos reticulócitos ou hemácias jovens, reduzindo os alvos de infecção do parasito e a parasitemia para cerca de 1 a 2 % dos eritrócitos circulantes (HEDBERG et al., 1993; MARSH et al., 1995; VENTURA et al., 2010).

Diversos outros fatores são citados na literatura como possíveis causas de anemia em áreas tropicais: má nutrição, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), infecções helmínticas e bacteremia, entre outros (CARDOSO et al., 1994, 2012, CALIS et al., 2008). Porém, nos estudos de Ventura (2010), com crianças e adolescentes da Amazônia com malária *vivax*, demonstrou na sua amostra, que a anemia não esteve relacionada à desnutrição, à parasitose intestinal, à deficiência de G6PD ou ao traço falciforme. A anemia é uma das complicações mais frequentes da malária e ocorre como consequência direta e indireta de infecção e destruição de hemácias pelo plasmódio.

- *Plaquetopenia:*

A casuística mostrou que 75,8% dos pacientes apresentaram plaquetopenia em D0 ($X = 119.714 \pm 58$ plaquetas/mm³), com o menor valor de 22.000 plaquetas/mm³. Houve normalização desses níveis em praticamente todos os pacientes em D14 ($X = 282.290 \pm 87$ plaquetas/mm³), (Teste t-Student $p < 0,001$), e apenas 1,4% ainda apresentava plaquetopenia após término de tratamento antimalárico (teste G $p < 0,0001$).

Não se observou alterações significativas nos índices médios de hemoglobina, transaminases (AST e ALT) ou bilirrubinas circulantes nos pacientes pesquisados quando comparados D0 e D14.

Manifestações hemorrágicas não foram observadas nos nossos pacientes. Vários estudos têm mostrado uma ampla gama de trombocitopenia e gravidade na malária por *P. vivax*. O'Brien et al, (2014) no seu estudo encontrou que 25% dos casos tiveram uma contagem abaixo de 50.000 plaquetas/mm³ e somente dois casos apresentaram manifestações hemorrágicas.

A literatura relata plaquetopenia na malária *vivax*, mas a maioria não apresenta critérios de seleção distintos de pacientes, ou incluem somente pacientes pediátricos (KOCHAR, 2010 a; KOCHAR, 2010b).

Em 2004, Alexandre em seu estudo clínico e epidemiológico dos casos graves de malária *vivax* em pacientes atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas/Brasil encontrou 44,2% de sangramento espontâneo consequente a plaquetopenia em sua casuística.

Em outro estudo, dos 17 pacientes acometidos por qualquer um dos critérios de gravidade da malária da OMS, com monoinfecção confirmada, 14 apresentaram trombocitopenia, sugerindo que esta complicação hematológica pode ser considerada como um marcador de gravidade para *P. vivax* (ALEXANDRE et al., 2010).

A trombocitopenia pode não ser uma causa de mortalidade por si só, mas pode ser um marcador de maior gravidade e necessidade de manejo adequado (LACERDA, 2007; MULEY et al., 2014).

7.3.2- Exame de imagem (radiografia de tórax)

- Alterações radiológicas:

Nossos resultados mostram que 9,7% (18/186) dos indivíduos apresentaram alterações na radiografia de tórax em D0.

Na evolução clínica e radiológica dos casos, verificou-se ainda que essas alterações foram evidenciadas no dia do diagnóstico (D0) em 14 dos 18 pacientes. E em quatro casos, a alteração surgiu após o início da terapêutica antimalárica (um paciente em D2, um em D3 e dois em D4).

Foi observado também que em D14 (data definida para comparação dos parâmetros clínico, radiológico, laboratorial e espirométrico), o quadro radiológico destes pacientes já havia revertido completamente (teste *G*, $p = 0.0002^*$), mostrando que as alterações pulmonares desses pacientes vistas no RX de tórax, estavam diretamente relacionadas à doença. A avaliação de controle desses pacientes era feita no D14, a exceção dos dois casos (1,2%) devido ao seguinte:

a) um deles mais grave e por isso passando mais de 15 dias hospitalizado (incluindo tempo de UTI). A radiografia de tórax de controle realizada ainda no hospital de internação, já mostrava melhora radiológica. E assim, o exame de imagem de controle do protocolo de

pesquisa, foi realizado depois do D14, mais precisamente em D20, após a alta hospitalar (Relato de casos – Caso 4);

b) no outro caso, a alteração radiológica ocorreu após início do tratamento (D4), durante controle parasitológico de lâmina, quando paciente referiu “um incômodo” em hemitórax direito, sendo feita nova radiografia que revelou derrame pleural de pequeno volume à direita (diferente do RX em D0 que estava normal). E sem outros sintomas maiores, foi mantida a medicação específica da malária *vivax*, paciente foi acompanhada clínica e radiologicamente, observando-se reversão do quadro (Relato de casos –Caso 5).

Ambos evoluíram com regressão completa das lesões em avaliação posterior a D14, respectivamente em D20 e D18. Nesse contexto, encontramos na literatura referências de casos com esse tipo de evolução. Taylor (2006; 2012) refere que no caso de edema pulmonar, de início, os pacientes apresentam-se com falta de ar aguda que pode evoluir rapidamente para insuficiência respiratória, na apresentação da doença ou, curiosamente, após o tratamento, quando a melhora clínica está ocorrendo e a parasitemia está caindo.

O tipo de lesão pulmonar vista na radiografia de tórax se mostrou variado em nossa casuística. Dos 18, dois evoluíram com edema pulmonar, um dos quais teve alta por cura da malária e o outro teve como desfecho, o óbito (Relato de casos - Caso 7); quatro casos apresentaram derrame pleural uni ou bilateral de pequeno volume; um caso evoluiu com derrame pleural de médio volume. E os demais, com lesões do tipo: opacidade laminar localizada, opacidades intersticiais (pneumonite), e infiltrado intersticial uni ou bilateral. Com exceção do óbito, todos evoluíram favoravelmente com o tratamento antimalárico.

Envolvimento pulmonar na malária tem sido reconhecido por mais de 200 anos, mas o nosso conhecimento de sua patogênese e manejo é limitado. O edema pulmonar é a forma mais grave de envolvimento pulmonar. O principal mecanismo fisiopatológico é o aumento da permeabilidade capilar alveolar, levando à perda de fluido intravascular para os pulmões (Taylor, 2006). Isso define a malária como uma outra causa de lesão pulmonar aguda (LPA) e síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), embora esses mecanismos ainda não estejam bem compreendidos.

Sabe-se que o tabagismo é o fator de risco mais importante para o desenvolvimento da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC). Manifesta-se principalmente por bronquite crônica e enfisema pulmonar. Entretanto, outros fatores envolvidos na DPOC como os genéticos, a hiperreatividade e os ligados ao ambiente devem ser considerados (JARDIM *et al.*, 2004).

Na presente casuística, boa parcela dos participantes era de trabalhadores rurais. A taxa de incidência dos não fumantes 80,7% (197/244) foi surpreendente. E, portanto, os fumantes representaram 19,3% (47/244). Ao considerarmos somente aqueles que apresentaram alterações radiológicas em D0 (9,7%) (18/186) e que fumavam ou não, o tabaco parece não ter sido fator de influência nos casos de malária *vivax* para apresentarem alterações pulmonares na radiografia de tórax.

Os pacientes da população estudada eram predominantemente adultos jovens, alguns com história atual ou pregressa de tabagismo, porém, como era de se esperar, sem evidência de DPOC, considerada doença crônica. A ausência de alterações radiológicas ao final do tratamento (controle em D14) reforça que as aquelas alterações radiológicas evidenciadas em D0 foram inerentes à malária, patologia que embora de natureza sistêmica, tem o caráter agudo. Outros autores (TONG et al, 1972; APPLEBAUM et al, 1944; TAYLOR et al, 2012) também sugerem que alterações pulmonares apresentadas durante a malária é provocada diretamente pelo próprio agente patogênico da doença.

No interrogatório sobre presença ou ausência de alguma doença pulmonar anterior ao atual episódio de malária, 92,2% (226/245) dos pacientes relataram não ter apresentado anteriormente nenhuma patologia pulmonar. Dentre os que apresentaram (7,76%) (19/245), as pneumopatias relatadas foram do tipo bronquite, asma ou bronquiectasia.

Dos participantes do estudo que apresentaram alterações na radiografia de tórax (18), apenas um paciente tinha história de doença pulmonar anterior. Ao se estabelecer estatisticamente esta correlação, não houve associação entre alterações radiológicas na vigência de pneumopatias prévias (teste do Qui-Quadrado $p = 0.4361$).

Nayak et al (2011) observaram em seus estudos que nenhum dos pacientes apresentava história prévia de doença respiratória.

Na presente amostra, o fato de o paciente ser primo ou reinfestado pelo agente etiológico da malária, não influenciou na presença de alteração pulmonar aos raios-X, uma vez que, dos 18 pacientes que apresentaram essas alterações, 50% experimentavam a primeira infecção malárica e os outros 50% eram reinfestados, portanto primo e reinfestados nesses dois grupos tiveram igual chance de aparecer lesão pulmonar nos raios-X de tórax. Porém, aqueles pacientes mais graves da nossa casuística, que necessitaram hospitalização (alguns até em unidade de terapia intensiva) todos eram primoinfectados.

Andrade et al (2010) encontraram, em indivíduos com *P. vivax*, oligossintomáticos, maior número de infecções maláricas prévias (reinfecções). Em seu levantamento, Alexandre (2004) observou que, nos pacientes graves portadores de malária *vivax*, predominaram os

primoinfectados, concluindo que, provavelmente os pacientes não imunes evoluem mais para malária grave, semelhante ao que ocorre com as infecções graves pelo *P. falciparum*.

Neste aspecto, estes resultados foram semelhantes àqueles relatados por Ventura et al. (1999), onde estudou os aspectos clínicos de crianças com malária *vivax* no Estado do Pará e observou a intensificação dos sinais e sintomas nos pacientes primoinfectados, reforçando que provavelmente, a falta de contato prévio com o *Plasmodium*, deixa o indivíduo mais suscetível a desenvolver infecção grave.

Em levantamento da literatura de casos graves (SDRA) de malária pulmonar por *P. vivax*, foi observado que em torno de 70% dos pacientes, eram primo-infectados, reforçando mais uma vez o papel dos fatores imunes do hospedeiro na determinação da severidade da doença relacionada à malária (Maguire et al., 2007). Ohnishi (2008), no estudo de 83 pacientes portadores de malária *vivax*, encontrou injúria pulmonar vista em RX de tórax em cerca de 5% dos pacientes, onde todos eram primoinfectados.

Na literatura, encontramos primordialmente relatos das formas graves de malária pulmonar. Entretanto, trabalhos relacionados as manifestações respiratórias menos graves tratadas ambulatorialmente e com avaliação de exame de imagem, não foram encontrados para que se pudessemos estabelecer comparação com os nossos casos ambulatoriais que apresentaram lesão vista na radiografia de tórax.

7.3.3- Prova de Função pulmonar (espirometria).

Dos casos estudados, no dia do diagnóstico (D0) 20,5% (23/112) dos pacientes que realizaram a espirometria, apresentaram alteração. Em D14, 8,9% (10) desses pacientes ainda permaneciam com essas alterações, mostrando que esses distúrbios da função respiratória foram evidenciados no início do tratamento (D0) e alguns se mantiveram no seguimento em D14, isto é, na presença do parasito ou quando a parasitemia já estava baixando ou até mesmo quando esta já se encontrava negativa.

As alterações espirométricas foram principalmente do tipo obstrutivo leve e restritivo leve.

A população deste estudo era primordialmente ambulatorial, embora alguns com estado geral comprometido necessitassem de hospitalização e, portanto, não realizaram a espirometria, pelo comprometimento do estado geral ou pela falta do exame no local de internação. Ademais, alguns pacientes mais debilitados, mesmo em acompanhamento

ambulatorial, tiveram resultado de exame prejudicado pela própria debilidade decorrente da malária no momento do exame, motivos pelos quais nem todos realizaram a espirometria.

Quando se estabeleceu a relação entre os sintomas tosse, dor torácica e dispneia, não houve associação com as alterações na espirometria.

Porém, quando nos reportamos para aqueles casos que tiveram alteração pulmonar (Raio-X e/ou na espirometria) (N=39), os sintomas de tosse e sensação de falta de ar se mostraram significativos (Teste do qui-quadrado $p < 0.05$). Vale ressaltar que, dentre os 18 pacientes que apresentaram alterações nos raios-X de tórax com lesões pulmonares mais graves, como edema agudo e derrame pleural, 100% dos casos apresentaram tosse.

Ao longo da história de estudos sobre malária, a tosse é o sintoma respiratório mais prevalente (Oliveira et al, 1983; Lara et al, 1983; Botelho et al, 1987; Anstey et al, 2002; Nayak et al, 2011). Um desses estudos, em revisão do quadro clínico de portadores de malária *falciparum*, 7,9% apresentaram sintomas respiratórios, com predomínio de tosse, relacionados diretamente a malária, sugerindo que substâncias vasoativas são liberadas na malária provocando alterações na musculatura brônquica (OLIVEIRA et al, 1983).

Anstey et al (2002), ao estudarem comprometimento pulmonar na malária *vivax* e *falciparum*, observaram a ocorrência de comprometimento da função pulmonar nas duas espécies de plasmódio, sugerindo a existência de mecanismos inflamatórios subjacentes comuns que podem ocorrer em maior magnitude nos casos graves de malária, onde a lesão pulmonar é uma das principais causas de mortalidade nos adultos não imunes.

Na espirometria, a média dos valores CVF, VEF1 e a VEF1/CVF (índice de *tiffeneau*) foram respectivamente: $94,85 \pm 15,58$; $92,15 \pm 16,46$ e $79,16$ em D0, e $97,91 \pm 15,56$; $95,06 \pm 16,72$ e $97,09$ em D14. Os resultados mostraram que as médias dos parâmetros de função pulmonar eram semelhantes em D0 e D14, e encontravam-se dentro dos valores preditos. Quando analisamos somente o parâmetro FEF25-75%, que é um bom indicador da permeabilidade das pequenas vias aéreas, as médias, embora normais, apresentaram em D14, sensível melhora se comparado ao dia do diagnóstico (D0).

Anstey et al (2002), em seu estudo sobre manifestações pulmonares na malária não complicada (*vivax* e *falciparum*) encontraram valores de VEF1 reduzidos na admissão, indicando obstrução ao fluxo aéreo na malária, porém, sugeriu que esses valores poderiam não refletir as alterações de forma consistente, visto que a manobra para este parâmetro exige dos pacientes acometidos por malária, um esforço maior. Já FEF 25-75% que é menos dependente do esforço, também se mostrou reduzido, portanto refletia comprometimento de pequenas vias aéreas nestes pacientes com doença malárica. Sugere ainda que a obstrução ao

fluxo aéreo, tanto na malária *vivax* como *falciparum*, não resulta unicamente do acometimento da microvasculatura pulmonar por hemácias parasitadas (encontrado apenas com *P. falciparum*), mas provavelmente decorre de inflamação das pequenas vias aéreas.

Botelho et al (1983) concluiu em seu estudo que as alterações respiratórias na malária, por *P. vivax* e *P. falciparum*, mesmo nos casos leves (tratamento ambulatorial) leva a um aumento da permeabilidade capilar, produzindo edema de mucosa, liberação de substâncias vasoativas e transtornos na membrana alvéolo-capilar.

7.4- CITOCINAS

Na malária humana, a resposta imune adquirida naturalmente, pode resultar ou na eliminação do parasita ou em uma resposta persistente mediada por citocinas, que leva a imunopatologia. As citocinas são responsáveis por todos os sintomas, alterações patológicas e o resultado da infecção depende da regulação recíproca das citocinas pró e anti-inflamatórias (MEDINA et al, 2011).

Nosso estudo avaliou a associação entre os níveis séricos das citocinas estudadas com o tempo de doença, assim como entre os níveis das citocinas no pré-tratamento (D0) e no décimo quinto dia (D14) após início do tratamento, já na ausência de parasitemia.

Observou-se que as citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IFN- γ apresentaram, apesar de não significativa, uma correlação negativa com tempo de doença, enquanto que a IL-10, citocina anti-inflamatória, apresentou uma correlação positiva, havendo uma tendência de ser mais elevada de acordo com o tempo de doença. Sugere-se, portanto, nesta pesquisa, que com a evolução do processo infeccioso pelo plasmódio, ocorre um consumo maior de citocinas pró-inflamatória, além do que é estimulada uma resposta Th2 com estímulo de IL-10, com efeito anti-inflamatório, dados que são corroborados por Andrade et al, 2010 que ao estudarem pacientes com malária *vivax*, em Buritis/Rondônia/ observaram um balanço inflamatório, havendo um estímulo de fatores pró e anti-inflamatórios. Observou-se também um aumento dos níveis de IL-10 e TNF- α em D14, independente de se tratar de citocina pró ou anti-inflamatória.

O aumento de TNF- α após tratamento pode ser pelo fato de que antes do tratamento, com o processo infeccioso e resposta inflamatória, é estimulado o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, havendo um estímulo da produção de cortisol que suprime a resposta inflamatória levando a uma diminuição dos níveis de TNF (LIBONATI et al, 2006), porém, após a resolução do processo, há uma liberação da resposta imune o que pode justificar os níveis mais elevados de TNF em D14. No entanto este resultado com o TNF é contraditório ao de

Andrade et al, que observaram uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias após o tratamento.

Porém, ainda ao que se refere ao TNF, Ventura (2010), estudando crianças com malária *vivax*, no Pará, observou resultados semelhante ao desta pesquisa, ou seja, níveis de TNF mais baixos em D0 e mais elevados em D14. Já os níveis de IFN- γ no presente estudo, são semelhantes ao de Andrade et al (2010), que observaram uma queda desta citocina em pacientes com malária *vivax* após o tratamento. Similar ao estudo de Medina et al, 2011 sobre polimorfismo dos genes de IL-10 e INF γ que mostrou evidências de regulação recíproca dos níveis dessas duas citocinas (proinflamatória e antiinflamatória, respectivamente) em *P. vivax*.

Na presente pesquisa, a IL-10 apresentou um aumento mais significativo em D14 que as demais citocinas avaliadas, o que pode ser devido a um estímulo de resposta regulatória para diminuir a imunopatologia, esta possibilidade pode ser embasada pelos achados de Andrade et al, 2010, que observaram o mesmo comportamento ao avaliarem os níveis de TGF- β , uma citocina também de ação anti-inflamatória, que aumentou cerca de duas vezes após o tratamento para malária.

No que se refere a correlação TNF e temperatura, observou-se uma correlação negativa, porém não significativa, pois sabe-se que essa citocina, junto com a IL-1, atua no centro termorregulador do hipotálamo, estimulando a síntese de prostaglandinas E₂, o que desencadeia a resposta fisiológica da febre (KWIATKOWSKI *et al.*, 1997) desta forma haveria primeiro um aumento do TNF para posterior aumento da temperatura, o que pode explicar a correlação não significativa entre estas variáveis.

7.5- VARIANTES DO *PLASMODIUM VIVAX*

A malária é a doença parasitária que tem como agente etiológico, protozoários pertencentes ao do gênero *Plasmodium sp.* No Brasil, representado pela Amazônia Legal, a espécie mais prevalente é o *Plasmodium vivax* (BRASIL, 2013). Suas variantes (VK 210, VK247 e *P. vivax-like*) são encontradas em infecções mistas, ou seja, em um mesmo indivíduo acometido por malária *vivax*, um ou mais genótipos da espécie (*vivax*) podem estar presentes.

Em nosso estudo, concordando com a literatura nacional, a variante do *Plasmodium vivax* mais encontrada foi VK210, em 69,1% dos casos condizente com os relatos de Machado e Póvoa (2000) que têm mostrado essa variante, como a mais frequente na Amazônia brasileira e no mundo.

Ainda em nossa casuística, a variante VK210 além de ter sido a mais identificada em infecções isoladas nos pacientes envolvidos, ela apareceu em combinações (infecção mista) com outras variantes. A VK247 apareceu isoladamente em apenas 11,2% dos casos, e sua participação nessa amostra foi principalmente em infecções mistas.

A variante *Pv-like* não foi encontrada isoladamente no nosso estudo, similar aos achados de Machado et al, (2003). De modo diferente, a variante VK247 que em nosso estudo, como já citado anteriormente, apareceu em infecções isoladas em 11,2%, nos relatos de Machado (2003), as duas variantes (VK247 e *P. vivax-like*) não apareceram isoladamente, somente em infecções mistas.

Em nossa casuística, as infecções mistas de malária *vivax* determinadas pela combinação dos diferentes genótipos, ocorreu na seguinte proporção: (VK210/VK247), (VK210/VK247/PV-like) e (VK247/PV-LIKE) respectivamente com 2,0%; 0,7% e 0,7%.

Na Amazônia brasileira, dois estudos anteriores, (MACHADO e PÓVOA, 2000) e outro (MACHADO et al, 2003), avaliaram a epidemiologia molecular da variantes do *P. vivax*, tendo sido encontrado nesses estudos o genótipo VK210 em infecções simples, enquanto que os genótipos VK247 e *P. vivax-like* só foram detectados como infecções mistas em três áreas endêmicas de malária. Os pesquisadores acharam surpreendente, pois em novo estudo realizado 10 anos mais tarde, um novo cenário foi observado (STORTI-MELO et al, 2009).

No entanto, em relação às variantes VK247 e *P. vivax-like*, os resultados de Storti-Melo et al (2009) observaram uma alteração na dinâmica da distribuição de *P. vivax-like*, uma vez que seria a primeira detecção do parasita com o genótipo VK247 em infecções isoladas no Brasil.

Com estes resultados, os autores sugeriram que VK247 ainda não está totalmente adaptado em áreas endêmicas de malária no Brasil, pois a detecção em infecção simples foi observada somente em amostras de sangue do município de Novo Repartimento/Pará, e que somente mais tarde poderia ocorrer a introdução desta variante em outras áreas endêmicas dos estados que compõem a Amazônia Legal. Os resultados do estudo desses autores demonstraram que a variante *P. vivax-like* é mais amplamente distribuída em todas as cinco áreas estudadas do que VK247. Na verdade, eles mostraram uma distribuição mais homogênea da variante de *P. vivax-like*, apresentando-se em infecções únicas ou mistas, sugerindo que a sua adaptação está acontecendo mais rápida do que VK247 naquela amostra. Outra hipótese aventada pelos autores é que a introdução de VK247 ocorreu mais recentemente no Brasil.

Nossa casuística, realizada cinco anos após os estudos de Storti-Melo et al, (2009) mostra, ao comparar as frequências encontradas, que VK210 continua sendo a mais frequente e a que mais aparece em infecções isoladas com 58,7%. Enquanto a casuística de Storti mostra frequência de VK247 de 2,6%, nosso estudo mostrou 11,2%. E a variante *P.vivax-like*, no estudo daqueles autores mostra uma frequência de 9,7%, nossa amostra evidenciou essa subespécie somente em infecções mistas com outras variantes e nenhum caso de infecção isolada. A diferença nos achados pode ser entendida devido os locais da pesquisa de Storti-Melo e colaboradores terem ocorrido em cinco diferentes estados da Amazônia Legal e as nossas amostras terem sido primordialmente de municípios paraenses, com algumas exceções. Cerca de 80% dos participantes tiveram como locais de infecção os municípios do estado do Pará, (Apêndice 3) onde o perfil da variante *P. vivax like* ainda se mantenha como os estudos de 2000 e 2003 e essa distribuição não esteja plena no Estado do Pará.

Nossa casuística, não mostrou correlação estatística entre o clearance de parasitemia relacionado aos diferentes genótipos (variantes) do *P. vivax*. Após início de tratamento com cloroquina e primaquina nas doses preconizadas pelo MS, o clearance de parasitemia na variante VK210 negativou em D1 em apenas 3,65% dos casos, em D2 negativou 56% e D3 o restante (49,2%). Em VK247 isolado, a parasitemia já não foi detectável em 87% dos casos em D2, e em D3 nos 13% restantes. A única amostra de paciente que continha os 3 genótipos combinados (VK210+VK247+*Pvivax-like*) a parasitemia tornou-se indetectável somente em D3. Em D4, a parasitemia já não foi mais detectável em qualquer das variantes de *P.vivax*, idêntico aos achados de Machado et al (2003), que em seus estudos, a parasitemia da variante VK210 isolada ainda foi detectável em 56% das amostras em D3, e em 47% nas amostras de infecções mistas.

Nossos achados indicam que em pacientes portadores do genótipo VK210, seja isolado ou em combinação, o clearance de parasitemia levou mais tempo para se tornar indetectável em relação as outros genótipos, semelhantes aos achados de Machado et al (2003). O fato desta variante ser a mais frequente e seu clearance de parasitemia ocorrer de forma mais lenta, denotam que este genótipo seja mais adaptado na Amazônia brasileira.

Estudos da distribuição dos genótipos do *P. vivax* no mundo e a susceptibilidade dos mosquitos vetores à infecção por esses genótipos, assim como o surgimento dessas variantes em regiões geográficas específicas, sugerem que o genótipo VK210 é a variante melhor adaptada no mundo (MACHADO e PÓVOA, 2000).

Embora tenham poucos estudos nessa área, alguns têm tentado demonstrar que variantes do *P. vivax* podem produzir sinais clínicos e respostas diferentes ao tratamento e

apresentar uma correlação entre os genótipos do *P. vivax* e a intensidade dos sintomas e a preferência do vetor, o que pode afetar a resistência às drogas e consequente falência nas medidas de controle (GOPINATH, 1994).

Nossa pesquisa correlacionou as variantes de *P. vivax* com histórico de malária (primo e reinfectedos). A VK210 aparece em 65,5% dos primoinfectados, semelhante ao grupo de reinfectedos (71,0%). Da mesma forma, não houve diferença estatística (Teste-G (Williams) = 2.7346; $p=0.7408$) entre ser primo ou reinfectedo dentre as outras variantes dessa espécie de plasmódio. Não encontramos dados na literatura para comparar nossos resultados relacionados a histórico de malária.

Nossos valores foram correlacionados com sintomas gerais da tríade e também com sintomas respiratórios, observando-se que a tosse esteve presente em 72,2% dos pacientes que apresentavam unicamente a variante VK210, e 65,7% não referiam tosse, não havendo portanto, diferença estatística (Teste-G (Williams) = 8.0114 (p) = 0.1556) naqueles que apresentaram isoladamente a variante VK210, ou seja, o fato de o paciente apresentar ou não tosse, parece não ter tido relação direta com a variante VK210, ou nenhuma das outras situações de infecção mista com as demais variantes. Da mesma forma, verificou-se que a sensação de falta de ar não sofreu influência do genótipo VK210 ou das demais variantes (Teste G $p=0,7646$).

Apesar de o dano pulmonar ser a principal causa de óbito na malária *vivax*, não encontramos na literatura trabalhos correlacionando a ação das variantes aos sintomas respiratórios para que pudéssemos comparar os nossos dados.

Quanto aos sintomas gerais da tríade malárica, o cálculo de correlação não mostrou associação entre os sintomas febre (Teste-G (Williams) = 1.0387 (p) = 0.9594); calafrio (Teste-G (Williams) = 6,0625 (p) = 0,3002) e cefaléia (Teste-G (Williams) = 2.1262 (p) = 0.8314).

Também foram correlacionadas as variantes do *P. vivax* com plaquetopenia, onde observa-se através do teste binomial duas proporções, que os pacientes infectados apenas com a variante VK 210 têm em termos proporcionais menos plaquetopenia em D0 de forma significativa quando comparado às demais variantes e em associação a outras variantes (Teste binomial de duas proporções * $p= 0,0101$).

Quando são avaliadas as amostras de VK210 (VK210 isolado ou associado a outras variantes com as amostras sem VK 210 (VK 247 + *PV-like*) o resultado deixa de ser significativo.

VIII- CONCLUSÕES

A malária reveste-se de grande importância epidemiológica pela sua elevada incidência e potencial de gravidade, levando a consideráveis perdas sociais e econômicas nas populações sob risco, principalmente aquelas que vivem em precárias condições de habitação e saneamento. O estudo sobre *Comprometimento pulmonar na malária vivax: associação com fatores epidemiológicos, imunológicos e variantes do plasmodium vivax*, realizado em 247 pacientes, demonstrou o seguinte:

1- Predominaram pacientes do gênero masculino e acima dos 20 anos de idade, portanto, afetando principalmente indivíduos na idade produtiva de trabalho, estando relacionada às atividades ocupacionais, com efeito debilitante para o indivíduo e o desenvolvimento da região.

2- A maioria dos pacientes residia em Belém e adquiriu malária ou no interior do Estado do Pará em áreas endêmicas como Anajás, Itaituba, Tucuruí; ou em outros estados da federação como Amapá, Maranhão, Porto Velho, Amazonas, ou mesmo no exterior em países como Guiana Francesa, Guiana Inglesa e Suriname, para onde os pacientes da pesquisa viajaram, principalmente a trabalho. Relacionados à área metropolitana de Belém, os casos autóctones representaram uma pequena parcela.

3- A distribuição dos casos entre primoinfecção e reinfecção foi semelhante, com discreto aumento para reinfectados.

4- O tempo médio de doença foi de aproximadamente 8 dias. Para a maioria dos pacientes o tempo entre o aparecimento dos sinais e sintomas e o diagnóstico de malária ocorreu principalmente na primeira semana. Retardo no diagnóstico representado por duas semanas ou mais ocorreu em 1/3 dos casos.

5- Observou-se que, embora o Estado do Pará tenha reduzido seus índices de malária nos últimos anos, ainda tem dificuldades no diagnóstico dentro das 48 horas do início dos sintomas. Os reinfectados tiveram o diagnóstico de malária estabelecido mais precocemente do que aqueles com infecção primária, provavelmente por já terem experimentado infecções maláricas anteriores, e assim, aos primeiros sinais e sintomas da doença, procuraram diretamente os serviços de saúde.

6- A média da parasitemia foi de $6.979,25 \pm 8.692,22$ parasitos/mm³ de sangue. A maior frequência de pacientes estava na faixa de 7.000 ou mais parasitos/mm³ de sangue. O maior valor de parasitemia encontrado foi de 70.000 parasitos/mm³ e o paciente era primoinfectado. O menor valor de parasitemia foi de 500 parasitos/mm³.

7- Quando correlacionamos tempo de desaparecimento da parasitemia com o nível de parasitemia em D0, quando se trata dos reinfectedos a correlação foi mais fraca do que nos primoinfectados sugerindo que outros fatores, como provavelmente, a resposta imune, além da parasitemia inicial, possa estar associada. Já nos primoinfectados, esta correlação sugere que o nível de parasitemia em D0 é um fator mais importante para o desaparecimento da parasitemia que nos reinfectedos.

8- O sobrepeso não se mostrou relacionado às manifestações pulmonares. A relação causal entre a obesidade e a gravidade da malária ainda não pode ser afirmada. Estudos adicionais são necessários para o melhor esclarecimento da associação entre essas patologias.

9- A maioria dos pacientes apresentou plaquetopenia no dia do diagnóstico. Porém, houve normalização dos níveis em praticamente todos os pacientes após 14 dias do início do tratamento.

10- O sintoma respiratório encontrado com maior frequência foi a tosse, seguido da sensação de falta de ar.

11- Os sintomas respiratórios, as alterações radiológicas e espirométricas desapareceram 14 dias após o início do tratamento, mostrando a direta relação dos sintomas com a presença do plasmódio no organismo.

12- As manifestações pulmonares na malária vivax na amostra estudada não mostrou associação com tabagismo nem com pneumopartias prévias

13- Dos pacientes que apresentaram alterações na radiografia de tórax, houve desaparecimento das lesões posterior ao tratamento, mostrando que as alterações pulmonares desses pacientes vistas na radiografia de tórax, estavam diretamente relacionadas à doença.

14- E que as lesões pulmonares determinadas pela malária *vivax* nos casos estudados variaram desde opacidade laminar e intersticial (pneumonite), até derrame pleural e edema agudo de pulmão (dois casos), onde um deles evoluiu para óbito, mostrando que a malária

vivax pode manifestar-se com amplo espectro clínico/radiológico, com possibilidade de desfecho desfavorável.

15- O fato de o paciente ser primo ou reinfestado por malária *vivax* não influenciou na presença de alterações pulmonares na amostra.

16- 1/5 dos pacientes apresentou alterações na espirometria do tipo: obstrutivo leve ou restritivo leve. Alguns desses pacientes ainda permaneciam com essas alterações próximo ao D14, mostrando que os distúrbios ventilatórios apresentados se mantiveram na presença do parasito ou quando a parasitemia já estava baixando ou até mesmo quando esta já estava negativa.

17- Na espirometria, a média dos valores de CVF, VEF1 e a VEF1/CVF (índice de *tiffeneau*) não eram significativamente diferentes em D0 e D14, encontrando-se dentro dos valores preditos. Quando analisamos somente o parâmetro FEF25-75%, que é um bom indicador da permeabilidade das pequenas vias aéreas, as médias, embora normais, apresentaram após duas semanas, sensível melhora se comparado ao dia do diagnóstico.

18- As citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IFN- γ) apresentaram, apesar de não significativa, uma correlação negativa com tempo de doença, enquanto que a IL-10, (citocina anti-inflamatória), uma correlação positiva, havendo uma tendência de ser mais elevada de acordo com o tempo de doença, sugerindo que com a evolução do processo infeccioso pelo plasmódio, ocorre um consumo maior de citocinas pró-inflamatória, além da estimulação de uma resposta Th2 com estímulo de IL-10, com efeito anti-inflamatório.

19- O nível sérico da citocina TNF apresentou aumento após tratamento, sugerindo-se que pelo fato de que antes do tratamento, com processo infeccioso e resposta inflamatória houve estímulo de eixo hipotálamo-hipofise-adrenal, com estímulo a produção de cortisol, que suprime a resposta inflamatória levando a diminuição dos níveis de TNF. E que após resolução do processo, há liberação de resposta imune, o que justifica os níveis mais elevados de TNF em D14.

20- A IL-10 por ser uma citocina anti-inflamatória que pode levar a um estímulo de resposta regulatória para diminuir a imunopatologia, apresentou após o tratamento um aumento mais significativo que as demais citocinas.

21- A variante do *Plasmodium vivax* mais encontrada foi VK210, seguida da variante VK247. A PVlike não apareceu isoladamente neste estudo. Em infecções mistas apareceram em ordem de frequência as seguintes combinações: (VK210+VK247), (VK210+PVlike), e com igual frequência (VK210+VK247+PVlike) e (VK247+PVlike).

22- Não houve associação dos sintomas da tríade malárica (febre calafrio, cefaleia) assim como dos sintomas respiratórios (tosse, e sensação de falta de ar) com os diferentes genótipos (variantes do *Plasmodium vivax*) isoladamente ou em infecções mistas.

23- Não encontramos associação entre o aparecimento de alterações pulmonares (RX+espirometria) com nenhuma das variantes genotípicas do *P. vivax* no presente estudo.

24- A malária é uma das principais causas de mortalidade humana em todo o mundo. Malária pulmonar é uma realidade ainda subestimada, principalmente as manifestações pulmonares menos exuberantes. Faz-se necessário investigar potenciais mecanismos envolvidos ligados ao hospedeiro e ao parasito, enfatizando importância de diagnóstico precoce, evitando desfechos desfavoráveis.

REFERÊNCIAS:

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Mecanismos efetores das respostas imunes – Citocinas, In: *Imunologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro, Editora Revinter Ltda, 2003, p. 233-247.

AGGARWAL, B.B.; PURI, R.K. Common and uncommon features of Cytokines and cytokines receptors: an overview. In: *Human Cytokines: Their Role in Disease and Therapy*. Aggarwal, B.B., Puri, R K. (eds.) Massachusetts, Blackwell Science Inc., 1995, p. 3-24.

AKERMAN, M.J; CALACANIS, C.M; MADSEN, M.K. Relationship between asthma severity and obesity. *J Asthma*. 2004;41(5):521-6.

ALEXANDRE, M.A.A. Estudo clínico e epidemiológico dos casos graves de Malária vivax em pacientes atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Brasil. *Dissertação de mestrado*, 2004.

ALEXANDRE, M.A.; FERREIRA, C.O.; SIQUEIRA, A.M.; MAGALHÃES, B.L.; MOURÃO, M.P.; LACERDA, M.V.; ALECRIM, M.G. Severe Plasmodium vivax malaria, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis*. 2010 Oct; 16(10):1611-1614.

ANDRADE, B.B.; REIS-FILHO, A.; SOUZA-NETO, S.M.; CLARÊNCIO, J.; CAMARGO, L.M.A.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M.: Severe Plasmodium vivax malaria exhibits marked inflammatory imbalance. *Malar J*, 2010, 9:13.

ANSTEY, N.M.; JACUPS, .S.P; CAIN, T.; PEARSON, T.; ZIESING, P.J.; FISHER, D.A.; CURRIE, B.J.; MARKS, P.J.; MAGUIRE, G.P. Pulmonary manifestations of uncomplicated falciparum and vivax malaria: cough, small airway obstruction, impaired gas transfer, and increased pulmonary phagocytic activity. *J Infect Dis*. 2002; 185 (9): 1326–34.

ANSTEY, N.M.; RUSSELL, B.; YEO, T.W.; PRICE, R.N.: The pathophysiology of vivax malaria. *Trends Parasitol* 2009, 25:220-227.

ANSTEY, N.M.; HANDOJO, T.; PAIN, M.C.; KENANGALEM, E.; TJITRA, E.; PRICE, R.N.; MAGUIRE, G.P.: Lung injury in vivax malaria: pathophysiological evidence for pulmonary vascular sequestration and posttreatment alveolar-capillary inflammation. *J Infect Dis* 2007, 195:589-596.

ANTUÑANO, .FJ.L.; SCHUMUNIES, G. Diagnóstico microscópico en la sangre – preparación de muestra en gota gruesa. In: Diagnóstico de malária. Washington, Organizacion Panamericana de la salud. 1988 p. 78-86.

APPLEBAUM, I.L.; SHRAGER, J. Pneumonitis associated with malaria. *Arch Int Med*. 1944; 74: 155–62.

ARÉVALO-HERRERA, M.; FORERO-PEÑA, D.A.; RUBIANO, K.; GÓMEZ-HINCAPIE, J.; MARTÍNEZ, N.L.; LOPEZ-PEREZ, M.; CASTELLANOS, A.; CÉSPEDA, N.; PALACIOS, R. S. Plasmodium vivax Sporozoite Challenge in Malaria-Naïve and Semi-Immune Colombian Volunteers. Published: June 25, 2014 DOI: 10.1371/journal.pone.0099754.

ARNOT, D.E.; BARNWELL, J.W.; TAM, J.P.; NUSSENZWEIG, V.; NUSSENZWEIG, R.S.; ENEA, V. Circumsporozoite protein of *Plasmodium vivax*: gene cloning and characterization of the immunodominant epitope. 1985. *Science* 230: 815-818.

ARTAVANIS-TSAKONAS, K.; TONGREN, J.E.; RILEY, E.M. The war between the malaria parasite and the immune system: immunity, immunoregulation and immunopathology. *Clin Exp Immunol.* 2003 Aug;133(2):145-152.

ARRUDA, M.E.; DUTRA, L.; VEIGA, E.; SOUZA, R.; CLAVIJO, P. A seroepidemiological study on *Plasmodium vivax* in three states of the Amazon Basin of Brazil, 1996. *Rev Soc Bras Med Trop* 29 (Supl. I): 383.

ARRUDA, M.E.; DE SOUZA, R.C.; VEIGA, M.E.; FERREIRA, A.F.; ZIMMERMAN, R.H. Prevalence of *Plasmodium vivax* variants VK247 and *P. vivax*-like human malaria: a retrospective study in Indian populations of the Amazon region of Brazil. 1998. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92: 628.

AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. Tamanho da Amostra. In: Bioestat 5.0. *Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas*, Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq, 2007, 165-180.

BATE, C.A.W.; KWIATKOWSKI, D. Inhibitory immunoglobulin M antibodies to tumor necrosis factor-inducing toxins in patients with malaria. *Infection and Immunity*, 1994, 62: 3086-3091.

BEUTHER, D.A.; WEISS, S.T.; SUTHERLAND, E.R. Obesity and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 174(2):112-9.

BEUTLER, B.; CERAMI, A. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *New England Journal of medicine*, 1987, 316: 379-385.

BEUTLER, B.; KROCHIN, N.; MILSARK, I.W.; LUEDKE, C.; CERAMI, A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *Journal of Experimental Medicine*, 161: 984-995, 1985.

BOTEILHO, C.; GUEDES BARBOSA, L.S.; ÂQUINO, J.L.; SILVA, M.D.; MEIRELES, S.M.P.; JARDIM, J.N.B. Manifestações pulmonares na malária por *Plasmodium falciparum* e *vivax*. *Ver. Med. Trop.* São Paulo, 1988. 9: 33-345.

BOTELHO, C.; BARBOSA, L.S.G.; AQUINO, J.; SILVA, M.D.; MEIRELLES, S.M.P.; JARDIM, J..RB. Manifestações respiratórias na malária por *Plasmodium falciparum* e *vivax*. *Rev Inst Med Trop- São Paulo*, 1987; 29:337-345.

BOTELLA, D.E.; MAGLIA, J.; ESPACIO, CASANOVAS, E.A. Malaria grave y complicada. Estudio de seis casos. *Rev Clin Esp.*, 1998, 198:509-13.

BOUHAROUN-TAYOUN, H.; OEUVRAY, C.; LUNEL, F.; DRUILHE, P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of asexual blood stages. *J. Exp. Med.* 182:409-418, 1995.

BOULOS, M.; COSTA, J.M.; TOSTA, C.E. Comprometimento pulmonar na malária. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 1993. 35:93–102.

BRAGA, E. M.; FONTES, C. J. F. Plasmodium- Malária. In: Parasitologia Humana. Neves, D. P., Melo, A.L., Genaro, O.; Linardi, P.M. (eds.). São Paulo, 2005. *Editora Atheneu*, p. 128-146.

BRANQUINHO, M.S.; MARRELLI, M.T.; CURADO, I.; NATAL, D.; BARATA, J.M.; TUBAKI, R.; CARRERI-BRUNO, G.C.; DE MENEZES, R.T.; KLOETZEL, J.K. Infection of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* by *Plasmodium vivax* and *Plasmodium vivax* variant VK247 in the municipalities of Sao Vicente and Juquitiba. São Paulo, 1997. *Rev Panam Salud Publica* 2:189-193.

BRASIL. (Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). *Ministério da Saúde*. 2013. Vol. 44, Nº 1.

BRASIL. Ministério da Saúde (Brasil), Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). *Manual de diagnóstico laboratorial da malária*. 2a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Guia de vigilância epidemiológica: caderno 10 - malária*. 7a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Terapêutica da Malária/Colaboração de CRUZ, A.M. et al., Revisão de VALÊNCIA, A., SILVA A.R.; SILVA, C. J. M.; FONTES, C. J. F.; ALMEIDA NETTO, J. C.; DE SOUZA, J. M.; BOULOS, M.; ALECRIM, W. D. Brasília, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Vigilância Epidemiológica. Guia prático de tratamento da malária no Brasil. Brasília: Situação epidemiológica da malária no Brasil. Brasília: *Ministério da Saúde*. 2005^a, p. 1-3.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Situação epidemiológica da malária no Brasil. Brasília: *Ministério da Saúde*. 2005^b, p. 1-3.

BRASIL. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE- Sivep Malária. Manual de diagnóstico laboratorial da malária. Brasília. *Ministério da Saúde*, 2006.

BRITO I. Eradicating malaria: high hopes or a tangible goal? *Health Policy at Harvard*. 2001; 2:61-66.

BUENO, L.L.; MORAIS, C.G.; ARAÚJO, F.F.; SILVA, J.A.; CORREA-OLIVEIRA, R. SOARES, I.S.; LACERDA, M.V.; FUJIWARA, R.T.; BRAGA, E.M.: *Plasmodium vivax*: induction of CD4+CD25+FoxP3 regulatory T cells during infection are directly associated with the level of circulating parasite. *PLoS One*, 2010. **5**: 9623.

BUSS, P. M. Globalization, poverty and health. *Ciênc. Saúde Coletiva*, (2007). 12, 1575-1589.

BUTCHER, G.A.; GARLAND, T.; AJDUKIEWICZ, A.B.; CLARK, I.A. Serum tumor necrosis factor associated with malaria in patients in the Solomon Islands. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1990, 84: 658-661.

CALIS, J.C.; PHIRI, K.S.; FARAGHER, E.B.; BRABIN, B.J.; BATES, I.; CUEVAS, L.E.; DE HAAN, R.J.; PHIRI, A.I.; MALANGE, P.; KHOKA, M.; HULSHOF, P.J.; VAN LIESHOUT, L.; BELD, M.G.; TEO, Y.Y.; ROCKETT, K.A.; RICHARDSON, A. KWIATKOWSKI, D.P.; MOLYNEUX, M.E.; VAN HENSBROEK, M.B. Severe anemia in Malawian children. *N Engl J Med*. 2008 Feb 28: 358(9):888-899.

CAMARGO, E.P. Malária, maleita, paludismo. *Cienc. Cult.*, jan/mar, 2003. v.55, n.1, p.2.

CAMILA, C.; BASTOS, S.R.; SANTOS, J.B.; CAMPELO, G.M.S.; GONÇALVES, E.G.R.; SILVA, A.R. Plasmodium vivax malaria: related factors to severity in the State of Maranhão, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med.Trop.* vol.46 no.1 Uberaba Jan./Feb. 2013 ISSN 0037-8682.

CARDOSO, M.A.; FERREIRA, M.U.; CAMARGO, L.M.; SZARFARC, S.C. Anaemia, iron deficiency and malaria in a rural community in Brazilian Amazon. *Eur J Clin Nutr*. 1994 May; 48(5):326-332.

CARLTON, J.M; SINA, B.J.; ADAMS, J.H. Why Is Plasmodium vivax a Neglected Tropical Disease? *PLoS Negl Trop Dis*, 2011 5(6): e1160. doi:10.1371/journal.pntd.0001160.

CARTER, R.; MENDIS, K.N.; ROBERTS, D. Spatial targeting of interventions against malaria. *Bull World Health Organ*. 2000; 78 (12): 1401-11.

CARVALHO, B.O.; LOPES, S.C.P.; NOGUEIRA, P.A. On the cytoadhesion of *Plasmodium vivax*-infected erythrocytes. *Journal of Infectious Diseases*. 2010; 202(4):638–647.

CASSATELLA, M.A.; GASPERINI, S. BOVOLENTA, C.; CALZETTI, F.; VOLLEBREGT, M.; SCAPINI, P.; MARCHI, M.; SUZUKI, R.; SUZUKI, A.; YOSHIMURA, A. Interleukin-10 (IL-10) selectively enhances CIS3/SOCS3 mRNA expression in human neutrophils: evidence for an IL-10-induced pathway that is independent of STAT protein activation. *Blood*. 1999 Oct 15;94 (8):2880-9.

CHAREONVIRIYAPHAP, T.; BANGS, M.J.; RATANATHAM, S. Status of malaria in Thailand. *Southeast Asian J Trp Med Public Health*, 2000 Jun; 31 (2): 225-37.

CHOUDHURY, H. R.; SHEIKH, N. A.; BANCROFT, G.J.; KATS, D.R.; SOUZA, J.B. Early nonspecific immune responses and immunity to blood-stage nonlethal *Plasmodium yoelii* malaria. *Infection and Immunity*, 68: 6127-6232, 2000.

CLARK, I.A.; BUDD, A.C.; ALLEVA, L.M.; COWDEN, W.B: Human malarial disease: a consequence of inflammatory cytokine release. *Malar J*, 2006 5:85.

COUPER, K.N.; BLOUNT, D.G.; WILSON, M.S.; HAFALLA, J.C; BELKAID, Y.; KAMANAKA, M.; FLAVELL, R.A.; SOUZA, J.B.; RILEY, E.M. IL-10 from CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻CD127⁻ Adaptive Regulatory T Cells Modulates Parasite Clearance and Pathology during Malaria Infection. *PLoS Pathog*. Feb 2008; 4(2).

CRUZ, M.F.F.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. Imunologia e Imunopatologia, In: *Tratado de Infectologia*. Venoresi, R., Focaccia, R (eds.). São Paulo, Editora Atheneu, 2002, p. 1288-1292.

CUI, L.; MASCORRO, C.N.; FAN, Q.; RZOMP, K.A.; KHUNTIRA, T.B.; ZHOU, G.; CHEN, H.; YAN, G.; SATTABONGKOT, J. Genetic diversity and multiple infections of *Plasmodium vivax* malaria in western Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, 2003 68: 613- 619.

CURADO, I.; DUARTE, A.M.R.C.; LAL A.A.; NUSSENZWEIG, R.S.; OLIVEIRA, S.; KLOETZEL, J.K. Serological investigation of human *Plasmodium vivax*-like malaria in several localities in the state of São Paulo, Brazil. 1995. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90 (Suppl. I): 284.

CURADO, I.; MALAFRONTTE, R.S.; DUARTE, A.M.R.C.; KIRCHGATTER, K.; BRANQUINHO, M.S.; GALATI, E.A.B. Malaria epidemiology in low-endemicity areas of the Atlantic Forest in the Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. 2006. *Acta Trop* 100: 54-62.

DA SILVA, A.N.M.; SANTOS, C.C.B.; LACERDA, R.N.; MACHADO, R.L.D.; PÓVOA, M.M. Susceptibility of *Anopheles aquasalis* and *An. Darlingi* to *Plasmodium vivax* VK210 and VK247. 2006 *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 547-550.

DA SILVA, I.B.A.; VENTURA, A.M.R.; PINTO, A.Y.; CASTRO, J.A.A.; ARAÚJO, J.R.M.; SILVA FILHO, M.G.; VALENTE, M.I.A. Malária *vivax* grave com edema pulmonar não-cardiogênico. In: XXXix Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2003. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberaba/MG: FMTM/FUNEP, 2003. V.36. p.273.

DA SILVA, I.B.A. Malária *vivax*: manifestações clínicas e laboratoriais relacionadas com o fator de necrose tumoral alfa. Tese de Doutorado. Belém, Universidade Federal do Pará, p155, 2004.

DA SILVA, I.B.A.; VENTURA, A.M.R.; PINTO, A.Y.; SANTOS, S.E.B.; JUNQUEIRA, M.I.; SOUZA, J.M. Relações clínicas e laboratoriais do fator de necrose tumoral alfa na Malária *vivax*. In: XL Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2004. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberaba/MG: FMTM/FUNEP, 2004a. V.37. p.281.

DA SILVA, I.B.A.; VENTURA, A.M.R.; PINTO, A.Y.; SANTOS, S.E.B.; JUNQUEIRA, M.I.; SOUZA, J.M. Malária *vivax* e vasculite: caso com óbito. In: XL Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2004. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberaba/MG: FMTM/FUNEP, 2004b. V.37. P.275.

DALLMAN, P.R. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro no lactente e na criança pequena. *Anais Nestlé*, 1996; 52:1-10.

DANIEL-RIBEIRO, C.T. Is there a role for autoimmunity in immune protection against malaria? *Mémoires do Instituto do Oswaldo Cruz* 2000. 95(2): 199-207.

DANIEL-RIBEIRO, C.T.; FERREIRA-CRUZ, M.F. The new and the old in malaria immunopathology. *Ciências e Cultura. Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science* 2000. 52 (4/5), 269-281.

DAY, N.P.J.; HIEN, T.T.; SCHOLLAARDT, T.; LOC, P.P.; CHUONG, L.V.; CHAU, T.T.H.; MAI, N.T.H.; PHU, N.H.; SINH, D.X.; WHITE, N.J.; HO, M.: The prognostic and pathophysiologic role of pro- and antiinflammatory cytokines in severe malaria. *J Infect Dis* 1999, 180:1288-1297.

DELVES, P. J.; ROITT, I.M. The Immune System. First of Two Parts. In: Advances in Immunology. Mackay, I., Rosen, F. S. (eds.) *New England Journal of Medicine* 2000a 343: 37-49.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The Immune System. Second of Two Parts. In: Advances in Immunology. Mackay, I., Rosen, F. S. (eds.). *New England Journal of Medicine*, 2000b 343: 108-117.

DE SOUZA, J.M.; COUTO, A.A.R.A.; SILVA, E.B.; ABDON, N.P.; SILVA, R.S.U. Malária. In: *Doenças Infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico*. Leão, R. N. Q (ed.) Belém, Editora Graficentro Cejup Ltda, 1997. p. 645-669.

DE SOUZA-NEIRAS, W.C.; DE MELO, L.M.; MACHADO, R.L. The genetic diversity of *Plasmodium vivax* - A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007, 102: 245-254.

DE WAAL MALEFYT, R.; ABRAMS, J.; BENNETT, B.; FIGDOR, C.G.; DE VRIES, J.E. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991 Nov 1;174(5):1209-20.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COULOMBIER, D. Epi Info™, Version 6.04a, a word processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. *Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention*, july; 1996.

DEAN, W. A luta pela borracha no Brasil. São Paulo: *Nobel*; 1989.

DINARELLO, C. A.; MIER, J. W. Limphokines. *New England Journal of Medicine*, 1987 317: 940-945.

DONNELLY, S.C.; STRIETER, R.M.; REID, P.T.; KUNKEL, S.L.; BURDICK MARIE M.D.; ARMSTRONG, I; MACKENZIE, A; HASLETT. A. The Association between Mortality Rates and Decreased Concentrations of Interleukin-10 and Interleukin-1 Receptor Antagonist in the Lung Fluids of Patients with the Adult Respiratory Distress Syndrome. *Ann Intern Med*. 1996; 125 (3):191-196.

DRISS, A.; HIBBERT, J.M.; WILSON, N.A.O.; IQBAL, S.A.; ADAMKIEWICZ, T.V.; STILES, J.K. Polimorfismos Genéticos ligados a susceptibilidade à malária. *Malar J* 2011; 10:271.

DVORAK, J.A.; MILLER, L.H. Invasion of erythrocytes by malaria merozoites. *Science*, 1975 v. 187 p. 748-750.

ÉLDI, V.P.; ARAÚJO, G.C.; CASTRO, J.G.D.; BERNARRAIN, F.P. Epidemiological profile malaria in the State of Tocantins, Brazil, from 2003 to 2008. *Bras J Soc Trop Med* 2011, vol.53 no.3.

ERDMAN, L. K.; & KAIN, K. C. Molecular diagnostic and surveillance tools for global malaria control. *Travel Med Infect Dis* 2008; 6, 82-99.

ERHART, L.M.; YINGYUEN, K.; CHUANAK, N.; BUATHONG, N.; LAOBOONCHAI, A.; Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, 2004; 70: 8–14.

FAUSTINO, V.M.F.A. Mosquitos, arroz e sezões. A erradicação da malária no vale do Sado (Dissertação para título de mestrado, Ciências Sociais, Inst. de Ciências Sociais) Lisboa. Universidade de Lisboa; 2006.

FERREIRA, M.S. Malária: Patologia, Fisiopatologia, Quadro Clínico e Diagnóstico. In: *Tratado de Infectologia*. Veronesi, R. Focaccia, R. (eds.) S. Paulo. Editora Atheneu, 2002. p. 1292-1302.

FIGTREE, M.; PASAY, C.J.; SLADE, R.; CHENG, Q.; CLOONAN, N.; WALKER, J.; SAUL, A. *Plasmodium vivax* synonymous frequencies, evolution and population structure deduced from diversity in AMA-1 and MSP-1 genes. *Mol Biochem Parasitol* 2000; 108: 53-66.

GODARD, J.E.; HANSEN, R.A. Interstitial pulmonary edema in acute malaria. Report of a case. *Radiology*, 1971;101:523–4.

GONÇALVES, R.M.; SCOPEL, K.K.; BASTOS, M.S.; FERREIRA, M.U. Equilíbrio de citocinas em humano malária: *Plasmodium vivax* não provocar respostas inflamatórias mais do que *Plasmodium falciparum*? *PLoS One* 2012; 7: 44394.

GONZÁLEZ, J.M.; HURTADO, S.; ARÉVALO-HERRERA, M.; HERRERA, S. Variants of the *Plasmodium vivax* circumsporozoite protein (VK210 and VK247) in Colombian isolates. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 709-712.

GONZALEZ-CERON, L.; RODRÍGUEZ, M.H.; ENTEL, J.C.; VILLARREAL, C.; KAIN, K.C.; HERNANDEZ, J.E. Differential susceptibilities of *Anopheles albimanus* and *Anopheles pseudopunctipennis* to infections with coindigenous *Plasmodium vivax* variants VK210 and VK247 in Southern Mexico. *Infec Immun* 1999; 67: 410-412.

GOPINATH, R.; WONGSRICHANALAI, C.; CORDBN-ROSALES, C.; MIRABELLI, L., KYLE, D.; KAIN, K. C. Failure to detect a *Plasmodium vivax*-like malaria parasite in globally collected blood samples. *Journal of Infect Diseases*, 1994; 170, 1630- 1633.

GOZAL, D. The incidence of pulmonary manifestations during *Plasmodium falciparum* malaria in non-immune subjects. *Trop Med Parasitol*, 1992; 4 (1): 6–8. 12.

GREENWOOD, B.M.; FIDOCK, D.A.; KYLE, D.E.; KAPPE, S.H.; ALONSO, P.; COLLINS, F.H. Malaria: progress, perils and prospects of eradication. *J Clin Invest*. 2008, apr; 118(4): 1266-76.

GYSIN, J. Mechanisms of protective immunity against asexual blood stages of *plasmodium falciparum* in the experimental host Saimiri. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992; 87 (Suppl. III): 407-412.

HANSEN, D.S.; SCHOFIELD, L. Natural Regulatory T cells in malaria: host or parasite allies? *PlosS Pathog* 2010, 6:e1000771.

HEDBERG, K.; SHAFFER, N.; DAVACHI, F.; HIGHTOWER, A.; LYAMBA, B.; PALUKU, M.; NGUYEN-DINH, P.; BREMAN, J.G. Plasmodium Falciparum-Associated Anemia in Children at a Large Urban Hospital in Zaire. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993, 48 (3), p. 365-371.

HEDDINI, A. Malaria pathogenesis: a jigsaw with an increasing number of pieces. *International Journal of Parasitology*. 32: 1587-1598, 2002.

HERRERA, S.; FERNANDEZ, O.; MANZANO, M.R.; MURRAIN, B.; VERGARA, J. Successful sporozoite challenge model in human volunteers with *Plasmodium vivax* strain derived from human donors. *Am J Trop Med Hyg*, 2009; 81: 740–746.

HERRERA, S.; SOLARTE, Y.; JORDAN-VILLEGAS, A.; ECHAVARRIA, J.F.; ROCHA, L. Consistent safety and infectivity in sporozoite challenge model of *Plasmodium vivax* in malaria-naive human volunteers. *Am J Trop Med Hyg*, 2011; 84: 4–11.

HILL II, G.J.; KNIGHT, V. Thrombocytopenia in *vivax* malaria. *Lancet*, 1964 1: 240-241.

HOVETTE, P.; CAMARA, P.; BURGEL, P.R.; MBAYE, P.S.; SANE, M.; KLOTZ, F. Les manifestations pulmonaires associées au paludisme. *Rev Pneumol Clin* 1998; 54:340–5.

HUOVINEN, E.; KAPRIO J.; KOSKENVUO M. Factors associated to lifestyle and risk of adult onset asthma. *Respir Med*. 2003;97(3):273-80.

HWANG, J.; CULLEN, K.; KACHUR, S. P.; ARGUIN, P.M.; KEVIN, J.B. Severe Morbidity and Mortality Risk from Malaria in the United States, 1985-2011 Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America 2014

IMWONG M, PUKRITTAYAKAMEE, S.; GRUNER, A.C.; RENIA, L.; LETOURNEUR, F. LOOARESUWAN, S.; WHITE, N.J.; SNOUNOU, G. *Plasmodium vivax*: polymerase chain reaction amplification artifacts limit the suitability of pvgam I as genetic marker. *Exp Parasitol* 2005; 99: 175-179.

ISLAM, N. QAMRUDDIN, K. Unusual complications in benign tertian malaria. *Tropical Geographic Medicine* 1995; 47 (3): 141-143.

JARDIM, J.R.; OLIVEIRA, J.A.; NASCIMENTO, O. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Caracterização da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) – Definição, Epidemiologia, Diagnóstico e Estadiamento. *J Bras Pneumol*. 2004; 30 (Sup. 5): 10-14.

KAIN KC, BROWN AE, WEBSTER HK, WIRTZ RA, KEYSTONE JS, RODRIGUEZ MH, KINAHAN J, ROWLAND M, LANAR DE 1992. Circumsporozoite genotyping of global isolates of *Plasmodium vivax* from dried blood specimens. *J Clin Microbiol* 30: 1863-1866.

KARUNAWEEERA, N.D.; GRAU, G.E.; GAMAGE, P.; CARTER, R.; MENDIS, K.N.: Dynamics of fever and serum levels of tumor necrosis factor are closely associated during

clinical paroxysms in *Plasmodium vivax* malaria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992a; 89:3200-3203.

KARUNAWEERA, N.D.; CARTER, R.; GRAU, G.E.; KWIATKOWSKI, D.; DEL GIUDICE, G.; MENDIS, K.N.: Tumour necrosis factor-dependent parasite-killing effects during paroxysms in non-immune *Plasmodium vivax* malaria patients. *Clin Exp Immunol* 1992b, 88:499-505.

KARUNAWEERA, N.D.; CARTER, R.; GRAU, E.; MENDIS, K.N. Demonstration of antidisease immunity to *Plasmodium vivax* in Sri Lanka using a quantitative method to assess clinical disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1998; 58(2): 204-210.

KIPPLE, K.F. *The Cambridge World History of Human Disease*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.

KN, BLOUNT D.G.; RILEY, E.M: IL-10: The master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008, 180:5771-5777.

KOH, K.H.; CHEW, P.H.; KIYU, A. A retrospective study of malaria infections in a intensive care unit of a general hospital in Malaysia. *Med J*, 2004; 45 (1):28-36.

KOCHAR, D.K.; DAS, A.; KOCHAR, A.; MIDDHA, S.; ACHARYA, J.; TANWAR, G.S.; GUPTA, A.; PAKALAPATI, D.; GARG, S.; SAXENA, V.; SUBUDHI, A.K.; BOOPATHI, P.A.; SIROHI, P.; KOCHAR, S.K. Thrombocytopenia in *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and mixed infection malaria: a study from Bikaner (Northwestern India). *Platelets*. 2010; 21(8):623-627.

KOCHAR, D.K.; TANWAR, G.S.; KHATRI, P.C.; KOCHAR, S.K.; SENGAR, G.S.; GUPTA, A.; KOCHAR, A.; MIDDHA, S.; ACHARYA, J.; SAXENA, V.; PAKALAPATI, D.; GARG, S.; DAS, A. Clinical features of children hospitalized with malaria--a study from Bikaner, northwest India. *Am J Trop Med Hyg*. 2010 Nov; 83(5):981-9.

KROGSTAD, D.J. *Plasmodium* species (Malaria). In: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Mandell, G.L., Bennet, J.E., Dolin, R. (eds.). New York: Churchill Livingstone Inc, 1995. p. 2415-2427.

KROTOSKI, W. A. Discovery of the hypnozoite a new theory of malaria relapse. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79:1-11, 1985.

KWIATKOWSKI, D. Malarial toxins and the regulation of parasite density. *Parasitology Today*, 11: 206-212, 1995.

KWIATKOWSKI, D.; BATE, C. A. W.; SCRAGG, I. G.; BEATTIE, P.; UDALOVA, I.; KNIGHT, J. C. The alaral fever response - pathogenesis, polymorphism and prospect for intervention. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1997; 91 (5): 533-542.

LACERDA, M.V.; MOURÃO, M.P.; ALEXANDRE, M.A.; SIQUEIRA, A.M.; MAGALHÃES, B.M.; MARTINEZ-ESPINOSA, F.E.; FILHO, F.S.; BRASIL, P.; VENTURA, A.M.; TADA, M.S.; COUTO, V.S.; SILVA, A.R.; SILVA, R.S.; ALECRIM M.G: Understanding the clinical spectrum of complicated *Plasmodium vivax* malaria: a systematic review on the contributions of the Brazilian literature. *Malaria J* 2012, 11:12.

LACERDA, M.V.G. Manifestações clínicas e patológicas da plaquetopenia na malária. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2007.

LANGHORNE, J.; NDUNGU, F.M.; SPONAAS, A.M.; MARSH, K: Immunity to malaria: more questions than answers. *Nat Immunol* 2008, 9: p 725-732.

LARA, R.M; LEGES, D.M.; SANTANA, C.H., CETARD, N. Paludismo y embarazo . *Rev. Med. Dominic.*, 1983; 43: 34-37.

LEHMANN, A.K.; HALTEMAN, A.; SORNES, ROKKEO, O.; WAAGE, A. High levels of interleukin-10 in serum are associated with fatality in meningococcal disease. *Infect Immun* 1995; 63. 2019-2115

LIBONATI, R.M.F.; MENDONCA, B.B.; MAUES, J.A.; QUARESMA, J.A.S.; DE SOUZA, J.M. Some aspects of the behavior of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in patients with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria: Cortisol and dehydroepiandrosterone levels. *Acta tropica* 2006; 98 270–276).

LIEHL, P.; MOTA, M.M. Reconhecimento inato de parasitas da malária por mamíferos hospedeiros. *Int J Parasitol* 2012; 42:557-66.

LIN, Y.; DEVIN, A.; RODRIGUEZ, Y.; LIU, Z-G. Cleavage of the death domain kinase RIP by Caspase-8 prompts TNF-induced apoptosis. *Genes & Development*, 1999; 13: 2514-2526.

LOIOLA, C.C.P; MANGABEIRA, D.A.; SILVA, C.J.; TAUIL, P.L. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 2002; 11(4), p. 235-244.

LOMAR, A.V.; VIDAL, J.E.; LOMAR, F.P.; BARBAS, C.V.; De MATOS, G.J.; BOULOS, M. Acute respiratory distress syndrome due to *vivax* Malaria: Case report and literature review. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2005; 9(5): 425-430.

LOPES, N.F.S.N.; TADEI, W.P.; BRITO, L.M.O.; BEZERRA, M.T.; PINHEIRO, V.C.S. Malária no Maranhão: análise dos fatores relacionados com a transmissão no período de 2005 a 2009. *Rev Pesq Saúde*, jan-abr, 2013; 14(1): 40-44.

LORENZI, T.F. Patologia da hemostasia. In: Manual de hematologia – Propedêutica e Clínica. Terezinha F. Lorenzi e col. Medsi Editora Médica e científica, 2003; p 655.

LOZANO, F.; LEAL, M.; LISSEN, E.; MUNOZ, J.; BAUTISTA, A.; REGORDAN, C. Paludisme à *P. falciparum* et à *P.malariae* compliqué par un oedème pulmonaire avec coagulation intravasculaire disséminée. *Presse Med* 1983; 12:3004–5.

LYKE, K.E.; LAURENS, M.; ADAMS, M.; BILLINGSLEY, P.F.; RICHMAN, A.; *Plasmodium falciparum* malaria challenge by the bite of aseptic *Anopheles stephensi* mosquitoes: results of a randomized infectivity trial. *PLoS One*, 2010; 5: e13490. doi: 10.1371/journal.pone.0013490.

MACHADO, R.L.D.; FIGUEIREDO, A.F.F.; CALVOSA, V.S.P.; FIGUEREDO, M.C.; NASCIMENTO, J.M.; PÓVOA, M.M. Correlation Between *Plasmodium vivax* variants in

Belém, Pará State, Brazil and symptoms and clearance of parasitaemia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2003; 7 (3): 175-177.

MAGUIRE, G.P., HANDOJO, T., PAIN, M.C., KENANGALEM, E., PRICE, R.N., TJITRA, E.; ANSTEY, N.M. Lung injury in uncomplicated and severe falciparum malaria: a longitudinal study in Papua, Indonesia. *J. Infect. Dis*, 2005; 196:1666-1674.

MACHADO, R.L.D.; PÓVOA, M.M. Distribution of *Plasmodium vivax* variants (VK210, VK247 and *P. vivax*-like) in three endemic areas of Amazonian Brazil and their correlation with chloroquine-treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000; 94: 377-381.

MAGRIS, M.; RUBIO-PALIS, Y.; MENARES, C.; VILLEGAS, L. Vector bionomics and malaria transmission in the Upper Orinoco River, Southern Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, jun, 2007; v. 102, n.3, p.303-11.

MANTOVANI, A.; DEJANA, E. Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. *Immunology today*, 1989; 10 (11): 370-375.

MARQUES, A.C.; GUTIERREZ, H.C. Combate à malária no Brasil: Evolução, situação atual e perspectiva. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1994; v. 44, p. 91-108.

MARRELLI, M.T.; BRANQUINHO, M.S.; HOFFMAN, E.H.; TAÍPE-LAGOS, C.B.; NATAL, D.; KLOETZEL, J.K. Correlation between positive serology for *Plasmodium vivax*-like/*Plasmodium simiovale* malaria parasites in the human and anopheline populations in the state of Acre, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1998; 92:149-151.

MARSH, K.; KINYANJUI, S. Immune effector mechanisms in malaria. *Parasite Immunol*. 2006; 28: 51- 60.

MARSH, K. Indicators of life-threatening malaria in African children. *N Engl J Med*. 1995; 332(1399–1404).

MARSH, K.; SNOW, R.W. Malaria transmission and morbidity. *Parasitologia* 1999, 41:241-246.

MARTINS, V.F.S.; RAMOS FILHO, C.F.; TRADE-SANTOS, G.C. In: Doenças febris: malaria. Schechter M, Marangoni DV. *Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica*. 2ª Ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1998; 182-196.

MATTHEWS, N. Production of an anti-tumor cytotoxin by human monocytes. *Immunology*, 1981; 44: 135-142.

MCCALL, M.B.B.; SAUERWEIN, R.W. Interferon- γ -central mediator of protective immune responses against the pre-erythrocytic and blood stage of malaria. *J Leukoc Biol*, 2010; 88:1131-1143.

MCKENZIE, F.E.; JEFFERY, G.M.; COLLINS, W.E. Gametocitemia e febre em humano em infecções de malária. *J Parasitol*, 2007; 93:627-33.

MCKENZIE, F.E.; WONGSRICHANALAI, C.; MAGILL, A.J.; FORNEY, J.R.; PERMPANICH, B.; LUCAS, C. Gametocitemia em *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* infecções. *J Parasitol*, 2006; 92:1281-5.

MACHADO, R.L.D.; FILHO, A.F.F.; CALVOSA, V.S.P.; FIGUEREDO, M.C.; NASCIMENTO, J.M.; PÓVOA, M.M. Correlation Between *Plasmodium vivax* Variants in Belém, Pará State, Brazil and Symptoms and Clearance of Parasitaemia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2003; 7 (3):175-177.

MACHADO, R.L.D.; PÓVOA, M.M. Distribution of *Plasmodium vivax* variants (VK210, VK247 and *P. vivax*-like) in three endemic areas of Amazonian Brazil and their correlation with chloroquine-treatment. *Trans R Soc Trop Med Hig*, 2000; 94: 377-381.

MACKINTOSH, C.L.; BEESON, J.G.; MARSH, K. Clinical features and pathogenesis of severe malaria. *Trends in Parasitology*, 2004; 20 (12): 597-603.

MAGUIRE, J.D.; FENTON, M.E.; AUGUSTINA, I. S.; WALKER, J. B. *Plasmodium vivax* – associated acute respiratory distress syndrome after extended travel in Afghanistan. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 2007; 5 , 301-305.

MEDINA, T.; COSTA, S.P.; OHNISHI, M.D.O.; VENTURA, A.M.R.S.; DE SOUZA, J.M.; GOMES, F.T.; VALLINOTO, A.C.R.; POVOA, M.M.; DILVA, J.S.; CUNGA, M.G. O aumento dos níveis da interleucina-10 e interferon- γ na malária por *Plasmodium vivax* sugerem uma regulação recíproca que não é alterada pelo polimorfismo do gene promotor da IL-10 . *Malaria Journal*, 2011, 10: 264.

MENÁRD, R.; AMINO, R.; THILBERGE, S.; MARTIN, B.; CELLI, S.; SHORTE, S.; FRICKNECHT, F. Quantitative imaging of *Plasmodium* transmission from mosquito to mamal Nat Med, 2006; 12: 220-224.

MENDIS, K.N.; CARTER, R. The role of cytokines in *Plasmodium vivax* malaria. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992; 87: 51-55.

MENDIS, K.; SINA, B.J.; MARCHESINI, P.; CARTER, R. The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2001; 64: 97-106.

MILLER, L. H.; BARUCH, D. I.; MARSH, K.; DOUMBO, O. K. The pathogenic basis of malaria. *Nature*, 2002; 415: 673-679.

MISHRA, U.; RAY, G. Pulmonary manifestation of malaria. , 2005;
Available:<http://meeting.chestpubs.org/cgi/content/abstract/128/4/376S-a>.

MORAIS FERNANDES, A.A.; CARVALHO L.J.M.; ZANINI, G.M.; VENTURA, A.M.; SOUZA, J.M.; COTIAS. P.M. Respostas de citocinas semelhantes e graus de anemia em pacientes com *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* infecções no Brasil Região amazônica. *Clin Immunol Vaccine* ,2008; 15:650-8.

MOURA, E.F.A.; SILVA JUNIOR, J.P.T.; REIS, A.M. Malária na infância - estudo de nove casos. *Clin Ped*. 1988; 12 (4): 34-38.

MUELLER, I.; GALINSKI, M.R.; BAIRD, J.K.; CARLTON, J.M.; KOCHAR, D.K.; ALONSO, L.A. Chave lacunas no conhecimento do *Plasmodium vivax*, um malária humana negligenciada parasita. *Lancet Infect Dis*, 2009; 9:555-66.

MULEY, A.; LAKHANI, J.; BHIRUD, S.; PATEL, A. Thrombocytopenia in Plasmodium vivax Malaria: How Significant? *J Trop Med*. 2014; 2014: 567469. Published online Jun 17, 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/567469>. PMID: PMC4087267.

MUNIZ-JUNQUEIRA, M.I.; TOSTA, C. E. Imunopatologia da malária: mecanismos de imunidade In: 5ª Reunião Nacional de Pesquisadores em Malária, 1996.

NAYAK, K.C.; MOHINI, KUMAR, S.; TANWAR, R.S.; KULKARNI, V.; GUPTA, A.; SHARMA, P.; SIROHI, P.; RATAN, P. A study on pulmonary manifestations in patients with malaria from northwestern India (Bikaner). *J Vector Borne Dis*. 2011 Dec; 48(4):219-23.

O'DONNELL, R. A.; DE KONING-WARD, T. F.; BURT, R. A.; BOCKARIE, M.; REEDER, J. C.; COWMAN, A. F.; CRABB, B. S. Antibodies against merozoite immune to malaria. *J. Exp.Med*. 2001; 193:1403-1412.

ÓBRIEN, A.T.; RAMIREZ, J.F.; MARTINEZ, S.P. A descriptive study of 16 severe *Plasmodium vivax* cases from three municipalities of Colombia between 2009 and 2013. *Malaria Journal*, 2014; 13:404.

OHNISHI, M.D.O.; VENTURA, A.M.R.S.; LIBONATI, R.M.F.; MENDES, M.M.F.; SANTOS, S.E.B.; DE SOUZA, J.M. Comprometimento pulmonar na malária vivax e Associação com polimorfismo nos genes do TNF alfa e IL-12beta. *Rev da Soc Bras de Med Trop*, 2009; v. 42. p. 228-228.

O'MEARA, W.P.; BEJON, P.; MWANGI, T.W.; OKIRO, E.A.; PESHU, N.; SNOW, R.W. Effect of a fall in malaria transmission on morbidity and mortality in Kilifi, Kenya. *Lancet*, 2008; Nov 1; 372 (9649): 1555-62.

OHNISHI, M.D.O. Análise do polimorfismo nos genes do TNF alfa e IL 12 beta e manifestações pulmonares em pacientes infectados por *Plasmodium vivax*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará, Belém- Pará, 2008.

OLD, L.J. Tumor necrosis factor. *Science*, 230: 630-632, 1985.

OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LACERDA, M.V.G.; BRASIL, P.; LADISLAU, J.L.B.; TAUIL, P.L.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. Malaria in Brazil: an overview. *Malaria Journal*, 2010; 9:115.

OLIVEIRA, R.M.C. & SOUZA, I. M. Revisão do quadro clínico em pacientes portadores de malária por *P. falciparum*. *Rev. bras. Malar*, 1983; 85: 5-68, 19SB.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Informe de la situación del paludismo em las Americas, 2008. Washington, D.C.: OPS; 2010.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Informe de la situación de la malaria en las Américas. *Boletín Epidemiológico*. Washington DC: OPS/OMS/HCP/HCT, 1996.; v.17, n. 4.

PARISE, E.V.; ARAUJO, G.C.; CASTRO, J.G.D.; BERDARRAIN, P. Epidemiological profile of malaria in the state of Tocantins, Brazil, from 2003 to 2008 *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* May/June 2011; vol.53 no.3.

PARISE, E.V.; ARAÚJO, G.C.; PINHEIRO, R.T. Análise espacial e determinação de áreas prioritárias para o controle da malária, Estado do Tocantins, 2003-2008. *Rev da Soc Bras de Med Trop*, 2011; 44 (1): 63-69.

PEREIRA, C.A.C. Espirometria. Diretrizes para teste de função pulmonar. *Jornal de Pneumologia*, 2002; vol.28. Supl.03: 1-15.

PERLAZA, B.L.; SAUZET, J.P.; BRAHIMI, K.; BENMOHAMED, L.; DRUILHE, P. Interferon-gamma, a valuable surrogate marker of *Plasmodium falciparum* pre-erythrocytic stages protective immunity. *Malar J*, 2011; 10:27.

PEYRON, F.; BURDIN, N.; RINGWALDT, P.; VUILLEZI, J. P.; ROUSSET, F.; BANCHEREAU, J. High levels of circulating IL-10 in human malaria. *Clin Exp Immunol* 1994, 95:300-303.

PÓVOA, M.M.; CONN, J.E.; SCHLICHTING, C.D.; AMARAL, J.C.O.F.; SEGURA, M.N.O.; DA SILVA, A.N.M.; DOS SANTOS, C.C.B.; LACERDA, R.N.L.; DE SOUZA, R.T.L.; GALIZA, D.; SANTA ROSA, E.P.; WIRTZ, R.A. Malaria vectors, epidemiology and the re-emergence of *Anopheles darlingi* in Belém, Pará, Brazil. *J Med Entomol*, 2003; 40: 379-86.

PRAKASH, D.; FESEL, C.; JAIN, R.; CAZENAVE, P.A.; MISHRA, G.C.; PIED, S. Clusters of cytokines determine malaria severity in *Plasmodium falciparum*-infected patients from endemic areas of central India. *J Infect Dis*, 2006; 194: 198-207.

PRICE, L.; PLANCHE, T.; RAYNER, C.; SANJEEV, K. Acute respiratory distress syndrome in *Plasmodium vivax* malaria: case report and review of the literature. *Royal Society of Tropical Medicine and hygiene*, 2007; 101, 655-659.

PRICE, R.N.; DOUGLAS, N.M.; ANSTEY, N.M. Novos desenvolvimentos em *Plasmodium vivax* Malária: doença grave e a ascensão de resistência à cloroquina. *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22:430-5.

QARI, S.H.; SHI, Y.P.; GOLDMAN, I.F.; UDHAYAKUMAR, V.; ALPERS, M.P.; COLLINS, W.E.; LAL, A.A. Identification of *Plasmodium vivax*-like human malaria parasite. *Lancet*, 1993; 341: 780-783.

RAPOSO, C.C.B.S.; SANTOS, J.B.S.; SANTOS, G.M.C.; GONÇALVES, E.G.R.; SILVA, A.R. Malária por *Plasmodium vivax*: fatores de gravidade no Estado do Maranhão, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* Uberaba Jan./Feb. 2013; vol.46 no.1.

REY, L. Parasitologia (2ª Ed.) Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro- RJ. 2001.

RICH, S.M.; LEEMDERTZ, F.H.; XU, G.; LEBRETON, M.; DJOKO, C.F.; AMINAKE, M.N. The origin of malignant malaria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009 Sep 1:106 (35): 14902-7.

RICHARDS, A.L. Factor de necrose tumoral e citocinas associadas no acolhimento de resposta a malária. *Int J Parasitol*, 1997; 27:1251-63.

RILEY, E.M.; STEWART, V.A. Mecanismos imunológicos da malária: novas perspectivas em o desenvolvimento de vacinas. *Nat Med*, 2013; 19:168-78 .

RILEY, E. M.; WAHL, S.; PERKINS, D. J.; SCHOFIELD, L. Regulating immunity to malária. *Parasite Immunol*. 2006; 28, 35–49.

ROBERTS, D.R.; MANGUIN, S.; MOUCHET, J. DDT house spraying and re-emerging malária. *Lancet*, 2000; 22:330-2.

ROCKETT, K.A.; AWABURN, M.M.; ROCKETT, E.J.; CLARK, I.A. Tumor necrosis factor and interleukin-1 synergy in the context of malária pathology. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1994.50: 735-742.

ROLL BACH MALARIA (RBM). Global Malaria Action Plan. 2008. Disponível em: <http://www.rbm.who.int/> (2012 out 12).

ROSENBERG, R.; WIRTZ, R.A.; LANAR, D.E.; SATTABONGKOT, J.; HALL, T.; WATERS, A.P.; PRASITTISUK, C. Circumsporozoite protein heterogeneity in the human malária parasite *Plasmodium vivax*. *Science*, 1989; 245: 973-976.

SACHES, J. E.; MALANEY, P. The economic and social burden of malária. *Nature*, 2002; 415, 680–685.

SALERI, N., GULLETTA, M., MATBELLI, A. Acute respiratory distress syndrome in *Plasmodium vivax* malária in traveler returning from Venezuela. *J. Travel Med*, 2006. 13: 112-3.

SCHACHTER, L.M; SALOME, C.M; PEAT, J.K; WOOLCOCK, A.J. Obesity is a risk for asthma and wheeze but not airway hyperresponsiveness. *Thorax*, 2001; 56(1):4-8.

SCUDERI, P., LAM, K.S., RYAN, K.J., PETRERSEN, E., STERLING, K.E., FINLEY, P.R., RAY, C.G., SLYMEN, D.J., SALMON, S.E. Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections. *Lancet*, 1986; 13: 1364-1365.

SILVA, L.C.C.; FREIRE, L.M.; MENDES, N.F.; LOPES, A.C.; CRUZ, A. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. Definição, epidemiologia, patologia e patogenia. *J Bras Pneumol*. 2002; 28 (Sup.1):4-5.

SILVA, W.C.; MARQUE, M.A.; NASCIMENTO, A.V. Estudo comparativo para avaliação das falhas técnicas em radiografias convencionais de tórax. *Radiol Bras*. 2013; 46(1):39-42.

SBPT-SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Avaliação torácica por imagem. In: *Manual de pneumologia: consultas rápidas*, 2002; ed. dos autores. p. 33-45.

SHORE, S.A.; FREDBERG, J.J. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115(5):925-7.

SILVA, L.C.C.; FREIRE, L.M.; MENDES, N.F.; LOPES, A.C.; CRUZ, A. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. Definição, epidemiologia, patologia e patogenia. *J Bras Pneumol.* 2002; 28 (Sup.1): 4-5.

SILVA, R. Malária e desenvolvimento: a saúde pública no governo JK (1956-1961) (doutorado em História das Ciências e da Saúde). Rio de Janeiro: *FIOCRUZ*; 2008.

SIQUEIRA, A.M.; CAVALCANTE, J.A.; VÍTOR-SILVA, S.; REYES-LECCA, R.C.; ALENCAR, MONTEIRO, W.M.; ALEXANDRE, M.A.A.; MOURÃO, M.P.G.; GUINOVART, BASSAT, ALECRIM, M.G.C.; LACERDA, M.V.G. Influence of age on the haemoglobin concentration of malaria-infected patients in a reference centre in the Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Aug 2014; 109(5): 569–576.

SORTICA, V.A.; CUNHA, M.G.; OHNISHI, M.D.; SOUZA, J.M.; RIBEIRO-DOS-SANTOS; K.C.; SANTOS, N.P.C.; CALLEGARI-JACQUES, SÍDIA, M.; SANTOS, S.E.B.; HUTZ, M.H. IL1B, IL4R, IL12RB1 and TNF gene polymorphisms are associated with plasmodium vivax malaria in Brazil. *Malaria Journal.*, 2012; v.11, p.409.

STEVENSON, M.M.; RILEY, E.M. Innate immunity to malaria. *Nat. Reviews*, 2004. 4:169-180.

STEVENSON, M.M.; ZAVALA, F. Immunology of malaria infections. *Parasite Immunology* January 2006; volume 28, Issue 1-2, p 1–4.

STORTI-MELO, L.M.; SOUZA-NEIRAS, W.C.; CASSIANO, G.C.; JOAZEIRO, A.C.P.; FONTES, C.; BONINI-DOMINGOS, C.R.; D'ALMEIDA COUTO, A.A.R.; PÓVOA, M.M.; MATTOS, L.C.; CAVASINI, C.E.; ROSSIT, A.R.B.; MACHADO, R.LD.: *Plasmodium vivax* circumsporozoite variants and Duffy blood group genotypes in the Brazilian Amazon region. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2009; 103:672-678.

TARGERTT, G. A. T. Virulence and the immune response in malaria. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992; 87 (Suppl. V): 137-144.

TAUIL, P. DANIEL-RIBEIRO, C.T. Some aspects of epidemiology and control of malaria in Brazil. *Res Rev Parasitol.* 1998; 58:163-167.

TAUIL, P.L.; LIMA, J.T.F. Critical analysis of malaria control measures in Brazil. Round Table 9 – Summary. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992; 87 (suppl. III):337-339.

TAYLOR, W.R.; CAÑÓN, V.; WHITE, N.J. Pulmonary manifestations of malaria: recognition and management. *Treat Respir Med.* 2006; 5(6):419-28.

TAYLOR, W.R.; HANSON, J.; TURNER, G.D.; WHITE, N.J.; DONDORP, A.M. Respiratory manifestations of malaria. *Chest*, 2012; 142(2):492-505. doi: 0.1378/chest.11-2655.

TJITRA, E.; ANSTEY, N.M.; SUGIARTO, P.; WARIKAR, N.; KENANGALEM, E.; KARYANA, M. *Plasmodium vivax* multirresistente associada a grave e fatal malária: um estudo prospectivo em Papua, na Indonésia. *PLoS Med*, 2008; 17: E128 .

TONG, M.J.; BALLANTINE, T.V.; YOUEL, D.R. Pulmonary function studies in *Plasmodium falciparum* malaria. *Am Rev Respir Dis*. 1972;106: 23–9.15.

TOSTA, C. E.; SANTOS-NETO, L. L. Citocinas, integrinas e patogenia da malária. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1989; 22: 167 – 170.

TOSTA, C.E. Coevolutionary networks infectious agentes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1996, :415-425, 2001.

TRAMPUZ, A.; JEREB, M.; MUZLOVIC, I; PRABHU, R.M. Clinical review: severe malaria. *Critical care*, 2003; 7: 315-323.

TRIGG, P. I. & KONDRACHINE, A. V. Commentary: malaria control in the 1990s. *Bull World Health Organ*, 1998; 76, 6-11.

VALECHA, N. PINTO, R.G.; TURNER, G.D.; KUMAR, A.; RODRIGUES, S.; DUBHASHI N.G.; RODRIGUES, E.; BANAUlikAR, S.S.; SINGH, R.; DASH, A.P.; BAIRD, J.K. Histopathology of fatal respiratory distress caused by *Plasmodium vivax* malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 2009; 81(5):758-562.

VENTURA, A.M.R. Malária por *P. vivax* em crianças e adolescentes - aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. *Jornal de Pediatria*, 1999; v. 75, n. 3, p. 187-194.

VENTURA, A.M.R.S. Anemia da malária por *Plasmodium vivax*: estudo clínico e laboratorial em crianças e adolescentes. 2010. 157 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – *Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro.

WEATHERALL, D.J.; CLEGG, J.B. Variabilidade genética em resposta à infecção: maláriae depois. *Genes Immun*, 2002; 3:331-337.

WESTENDORP, R,G,; LANGERMANS, J.A.; HUIZINGA, T.W.; ELOUALI, A.H.; VERWEIJ, C.L.; BOOMSMA, D.I.; VANDENBROUCKE, J.P. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet*, 1997 18;349(9046):170-173.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION, UNICEF – THE UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND. *World Malaria Report*, 2005.

WHO: Severe falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000, 94:1-90.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Ninth world health assembly. *Int Organ*. 1956; 10:642-44.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *World malaria report 2008*. Disponível em: < www.who.int > Acesso em: 15 dez. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *World malaria report 2009*. WHO, Geneva. Disponível em < www.who.int > Acesso em: 16 out. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *World Maaria Report, 2012*. Disponível em: www.who.int. Acesso em 12 dez 2013.

WYKES, M.; KEIGHLEY, C.; PINZON-CHARRY, A.; GOOD, M.F. Dendritic cell biology during malaria. *Cell Microbiol*, 2007; 9:300–305.

YAZDANI, S. S.; MUKHERJEE, P.; CHAUHAN, V. S.; CHITNIS, C. E. Immune responses to asexual blood-stages of malaria parasites. *Curr. Mol. Med.*, 2003-2006; 6:187.

ZAKERI, S.; ABOUIE-MEHRIZI, A.; DJADID, N.D. SNOUNOU, G. Circumsporozoite protein gene diversity among temperate and tropical *Plasmodium vivax* isolates from Iran. *Trop Med Int Health*, 2006; 11: 729-737.

ZEYREK, F.Y.; KURCER, M.A.; ZEYREK, D.; SIMSEK, Z.: Parasite density and serum cytokine levels in *Plasmodium vivax* malaria in Turkey. *Parasite Immunol* 2006, 28:201-207.

ZIN, W. Fisiologia do sistema respiratório. In: *Pneumologia*. Bethlem, 4ª Ed. São Paulo, Editora Atheneu, 2002, p. 39-54.

APÊNDICES

APÊNDICE - A

FICHA / PRONTUÁRIO

PACIENTE Nº

Comprometimento pulmonar na malária: associação com fatores epidemiológicos, imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax*

I - IDENTIFICAÇÃO/EPIDEMIOLOGIA

NOME:.....

IDADE: SEXO: PESO: ALTURA: IMC:

FONES: PROCEDÊNCIA: LACAL DE INFECÇÃO:

PARASITEMIA: PRIMÓINFECÇÃO () Nº VÊZES

TRÍADE MALÁRICA:

FEBRE	SIM ()	CALAFRIO	SIM ()	CEFALÉIA	SIM ()
	NÃO ()		NÃO ()		NÃO ()

II - SISTEMA RESPIRATÓRIO

TOSSE	SIM ()	FALTA DE AR	SIM ()	DISPNÉIA	SIM ()
	NÃO ()		NÃO ()		NÃO ()

DOR TORÁCICA	SIM ()	CIANOSE	SIM ()	OUTROS	SIM ()
	NÃO ()		NÃO ()		NÃO ()

F.R.:..... ipm. AUSCULTA PULMONAR:.....

III – OUTROS SISTEMAS:

AUSCULTA CARDÍACA:

F.C.:

P.A.:

Temperatura axilar:

Pulso:

HEPATOPMEGALIA	SIM ()	ESPLENOMEGALIA	SIM ()
	NÃO ()		NÃO ()

IV- OUTRAS INFORMAÇÕES:

D0: _____

D14: _____

VII - PROVA DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA (ESPIROMETRIA)

D0: _____

D14: _____

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/TCLE

Título: Comprometimento pulmonar na malária: associação com fatores epidemiológicos, imunológicos e variantes do *Plasmodium vivax*.

Coordenação e responsabilidade dos pesquisadores: Profa. Maria Deise de Oliveira Ohnishi (médica) Profa. Dra. Rosana Maria Feio Libonati (médica), Prof. Dr. José Maria de Souza (médico).

Este estudo será conduzido no Ambulatório/Laboratório de Malária do Instituto Evandro Chagas (IEC).

I - INTRODUÇÃO (EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE)

Você está sendo convidado a participar de um estudo clínico que irá verificar a quantidade de parasitos da malária no seu sangue, os sintomas, as alterações laboratoriais, inclusive se ocorreu algum dano no seu pulmão causado pela malária.

Ao longo do tempo, observamos que algumas pessoas podem apresentar queixas de leves a moderadas, enquanto outras têm quadros mais intensos. Por isso resolvemos fazer esse estudo. As informações fornecidas neste documento são para esclarecer, o melhor possível, a nossa intenção. Foram baseadas na resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que definem as normas para pesquisa com seres humanos. A resolução está com a médica responsável pelo estudo e disponível para os pacientes.

II- PROCEDIMENTOS

A partir de sua aceitação você fará parte deste estudo. Independente de sua aceitação, você receberá a medicação durante 7 dias e será acompanhado por nossa equipe diariamente, durante as consultas. Neste estudo não será usada nenhuma medicação nova para o tratamento da malária.

Você será submetido a exames de rotina do nosso serviço, mesmo que não participe do projeto: É o exame de pesquisa do Plasmódio (“**fura-dedo**”), que você fará todos os dias até que seu resultado esteja negativo em 2 (dois) dias seguidos, e ainda no 8º e 15º dias após o início do tratamento e nos retornos mensais.

No estudo, serão também realizados exames de sangue. Para isso, serão retirados 6 ml de sangue da veia, no primeiro dia do atendimento e no décimo quinto dia, para realização dos seguintes exames laboratoriais, que verificarão anemia e o funcionamento do seu fígado. Portanto, esse material servirá para realização dos seguintes exames laboratoriais: hemograma, contagem de plaquetas, aminotransferases, bilirrubinas, fator de necrose tumoral alfa, interleucina-10, Interferon gama e para identificação das variantes do plasmódio (causador da malária).

Nos exames de sangue serão utilizados materiais descartáveis, sem risco algum para os pacientes. No primeiro e décimo quinto dias, você deverá realizar Rx do pulmão e a “**prova do sopro**” (espirometria) no Hospital Barros Barreto, onde será atendido pela médica pneumologista responsável pelo estudo.

QUALQUER SINTOMA OU SINAL QUE VOCÊ VENHA A SENTIR DURANTE O ESTUDO, COMUNIQUE AO SEU MÉDICO (do ambulatório de malária).

III- POSSÍVEL DESVANTAGEM:

Coleta de sangue correspondente a 6 ml no primeiro e décimo quinto dias.

IV- BENEFÍCIOS

Este estudo irá fornecer informações mais completas a cerca da saúde do paciente e sobre as alterações, principalmente as pulmonares, causadas pela malária, porque faremos uma avaliação tanto clínica, como laboratorial e de imagem (RX).

No caso do paciente apresentar alguma alteração clínica ou laboratorial além da malária, será orientado quanto ao tratamento e acompanhado clinicamente. Havendo algum resultado alterado, clínico ou laboratorial, o exame será repetido até que se normalize.

V- INCENTIVOS

Após serem anotados no prontuário, os resultados dos exames serão entregues aos pacientes.

VI- PARTICIPAÇÃO

Sua participação neste estudo é **voluntária**. Você pode desistir a qualquer momento.

A relação com seu médico e seu tratamento não serão, de forma alguma, afetados se você não participar ou mesmo interromper sua participação. Antes e durante o estudo você tem o direito de esclarecer quaisquer dúvidas com a médica responsável ou qualquer membro da equipe de atendimento do Ambulatório de Malária do IEC.

CASO CONCORDE EM PARTICIPAR, VOCÊ DEVERÁ SEGUIR TODAS AS INSTRUÇÕES DADAS PELA EQUIPE.

Decidido por sua participação no estudo, pedimos assinar e datar abaixo:

Declaro ter recebido informações satisfatórias a respeito da minha participação no estudo acima referido. Estou ciente dos benefícios e possíveis desvantagens. Sei também que posso deixar o estudo se assim o desejar, sem que a qualidade dos cuidados médicos que me são oferecidos seja afetada.

Nome do paciente ou responsável

Assinatura do paciente ou responsável

Data: ____/____/____

Nome do médico: Maria Deise de Oliveira Ohnishi

Assinatura do médico: CRM/PA: 2858

Endereço: Rodovia BR 316, Km 7. Ananindeua-Pará. Fone: (091) 32142150.

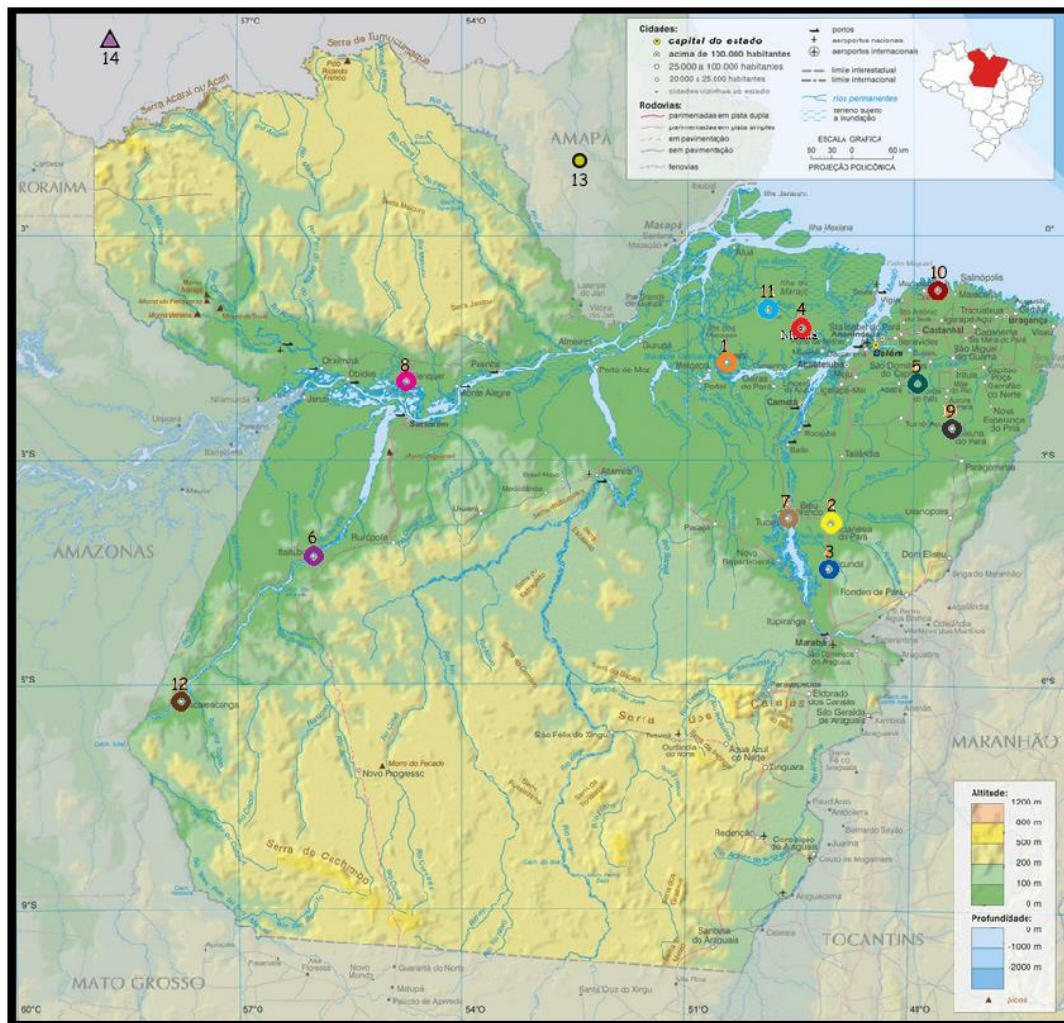
APÊNDICE C

LOCAIS DE INFECÇÃO:

Os municípios do Estado do Pará representaram cerca de 80% dos locais onde os pacientes do presente estudo foram infectados pelo *Plasmodium vivax*. Eis alguns municípios:

Afuá
Alenquer
Americano
Anajás
Ananindeua
Anapú
Barcarena
Benevides
Bragança
Breves
Cametá
Concórdia do Pará
Curionópolis
Goianésia
Itaituba
Jacundá
Magalhães Barata
Maracanã
Marapanim
Mojú
Mosqueiro
Muaná
Oeiras do Pará
Paragominas
Pixuna
Portel
Salvaterra
Santa Izabel
São Caetano
São João da Boa Vista
Soure
Tailândia
Tucuruí
Curuçá
Vizeu

APÊNDICE C



ANEXOS

ANEXO A

MS/SVS/INSTITUTO EVANDRO CHAGAS
VIGILÂNCIA DA RESPOSTA DOS PARASITAS DA MALÁRIA



GUARDA/PN _____ Lâmina nº _____ Data _____ Diagnóstico _____
 Paciente _____
 Registro _____ Sexo _____ Idade _____ (Anos/Meses) Responsável _____
 Parentesco _____ Fone _____
 Endereço _____
 Perímetro _____ Bairro _____
 Local de Nascimento _____ Cor da Pele _____ Peso _____
 Ocupação Principal _____ Ocupação Alternativa _____
 Localidade de Infecção _____ Município _____ UF _____
 Período de Permanência da Área _____ Autoctonia? () Sim () Não
 Passado Nosológico: Vezes que teve malária: Nunca () 1x () 2x () 3x () 4x () 5x ou + ()
 Última vez _____ Medicamento(s) utilizado(s) no último tratamento _____
 Por quantos dias? _____

Outras Doenças: (Hepatite, Leishmaniose, D. Chagas, Amebíase, Esquistossomose, doenças crônico-degenerativas, etc.) _____

Alergia? Sim () Não () A que? _____

Quando adoec, usa remédio de farmácia ou caseiro? Ou ambos? _____

Movimentação do paciente: Nos últimos 12 meses viajou ou pernitoiu fora da localidade onde reside? Sim () Não () Período _____ Localidade _____

Município _____ UF _____ Motivo da Viagem _____ Teve febre

na localidade onde dormiu? Sim () Não () Quantos dias após regressar? _____

Onde pernitoiu havia alguém com febre? _____ Nome _____

Sinal ou sintoma clínico inicial _____ Data início de sintomas _____

Droga (s) utilizada (s) no tratamento atual e esquema: _____

Formulação da droga (VO/IM/EV) _____ Quantidade (Amp., Frasco, Comp.) _____

CONCLUSÃO DO CASO/RESPOSTA AO TRATAMENTO: CURA _____ RECRUDESCÊNCIA _____
 RECAIDA _____ INDEFINIDO _____ ÓBITO _____ INTERRUPTÃO OU TROCA DE ESQUEMA _____

SINAIS E SINTOMAS REFERENTES AO QUADRO CLÍNICO E/OU DECORRENTES DE INTOLERÂNCIA OU TOXICIDADE DEVIDAS AO MEDICAMENTO (OU ASSOCIAÇÃO DE DROGAS) EM ESTUDO.

Sinal/Sintoma/DIA	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	DX	DX
Febre										
Calafrio										
Cefaléia										
Artralgia / Lombalgia										
Astenia / Mialgia										
Tonteira										
Zumbidos / Surdez										
Insônia										
Náuseas / Vômitos										
Dor Abdominal										
Erução / Flatos										
Diarreia										
Colúria										
Oligúria / Anúria										
Palidez / Ictericia										
Prurido / Alergia										
Tosse / Dispneia										
Anorexia										
Esplenomegalia										
Hepatomegalia										
Pressão Arterial										
Freq. Respiratória										
Pulso										
Temperatura Axilar										

As informações deverão ser registradas segundo a convenção que se segue:

Ausente/Normal = 0 Alteração Discreta = 1 Moderada = 2 Severa = 3 Severíssima = 4 Indefinida = IND

ANEXO B



Parecer de Aprovação nº 005/2010
Protocolo CEP/IEC - Nº 035/09
CAAE: 0038.0.072.000-09

Ananindeua/PA, 26 de fevereiro de 2010.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM HUMANOS- CEP

Projeto: “Comprometimento pulmonar e sua relação com as variantes do *Plasmodium Vivax* e com as citocinas TNF- α , IL-10 e IL-12 β .”

Pesquisador Responsável: MARIA DEISE DE OLIVEIRA OHNISHI


Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, cientificamos que o projeto em epigrafe foi considerado **aprovado**.

Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

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

Deverá ser encaminhado relatório anual e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Atenciosamente,


MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES
Coordenador do CEP/IEC