

MARGARETE DO SOCORRO MENDONÇA GOMES

**MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA
QUININA E DA MEFLOQUINA EM PACIENTES COM MALÁRIA
POR *Plasmodium falciparum* NO ESTADO DO AMAPÁ –
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.
Orientador: Prof. Dr. Álvaro Augusto R. D'Almeida Couto.

BELÉM

2006

MARGARETE DO SOCORRO MENDONÇA GOMES

**MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA
QUININA E DA MEFLOQUINA EM PACIENTES COM MALÁRIA
POR *Plasmodium falciparum* NO ESTADO DO AMAPÁ –
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Augusto Ribeiro D'Almeida Couto.

Banca Examinadora:

PROF. DR. José Luis Fernandez Vieira

Departamento de Deontologia, UFPA

PROF^a. DR^a. Maristela Gomes da Cunha

Departamento de Patologia, UFPA

PROF. DR. Ricardo Luiz Dantas Machado

Depto. de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias, FAMERP

PROF. DR. Luiz Fernando Almeida Machado (Suplente)

Departamento de Patologia, UFPA

BELÉM

2006

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido.

Não na vitória propriamente dita” (Mahatma Gandhi).

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Joaquim de Oliveira Gomes e Maria José Mendonça Gomes, que desde sempre me conduziram ao caminho do saber.

À minha família, em especial ao Adjalma amigo e companheiro, pelo constante apoio dedicação e estímulo ao meu desenvolvimento pessoal e profissional, as minhas filhas Ariane e Ariadne, bem como, a Patrícia minha enteada.

AGRADECIMENTOS

Sou agradecida a muitas pessoas e instituições que contribuíram para a realização desse trabalho. Corro o risco de deixar de citar algumas, mas desde já, gostaria de registrar meus agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

- A Deus, que me deu equilíbrio para superar os momentos difíceis e força para seguir adiante.
- Ao Professor Dr. Álvaro Augusto Ribeiro D’Almeida Couto, meu orientador, por ter me oportunizado este trabalho, por sua amizade e apoio, pela dedicada orientação e sabedoria na abordagem dos problemas científicos.
- Ao Professor Dr. José Luis Fernandez Vieira, meu co-orientador, pela amizade, por ter tornado viável a execução desse trabalho, por ter me concedido toda a sua estrutura laboratorial, por sua prestimosa atenção durante a fase de execução das análises laboratoriais, pela dedicada orientação e por ter compartilhado seus conhecimentos técnicos e científicos relacionados com o presente estudo, o meu especial agradecimento.
- A Universidade Federal do Pará – UFPA, especialmente ao curso de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, na pessoa do Professor Dr. Ricardo Ishak, pelo seu empenho em nos oportunizar essa Pós-Graduação.

- Ao Governo do Estado do Amapá por ter viabilizado e financiado este curso de Pós-graduação.
- Ao Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz - Departamento de Imunologia - Laboratório de Pesquisas em Malária – IX Seminário Laveran & Deane, na pessoa do Professor Dr. Cláudio Tadeu Daniel Ribeiro, pelas sugestões que contribuíram para o aprimoramento dessa dissertação.
- A todos os professores do curso de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários que ministraram as disciplinas, pela atenção, dedicação e pelos conhecimentos repassados.
- A Professora Dra. Jussara Moreto Martinelli, pela inestimável contribuição na análise estatística dos resultados.
- Ao Professor Ângelo Edgar Jardim Pinheiro, pela valiosa contribuição nas equações matemática.
- A Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, por ter disponibilizado através da biblioteca virtual o acesso ao PORTAL CAPES.
- A equipe médica da Gerência Projeto Ensino e Pesquisa em Saúde, Dra. Vanja Suely Calvosa D’Almeida Couto, Dr. José Edivaldo Nonato Silva Lima, pela dedicação no acompanhamento clínico dos casos.
- Aos Agentes de Saúde, Valdomiro Job de Barros Ferreira e Eronildo da Silva Penha, pela dedicação e colaboração na coletas das lâminas dos pacientes.
- As técnicas da Gerência Projeto Ensino e Pesquisa em Saúde, Terezinha do Socorro Silva de Souza Severino e Laura Souza Lima

Monteiro, pelo imprescindível trabalho de diagnóstico laboratorial da malária .

- Ao senhor Antônio Menezes da Silva, motorista da Gerência Projeto Ensino e Pesquisa em Saúde, pelo transporte durante as coletas das amostras sangüíneas.
- A todos os colegas do Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários - UFPA, pelo companheirismo, solidariedade e ajuda em muitos momentos durante a fase de obtenção dos créditos e elaboração desse trabalho.
- Aos meus amigos Márcio Ronaldo Moreira das Chagas, Danielle Scerne Fadul, Rosilene Malcher Ramos Leite, Natália Vaz Guerreiro, Valdirene de Fátima Barbosa dos Santos e Eilla Paula silva dos Santos, pela amizade e apoio em muitos momentos desse trabalho.
- A José Iraceli Mendonça Gomes meu irmão, pela colaboração nas coletas das amostras sangüíneas.
- A José Roberto Cardoso da Silva, por sua amizade, presteza, e apoio logístico em Belém.
- A minha cunhada Maria José Ferreira do Nascimento, pelo apoio e atenção dedicado as minhas filhas desde a fase inicial dessa jornada.
- Ao meu companheiro Adjalma, as minhas filhas Ariane e Ariadne, pela compreensão e tolerância do tempo que deixei de dedicar ao convívio com eles.
- Aos pacientes de malária, que foram de fundamental importância para a realização desse trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA MALÁRIA.....	3
1.3 VETORES DA MALÁRIA, AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO BIOLÓGICO DOS PLAMÓDIOS	7
1.3.1 Vetores da Malária	7
1.3.2 Agente Etiológico	8
1.3.3 Ciclo Biológico	9
1.4 TRATAMENTO DA MALÁRIA	12
1.4.1 Esquema Terapêutico Recomendado Pelo Ministério da Saúde Para Tratamento De Infecções Por <i>P. falciparum</i>	12
1.4.2 Apresentação Farmacêutica	15
1.4.2.1 Quinina	15
1.4.2.2 Doxiciclina	15
1.4.2.3 Mefloquina	15
1.5 ASPECTOS FÍSICOS-QUÍMICOS DOS ANTIMALÁRICOS QUININA, MEFLOQUINA E DOXICICLINA.....	16
1.5.1 Características da Quinina	16

1.5.2	Estrutura Química da Quinina.....	16
1.5.3	Propriedades Físicas da quinina.....	17
1.5.4	Características da Doxiciclina.....	17
1.5.5	Estrutura Química da Doxiciclina.....	17
1.5.6	Propriedades Físicas da Doxiciclina.....	18
1.5.7	Características da Mefloquina.....	19
1.5.8	Estrutura Química da Mefloquina.....	19
1.5.9	Propriedades Físicas da Mefloquina.....	20
1.6	CONSIDERAÇÕES FARMACOLÓGICAS DA QUININA, MEFLOQUINA E DOXICICLINA.....	20
1.6.1	Classificação das Principais Drogas Antimaláricas Segundo o Local de Ação no Ciclo Biológico do Parasita.....	20
1.6.2	Ação da Quinina e Mefloquina e da Doxiciclina	21
1.6.3	Mecanismo de Ação da Quinina e da Mefloquina	22
1.6.4	Mecanismo de Ação da Doxiciclina	28
1.7	FARMACOCINÉTICA	28
1.7.1	Farmacocinética da quinina.....	28
1.7.1.1	Vias de Administração da Quinina	28
1.7.1.2	Absorção da Quinina	28
1.7.1.3	Distribuição da Quinina	29
1.7.1.4	Biotransformação da Quinina	30
1.7.1.5	Excreção da Quinina	30
1.7.2	Farmacocinética da Doxiciclina	30

1.7.2.1	Vias de Administração da Doxiciclina	30
1.7.2.2	Absorção da Doxiciclina	31
1.7.2.3	Distribuição da Doxiciclina	31
1.7.2.4	Biotransformação da Doxiciclina	31
1.7.2.5	Excreção da Doxiciclina	31
1.7.3	Farmacocinética da mefloquina	32
1.7.3.1	Vias de Administração da Mefloquina.....	32
1.7.3.2	Absorção da Mefloquina.....	32
1.7.3.3	Distribuição da Mefloquina	33
1.7.3.4	Biotransformação da Mefloquina.....	34
1.7.3.5	Excreção da Mefloquina.....	34
1.8	MONITORIZAÇÃO DE FÁRMACOS	35
1.9	RESISTÊNCIA DO <i>Plasmodium falciparum</i> ÀS DROGAS ANTIMALÁRICAS	36
1.10	OBJETIVO GERAL	44
1.10.1	Objetivos Específicos	44
2	MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1	ÁREA DE ESTUDOS	45
2.2	CASUÍSTICA	45
2.3	ESQUEMA TERAPÊUTICO	46
2.4	AMOSTRAS	47
2.4.1	Amostras Para o Diagnóstico da Malária e Determinação da Parasitemia	47
2.4.2	Amostras Para Cromatografia Líquida (CLAE)	47

2.5	MÉTODOS LABORATORIAIS	48
2.5.1	Diagnóstico Parasitológico da Malária e Quantificação da Parasitemia	48
2.5.2	Quantificação da quinina e Mefloquina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	49
2.5.2.1	Reagentes solventes e Padrões de Referência	51
2.5.2.2	Instrumentação	52
2.5.2.3	Condições Cromatográficas	52
2.5.2.4	Extração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina do Plasma	52
2.5.2.5	Curva de Calibração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina.....	53
2.5.2.6	Determinação da concentração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina	54
2.5.2.7	Avaliação da precisão do Método Analítico	55
2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
2.7	ASPECTOS ÉTICOS	55
3	RESULTADOS	56
3.1	CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PARTICIPANTES.....	56
3.2	DENSIDADE PARASITÁRIA	56
3.3	TEMPO DE CLAREAMENTO DA PARASITEMIA	61
3.4	RESPOSTA CLÍNICA E PARSITOLÓGICA	61
3.5	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA	62
3.5.1	Curva de Calibração da Quinina	62
3.5.2	Concentração Plasmática da Quinina	64

3.5.3	Concentração plasmática da Doxiciclina em D3	67
3.5.4	Curva de Calibração da Mefloquina.....	68
3.5.5	Concentração Plasmática da Mefloquina.....	70
3.6	CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E A PARASITEMIA	73
4	DISCUSSÃO	76
5	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
	ANEXOS	

LISTA DE TABELAS

	páginas
Tabela 1 - Esquema recomendado para tratamento das infecções por <i>Plasmodium falciparum</i> com quinina em três dias + doxiciclina em cinco dias + primaquina no 6º dia	14
Tabela 2 - Esquema alternativo para tratamento das infecções por <i>Plasmodium falciparum</i> com mefloquina em dose única, e primaquina no 2º dia	14
Tabela 3 - Propriedades Físicas da Quinina (base)	17
Tabela 4 - Propriedades Físicas da Doxiciclina (Cloridrato).....	18
Tabela 5 - Propriedades Físicas da Mefloquina	20
Tabela 6 - Classificação dos esquizonticidas e seus mecanismos de ação no plasmódio	21
Tabela 7 - Classificação da resposta clínica e parasitológica de acordo com protocolo da Organização Mundial de Saúde	39
Tabela 8 - Média geométrica da parasitemia em D0, D1, D2, D3 e D7 dos participantes do grupo A	57
Tabela 9 - Média geométrica da parasitemias dos participantes do grupo A subdivididos em sensíveis e resistentes (RI)	58
Tabela 10 - Parasitemia dos participantes do grupo B	60
Tabela 11 - Resposta clínica e parasitológica dos pacientes do grupo A e grupo B aos respectivos esquemas terapêuticos: Quinino+Doxiciclina e Mefloquina	62
Tabela 12 - Áreas dos cromatogramas de calibração da quinina	63

Tabela 13 -	Concentração plasmática da quinina em $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes com malária por <i>P. falciparum</i>	65
Tabela 14 -	Concentração da quinina em pacientes sensíveis	67
Tabela 15 -	Concentração da quinina em pacientes resistentes (RI)	67
Tabela 16 -	Concentração plasmática de doxiciclina em D3 nos participantes sensíveis	68
Tabela 17 -	Concentração plasmática de doxiciclina em D3 nos participantes resistentes (RI)	68
Tabela 18 -	Áreas dos cromatogramas de calibração da mefloquina	69
Tabela 19 -	Média da concentração plasmática de mefloquina em pacientes com malária por <i>P. falciparum</i>	71

LISTA DE FIGURAS

	páginas
Figura 1 - Distribuição geográfica mundial da malária	4
Figura 2 - Distribuição de casos de malária na região das américas, 1999	4
Figura 3 - Classificação das áreas de risco para malária, segundo a incidência parasitária anual (IPA). Brasil, 2004	6
Figura 4 - Curva da proporção de casos de malária por <i>P. falciparum</i> , Amazônia Legal, 1999 a 2004	6
Figura 5 - Ciclo biológico dos plasmódios	11
Figura 6 - Estrutura química da quinina.....	16
Figura 7 - Estrutura química da doxiciclina	18
Figura 8 - Estrutura Química da mefloquina	19
Figura 9 - Estrutura da ferriprotoporfirina IX, β -hematina, hemozoína ...	23
Figura 10 - Dependência da concentração mínima (C_{min}) e tempo mínimo (t_{min}) para a cura radical do tratamento com esquizonticida sangüíneo	40
Figura 11 - Janela de oportunidade para a seleção de parasitas resistentes	42
Figura 12 - Gráfico da média geométrica da parasitemia nos participantes sensíveis do grupo A durante o seguimento	59
Figura 13 - Gráfico da parasitemia em participantes do grupo A com padrão de resistência RI ao esquema terapêutico quinina+doxiciclina	59

Figura 14 - Gráfico da média geométrica da parasitemia nos participantes do grupo B tratados com esquema terapêutico da mefloquina	60
Figura 15 - Cromatograma do soro branco enriquecido com quinina e quinidina em concentrações conhecidas	63
Figura 16 - Gráfico da regressão linear de quinina	64
Figura 17 - Gráfico do perfil da concentração plasmática de quinina.....	66
Figura 18 - Cromatograma do soro branco enriquecido com mefloquina e quinidina em concentrações conhecidas	69
Figura 19 - Gráfico da regressão linear da mefloquina	70
Figura 20 - Gráfico do perfil da concentração plasmática da mefloquina...	72
Figura 21 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes sensíveis do grupo A em relação à concentração plasmática de quinina	73
Figura 22 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes recrudescentes do grupo A em relação à concentração de quinina	74
Figura 23 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes do grupo B em relação à concentração de mefloquina	75

RESUMO

A correlação entre resposta parasitológica e a concentração plasmática de quinina + doxiciclina e de mefloquina foi monitorada por 28 dias em trinta pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* no Estado do Amapá. No grupo (A) 12 pacientes receberam o esquema terapêutico oral de quinina (3 dias) + doxiciclina (5 dias), e no grupo (B) 18 pacientes receberam mefloquina oral dose única (1º dia). No grupo (A) quatro pacientes (33,3%) apresentaram plasmódios resistentes do tipo RI, e (66,7%) foram sensíveis (S). A média da concentração plasmática de quinina em D1, D3 e D5 foi de 2,575µg/mL, 2,3334µg/mL e 0,532µg/mL para os (S) e de 2,4667µg/mL, 2,1784µg/mL e 0,450µg/mL para os (RI), não houve diferença estatisticamente significativa entre essas concentrações. No grupo (B), 100% dos pacientes apresentaram plasmódios sensíveis. A média da concentração plasmática da mefloquina foi: D0(0 µg/mL), D1 (0,709µg/mL), D3 (0,543 µg/mL), D5 (0,361 µg/mL), D7 (0,187 µg/mL), D14 (0,125 µg/mL), D21 (0,046 µg/mL) e D28 (0 µg/mL). A correlação entre resposta parasitológica e a concentração plasmática de quinina +doxiciclina foi de 94,23% para os (S) e de 76,70% para os (RI). Houve absorção adequada desses fármacos tanto para os (S), quanto, para os (RI), portanto , não foi a má absorção a causa da recrudescência. Os resultados sugerem que houve resistência do *P. falciparum* ao esquema administrado. Para os pacientes que receberam mefloquina a correlação foi de 91,82%. Houve absorção e manutenção da concentração desse fármaco durante o período de tempo necessário para completa eliminação dos parasitas.

ABSTRACT

The correlation between the plasma concentration of quinine and doxycycline and of mefloquine with the parasitological answer was monitored by 28 days in thirty patients with malaria by *Plasmodium falciparum* in the State of the Amapá. In the group (A) twelve patient received the oral scheme of quinine (3 days) + doxycycline (5 days), and in the group (B) eighteen patients received mefloquine oral unique dose (1^o day). In the group (A) four sick (33,3%) presented *Plasmodium* resistant of the type RI, and (66,7%) were sensible (S). On average of the plasma concentration of the quinine in D1, D3 and D5 was of 2,5750µg/mL, 2,3334µg/mL and 0,532µg/mL for the (S) and of 2,4667µg/mL, 2,1784µg/mL and 0,450µg/mL for the (RI), had not difference statistical significant between those concentrations. In the group (B), patients 100% presented sensible *Plasmodium*. The average of the concentration plasma of the mefloquine was: D0 (0µg/mL), D1 (0,709µg/mL), D3 (0,543 µg/mL), D5 (0,361 µg/mL), D7 (0,187 µg/mL), D14 (0,125 µg/mL), D21 (0,046 µg/mL) and D28 (0µg/mL). The correlation between parasitological answer and the plasma concentration of quinine + doxicyclyne was of 94,23% for the (S) and of 76,70% for the (RI), the quinine and doxycycline adequately was absorption so much for the (S), as well as, for the (RI), therefore, was not to bad absorption of the drug the cause of the recrudescence. The results suggest that there was resistance of the *P. falciparum* to the administered treatment. For the patients that received mefloquine the correlation was of 91,82%, having the absorption and maintenance of the drug concentration during the period of necessary time for complete elimination of the parasites.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A malária continua sendo uma das mais severas doenças parasitárias no mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 40% da população mundial, na maior parte aquelas que vivem nos países mais pobres, apresentam risco de contraí-la. A doença foi eliminada com sucesso em muitos países, particularmente aqueles de clima temperado, durante meados do século vinte, sendo atualmente encontrada em todas as regiões tropicais e subtropicais (WHO, 2000).

As estimativas recentes sugerem a ocorrência de pelo menos 515 milhões de casos clínicos de malária (Snow *et al*, 2005), resultando em mais de um milhão de mortes a cada ano, representando um dos mais graves problemas de saúde pública para os países envolvidos (Greenwood *et al*, 2005).

A malária é uma doença infecciosa parasitária severa causada por protozoário unicelular do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida através da picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles* que requer o sangue para maturação de seus ovos. Ocasionalmente, a transmissão também pode ocorrer por transfusão sanguínea, por compartilhamento de agulhas e seringas infectadas com o parasito, acidentes laboratoriais e outras formas menos freqüentes como a transmissão congênita (CDC, 2004).

Em 1880, o médico do exército francês Charles Alphonse Laveran, trabalhando na Argélia, foi o primeiro a observar e descrever parasitos da malária no interior dos glóbulos vermelhos humanos. Em 1897, o médico britânico Ronald Ross, na Índia, tornou possível a elucidação do modo de

transmissão, ao encontrar formas do parasito da malária no interior de um mosquito que havia se alimentado em um portador da doença. O ciclo completo de desenvolvimento do parasito no homem e na fêmea do mosquito *Anopheles* foi descrito pelos pesquisadores italianos Amico Bignami, Giuseppe Bastianelli e Batista Grassi, em estudos realizados entre 1898 e 1899 (Villalón, 2004).

As dificuldades no fornecimento da quinina durante a Primeira Guerra Mundial estimularam pesquisadores alemães à obtenção de antimaláricos sintéticos, culminando com o desenvolvimento da pamaquina (1924), mepacrina (1930) e cloroquina (1934). Também foram desenvolvidos estudos para a síntese de substâncias com ação inseticida, que apresentaram seu ápice em 1942, quando Paul Hermann aplicou com fins inseticidas o composto dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), que demonstrou grande atividade inseticida, elevado poder residual e baixo custo (Dutra, 2001).

Considerando os conhecimentos adquiridos sobre o inseto transmissor, que apresenta atividade no interior dos domicílios, o qual após o repasto sangüíneo repousa por horas nas paredes internas das casas, associado com as características do DDT, que seria aplicado nas paredes, e na existência de drogas efetivas para o tratamento, muitos foram levados a crer na possibilidade da doença ser erradicada (Dutra, 2001).

Entretanto, por volta da década de 60, surgiram cepas do *Plasmodium falciparum* resistentes às drogas antimaláricas (Wernsdorfer, 1991). Simultaneamente algumas espécies de anofelinos demonstraram resistência ao inseticida DDT. Com isso, a malária voltou a se expandir em diversos países (Mouchet, 1988).

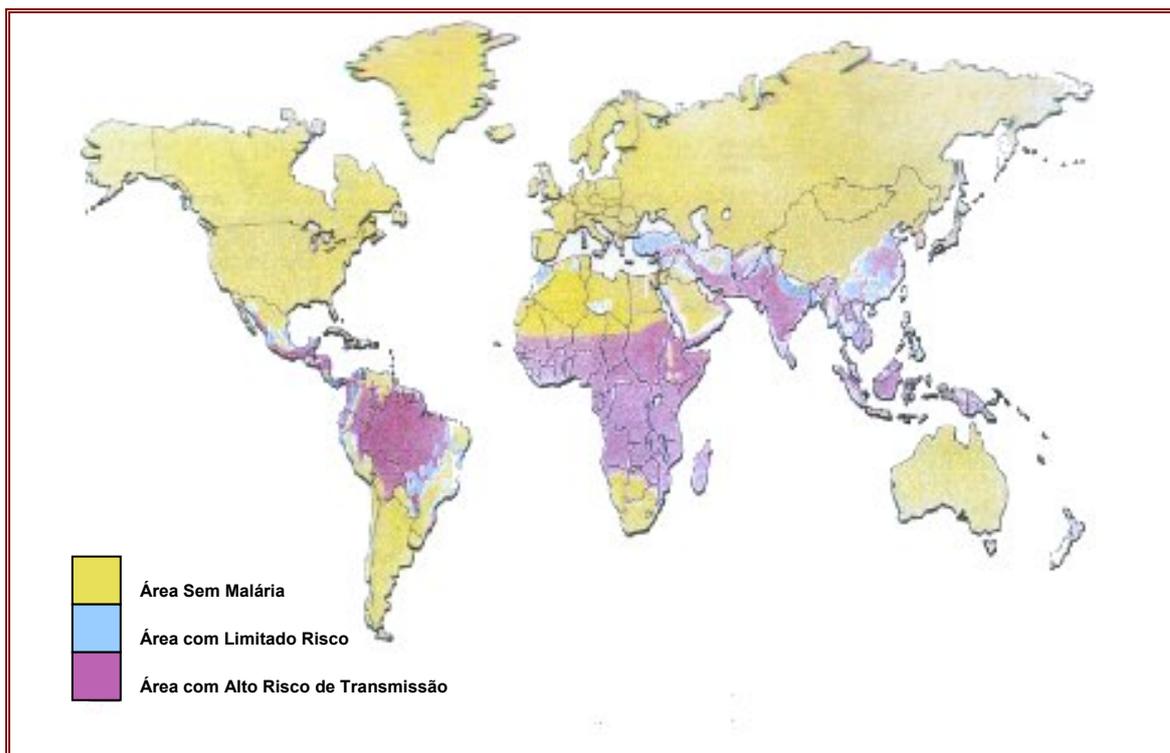
1.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA MALÁRIA.

De acordo com os dados da OMS aproximadamente 100 países ou territórios no mundo são considerados como áreas de risco para malária, principalmente os países tropicais e subtropicais situados ao Sul do deserto de Saara, os do Sudeste Asiático e os da América Latina, particularmente os situados na região da Bacia Amazônica, conforme distribuição geográfica descrita na Figura 1 (WHO, 2000).

Cerca de 2,4 milhões de pessoas ainda estão expostas a este risco. Entre os quais aproximadamente 90% destes casos ocorrendo na África Sub-Sahariana, vitimando principalmente as crianças. Em outros países, as mortes acontecem freqüentemente em pessoas não imunes que são infectadas pelo *P. falciparum* em áreas onde o diagnóstico e o tratamento são inadequados (Baird, 2005).

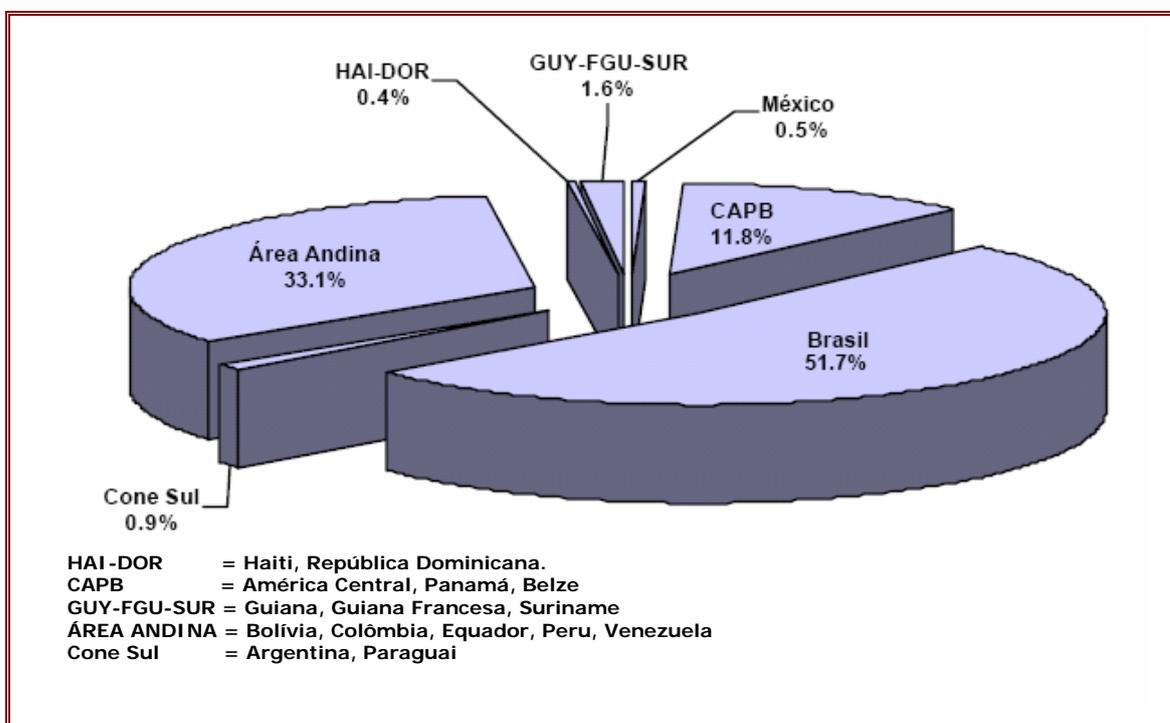
Segundo a Organização Pan Americana da Saúde (OPAS), na região das Américas, ocorre transmissão da malária em 21 dos seus Estados Membros. Nestes países, 88 milhões de pessoas moram em áreas de risco moderado e alto de transmissão, produzindo aproximadamente 1,5 milhão de casos por ano (OPAS/OMS, 2000).

Considerando o índice Parasitário Anual (IPA) nesta região, o Brasil em 1999, notificou o maior número de casos de malária (51,7%), seguido da Sub-região Andina (Bolívia, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela) (33,1%), conforme apresentado na Figura 2 (OPAS/OMS, 2001).



Fonte: <http://www.cienciaviva.pt/healthXXI/reynaldo/img/mapa.jpg>.

Figura 1 - Distribuição geográfica mundial da malária.



Fonte: OPAS/OMS, 2001.

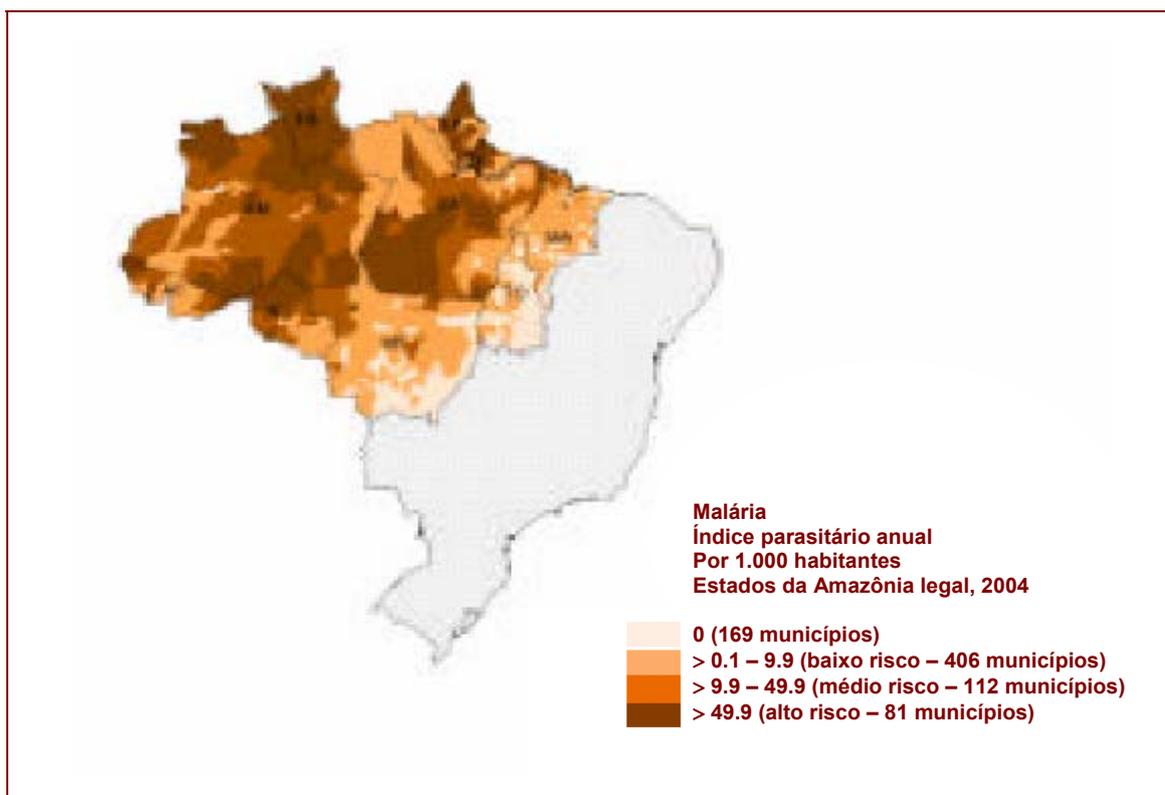
Figura 2 - Distribuição de casos de malária na região das Américas, 1999.

A distribuição epidemiológica da malária nas Américas mudou devido ao declínio da prevalência do *P. falciparum* na Amazônia brasileira, o qual, está vinculado à melhoria do manejo dos casos, através do diagnóstico precoce e tratamento imediato, da diminuição da atividade extrativista mineral descontrolada e do menor deslocamento das populações, em virtude da estabilização dos projetos de colonização agrícola (OPAS, 2000).

No Brasil, a malária é a mais expressiva das endemias, presente principalmente na Amazônia Legal, que é composta pelos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão, no qual se concentram 99.5% dos casos, propiciado pelas suas condições climáticas, com hidrografia abundante, altas temperaturas, elevada umidade relativa do ar, altos índices pluviométricos e as florestas que favorecem a manutenção dos criadouros e conseqüentemente a proliferação dos vetores (Brasil/MS/FUNASA, 2003a; Brasil/MS/SVS, 2005).

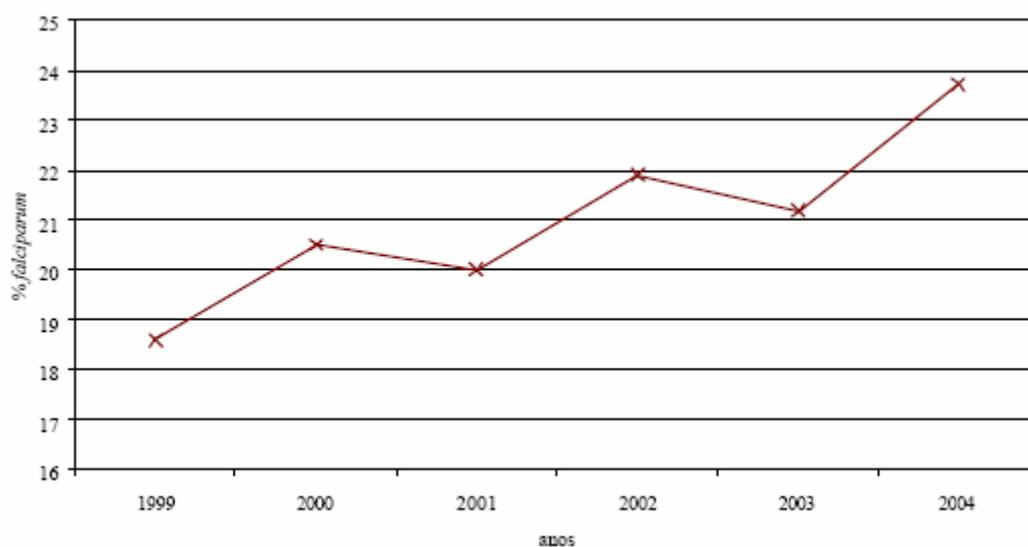
Na Amazônia, a incidência da doença manteve-se elevada em 2004, como mostra a Figura 3, e a maioria dos casos foi devido ao *P. vivax*. No entanto, apesar da redução geral de casos na região e da diminuição dos municípios de alto risco, é preocupante o incremento do percentual dos casos de malária por *P. falciparum* em alguns estados da Amazônia, que favorece a ocorrência da doença nas suas formas graves (Brasil/MS/SVS, 2005).

No período de 1999 a 2004, houve um aumento da proporção de malária por *P. falciparum* de 18,6% para 23,7%, correspondendo a um incremento de 27,4%, de acordo com a Figura 4. O Amapá foi o estado que mais contribuiu (272,6%) para esta ocorrência (Brasil/MS/SVS, 2005).



Fonte adaptada: BRASIL-MS / FNS/ SVS, 2005

Figura 3 - Classificação das áreas de risco para malária, segundo a incidência parasitária anual (IPA). Brasil, 2004.



Fonte adaptada: BRASIL-MS / FNS/ SVS, 2005

Figura 4 - Curva da proporção de casos de malária por *P. falciparum*, Amazônia Legal, 1999 a 2004.

1.3 VETORES DA MALÁRIA , AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO BIOLÓGICO DOS PLASMÓDIOS

1.3.1 Vetores da Malária

Os vetores da malária humana são insetos da ordem Diptera, da família Culicidae, do gênero *Anopheles* (Russel *et al.* 1946, Forattini 1962).

No Brasil, as principais espécies transmissoras pertencem a dois subgêneros: Nyssorhincus, destacando-se as espécies *Anopheles (N.) darlingi* Root, 1926 e *Anopheles (N.) aquasalis* Curry, 1932, e o *Anopheles (N.) albitarsis* Lynch Arribalzaga, 1878 e o subgênero Kerteszia, com as principais espécies; *Anopheles (K) cruzii* Dyar & Knab, 1908 e *Anopheles (K) bellator* Dyar & Knab, 1908 (Rachou 1958, Deane 1986).

O *Anopheles (N.) darlingi* Root 1926, é considerado o mais importante vetor da malária no Brasil, particularmente na região Amazônica brasileira (Shannon, 1933; Rachou, 1958). É a espécie de maior importância epidemiológica, pela abundância, ampla distribuição no território nacional, atingindo todo o interior do país, por seu alto grau de antropofilia e endofagia e pela capacidade de transmitir diferentes espécies de *Plasmodium*. Possui, como criadouros preferenciais às coleções de águas limpas, quentes, sombreadas e de baixo fluxo, situação muito freqüente na Região Amazônica (Deane, 1989; De Oliveira-Ferreira *et al.*, 1990; Póvoa *et al.*, 2000).

Estudo realizado por Segura (1998), em áreas próximas a Macapá, demonstrou que o *Anopheles aquasalis* e o *A. marajoara* Galvão e Damasceno, 1942, também são vetores importantes da malária, no Estado do Amapá.

1.3.2 Agente Etiológico

Os agentes etiológicos da malária são protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, Ordem Eucoccidiidae, Subordem Haemosporinae, Família Plasmodiidae, Gênero *Plasmodium* Machiafava & Celli, 1885, com 172 espécies, aproximadamente, e que infectam aves, répteis e mamíferos (Levine, 1988). Segundo Garnham & Duggan (1986) quatro dessas espécies infectam naturalmente o homem: *Plasmodium malariae* Laveran, 1881, *Plasmodium vivax* (Grassi & Feletti, 1890), *Plasmodium falciparum* Welch, 1897 e finalmente *Plasmodium ovale* Stephens, 1922.

O *P. falciparum* é o causador da terçã maligna; o *P. vivax*, responsável pela terçã benígna; o *P. malariae*, determinante da forma quartã, e estão distribuídos geograficamente pelas áreas tropicais e subtropicais. O *P. ovale*, causador de uma terçã benígna é restrito a África tropical, Filipinas, Nova Guiné e Vietnã (Bruce-Chwatt, 1985).

Entre os quatro tipos de malária, aquela causada pelo *Plasmodium falciparum* se destaca como a forma mais maligna, uma vez que é a única onde se manifestam complicações severas como comprometimento cerebral, anemia severa, falência renal e afecções pulmonares (Heddini, 2002).

Duas características importantes para severidade e patogênese da doença destacam o *P. falciparum* em relação às outras espécies de *Plasmodium* que infectam o homem: a habilidade para invadir eritrócitos de todas as idades causando parasitemia elevada e seu acentuado crescimento, assim como, a capacidade dos eritrócitos infectados aderirem ao endotélio vascular pelo processo de seqüestro (Heddini, 2002).

Trofozoítas maduros e esquizontes são seqüestrados da circulação periférica devido à adesão de eritrócitos infectados às células endoteliais. Modificações na superfície dos eritrócitos infectados, denominadas "knobs", permitem a adesão ao endotélio e a outros eritrócitos, a qual fornece uma melhor maturação na atmosfera venosa microaerofílica e permite que o parasito escape do clareamento pelo baço, que reconhece a deformabilidade do eritrócito infectado (Kirchgatter & Del Portillo, 2005).

A adesão ao endotélio ou citoaderência, tem importante função na patogenicidade da doença, causando obstrução de pequenos vasos e contribuindo para danos em muitos órgãos. A citoaderência designa também a adesão de eritrócitos infectados aos não infectados, fenômeno amplamente conhecido como "rosetting". (Hedini, 2002; Kirchgatter & Del Portillo, 2005).

1.3.3 Ciclo Biológico

O ciclo biológico dos plasmódios ocorre em dois hospedeiros. O homem que é considerado, o hospedeiro intermediário onde ocorre reprodução assexuada do tipo esquizogonia, e o mosquito, o hospedeiro definitivo onde ocorre a reprodução sexuada do tipo esporogonia, de acordo com o ciclo descrito na Figura 5 (CDC, 2004).

O ciclo inicia-se quando a fêmea infectada do mosquito *Anopheles*, ao exercer a hematofagia no homem, inocula esporozoítos na corrente sangüínea (1). Estas formas desaparecem da circulação sangüínea do indivíduo suscetível e alcançam os hepatócitos, onde evoluem (2). Após invadirem os hepatócitos, os esporozoítos se multiplicarão por reprodução

assexuada do tipo esquizogonia, dando origem aos esquizontes teciduais (3), que em seguida se rompem e liberam milhares de merozoítos (4). Essa fase primária do ciclo é chamada pré ou exo-eritrocítica ou tecidual (A) (CDC, 2004).

A segunda fase do ciclo é denominada eritrocítica (B), e inicia-se quando os merozoítos teciduais invadem os eritrócitos (5). O desenvolvimento intra-eritrocítico do parasito se dá por esquizogonia. Após a invasão no eritrócito, os merozoítos sofrem maturações, morfologicamente distintas, compreendendo três fases respectivamente: anel, trofozoíto e esquizonte. Com a maturação completa, os eritrócitos se rompem liberando novos merozoítos na circulação sangüínea, que em seguida invadem novos eritrócitos reiniciando o ciclo(6). Depois de sucessivas gerações de merozoítos sangüíneos, algumas formas se diferenciam em estágios sexuais, os gametócitos (femininos e masculinos), que são as formas infectantes para o mosquito (7) (CDC, 2004).

A infecção do vetor ocorre quando a fêmea do mosquito *Anopheles* durante a hematofagia em um indivíduo infectado ingere gametócitos macho (microgametócitos) e fêmeas (macrogametócitos), (8). No estômago do mosquito, o microgametócito fecunda o macrogametócito gerando o zigoto (9), o qual se alonga, originando o oocineto (10), que atravessa a parede do estômago do inseto e se transforma em oocisto (11). Cujo conteúdo divide-se para formar os esporozoítos (12), que são liberados na hemocele e migram para as glândulas salivares do mosquito estando assim prontos para infectar um novo indivíduo (1). A mutiplicação do parasito dentro do mosquito é conhecida como ciclo esporogônico (C). (CDC, 2004).

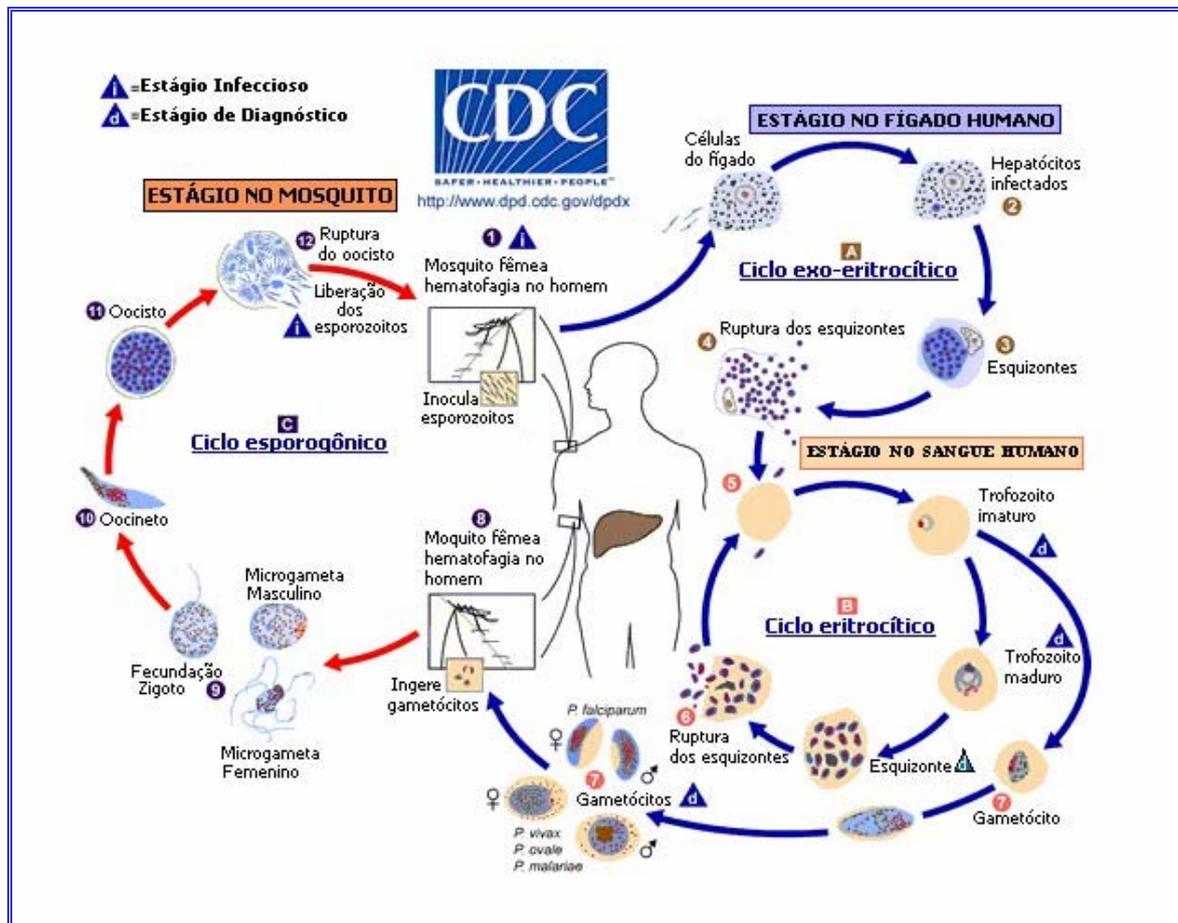


Figura 5 – Ciclo biológico dos plasmódios.

1.4 TRATAMENTO DA MALÁRIA

O tratamento adequado e oportuno da malária é hoje o principal alicerce para o controle da doença. Antes do surgimento da resistência do *P. falciparum* à cloroquina, esta droga era utilizada para as quatro espécies de plasmódios que parasitam o homem. Hoje, além da cloroquina, o *P. falciparum* apresenta resistência a diversos outros antimaláricos, tornando o seu tratamento um dilema para o médico e um desafio para as autoridades de saúde responsáveis pelo controle da malária. A decisão de como tratar o paciente com malária deve ser precedida de informações sobre os seguintes aspectos: (BRASIL/MS/FUNASA/CENEPI, 2001a).

(a) gravidade da doença: quando dá necessidade de drogas injetáveis e com ação mais rápida sobre os parasito, visando reduzir letalidade;

(b) espécie de plasmódio: deve ser diferenciada, em face do perfil variado de resposta do *P. falciparum* aos antimaláricos. Caso não seja possível determinar a espécie do parasito, deve-se optar pelo tratamento do *P. falciparum*, pelo risco de evolução grave;

(c) idade do paciente: pelo pior prognóstico da malária na criança e no idoso, requerendo especial atenção;

(d) história de exposição anterior à infecção: indivíduos não imunes (primoinfectados) tendem a apresentar formas clínicas mais graves;

(e) susceptibilidade dos parasitos aos antimaláricos convencionais: para indicar tratamento com drogas sabidamente eficazes para a área de ocorrência do caso, evitando atraso no efeito terapêutico e agravamento do quadro clínico.

1.4.1 Esquema Terapêutico Recomendado Pelo Ministério da Saúde Para Tratamento de Infecções Por *P. falciparum*.

O Ministério da Saúde do Brasil recomenda para tratamento das infecções por *P. falciparum* dois esquemas terapêuticos, sendo um de primeira escolha e o outro alternativo (BRASIL/MS/FUNASA/CENEPI, 2001a).

Esquema de primeira escolha: quinina isolado ou associado.

1º) Sulfato de quinina isolado: 25 mg de sulfato de quinina/kg/dia durante sete dias.

2º) Sulfato de quinina associado: 30 mg de sal de quinina/kg/dia durante três dias, com 3,3 mg/kg/dia de doxiciclina, de 12 em 12 horas (exceto para crianças menores de oito anos de idade, hepatopatas e durante a gravidez), durante cinco dias, a partir do primeiro dia, de acordo com Tabela 1.

Em caso de não disponibilidade da doxiciclina, usar 250 mg de tetraciclina três vezes por dia, durante sete dias (exceto para crianças com menos de oito anos de idade, durante a gravidez e para hepatopatas), a partir do primeiro dia do uso da quinina (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

Em caso de impossibilidade de uso da doxiciclina ou tetraciclina (gestantes e crianças menores de oito anos), usar 20 mg/kg/dia de clindamicina, quatro vezes ao dia, durante cinco dias. (BRASIL/MS/FUNASA/CENEPI, 2001a).

Esquema de Segunda Escolha: A mefloquina é recomendada, como esquema de segunda escolha para tratamento da malária por *Plasmodium falciparum* não complicada em adultos com dose de 15-20 mg/kg, seguindo o esquema terapêutico do Tabela 2.

Tabela 1 - Esquema recomendado para tratamento das infecções por *Plasmodium falciparum* com quinina em três dias associado a doxiciclina em cinco dias, e primaquina no 6º dia.

Grupos Etários	Drogas e Doses			
	1º, 2º 3º dias		4º e 5º dias	6º dia
	Quinina comprimido	Doxiciclina comprimido	Doxiciclina comprimido	Primaquina comprimido
8 a 11 anos	1 e ½	1	1	1
12 a 14 anos	2 e ½	1 e ½	1 e ½	2
15 ou mais anos	4	2	2	3

Fonte: Adaptado de BRASIL/MS/FNS/ CENEPI, 2001a.

Tabela 2 – Esquema alternativo para tratamento das infecções por *Plasmodium falciparum* com mefloquina em dose única, e primaquina no 2º dia.

Grupos Etários	Drogas e Doses		
	1º dia	2º dia	
	Mefloquina Comprimido	Adulto	Infantil
Menores de 6 meses	*	-	-
6 a 11 meses	¼	1	-
1 a 2 anos	½	¼	-
3 a 4 anos	1	1	-
5 a 6 anos	1 e ¼	1	-
7 a 8 anos	1 e ¼	1 e ½	-
9 a 10 anos	2	1 e ½	-
11 a 12 anos	2 e 1 /2	1 e ½	-
13 a 14 anos	3	2	-
15 anos ou mais	4	3	-

Fonte: Adaptado de BRASIL/MS/FNS/ CENEPI, 2001a.

1.4.2 Apresentação Farmacêutica

1.4.2.1 Quinina

As apresentações farmacêuticas mais comuns dos sais de quinina em comprimidos e injetáveis são cloridrato, dicloridrato e sulfato da quinina que contêm, respectivamente, 82%, 82%, e 82,6% de quinina na forma de base livre. Em geral, tanto a apresentação oral quanto a injetável contêm 500mg do sal de quinina, equivalendo a 325 mg da base livre (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

1.4.2.2 Doxiciclina

A doxiciclina é apresentada em cápsulas e comprimidos contendo 100 mg de sal de doxiciclina, como hidrato ou hidrocloreto. Prefere-se a apresentação em comprimidos pela facilidade de fracionamento da dose (Doxycycline.com, 2005).

1.4.2.3 Mefloquina

A mefloquina é apresentada em comprimidos contendo 274 mg de cloridrato de mefloquina, equivalentes a 250 mg de mefloquina na forma de base livre, é indisponível na forma oral (BRASIL/MS/FNS, 2001a).

1.5 ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS DA QUININA, DOXICICLINA E MEFLOQUINA

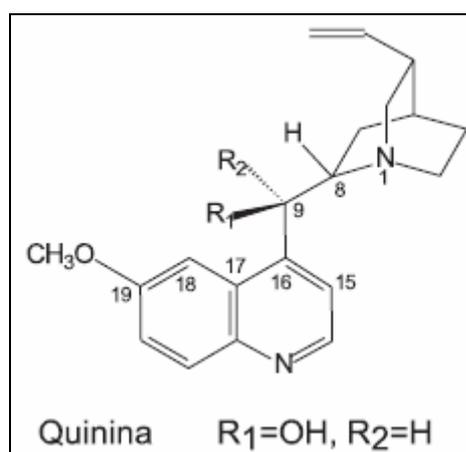
1.5.1 Característica da quinina

A quinina foi o primeiro quinolinometanol natural usado como antimalárico, é o principal alcalóide das espécies de árvores do gênero

Cinchona da família Rubiaceae (Tracy & Webster Jr, 1996), a qual foi isolada da casca da árvore da quina em 1820 pelos químicos franceses Pierre Pelletier e Joseph Caventou, mas só foi sintetizada em laboratório pela primeira vez em meados dos anos 40 (Wernsdorfer & McGregor, 1988).

1.5.2 Estrutura Química da Quinina

Sua estrutura química consiste de um anel quinolínico bi-conjugado heterocíclico ligado a um anel quinuclidínico alifático bi-heterocíclico ligado por um carbono alcoólico C9, que é um dos quatro centros quirais desta molécula; Figura 6 (Warhurst *et al.*, 2003).



Fonte: adaptado de Karle & Karle, 2002.

Figura 6 - Estrutura química da quinina

Denominação química: Monossulfato de alcalóide, expressos em sulfato de bis[(*R*)-(6-metoxi-4-quinoleíno-4-il) [(2*S*,4*S*,5*R*)-5-etinil-1-azabicyclo [2.2.2] -oct -2-il] metanol] (Farmacopéia Portuguesa, 2002; USP, 2005).

Fórmula química: Quinina base C₂₀H₂₄N₂O₂, sulfato de quinina (C₂₀H₂₄N₂O₂)₂.H₂SO₄.2H₂O (Martindale, 2002).

1.5.3 Propriedades Físicas da Quinina

Tabela 3 - Propriedades físicas da quinina (base).

Estado físico	⇒	Pó branco cristalino ou cristais incolores
Ponto de fusão	⇒	173 – 175° C
Ponto de gravidade específica	⇒	0.8
Peso molecular	⇒	324,42 Kda
Rotação ótica	⇒	≅ - 163° (C=2 EtOH)
Solubilidade	⇒	Facilmente solúvel em água

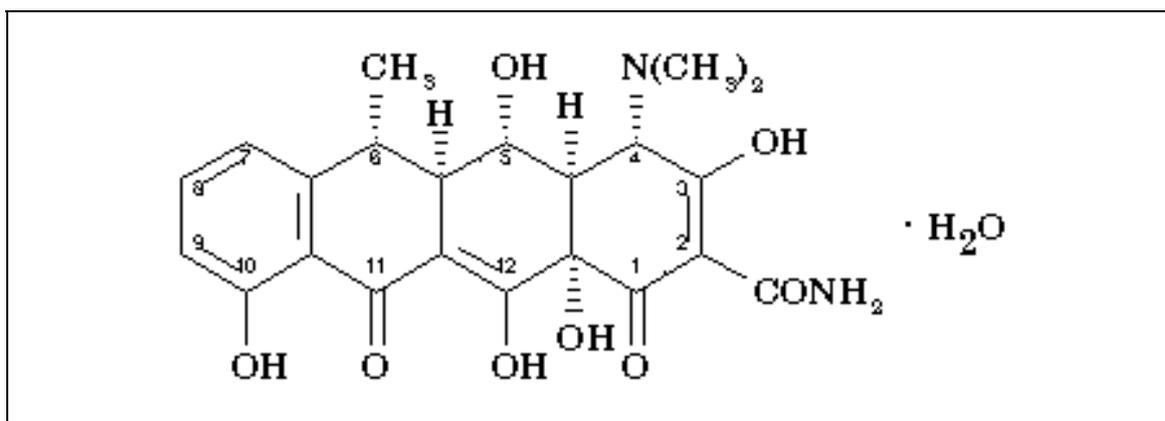
Fonte: Adaptado de [www.chemicaland21.com/lifescience/phar/\(-\)-QUININE.htm](http://www.chemicaland21.com/lifescience/phar/(-)-QUININE.htm), 2005.

1.5.4 Característica da Doxiciclina

A doxiciclina é um antibiótico derivado da oxitetraciclina, tendo espectro de atividade idêntico. Difere da tetraciclina pelo fato de ser mais completamente absorvida e mais lipossolúvel. Além disso, tem meia vida plasmática mais longa que esta (Martindale, 2002). A doxiciclina deve ser sempre empregada em combinação com outro antimalárico (Martindale, 2002).

1.5.5 Estrutura Química da Doxiciclina

A estrutura química básica do hidrato de doxiciclina consiste em um núcleo do hidronaftaceno contendo quatro anéis hexa-cíclico (a origem do nome da tetraciclina). As diferenças químicas entre os principais membros da família da tetraciclina estão nos substituintes dos três átomos de carbono (C5, C6 e C7), Figura 8 (Doxycycline.com, 2005).



Fonte: adaptado de Doxycycline.com, 2005

Figura 4 - Estrutura química da doxiciclina

Denominação química: Mono-hidrato de (4*S*,4*aR*,5*S*,5*aR*,6*R*,12*aS*) - 4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12*a*-penta-hidroxi-6-metil-1,11-dioxi-14,4*a*,5,5*a*,12*a* - octa-hidronaftaceno-2-carboxamida (Farmacopéia Portuguesa, 2002; USP, 2005).

Fórmula química: monohidrato de doxiciclina $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot H_2O$, cloridrato de doxiciclina: $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl \cdot 1/2 C_2H_5OH \cdot 1/2 H_2O$ (Martindale, 2002).

1.5.6 Propriedades Físicas da Doxiciclina (Cloridrato)

Tabela 4 - Propriedades físicas da doxiciclina (cloridrato).

Estado físico	⇒	Pó cristalino levemente amarelado
Ponto de fusão	⇒	Aproximadamente 201° C
Constante de dissociação	⇒	PKa 3.7, 7.7, 9.5
Peso molecular	⇒	512.94 Kda
Rotação específica	⇒	Próximo de - 110° (10mg/mL de Hcl 10mM em metanol)
Solubilidade	⇒	Facilmente solúvel na água, ligeiramente solúvel no álcool e insolúvel no éter.

Fonte: Adaptado de [http://www.chemicaland21.com/lifescience/phar/DOXYCYCLINE % 20 HYCLATE.htm](http://www.chemicaland21.com/lifescience/phar/DOXYCYCLINE%20HYCLATE.htm), 2005; USP, 2005.

1.5.7 Característica da Mefloquina

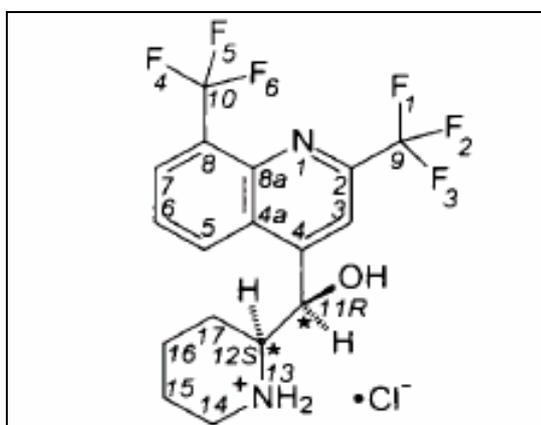
A mefloquina é um quinolinometanol sintético estruturalmente relacionado a quinina, desenvolvida durante os anos 70 originalmente pelo Walter Reed Army Institute of Research nos Estados Unidos, com o objetivo de combater a resistência aos fármacos existentes na época (Peters, 1998).

1.5.8 Estrutura Química da Mefloquina

A mefloquina, assim como a quinina, possui um anel conjugado bi-heterocíclico ativo. A presença de um radical trifluorometil na posição 8 do anel quinolínico é necessária para a obtenção de uma alta atividade antimalárica, assim como, na posição 2 para prolonga esta atividade, Figura 7 (Warhurst *et al.*, 2003).

Denominação química: cloridrato de (*RS*)-[2,8-bis(trifluorometil) - 4 -quinoleinil]-[(2*SR*)-2piperidil] metanol (Farmacopéia Portuguesa, 2002).

Fórmula química: mefloquina $C_{17}H_{17}F_6H_2O$ cloridrato de mefloquina $C_{17}H_{16}F_6H_2O \cdot HC$ (Martindale, 2002).



Fonte: adaptado de Karle & Karle, 2002

Figura 8 - Estrutura química da mefloquina

1.5.9 Propriedades Físicas da Mefloquina (Cloridrato)

Tabela 5 - Propriedades físicas da mefloquina (cloridrato).

Estado físico	⇒	Pó cristalino, branco ou levemente amarelado
Ponto de fusão	⇒	Cerca de 260° C (com decomposição)
Constante de dissociação	⇒	PKa aproximadamente 9.0 (25° C)
Peso molecular	⇒	414.8 Kda
Rotação específica	⇒	-0,2 a + 0,2
Solubilidade	⇒	Pouco solúvel em água, solúvel em etanol, facilmente solúvel em metanol.

Fonte: Adaptado de <http://www.rochecanada.com/pdf/lariampmE.pdf>, 2004; USP, 2005.

1.6 CONSIDERAÇÕES FARMACOLÓGICAS DA QUININA, DOXICICLINA E MEFLOQUINA

1.6.1 Classificação das Principais Drogas Antimaláricas Segundo o Local de Ação no Ciclo Biológico do Parasito

Segundo o seu alvo de ação no ciclo biológico do parasito, as drogas antimaláricas são classificadas em esquizonticidas teciduais ou hipnozoiticidas (cura do *P. vivax*), esquizonticidas sangüíneos (promovem a cura clínica), gametocitocidas (bloqueiam a transmissão), esporonticidas (impedem a infecção pelos esporozoítos), conforme demonstrado na Tabela 6 (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

A escolha da droga dependerá da espécie de *Plasmodium*, gravidade da doença e padrão de resistência aos antimaláricos no provável local de utilização (Krongstand & Schlesinger, 1986).

Tabela 6 - Classificação dos esquizonticidas e seus mecanismos de ação no plasmódio.

Categoria Química	Composto	Mecanismo de Ação no Plasmódio
4 – aminoquinolinas	Cloroquina Amodiaquina	Digestão de produtos da hemoglobina "
8 – aminoquinolinas	Primaquina	Inibe a respiração mitocondrial do parasito
Quinolinometanóis	Quinina	Digestão de produto da hemoglobina
	Mefloquina	"
	Halofantrina	"
Lactona sesquiterpênica	Artemisinina (qinghaosu)	Metabolismo das proteínas
Éter de lactona Sesquiterpênica	Artesunato (derivado hemisuccinil De qinghaosu)	Metabolismo das proteínas
Éter de lactona Sesquiterpênica	Artemeter	Metabolismo das proteínas
Derivados de naftaceno	Tetraciclina	Síntese das proteínas
	Doxiciclina	"
Lincosaminas	Clindamicina	Síntese das proteínas
	Lincomicina	"

Fonte: Adaptado de BRASIL/MS/FNS/ CENEPI, 2001a.

1.6.2 Ação da Quinina e Mefloquina e da Doxiciclina

Os quinolinometanóis (quinina e mefloquina) agem principalmente no estágio assexuado intra-eritrocítico do *Plasmodium* (Schmidt *et al.*, 1978a, 1978b; Geary *et al.*, 1986; Wisner, 2003).

A quinina é um potente esquizonticida que tem ação sobre todas as formas de *Plasmodium* humanos e, também, gametocitocida contra o *P. vivax*, *P. malarie* e *P. ovale*, mas não para o *P. falciparum*. O fármaco não tem efeito na forma inicial exo-eritrocítica do *Plasmodium*. Vem sendo usada

isoladamente para malária por *P. falciparum* em áreas onde as cepas ainda não desenvolveram resistência, ou em associação com antibióticos para áreas com comprovada resistência a este antimalárico (Suebsaeng *et al.*, 1986).

No Brasil, a quinina continua sendo a droga de escolha para a malária por *P. falciparum* não grave ou complicada, em associação com doxiciclina ou tetraciclina (Boulos, 1997; Leal *et al.*, 2003).

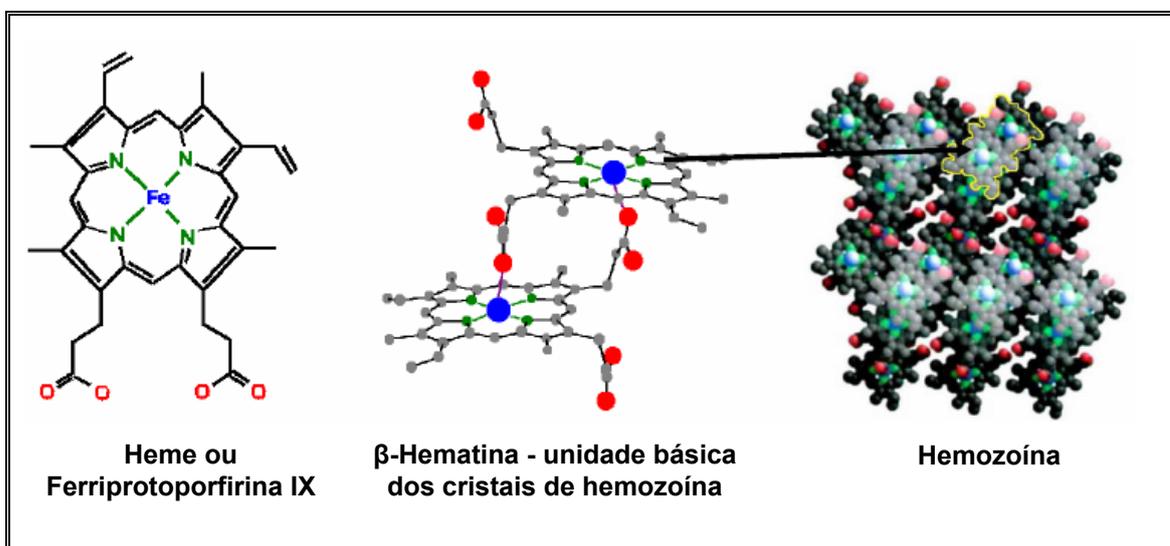
A mefloquina é um quinolinometanol estruturalmente semelhante a quinina. É um forte esquizonticida de ação prolongada inclusive contra cepas de *P. falciparum* multirresistentes. É também efetiva contra os estágios eritrocíticos de *P. Vivax*, *P. malarie* e *P. ovale*. Não é efetiva contra as formas exoeritrocíticas da malária. Não tem ação contra as fases hepáticas dos parasitos, sendo eficaz contra gametócitos de *P. vivax* (Gustafsson *et al.*, 1987).

A doxiciclina é um antibiótico recomendado como antimalárico secundário, que, administrado em combinação com quinina, mefloquina ou artesunato, é eficaz para tratar malária por *P. falciparum* sem complicações. É um esquizonticida de ação lenta que age sobre as formas eritrocíticas do *P. falciparum*, mas não contra os gametócitos. (Wernsdorfer, 1997).

1.6.3 Mecanismo de Ação da Quinina e Mefloquina

O mecanismo de ação dos quinolinometanóis não é bem conhecido, mas pode envolver: ligação direta ao grupo heme, inibição de uma ferriprotoporfirina IX polimerase não identificada (inibição de polimerização da heme), inibição de uma fosfolipase vacuolar, inibição da síntese de proteína, interação com o DNA (Foley & Tilley, 1998).

Apesar do mecanismo dos quinolinometanóis não está completamente esclarecido, existem evidências de que a interação entre os antimaláricos esquizontocidas sangüíneos com o grupo heme ferriprotoporfirina IX (Fe (III) PPIX) está envolvido na toxicidade destes fármacos ao parasito intra-eritrocítico. Vários experimentos *in vitro* estabeleceram que fármacos antimaláricos quinolínicos agem por interferência na cristalização da hemozoína, que tem por unidade básica a β -hematina, como demonstra a Figura 9 (Sullivan Jr. *et al.*, 1998).



Fonte: Adaptado de Pagola *et al.*, 2000; Wisner, 2003.

Figura 10 - Estrutura da Ferriprotoporfirina IX, β -Hematina e hemozoína

É consenso que estes fármacos inibem a formação da hemozoína. Persiste, entretanto, uma divergência sobre como isto ocorre (Egan & Marques, 1999).

Os parasitos degradam cerca de 75% da hemoglobina dos eritrócitos e a utilizam como fonte alimentar. A hemoglobina é importada para dentro de um compartimento ácido do parasito, conhecido como vacúolo alimentar, e é quebrada por enzimas proteolíticas, chamadas plasmecinas, em

peptídeos que, posteriormente, são degradados a aminoácidos (Egan & Marques,1999). O resíduo livre heme ou ferriprotoporfirina IX (Fe(III)PPIX) é tóxico ao parasito. A Fe(III)PPIX é polimerizada formando um composto inerte, insolúvel e não tóxico ao parasito, o pigmento malárico hemozoína (Egan & Marques,1999).

Slater & Cerami (1992), sugeriram que a reação de formação da hemozoína no parasito é catalisada por uma enzima, que seria inibida pelos antimaláricos quinolínicos. Esta conclusão foi baseada nas condições extremas que, aparentemente, seriam requeridas para a formação por síntese da β -hematina e na observação que um extrato de membrana plasmodial aparentemente catalisa esta formação.

Entretanto, Dorn *et al.* (1995) encontraram que a formação de β -hematina é independente de proteínas e sugeriram que ela é autocatalítica, sendo que o agente catalítico no extrato do parasito é, de fato, a própria hemozoína. Uma outra hipótese é que os antimaláricos quinolínicos podem inibir a formação de hemozoína, pela interação direta com a Fe(III)PPIX.

Warhurst (1981), demonstrou espectroscopicamente que antimaláricos quinolínicos formam, em solução benzênica, complexos com a Fe(III)PPIX e que o epímero inativo da quinina, a 9-epiquinina, não forma o complexo.

Egan *et al.* (1994), demonstraram que as drogas cloroquina, quinina e amodiaquina são capazes de inibir a polimerização espontânea da Fe(III)PPIX em solução de ácido acético, enquanto a 9-epiquinina e outras substâncias inativas na fase eritrocítica da malária não são.

Dorn *et al.* (1998), também relataram que a formação de β -hematina é inibida por antimaláricos quinolínicos sob condições mais brandas, que se aproximam mais daquelas que são esperadas *in vivo*. Assim, o efeito primário dos fármacos antimaláricos que atuam na fase eritrocítica da doença é a ligação com a Fe(III)PPIX e a inibição da sua polimerização para formação da hemozoína. Secundariamente, a Fe(III)PPIX e o complexo Fe(III)PPIX-fármaco acumulam-se e ficam disponíveis para exercer seus efeitos tóxicos (Orjih *et al.*, 1994).

A base precisa para os efeitos tóxicos da Fe(III)PPIX livre e seus complexos com antimaláricos quinolínicos no parasito não está completamente estabelecida (Egan & Marques, 1999).

Uma das hipóteses é que esta toxicidade resulta da atividade peroxidativa da Fe(III)PPIX e dos complexos Fe(III)PPIX-fármaco sobre os lipídeos da membrana (Sugioka & Suzuki, 1991).

Outra hipótese é que a Fe(III)PPIX lisa o parasito via um mecanismo colóidoosmótico, possivelmente pela inibição da manutenção do gradiente de cátions (Egan & Marques, 1999).

Alguns autores têm sugerido que o mecanismo de ação dos quinolinimetanóis pode ser similar ao da cloroquina (Slater, 1993), entretanto, as evidências que sustentam as interações heme como modo de ação das 4-amoniquinoleínas não estão completamente esclarecidas, assim como, não está claro se o heme é o único alvo de ação dos antimaláricos quinolinometanóis (Chou *et al.*, 1980; Chevli & Fitch, 1982).

Estudos iniciais sugeriram que a quinina assim como a cloroquina pode inibir a replicação do DNA e a síntese do RNA do *Plasmodium*, ainda que, através de elevadas concentrações de droga (Parker e Irvin 1952, Cohen & Yielding 1965, citados em Foley & Tilley, 1998, p.60; Thelu *et al.*, 1994).

Estudos ultra-estruturais indicam que a mefloquina causa mudanças morfológicas no vacúolo do *P. falciparum*. As mudanças se assemelham às alterações observadas após tratamento com a cloroquina, exceto que a mefloquina parece causar mais degranulação da hemozoína do que as alterações morfológicas causadas pela cloroquina (Peters *et al.*, 1977; Jacobs *et al.*, 1987; Olliaro *et al.*, 1989).

A mefloquina mostrou inibir a heme polimerização *in vitro* com similar (Slater & Cerami, 1992; Slater, 1993) ou menor eficiência que a cloroquina (Chou & Fitch, 1993; Raynes *et al.*, 1996).

Os dados disponíveis sugerem que, A mefloquina interfere em diferentes passos no processo de alimentação do parasito quando em comparação com a cloroquina (Geary *et al.*, 1986).

Os efeitos morfológicos no parasito seguidos ao tratamento com quinina e mefloquina são similares aos efeitos observados pelo tratamento com a cloroquina, por exemplo, há uma expansão inicial do vacúolo alimentar (Jacob *et al.*, 1987; Olliaro *et al.*, 1989; Peters *et al.*, 1977).

É largamente aceito que a cloroquina exerce seu efeito antimalárico pela interação com o processo de degradação da hemoglobina dentro do parasito, provavelmente por meio uma interação com a hematina (Dorn, *et al.*, 1998; Ridley 1997a; Ridley *et al.*, 1997b), embora o completo

mecanismo de ação, seja até hoje debatido (Asawamahasakda, *et al.*, 1994; Ward *et al.*, 1997), a inibição da polimerização da hematina tem sido usada como marcante representante do tipo de atividade antimalarial das 4-aminoquinolinas (Slater *et al.*, 1992; Raynes *et al.*, 1996; Hawley *et al.*, 1998).

Embora a quinina e a mefloquina interaja com a hematina livre, a interação é relativamente fraca, com redução correspondente da inibição da polimerização de hematina (Chevli & Fitsch 1982, Dorn, *et al.*, 1998).

A quinina e mefloquina, assim como, as 4-aminoquinolinas, podem inibir este processo *in vitro* (Dorn, *et al.*, 1998; Hawley *et al.*, 1998; Slater *et al.*, 1993). Entretanto, existem sugestões de que a interação com a polimerização da hematina pode não ser em si, suficiente para explicar a atividade de drogas como a mefloquina (Foley & Tilley, 1997).

A quinina interage fracamente com a fração heme da hemoglobina (Chou *et al.*, 1980), mas tem sido mostrada por inibir a heme polimerização (Slater, 1992; Chou & Fitch 1993) e a atividade de heme catálise (Ribeiro *et al.*, 1997). Na ausência de um transportador específico, a quinina é acumulada menos eficientemente no vacúolo alimentar que a cloroquina.

A mefloquina é uma base fraca monoprotéica que deve se acumular menos que a cloroquina. Apesar disso, ela mostrou valores similares na concentração de inibição (IC50) *in vitro*. Essas evidências tem sido a base para o questionamento, se esta droga interage em diferentes pontos com o processo de degradação da hemoglobina ou se a mefloquina tem um mecanismo de ação adicional, independente ou distinto da cloroquina (Desneves, *et al.*, 1996; Foley & Tilley, 1997).

1.6.4 Mecanismo de Ação da Doxiciclina

Seu mecanismo de ação atua por inibição da síntese de proteína, por bloquear a união do RNA de transferência ao complexo ribossômico do RNA mensageiro. A ligação é produzida na subunidade ribossômica 30S dos organismos sensíveis, interferindo no aporte e ligação dos aminoácidos das proteínas essenciais para sua existência (Chopra, 1985, Tavares, 2001).

1.7 FARMACOCINÉTICA

1.7.1 Farmacocinética da Quinina

1.7.1.1 Vias de Administração da Quinina

A quinina pode ser administrada por via oral ou intravenosa. Se não for possível o uso oral, a primeira dose deve ser administrada por via intravenosa, mediante infusão lenta em solução isotônica de glicose, durante quatro horas.

Sempre que o fármaco for administrado por via parenteral, o tratamento oral deve ser reiniciado assim que o paciente suportar e continuado até o fim da série. Para malária sem complicações, a quinina deve ser administrado preferencialmente por via oral (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

1.7.1.2 Absorção da Quinina

A quinina é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal quando administrado oralmente. A biodisponibilidade é de aproximadamente 80% em indivíduos saudáveis e o pico da concentração plasmática é alcançado dentro de 3 - 5 horas (Supanaranond, 1991).

1.7.1.3 Distribuição da Quinina

A distribuição da quinina varia em função da gravidade dependendo do grau de doença. O volume de distribuição é menor em pacientes com malária grave, mas aumenta com a recuperação da doença. As crianças e mulheres grávidas têm um volume de distribuição menor em relação às mulheres não grávidas e adultos masculinos (White, 1985).

As concentrações no plasma e na célula vermelha sangüínea (RBC) parecem ser semelhantes antes da infecção; no entanto, durante um ataque de malária, as concentrações no plasma são consideravelmente mais altas que concentrações na RBC (White *et al.* 1983).

Por ter alta capacidade de ligação às proteínas, distribui-se por todos os fluidos do corpo. Atravessa facilmente a barreira placentária, mas não atravessa livremente a barreira hemato-encefálica, é encontrada no líquido cefalorraquidiano com distribuição em relação ao plasma de aproximadamente 7%, é distribuído no leite dos ductos lactíferos, alcançando pico de concentrações em aproximadamente 90 minutos depois de administração oral (White, 1985; Phillips, 1986).

A ligação da quinina às proteínas plasmáticas é alta, mais de 90% em pacientes com malária grave, mulheres grávidas, e crianças (Panisko & Keystone, 1990). Em torno de 85 a 90% em pacientes com malária não complicada (White, 1985), e cerca de 70 a 80% em indivíduos saudáveis (Supanaranond, 1991; Oradell, 1991).

1.7.1.4 Biotransformação da Quinina

A quinina é biotransformada no fígado (Franke, 1987). Os seus metabólitos têm menos atividade que o composto original (White, 1985).

A meia-vida da quinina em adultos com malária grave é de aproximadamente 18 horas, em pacientes não complicados é de 10 a 12 horas, em indivíduos saudáveis é cerca de 16 horas (Supanaranond, 1991).

1.7.4.5 Excreção da Quinina

A excreção da quinina ocorre principalmente pela via renal, com cerca de 20% sendo excretado na forma alterada. Sua excreção é aumentada por acidose urinária. Pequena quantidade da quinina é secretada pela saliva e bile (White, 1985).

1.7.2 Farmacocinética da Doxiciclina

1.7.2.1 Vias de Administração da Doxiciclina

A doxiciclina é administrada por via oral (cápsulas/comprimidos). Os sintomas gastrointestinais podem ser reduzidos quando administrada junto com uma refeição (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

1.7.2.2 Absorção da doxiciclina

A doxiciclina é mais lipossolúvel que a tetraciclina, sendo completamente (93% a 100%) absorvida pelo trato gastrintestinal. A absorção não é afetada significativamente pela presença de alimento no estômago ou no duodeno. Porém, leite e seus derivados devem ser evitados, já que reduzem a sua absorção (Martindale, 2002).

O pico médio da concentração plasmática de 2.6µg/mL tem sido relatado 2 horas após o uso de 200mg via oral, depois de 24 horas da ingestão inicial a concentração plasmática diminui para 1.45µg/mL (Saivin & Houin, 1988) , sendo primordial a dose de manutenção diária, considerando que, a concentração mínima efetiva é de 0.8µg/ml no soro (Doxycycline.com, 2005).

1.7.2.3 Distribuição da doxiciclina

A doxiciclina é amplamente distribuída por todos os tecidos e fluidos do corpo, apresentando alta capacidade de ligação às proteínas plasmáticas (80-95%). Concentrações maiores ou similares às encontradas no soro (cerca de 3µg/mL) são observadas em vários órgãos, significando que, apresenta elevado nível terapêutico (Doxycycline.com, 2005).

1.7.2.4 Biotransformação da doxiciclina

A doxiciclina é pouco biotransformada no corpo humano. Embora tenha sido relatada reações de inativação hepática, alguns pesquisadores consideram que isto é incerto. No entanto, a cinética da doxiciclina tem sido reportadamente alterada em pacientes que recebem fármacos indutores das enzimas de biotransformação hepática (Saivin, 1988).

A doxiciclina apresenta uma meia-vida biológica em torno de 12-24 horas (Saivin, 1988). Mas em adultos com malária grave foi relativamente mais curta, cerca de 10.5 horas (intervalo de 6.9 a 17.9) (Newton *et al.*, 2005).

1.7.2.5 Excreção da doxiciclina

A doxiciclina é excretada pela via fecal, e pela urina (cerca de 40% em 72 horas) (Martindale, 2002).

1.7.3 Farmacocinética da Mefloquina

Estudos farmacocinéticos da mefloquina revelam consideráveis variações de um indivíduo para outro em diversos parâmetros cinéticos e evidências sugerem diferenças entre grupos étnicos (Karbwang & White 1990; Palmer *et al.*, 1993).

1.7.3.1 Vias de Administração da Mefloquina

A mefloquina é administrada por via oral. A melhor solubilidade e a maior biodisponibilidade podem ser alcançadas com a ingestão de água antes da administração do medicamento. Sua biodisponibilidade também aumenta se for tomada após as refeições (BRASIL/MS/FNS, 2001b).

Existem algumas provas de que o risco de vômitos associados ao medicamento pode ser diminuído mediante o tratamento sintomático da febre e uso de antieméticos. Se ocorrer vômito na primeira hora da ingestão do medicamento, é necessário repetir a dose inteira (BRASIL/MS/FNS, 2001b).

Em pacientes com malária complicada, concentrações sangüíneas adequadas tem sido obtida usando administração nasogástrica, mas, esta via não pode ser confiável nos pacientes graves (Chanthavanich *et al.*, 1985), uma vez que a absorção pode ser incompleta (Karbwang & White 1990; Palmer *et al.*, 1993).

1.7.3.2 Absorção da Mefloquina

A mefloquina é bem absorvida por indivíduos saudáveis e pacientes com malária não complicada após administração por via oral. A presença de alimentos aumenta significativamente a taxa e extensão de

absorção, elevando a biodisponibilidade para cerca de 40%. O pico de concentração plasmática é alcançado entre 2 à 24 horas com média em torno de 17 horas após uma única dose de 250mg. A administração em dose única de 1000mg produz uma concentração máxima de aproximadamente 1000µg/L (Karbwang *et al.*, 1987; Looareesuwan *et al.*, 1987).

1.7.3.3 Distribuição da Mefloquina

A mefloquina tem um amplo volume de distribuição, distribuindo-se em todos os tecidos em indivíduos saudáveis, entretanto é reduzida na presença da malária (Juma & Otego, 1989; Karbwang *et al.*, 1988).

Em crianças que receberam mefloquina com sulfadoxina + pirimetamina na forma de comprimidos triturados e misturados com xarope de glicose, a concentração sanguínea máxima de mefloquina foi elevada, e alcançada em um curto tempo, quando comparada com doses equivalentes em adultos (Singhasivanon *et al.*, 1994).

Em mulheres grávidas com malária não complicada, as concentrações sanguíneas apresentaram baixos teores quando comparadas com mulheres não grávidas e o volume aparente de distribuição foi amplo (Na-Bangchang *et al.*, 1994).

A mefloquina tem alta capacidade de ligação às proteínas plasmáticas (98%) (Panisko & Keystone, 1990). Atravessa a barreira placentária (Lariam, 2004). É distribuída no leite materno, mas, o estudo de uma única dose em duas mulheres, indicou que a concentração de mefloquina no leite materno foi menor em comparação ao plasma (Edstein *et al.*, 1988).

1.7.3.4 Biotransformação da Mefloquina

A mefloquina é biotransformada no fígado, Dois produtos de biotransformação foram identificados em humanos, o principal é o ácido carboxílico 2-8-bis-trifluorometil-4-quinolil (Panisko & Keystone, 1990), o qual parece ser inativo contra o *P. falciparum* (Hakanson, *et al.*, 1990).

1.7.3.5 Excreção da Mefloquina

Somente uma pequena percentagem (4 a 9%) da mefloquina é excretada pela urina (Schwartz *et al.*, 1987). Estudos em animais sugerem que a sua excreção e de seus produto de biotransformação ocorre principalmente pelas fezes e bile (Karbwang & White 1990; Palmer *et al.*, 1993).

A mefloquina tem uma meia-vida de excreção extremamente longa, apresentado consideráveis variações individuais, entre 10 a 40 dias, com média de 21 dias em adultos, porém tende a ser mais curta em crianças e gestantes. Verificou-se que a meia vida de eliminação é mais demorada em pessoas caucasianas que nas africanas ou tailandesas (Karbwang & White 1990; Palmer *et al.*, 1993).

Considerando a meia vida de eliminação da mefloquina, o seu uso em área endêmica deve ser cauteloso, pois o indivíduo pode reinfetar-se, estando com teores sangüíneos de mefloquina subterapêuticos, favorecendo o aparecimento de cepas resistentes à droga (Karbwang & White, 1990).

1.8 MONITORIZAÇÃO DE FÁRMACOS

A monitorização de fármacos é fundamentada no fato de que a resposta terapêutica se correlaciona e depende da concentração deste na corrente sanguínea do usuário, e não somente da dose administrada ao mesmo. O uso de doses regulares em intervalos periódicos não significa que existirão níveis constantes em todos os pacientes, devido às diferenças individuais de absorção, biotransformação, biodisponibilidade e excreção do fármaco, os quais influenciarão no efeito terapêutico final (Lima, 1992).

A determinação da concentração plasmática constitui uma ferramenta na terapia com diferentes classes de fármacos, e sua aplicação na terapia clínica tem sido possível graças ao desenvolvimento de métodos analíticos que permitem o doseamento de substâncias ativas com precisão em diferentes líquidos biológicos e à possibilidade de expressar em termos quantitativos os processos que experimentam os fármacos após sua administração; permitindo a determinação de regimes de dosagem que se ajustam as necessidades dos pacientes (Barcellos, 2005).

Em alguns casos, as faixas terapêuticas que indicam valores de concentrações para os quais a substância tem utilidade farmacológica, apresentam frágil distanciamento daquela considerada tóxica, na qual surgem complicações no quadro de saúde do paciente que podem levar à intoxicação, evoluindo em alguns casos ao óbito. A monitorização traz como vantagem a possibilidade de ajustes nas doses do medicamento, prevenindo a intoxicação, bem como, garantindo os efeitos farmacológicos do composto, evitando que a concentração fique abaixo da mesma. Propiciando assim, segurança à terapêutica medicamentosa. (Perez, 2002).

A monitorização de antimaláricos é fundamental para a distinção entre falha terapêutica e resistência do parasito. A resistência aos antimaláricos pode causar falha terapêutica, mas nem toda falha terapêutica é devido à resistência (Bloland, 2001).

Muitos fatores podem contribuir para a falha terapêutica, como a ingestão incorreta das doses pelo paciente, a não obediência à duração do tratamento, a utilização de medicamentos que não atendem aos parâmetros de qualidade, interação farmacologia, má absorção, entre outros (Bloland, 2001).

Provavelmente todos esses fatores causam falha do tratamento no individuo, mas também contribuem para o desenvolvimento e intensificação da verdadeira resistência, devido a uma maior probabilidade de expor os parasitos da malária a níveis sub terapêuticos do fármaco, evidenciando assim, a importância da monitorização dos níveis sanguíneos destes medicamentos (Bloland, 2001).

1.9 RESISTÊNCIA DO *P. falciparum* ÀS DROGAS ANTIMALÁRICAS

A OMS considera, que entre os maiores desafios para o controle mundial da malária, estão a expansão e intensificação da resistência do parasito às drogas antimaláricas (WHO, 2000), razão pela qual vem implementando um arrojado projeto de vigilância denominado Rede Amazônica de Vigilância da Resistência às Drogas Antimaláricas (RAVREDA) (OPAS/OMS, 2004).

Entre as linhas de pesquisa da RAVREDA, inclui-se a avaliação do uso de medicamentos antimaláricos pela comunidade (automedicação,

acesso aos medicamentos, conhecimentos, atitudes e práticas) que podem levar ao desenvolvimento da resistência (OPAS/OMS, 2004).

A resistência às drogas antimaláricas foi primeiramente definida como “a capacidade de uma população de parasitos sobreviver e/ou multiplicar-se, apesar da administração e da absorção de uma droga dada nas doses iguais ou superiores do que aquelas geralmente recomendadas, porém dentro dos limites de tolerância do individuo” (Wernsdorfer & Payne 1965; WHO,1973).

A definição de Wernsdorfer & Payne (1965) foi posteriormente ampliada por Bruce-Chwatt *et al.*, (1986) para especificar que a droga em questão além de ser administrada nas doses adequadas, deve ser absorvida e ter acesso à célula sangüínea infectada e ao parasito, por um tempo de duração necessário para sua ação eficaz.

O termo “resistência do parasito” tem sido usado com diferentes significados nas publicações. Por exemplo, para se referir ao parasito *in vitro* pela habilidade confirmada para sobreviver a uma concentração limiar da droga sob condições padrões de cultura contínua (Wongsrichanalai *et al.*, 2002).

A resistência também tem sido usada para se referir ao fracasso terapêutico após administração de uma dose padrão de uma droga, esta definição é usada pela WHO no protocolo padrão de prova *in vivo* (Wongsrichanalai *et al.*, 2002). No entanto, neste teste, níveis de droga no soro não são normalmente quantificados e o fracasso terapêutico observado pode ser devido à má absorção, metabolismo rápido ou anormal ou a presença de infecções latentes de outra malária (Talisuna *et al.*, 2004).

A definição de Bruce-Chwatt *et al.*, (1986) requer a demonstração da parasitemia em um paciente sob tratamento acompanhado, que receba dose de uma droga antimalárica, com demonstração simultânea das concentrações sanguíneas adequadas da droga e de seus produtos de biotransformação, usando métodos estabelecidos de laboratório, como a cromatografia líquida de alta eficiência. Nos estudos sobre a resistência *in vivo* para que esse fenômeno seja bem conhecido, é fundamental a confirmação da absorção e do metabolismo da droga (Bloland, 2001).

Os testes *in vivo* são tradicionalmente o padrão ouro para detecção da resistência as drogas (WHO, 1996). Eles refletem a verdadeira resposta biológica natural ao tratamento, que envolve a complexa interação entre o parasito a droga e a resposta do hospedeiro, pois os testes *in vitro* avaliam somente a interação entre o parasito e a droga (Bloland, 2001).

O teste clássico definido pela WHO em termos de liberação de parasitos em resposta a cloroquina, foi o primeiro a ser usado interpretando o sistema de classificação padrão, ou seja, S (sensível), RI (resistência tipo I), RII (resistência tipo II) e RIII (resistência tipo III) (WHO, 1973).

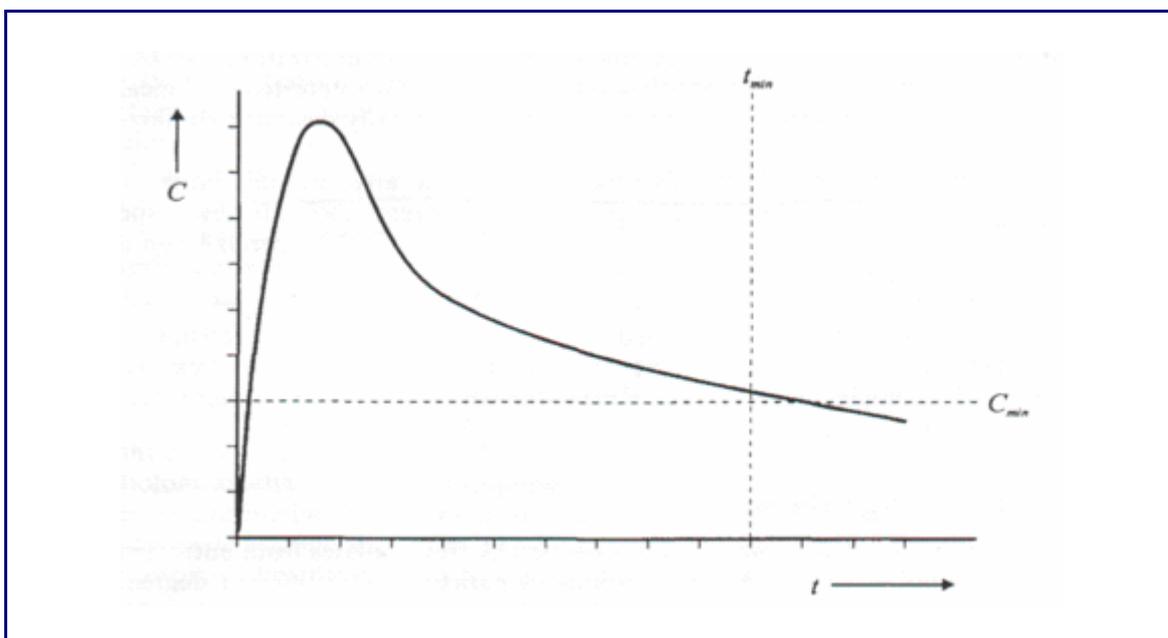
Como a re-infecção é difícil de ser excluída em áreas com intensa transmissão de malária, a WHO introduziu um protocolo modificado, baseado na consequência clínica, classificado em três categorias de respostas terapêuticas denominadas, RCA (resposta clínica adequada), FTT (fracasso tardio do tratamento) e FPT (fracasso precoce do tratamento), para áreas com intensa transmissão onde a presença de parasitemia na ausência de sinais e sintomas clínicos se apresenta (WHO, 1996), de acordo com o Tabela 7.

Tabela 7 - Classificação da resposta clínica e parasitológica de acordo com protocolo da Organização Mundial de Saúde.

Classificação da resposta parasitológica	Classificação da resposta clínica
<p>Sensível (S) Liberação da parasitemia após tratamento sem recrudescência subsequente dentro do período de seguimento.</p>	<p>Resposta clínica adequada (RCA)</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) Ausência de parasitemia no 14^o dia sem restrição de condição de febre, sem previamente encontrar nenhum dos critérios para FPT e FTT. (ii) Ausência de febre sem restrição da condição da parasitemia, sem previamente encontrar nenhum dos critérios para FPT e FTT.
<p>Resistência RI com recrudescência tardia Liberação inicial da parasitemia seguida pela recrudescência após sete dias</p>	<p>Fracasso tardio do tratamento (FTT)</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) Presença de sinais de perigo ou de malária grave depois do dia 3 (entre os dias 4 e 14 ou 28), com parasitemia da mesma espécie que em D0 (ii) Presença de parasitemia no 7^o dia, 14^o, 21^o ou 28^o.
<p>Resistência RII com recrudescência precoce Redução da parasitemia no dia 2^o dia para menos que 25% da parasitemia no dia zero, mas sem completa liberação.</p>	<p>Fracasso precoce do tratamento (FPT)</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) Durante os três primeiros dias de seguimento o paciente apresenta sinais de perigo ou malária grave na presença de parasitemia; (ii) Febre (Temperatura axilar $\geq 37.5^{\circ}$ C) e a parasitemia em D2 maior que em D0 (iii) Febre e parasitemia no D3. (iv) Densidade parasitária no D3 \geq a 25% da densidade do D0.
<p>Resistência RIII No 2^o dia, não há redução da parasitemia ou há redução para um nível igual ou superior que 25% da parasitemia do dia zero.</p>	

Fonte: Adaptado de WHO 1973, 1996.

O impacto do uso de drogas antimaláricas em concentrações abaixo da concentração inibitória mínima (MIC) durante o tempo mínimo necessário para sua ação, ou manutenção da concentração acima da MIC por um período de tempo curto, abaixo do tempo mínimo necessário, resultará em fracasso terapêutico e provável seleção de parasitos resistentes, de acordo com a Figura 10. No que se refere aos parasitos resistentes, a concentração mínima inibitória (MIC) pode usualmente não ser alcançada com o máximo de dose tolerada pelo indivíduo (Wernsdorfer, 1994).



Fonte: adaptado de Wernsdorfer, 1994.

Figura 10 – Dependência da concentração mínima (C_{\min}) e tempo mínimo (t_{\min}) para a cura radical do tratamento com esquizonticida sanguíneo.

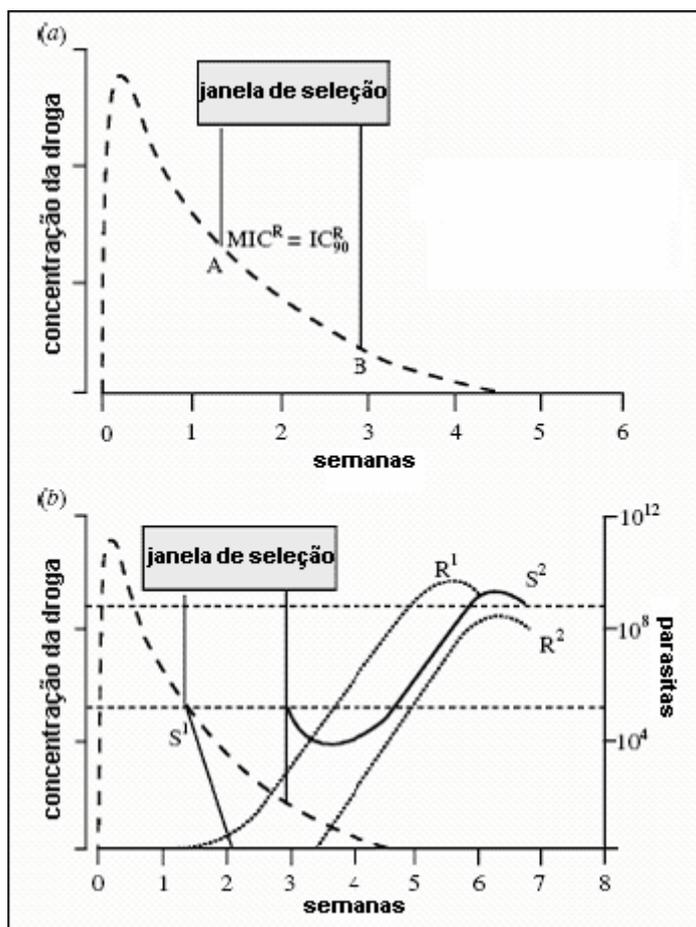
Há uma variabilidade de tempo na janela de oportunidade para a seleção de resistência no caso de uma infecção novamente adquirida durante a fase de eliminação. Na Figura 11, o gráfico (a) representa a seleção de

resistência na exposição de uma infecção adquirida recentemente para concentrações residuais de uma droga antimalárica com eliminação lentamente (White & Pongtavornpinyo, 2003; White, 2004).

A janela de seleção de resistência abre para A quando a concentração de sangue (eixo-y) cai abaixo do IC_{90} para o mutante resistente (IC_{90}^R), que corresponde aproximadamente à concentração que produz uma taxa de multiplicação de um ciclo, e fecha para B quando a rede de crescimento dos 100 000 parasitos droga-sensíveis emergem do fígado mais rápido do que o mutante droga-resistente alcançando a densidade exigida para produzir números transmissíveis de gametócitos (White & Pongtavornpinyo, 2003; White, 2004).

No gráfico (b), se uma infecção emerge do fígado (há cerca de 10^5 parasitos de malária para esta fase) quando a janela de seleção abre, os parasitos resistentes R^1 (linha pontilhada) sobreviverão e multiplicarão para produzir uma infecção capaz de alcançar as densidades de parasitos (cerca de 10^9 parasitos de malária) necessários para transmissão, considerando que, os parasitos sensíveis permanecem S^1 e serão eliminados (White & Pongtavornpinyo, 2003; White, 2004).

Se uma infecção emerge do fígado logo após a janela de seleção fechar, então os crescimentos dos parasitos sensíveis S^2 ultrapassam as dos parasitos resistentes R^2 (linha pontilhada). Quando estes alcançam níveis detectáveis de população param o crescimento. Os parasitos resistentes não atingem densidades transmissíveis, e não há nenhuma seleção de resistência (White & Pongtavornpinyo, 2003; White, 2004).



Fonte: Adaptada de White & Pongtavornpinyo, 2003.

Figura 11 - Janela de oportunidade para a seleção de parasitos resistentes.

As características da droga são determinantes importantes que contribuem na seleção de parasitos resistentes aos antimaláricos (Wongsrichanalai *et al.*, 2002).

Primeiramente, as drogas que apresentam uma meia-vida de eliminação longa, tal como a mefloquina, podem exercer a seleção pós-terapêutica residual da droga, nas reinfeções contraídas após o tratamento da infecção inicial, quando a droga persiste em concentrações subterapêuticas no plasma, especialmente nas áreas com transmissão intensa da malária (Wernsdorfer, 1994).

Em segundo lugar, a manutenção de concentrações adequadas da droga sobre um período suficientemente longo, é importante para eliminar a população inteira dos parasitos dentro de um dado indivíduo. As concentrações subterapêuticas da droga eliminam os parasitos mais susceptíveis e deixam aqueles que podem ser resistentes para se recuperar e reproduzir. Em consequência disto, a dose terapêutica necessária para eliminar os parasitos resistentes pode aumentar além do máximo tolerado pelo indivíduo e assim surgirá à resistência a droga (Wongsrichanalai *et al.*, 2002).

Em terceiro lugar, o uso difundido das drogas em intensidade elevada serve para aumentar a pressão da droga que é um determinante para a seleção de populações de parasito resistentes (Wongsrichanalai *et al.*, 2002).

Couto (2001), ao realizar estudos de caracterização de cepas de *Plasmodium falciparum* e monitorização longitudinal da resistência às drogas em duas áreas da Amazônia brasileira, evidenciou que, nas áreas onde o uso da droga foi mais intenso, o padrão da resistência se apresentou elevado ou sua sensibilidade foi reduzida, sendo provavelmente, a pressão prolongada da droga antimalárica sobre a população de parasitos o mais importante elemento desse processo.

Nesse contexto, a avaliação dos níveis plasmáticos dos antimaláricos quinina+doxiciclina e mefloquina, utilizados segundo os esquemas terapêuticos preconizados pelo Ministério da Saúde, em pacientes com malária *falciparum* na Amazônia brasileira, contribuirá para fornecer subsídios na avaliação da resistência e na otimização dos esquemas terapêuticos.

1.10 OBJETIVO GERAL

Monitorar os níveis plasmáticos da quinina e da mefloquina e determinar os níveis de doxiciclina em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* correlacionando-os com a parasitemia.

1.10.1 Objetivos Específicos.

- Determinar a densidade e negatificação da parasitemia e a classificação da resposta clínica e parasitológica nos pacientes com malária *falciparum* tratados com a associação da quinina mais doxiciclina, e com mefloquina;
- Determinar as concentrações plasmáticas da quinina, de doxiciclina e da mefloquina nos pacientes com malária *falciparum* submetidos aos esquemas terapêuticos propostos;
- Correlacionar os níveis plasmáticos da quinina, doxiciclina e mefloquina com a densidade parasitária e o tempo de negatificação da parasitemia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado no Estado do Amapá, localizado na região amazônica, considerado área de alto risco para malária segundo o índice de parasitemia anual (IPA), pois apresentou no período de janeiro a novembro de 2003, o maior percentual de índices de lâminas positivas por *P. falciparum* (IFA), dentre os estados que compõem a Amazônia legal brasileira (Brasil/MS/SVS, 2003b).

2.2. CASUÍSTICA

Foram selecionados como doadores de amostra de sangue para o presente estudo 34 indivíduos de ambos os sexos, residentes e domiciliados no Estado do Amapá, com idade entre 8 e 60 anos, com exame de gota espessa positiva para malária por *Plasmodium falciparum*, que não haviam utilizado tratamento com antimaláricos nos últimos dois meses. Ressalta-se que a triagem dos pacientes foi por demanda espontânea no âmbito do projeto RAVREDA.

Foram excluídos, os pacientes com doença crônica ou infecciosa concomitante, portadores de malária mista ou *falciparum* grave ou complicada (malária cerebral, pulmonar, formas colérica e biliosa de malária grave), as gestantes, portadores de história de hipersensibilidade aos medicamentos do esquema terapêutico ou aqueles que discordaram em participar do estudo ou não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo nº 01).

Todos os casos positivos foram devidamente tratados e

acompanhados pela equipe médica da Gerência Projeto Ensino e Pesquisa em Saúde/SESA, priorizando sempre o bem estar do paciente. Para tal, utilizou-se a ficha de inclusão e acompanhamento do projeto RAVREDA (anexo 03).

2.3. ESQUEMA TERAPÊUTICO

Dos trinta e quatro participantes, trinta casos de malária por *Plasmodium falciparum* não complicada foram acompanhados e seu progresso foi avaliado por vinte e oito dias em D0, D1,D2,D3 D7,D14,D21,D28, sendo segregados em dois grupos, considerando o esquema de primeira escolha e o esquema alternativo, de acordo o Manual de Terapêutica da Malária (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

Grupo A – esquema de primeira escolha: formado por doze participantes tratados com sulfato da quinina + doxiciclina como a seguir: sulfato da quinina, via oral (comprimidos de 500mg correspondendo a 30mg de quinina/kg/dia), durante os três primeiros dias, sendo a dose diária dividida a cada 12 horas e conforme a idade (até 11 anos: 1.000mg; de 12 a 14 anos: 1.500mg; e acima de 15 anos: 2.000mg); associado a doxiciclina como hidrato, via oral (comprimidos de 100mg correspondendo a 3,33mg/kg/dia), durante os 5 dias, sendo também a dose diária dividida a cada 12 horas (até 11 anos: 100mg; de 12 a 14 anos: 150mg); e acima de 15 anos: 200mg.

Grupo B – esquema alternativo: formado por dezoito participantes tratados com cloridrato de mefloquina (04 comprimidos de 250mg) correspondendo a 20mg/kg via oral, durante o primeiro dia, em dose única.

Todos os medicamentos utilizados no estudo, estavam dentro do prazo de validade e foram fornecidos pelo projeto RAVREDA, sendo que, o cloridrato de mefloquina foi produzido pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha, lote 006, o sulfato de quinina produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico do Exército, lote 0210261 e o cloridrato de doxiciclina pela Industria Química do Estado de Goiás S. A., lote 1477. Após análise no LACEN-AP, todos os lotes referidos estavam adequados para consumo humano.

2.4 AMOSTRAS

2.4.1 Amostras Para o Diagnóstico da Malária e Determinação da Parasitemia

Foram coletados gotas de sangue com volume aproximado de 20µL extraídas com lancetas descartáveis, através de punção da polpa digital dos participantes do estudo, e aplicados em lâminas de vidro para a confecção da gota espessa e do esfregaço.

2.4.2 Amostras Para Cromatografia Líquida (CLAE)

Foram coletados 5mL de sangue venoso em tubo de vidro com anticoagulante heparina, centrifugado por 10 minutos a 2000 rpm para separar o plasma, o qual foi armazenado em criotubos a -20°C até o seu processamento.

Para os pacientes que se submeteram à terapia com comprimidos de sulfato de quinina, as coletas foram nos dias D0-D1-D3-D5-D7, considerando que, a quinina tem uma meia-vida de eliminação curta em pacientes não complicados em torno de 10-12 horas (Supanaranond, 1991).

Para aqueles que utilizaram comprimidos de cloridrato de mefloquina as coletas foram nos dias D0-D1-D3-D7-D14-D21 e D28 considerando que, a mefloquina tem uma meia-vida de eliminação plasmática longa, com média de 21 dias em adultos. (Stepniewska *et al.*, 2004).

A amostra do dia inicial foi coletada antes da administração da droga para verificar sua ausência ou presença antes da instituição da terapia. As outras coletas de amostras foram sempre obtidas a tarde cerca de 6 horas após ingestão da droga. Levando-se em consideração estudos que avaliam a farmacocinética desses antimaláricos (White, 1985; Palmer *et al.*, 1993).

2.5 MÉTODOS LABORATÓRIAS

2.5.1 Diagnóstico Parasitológico da Malária e Quantificação da Parasitemia

O diagnóstico parasitológico da malária é definido pela presença de formas eritrocíticas do parasito no sangue periférico. Neste estudo foi utilizado a técnica da gota espessa e esfregaço corado pelo Giemsa, segundo a técnica de Walker e, examinados em microscópio de luz (OPAS/OMS, 1975).

A parasitemia foi determinada pela contagem de parasitos em 100 campos microscópicos (750 vezes), sendo este valor multiplicado por cinco, e o resultado expresso em parasitos por milímetro cúbico de sangue. Considerou-se negativa quando, ao examinar, no mínimo 200 campos da gota espessa, não se visualizou formas assexuadas do *P. falciparum* (BRASIL/MS/FNS /RAVREDA, 2001b).

Considerando as recomendações do Protocolo da RAVREDA, os exames da gota espessa e as avaliações clínicas foram realizados respectivamente em D0, D1, D3, D7, D14, D21 e D28 (BRASIL/MS/FNS /RAVREDA, 2001b).

Os participantes do estudo permaneceram em Macapá até o término da investigação. Todas as lâminas positivas foram revisadas em laboratório de referência para o controle da qualidade de lâminas de malária.

A resposta clínica foi avaliada pesquisando os sinais e sintomas sendo classificada em resposta clínica adequada (RCA), fracasso precoce de tratamento (FPT) e fracasso tardio do tratamento (FTT), e a resposta parasitológica foi classificada em sensível (S), ou resistente tipo I, II e III, seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde para áreas com intensa transmissão (WHO, 1973,1996).

2.5.2 Quantificação da Quinina, Mefloquina e Doxiciclina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

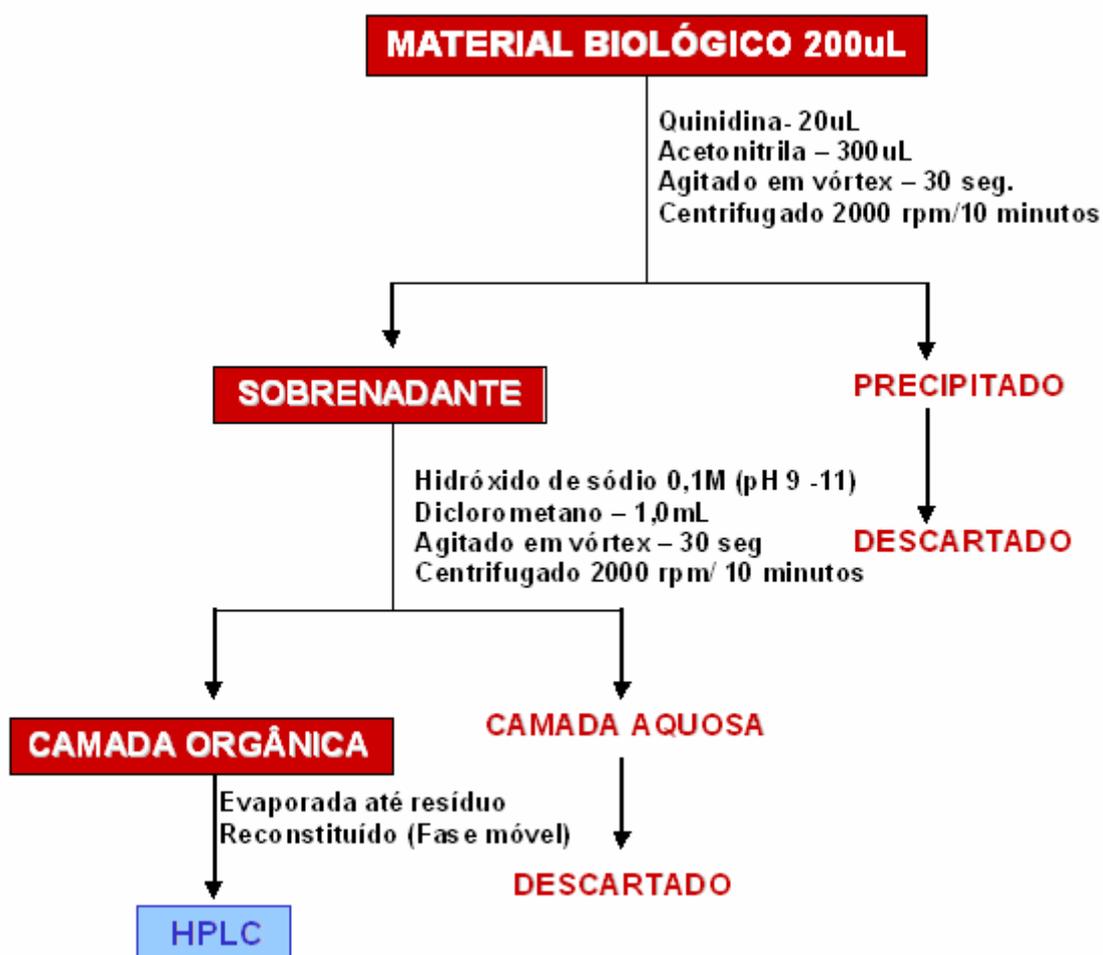
A CLAE é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, distribuídos entre duas fases, na qual uma permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. De acordo com a sua afinidade por uma das fases, os componentes da amostra são retidos, seletivamente na fase estacionária, ou arrastados pela fase móvel resultando em migração diferencial (Collins *et al.*, 1995).

De acordo com Bergqvist & Churchill (1988), a CLAE é uma técnica adequada para a determinação de fármacos antimaláricos, visto que,

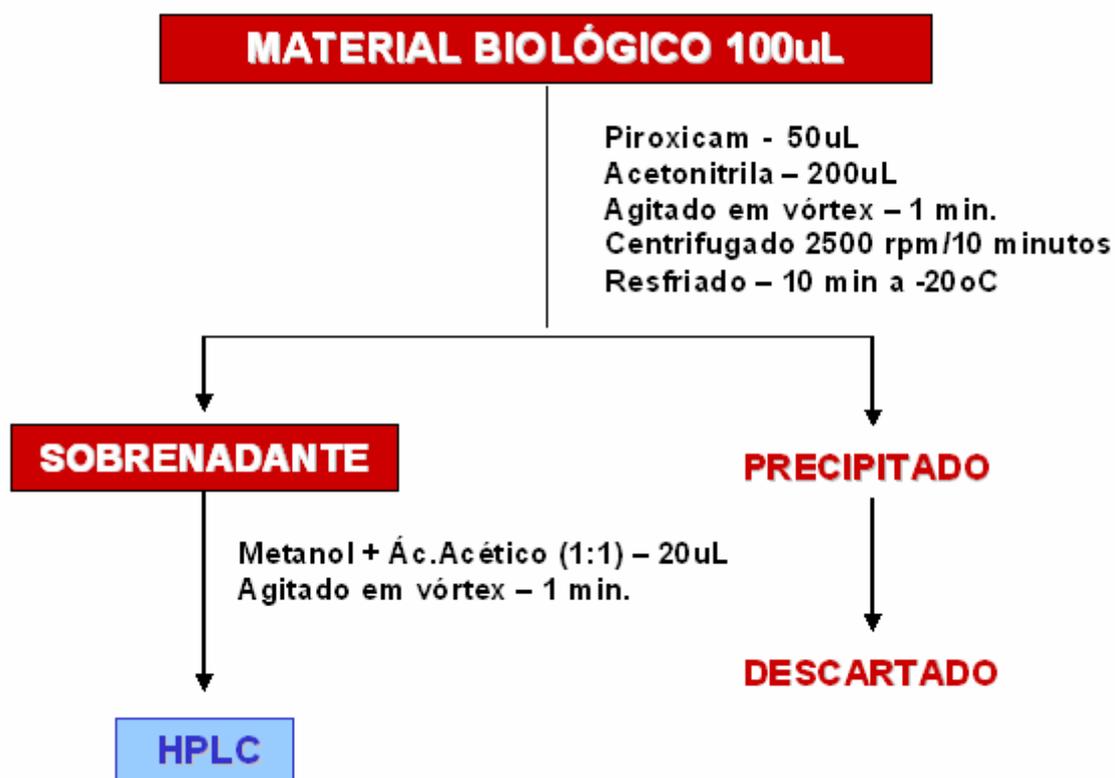
permite a identificação e quantificação da droga durante o tratamento do paciente com precisão e seletividade.

A técnica de CLAE utilizada neste estudo foi descrita por Kapetanovic (1983) para mefloquina, ao método descrito por Dua (1993) e Vieira (1998) para quinina, e ao método descrito por Ruz *et al*, (2004) para doxiciclina.

Fluxograma do método da mefloquina e quinina



Fluxograma do método da doxiciclina



2.5.2.1 Reagentes Solventes e Padrões de Referência

Foram utilizados reagentes de grau cromatográfico Tédia do Brasil®: Diclorometano, Acetonitrila, Metanol. Reagente para análise Merck®: Trietilamina e Ácido Fosfórico. Coluna Nucleosil 100 C8 5µm com pré-coluna C8 Supelco®. Membranas filtrantes e discos de filtragem tipo Millipore®, padrões de referência Quinina, Quinidina, Mefloquina, Doxiciclina e Piroxicam Sigma®.

2.5.2.2 Instrumentação

Utilizou-se um Cromatógrafo VARIAN® para CLAE composto de módulo de bombeamento isocrático ProStar 300, injetor manual reodyne com loop de 20µL, detector duplo canal Ultravioleta e Visível ProStar 220 com monitoramento e aquisição de dados simultaneamente em software Star Chromatography Workstation® para processamento de dados, desenvolvimento de métodos, gerenciamento e controle cromatográficos.

2.5.2.3 Condições Cromatográficas

A fase móvel para a quinina foi composta de acetonitrila a 14% em solução aquosa de trietilamina 0,01M. Para mefloquina foi acetonitrila a 40% em trietilamina 0,01N, e para doxiciclina foi água/acetonitrila/metanol (55:25:20, v/v/v). O pH das três fases foram ajustados a 2,3 com ácido fosfórico a 50%, a seguir, foram filtradas e sonicadas por 15 minutos antes do uso.

O fluxo foi de 1,2 mL/min, para quinina e mefloquina e de 1,0 mL/min. para doxiciclina, o comprimento de onda foi de 254nm para quinina, 222nm para mefloquina e 347nm para doxiciclina, o tempo de desenvolvimento do cromatograma foi de 15 minutos, para quinina e mefloquina e de 10 minutos para doxiciclina (Kapetanovic, 1983; Dua, 1993; Vieira, 1998; Ruz *et al.*, 2004).

2.5.2.4 Extração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina do Plasma

Para extração da quinina e mefloquina do plasma sangüíneo, juntou-se 500µL de plasma em tubo de vidro, 40µL de quinidina, como padrão interno em concentração de 21µg/mL, 40µL de solução de hidróxido de sódio

2M, agitou-se em vórtex por 30 segundos e juntou-se 2,0mL de diclorometano , agitou-se em agitador mecânico por 10 minutos, em seguida centrifugou-se a 2500rpm, por 10 minutos, separou-se 2.5mL da camada orgânica em tubo ependorff®, e evaporou-se a temperatura de 28°C até *secura*. Reconstituiu-se o resíduo contido no tubo ependorff® com 100µL da fase móvel, agitou-se em vórtex por 30 segundos e injetou-se no cromatógrafo líquido.

Na extração da doxiciclina do plasma sangüíneo, adicionou-se 100µL de plasma em tubo de vidro, 50µL de Piroxicam como padrão interno, em concentração de 16µg/mL, 200µL de acetonitrila, agitou-se em vórtex por 1 minuto, centrifugou-se a 2500rpm por 10 minutos, colocou-se para resfriar a -20°C, retirou-se o sobrenadante, transferiu-se para tubo de ependorff®, acrescentou-se ao sobrenadante 20µL de metanol-ácido acético 1:1, agitou-se em vórtex por 30 segundos, injetou-se 50 µL no equipamento de CLAE (Vieira, 1998; Ruz *et al.*, 2004).

2.5.2.5 Curva de Calibração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina

Para cada uma das curvas foi preparada previamente uma mistura de vários soros humanos isento de antimalárico (soro branco).

Para curva da quinina utilizou-se uma solução mãe de padrão de quinina em concentração de 67,5mg/100mL, juntou-se 1mL dessa solução mãe a 4ml do soro branco e obteve uma solução de intermediária com concentração de 135µg/mL, utilizada para se obter as diluições dos quatro pontos da curva nas concentrações de 1,68, 3,37, 6,75 e 13,5 µg/mL.

Para curva de mefloquina utilizou-se uma solução mãe de padrão de mefloquina em concentração de 0,25mg/mL, juntou-se 1mL dessa solução mãe a 20ml do soro branco e obteve uma solução intermediária com concentração de 12,5µg/mL, utilizada para se obter as diluições dos quatro pontos da curva nas concentrações de 0,625, 1,25, 6,25 e 12,5µg/mL, os quais foram submetidos ao procedimento de extração descrito em 2.5.2.4, e posteriormente analisadas de acordo com as condições cromatográficas padronizadas em 2.5.2.3

Para curva da doxiciclina utilizou-se uma solução padrão da doxiciclina (0,5mg/mL) utilizada para se obter as diluições dos quatro pontos da curva nas concentrações de 50, 25,5 e 2.5 µg/mL.

As diluições dos quatro pontos das curvas da quinina, mefloquina e doxiciclina foram submetidos ao procedimento de extração descrito em 2.5.2.4, e posteriormente analisadas de acordo com as condições cromatográficas padronizadas em 2.5.2.3. Os resultados obtidos foram plotados em um gráfico, sendo no eixo X as concentrações, e no Y a relação de áreas da amostra e do padrão interno. A seguir foi realizada a regressão linear para obtenção da equação de reta.

2.5.2.6 Determinação da concentração da Quinina Mefloquina e Doxiciclina

A concentração plasmática dos antimaláricos foi determinada a partir da relação entre a área da amostra e a área do padrão Interno, em seguida, esses valores obtidos foram plotados na equação da reta descrita em 2.5.2.5.

2.5.2.7 Avaliação da Precisão do Método Analítico

Para avaliação da precisão do método analítico da quinina, foi empregado plasma controle, contendo quinina, em concentrações de 1,68, 3,37, 6,75 e 13,5 $\mu\text{g/mL}$. Para mefloquina foi empregado plasma controle contendo mefloquina bem concentrações de 0,625 1,25 6,25 e 12,5 $\mu\text{g/mL}$, os quais foram submetidos à determinação dos antimaláricos, conforme procedimento descrito em 2.5.2.5 e 2.5.2.6.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações foram armazenadas em banco de dados Microsoft Access 2000, sendo utilizado o programa BioEstat 3.0 (Ayres *et al.*, 2003). Os testes estatísticos empregados para as análises estatísticas dos resultados obtidos foram: Estatística descritiva, teste t (Student), regressão linear simples e regressão polinomial quadrática, sendo considerados estatisticamente significativos os resultados de análises que apresentaram valores de $p \leq 0,05$.

2.7 ASPECTOS ÉTICOS.

Os pacientes candidatos ao presente estudo, manifestaram por escrito a sua concordância em participar da pesquisa. Exigência para que fossem incluídos, (Anexo nº 02).

O presente estudo foi desenvolvido com material biológico coletado para as pesquisas vinculadas ao Projeto RAVREDA, aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas.

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PARTICIPANTES

No período de outubro de 2004 a maio de 2005 trinta e quatro pacientes portadores de malária por *P. falciparum* não complicada adquirida no Estado do Amapá foram incluídos no estudo. Destes, trinta casos foram acompanhados e seu progresso foi avaliado por vinte e oito dias. Quatro pacientes foram excluídos, dois por perdas no seguimento do tratamento e dois por terem sido reinfectados por *Plasmodium vivax*.

Os participantes do grupo A tratados com a quinina+doxiciclina apresentaram idade média de 29,4 ($\pm 11,9$ desvio padrão) anos, com intervalo de 10 a 48 anos, sendo constituído por 57,1% de homens e 42,9% de mulheres. Destes, 10 adultos (83,3%) e 02 crianças (16,7%).

Os pacientes do grupo B tratados com a mefloquina apresentaram idade média de 24,6 (± 12 desvio padrão) anos, com intervalo de 11 a 52 anos, sendo constituído por 72,2% de homens e 27,8% de mulheres. Destes, 14 adultos (77,8%) e 04 crianças (22,2%). O emprego do teste paramétrico *t* (Student) não demonstrou diferença estatística significativa entre as idades dos pacientes dos dois grupos, *p* (bilateral) igual a $0.2686 > 0.05$.

3.2 DENSIDADE PARASITÁRIA

A densidade parasitária para os doze participantes do grupo A, com valores expressos em média e desvio padrão, foi de 835,26 (± 5.38) parasitos/mm³ com intervalo de 10 a 6.650 parasitos/mm³ no dia inicial (D0), apresentou um pico no dia seguinte (D1), com posterior declínio a partir de D2, até zerar completamente em D7, conforme demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8- Média geométrica da parasitemia em D0, D1, D2, D3 e D7 do grupo A.

Parasito Forma Assexuada	Dias de Seguimento				
	D0	D1	D2	D3	D7
Média Geométrica (parasitos/ mm³)	835,26	477,89	64,61	18,71	0
Desvio Padrão	± 5.38	± 8.40	± 6.01	± 2.43	0
Mínimo (parasitos/ mm³)	10	5	10	10	0
Máximo (parasitos/ mm³)	6.650	8.650	1.800	35	0

A Tabela 9 demonstra a média geométrica da parasitemia dos participantes do grupo A em D0, D1, D2, D3, D7, D14, D21, D28, subdivididos em sensíveis e resistentes do tipo I (RI) com recrudescência tardia.

Nos sensíveis o número médio de parasitos/mm³ no dia zero foi $852,66 \pm 6,17$ (desvio padrão) com intervalo de 10 a 6.650 parasitos/mm³. Nos resistentes (RI) o número médio de parasitos/mm³ no dia zero foi $793,27 \pm 4,62$ (desvio padrão) com intervalo de 180 a 3.200 parasitos/mm³.

Não houve diferença estatística significativa entre as parasitemias em D0, D1 D2 D3 D5 e D7 dos participantes sensíveis e resistentes (RI), no teste *t* (Student) o *p* (bilateral) foi igual a $0.342 > 0.05$.

Tabela 9 – Média geométrica da parasitemias dos participantes do grupo A subdivididos em sensíveis e resistentes (RI).

Dia	Parasitos em mm³	S	RI
D0	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	852,66 (\pm 6,17) 10 — 6.650	793,27 (\pm 4,62) 180 — 3200
D1	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	254,77 (\pm 9,40) 0 — 1900	1681,4 (\pm 5,44) 165 — 8650
D2	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	20,2 (\pm 1,62) 10 — 30	448,14 (\pm 3,80) 125 — 1800
D3	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	Negativo 0 — 0	18,70 (\pm 2,43) 10 — 35
D7	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	Negativo 0 — 0	Negativo 0 — 0
D14	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	Negativo 0 — 0	Negativo 0 — 0
D21	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	Negativo 0 — 0	7,27 (\pm 2,43) 0 — 2.800
D28	Média Geom. (\pm DP) Intervalo	Negativo 0 — 0	985,58 (\pm 2,05) 450 — 1.850

Legenda: Média Geom. = Média Geométrica; DP = desvio padrão; S = sensível; RI = resistente.

As Figuras 12 e 13 demonstram os gráficos das médias geométricas das parasitemias por mm³ de sangue periférico nos participantes do grupo A classificados como sensíveis e resistentes (RI) nos diferentes dias de seguimento do tratamento. Onde se observam comportamentos distintos na parasitemia em D21 e D28 respectivamente.

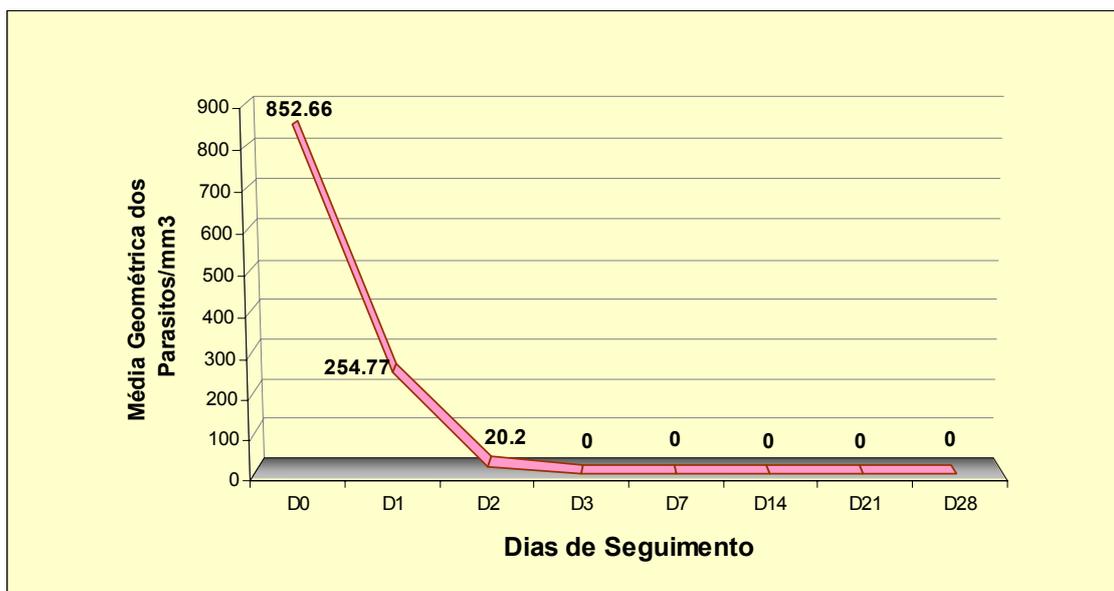


Figura 12 – Comportamento da parasitemia nos participantes sensíveis do grupo A durante o seguimento.

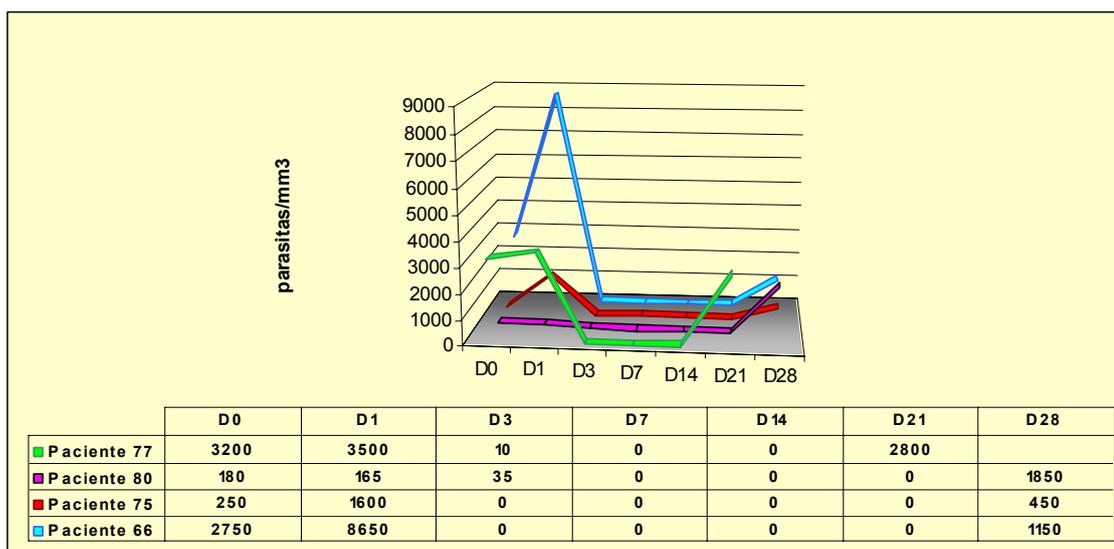


Figura 13 – Parasitemia nos participantes do grupo A com padrão de resistência RI ao esquema terapêutica quinina+doxiciclina.

As densidades parasitárias dos dezoito participantes do grupo B em D0, D1, D2, D3, D7, D14, D21, e D28, estão descritas na Tabela 10 e foram expressas em média e desvio padrão. A média geométrica da parasitemia em

D0 foi de 901,11 ($\pm 10,07$) parasitos/mm³ com intervalo de 30 a 45.000 parasitos/mm³, apresentou declínio a partir do dia seguinte (D1), zerando completamente em D7 e assim permanecendo até o fim do seguimento. A Figura 14 demonstra o comportamento da parasitemia dos participantes do grupo B nos diferentes dias do tratamento.

Tabela 10 – Parasitemia dos participantes do grupo B.

Parasito Forma Assexuada	Dias de Seguimento							
	DO	D1	D2	D3	D7	D14	D21	D28
Média Geométrica (F/ mm³)	901	233	36	14	0	0	0	0
Desvio Padrão	$\pm 10,07$	$\pm 8,97$	$\pm 4,03$	$\pm 37,12$	0	0	0	0
Mínimo (F/ mm³)	30	5	10	1	0	0	0	0
Máximo (F/mm³)	45.000	5.450	210	200	0	0	0	0



Figura 14 – Comportamento da parasitemia nos participantes do grupo B tratados com esquema terapêutico da mefloquina.

Não houve diferença estatística significativa no teste *t* entre as médias da densidade parasitária em D0 nos participantes do grupo A tratados com o esquema terapêutico da quinina+doxiciclina e os participantes do grupo B, tratado com o esquema terapêutico da mefloquina, *p* igual a 0.923 > 0.05.

3.3 TEMPO DE CLAREAMENTO DA PARASITEMIA

O tempo de clareamento da parasitemia (TCP) no grupo A englobando os casos dos participantes sensíveis e resistentes (RI) foi de 72 (\pm 44,15) horas com intervalo de 24 a 168 horas com a negatificação da parasitemia ocorrendo na primeira semana de tratamento. Para o grupo B o TCP foi de 68 (\pm 48,9) horas com limite de 24 a 168 horas, com a negatificação da parasitemia também ocorrendo na primeira semana de tratamento.

No teste *t* não houve diferença estatisticamente significativa entre os TCP dos dois grupos, *p* igual a 0.614 > 0.05.

3.4 RESPOSTA CLÍNICA E PARASITOLÓGICA

A Tabela 11 apresenta as respostas clínicas e parasitológicas dos participantes considerando os dois esquemas terapêuticos empregados. Dos 12 participantes tratados com quinina+doxiciclina, oito participantes (66,7%) tiveram resposta clínica adequada (RCA) ao tratamento, sendo classificados parasitologicamente como sensíveis (S). Quatro participantes (33,3%) apresentaram fracasso tardio do tratamento (FTT), com a resposta parasitológica classificada no padrão de resistência tipo RI. Os pacientes recrudescentes receberam tratamento com mefloquina e acompanhamento até

completa cura. Todos os dezoito participantes (100%) tratados com a mefloquina tiveram resposta clínica adequada (RCA) ao tratamento, sendo classificados parasitologicamente como sensíveis (S).

Tabela 11 - Resposta clínica e parasitológica dos participantes do grupo A e B aos respectivos esquemas terapêuticos: quinino+doxiciclina e mefloquina

Resposta clínica	RCA		FTT		FPT		Total		
Resposta parasitológica	S		RI		RII			RIII	
Esquema	Nº	%	Nº	%	Nº	%		Nº	%
M	18	100	--	--	--	--	--	--	18
Q+D	8	66,7	4	33,3	--	--	--	--	12

Legenda: RCA = resposta clínica adequada, FTT = fracasso tardio do tratamento, FPT = fracasso precoce de tratamento, S = Sensível, RI = Resistência tipo I, RII = Resistência tipo II, RIII = Resistência tipo III, Q+M = Quinina+Doxiciclina, M = Mefloquina.

3.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA

3.5.1 Curva de Calibração da Quinina

A curva de calibração da quinina apresentada na Figura 15 demonstra as áreas dos cromatogramas para cada respectiva concentração (1,68, 3,37, 6,75 e 13,5 µg/mL), obtida a partir da extração do soro branco com quinina (67,5mg /100mL). O tempo de retenção da quinidina foi de 8.82 minutos e da quinina foi de 10.16 minutos e o tempo do cromatograma 15 minutos.

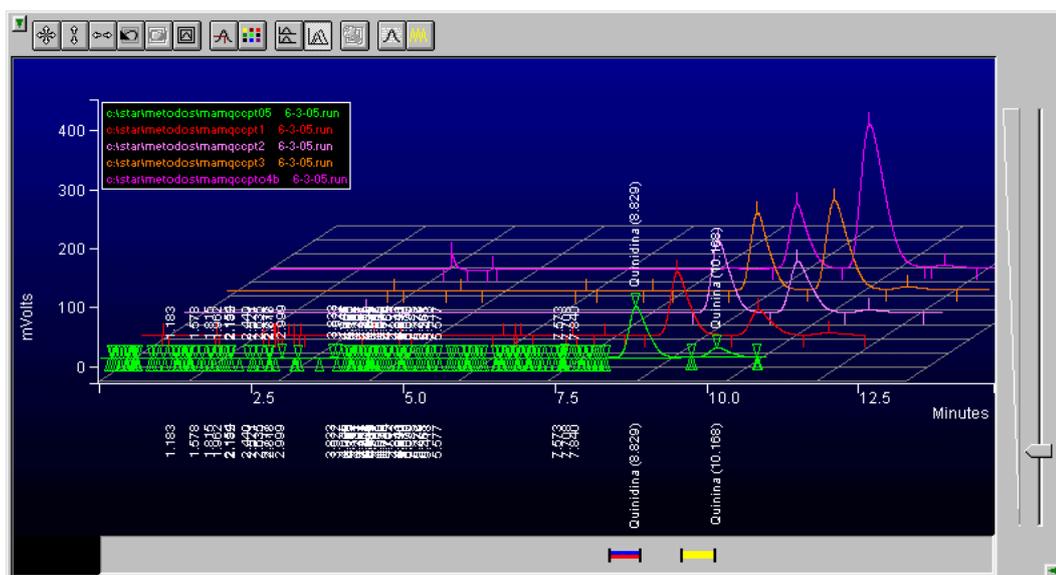


Figura 15 - Cromatograma do soro branco enriquecido com quinina e quinidina em concentrações conhecidas.

A Tabela 12 apresenta os valores das áreas dos cromatogramas do padrão interno quinidina e da quinina, o (y) foi obtido através da relação de área da quinina pela quinidina.

Tabela 12 - Áreas dos cromatogramas da curva de calibração da quinina.

(x) concentração da quinina $\mu\text{g/mL}$	Área da Quinidina	Área da quinina	(y) Relação de área
1,68	2933692	1044276	0,3559
3,37	2878955	189469	0,6580
6,75	2550312	3848774	1,5091
13,5	2169566	6493857	2,9931

A regressão linear da quinina a partir da equação da reta $y = a + b \cdot x$ com os valores da área do cromatograma (y) versus concentração (x) demonstrados na Figura 16, apresentou o coeficiente de correlação (r^2) = 0,9989, o RSD = 6,076%, o coeficiente de intersecção = - 0.049981, o coeficiente de inclinação = 0.2259. O valor de F (regressão) foi estatisticamente significativa, $p = 0.0006 < 0.05$.

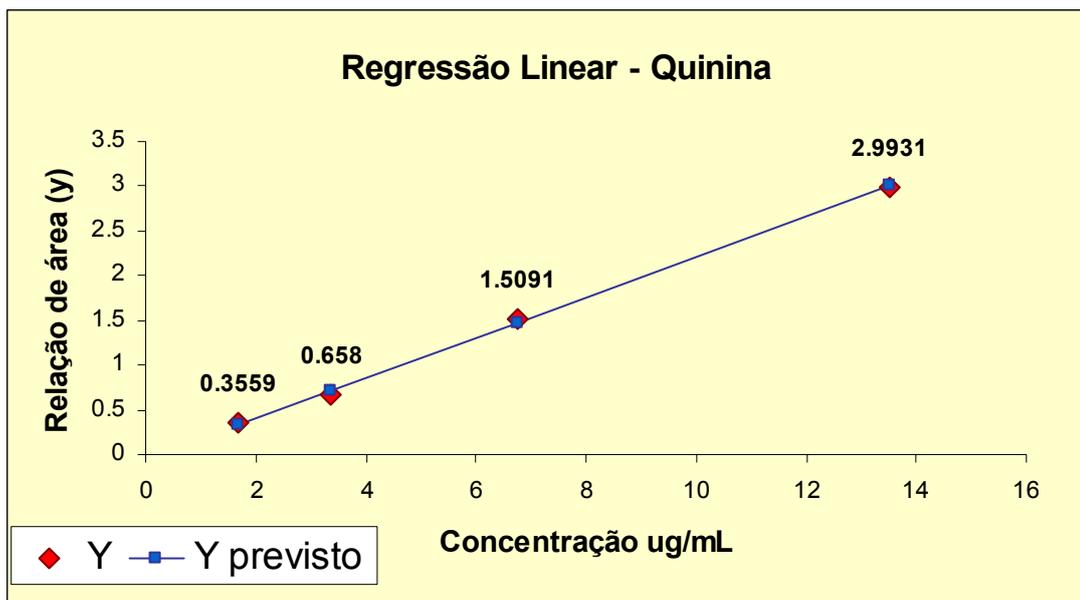


Figura 16 – Gráfico da regressão linear da quinina.

Os coeficientes de intersecção (0.049981) e inclinação (0.2259) da regressão linear da quinina foram utilizados para determinação da concentração plasmática usando a equação da reta $y = a + b \cdot x$.

3.5.2 Concentração Plasmática da Quinina

As determinações das concentrações plasmáticas da quinina encontram-se descritas na Tabela 13. Os valores encontrados nos dias pré-estabelecidos foram expressos em média, desvio padrão e intervalo de concentração.

O emprego do teste t não demonstrou diferença estatística significativa, entre as concentrações plasmáticas de adultos e crianças, p $0.06312 > 0.05$.

As concentrações em D1 e D5 não foram determinadas nos pacientes (64, 66, 67,69 e 70), passando a serem determinadas a partir do

paciente 75, em decorrência de um ajuste metodológico. Ressalta-se que, em todos os participantes desse grupo não foi detectado presença da quinina em D0, o pico plasmático foi detectado em D1, manteve-se até D3 e declinou em D5, até zerar completamente. A Figura 17 demonstra esse perfil da concentração plasmática da quinina durante os primeiros sete dias de seguimento

Tabela 13 - Concentração plasmática da quinina em µg/mL em pacientes com malária por *P. falciparum*.

Participantes	Concentração da quinina em ug/mL				
	Dia -0	Dia -1	Dia -3	Dia - 5	Dia - 7
64*	ND	--	2,088	--	ND
66*	ND	--	3,146	--	ND
67*	ND	--	1,338	--	ND
69*	ND	--	2,039	--	ND
70*	ND	--	3,064	--	ND
75*	ND	2,36	1,005	0,6064	ND
76*	ND	2,21	2,346	0,3695	ND
77*	ND	2,91	3,099	0,4470	ND
78*	ND	3,64	1,071	0,4743	ND
80*	ND	2,13	1,464	0,2965	ND
81*	ND	2,43	2,366	0,7879	ND
83*	ND	2,02	4,356	0,4963	ND
Média	0	2,529	2,289	0,497	0
Desvio padrão	0	0,5683	1,033	0,1613	0
Mínimo	0	2,02	1,005	0,2965	0
Máximo	0	3,64	4,356	0,7879	0

(*) número do registro da ficha do paciente; ND: Não detectado

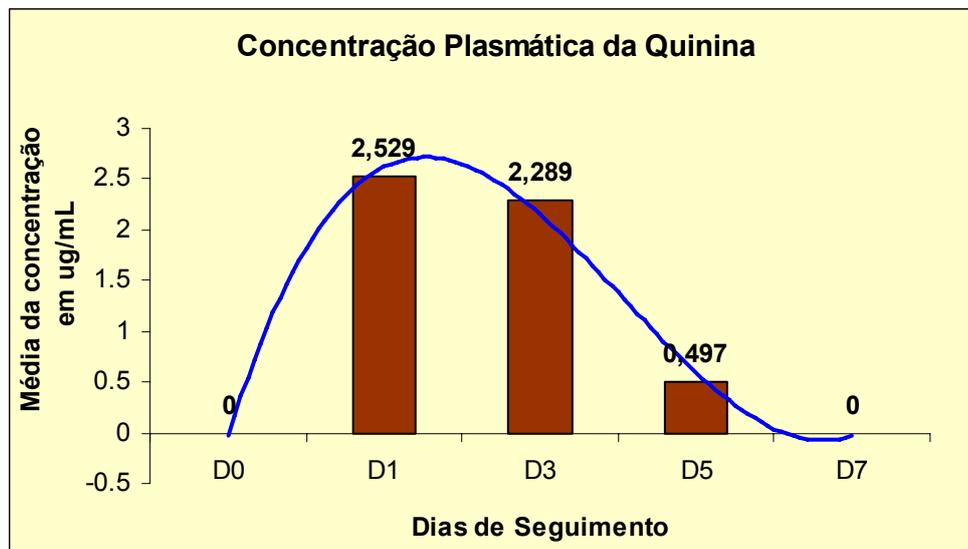


Figura 17 – Gráfico do perfil da concentração plasmática da quinina.

Nas Tabelas 14 e 15 estão descritos respectivamente os valores individuais das concentrações plasmáticas da quinina nos participantes do grupo A sensíveis e resistentes (RI) observados em D0, D1, D3, D5, D7 e D14. Os valores médios em D1, D3 e D5 para os pacientes sensíveis foram de 2,5750 μ g/mL , 2,3334 μ g/mL e 0,532 μ g/mL respectivamente e para os paciente resistentes (RI) os valores médios em D1, D3 e D5 foram de 2,4667 μ g/mL, 2,1784 μ g/mL e 0,450.

O emprego do teste t (Student) não demonstrou diferença estatística significativa entre as concentrações plasmáticas em D1, D3 e D5 nos pacientes sensíveis e resistentes (RI), p (0.8143, 0.8144 e 0.5525) $>$ 0.05.

Tabela 14 - Concentração da quinina em pacientes sensíveis

Amostra	Quinina µg/mL em D0	Quinina µg/mL em D1	Quinina µg/mL em D3	Quinina µg/mL em D5	Quinina µg/mL em D7	Quinina µg/mL em D14
64	ND	-	2,0883	-	ND	ND
67	ND	-	1,3381	-	ND	ND
69	ND	-	2,0389	-	ND	ND
70	ND	-	3,0635	-	ND	ND
76	ND	2,21	2,3461	0,3695	ND	ND
78	ND	3,64	1,0707	0,4743	ND	ND
81	ND	2,43	2,3656	0,7879	ND	ND
83	ND	2,02	4,3558	0,4963	ND	ND
Média	0	2,5750	2,3334	0,5318	0	0

ND: Não detectado

Tabela 15 - Concentração da quinina em pacientes resistentes (RI).

Amostra	Quinina µg/mL em D0	Quinina µg/mL em D1	Quinina µg/mL em D3	Quinina µg/mL em D5	Quinina µg/mL em D7	Quinina µg/mL em D14
66	ND	ND	3,1460	ND	ND	ND
75	ND	2,360	1,0048	0,6064	ND	ND
77	ND	2,910	30985	0,4470	ND	ND
80	ND	2,130	1,4643	0,2965	ND	ND
Média	0	2,4667	2,1784	0,4500	0	0

ND: Não detectado

3.5.3 Concentração Plasmática da Doxiciclina em D3

Nas Tabelas 16 e 17 estão descritos os respectivos valores individuais das concentrações plasmáticas de doxiciclina nos participantes do grupo A, sensíveis e resistentes (RI) observados em D3. Os valores das concentrações expressos em média e desvio padrão para os participantes sensíveis foi de $1,1275 \pm 0,1054$ µg/mL, e para os participantes recrudescentes foi de $1,3425 \pm 0,8262$ µg/mL.

O emprego do teste *t* (Student) não demonstrou diferença estatisticamente significativa nas concentrações plasmáticas em D3 entre os pacientes sensíveis e resistentes (RI), $p = 0.5726 > 0.05$.

Tabela 16 - Concentração plasmática de doxiciclina em D3 nos participantes sensíveis.

Amostra	Doxiciclina µg/mL em D3
64	1.46
67	1.53
69	0.80
70	0.82
76	0.84
78	1.49
81	0.91
83	1.17
Média (desvio padrão)	1,1275 ± 0,1054

Tabela 17 - Concentração plasmática de doxiciclina em D3 nos participantes resistentes (RI).

Amostra	Doxiciclina µg/MI em D3
66	1,37
75	2,50
77	0,80
80	0,81
Média (desvio padrão)	1,3425 ± 0,8262

3.5.4 Curva de Calibração da Mefloquina

A curva de calibração da mefloquina está apresentada na Figura 18, onde se observam as áreas dos cromatogramas para cada respectiva concentração (0,625 1,25 6,25 e 12,5µg/mL), obtida a partir da extração do soro branco com padrão de referência de mefloquina (118,75mg/100mL).

O tempo de retenção da quinidina foi de 2.34 minutos e para mefloquina 9.83 minutos e o tempo do cromatograma foi de 15 minutos.

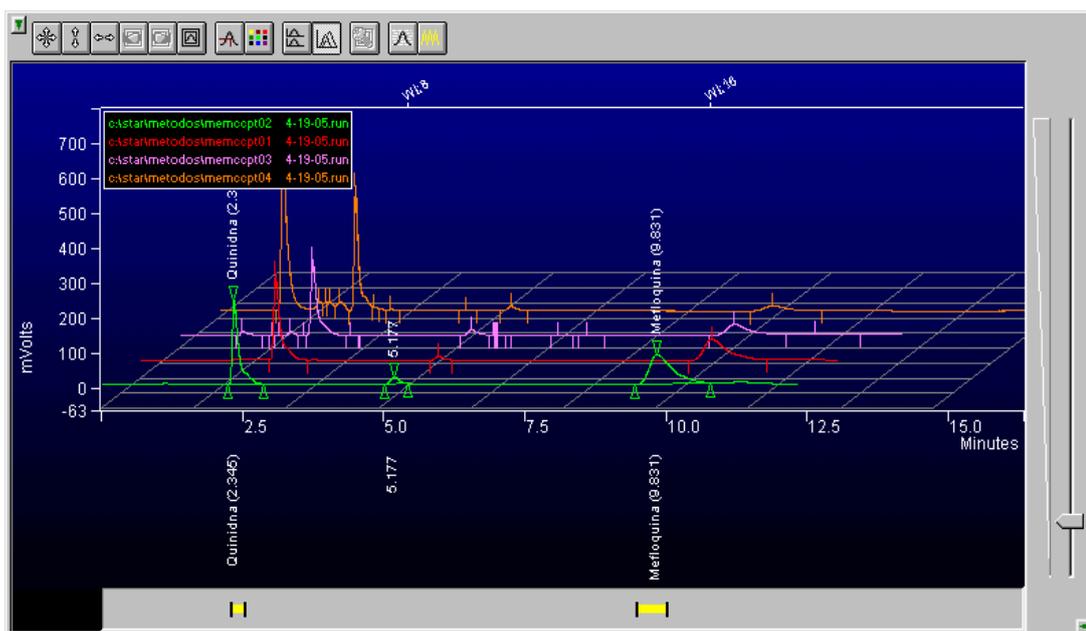


Figura 18 - Cromatograma do soro branco enriquecido com mefloquina e quinidina em concentrações conhecidas.

A Tabela 18 apresenta os valores das áreas dos cromatogramas do padrão interno quinidina e da mefloquina, o (y) foi obtido através da relação de área da mefloquina pela quinidina.

Tabela 18 – Áreas dos cromatogramas da curva de calibração da mefloquina.

(X) concentração da mefloquina $\mu\text{g/mL}$	Área da Quinidina	Área da Mefloquina	(y) Relação de área
0.625	2175227	399237	0.18353
1.25	1727431	858956	0.49724
2.75	1991237	1677169	0.84227
3.75	2407239	1907010	1.26231

A regressão linear da mefloquina a partir da equação da reta $y = a + b \cdot x$ com os valores da área do cromatograma (y) versus concentração (x) demonstrados na Figura 19b apresentou os coeficientes de correlações

utilizados, sendo o coeficiente de correlação (r^2) = 0.9811, RSD = 13,92%, coeficiente de intersecção = 0.019205, coeficiente de inclinação = 0.323406. O valor de F (regressão) foi estatisticamente significativo, $p = 0.0070 < 0.05$.

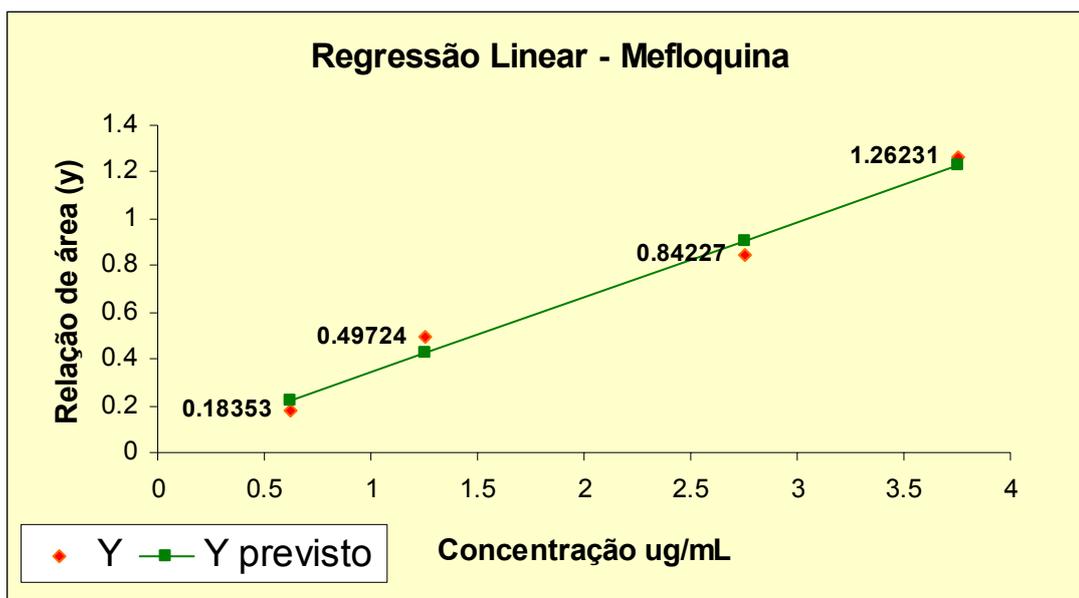


Figura 19 - Gráfico da regressão linear da mefloquina.

Os coeficientes de intersecção (0.019205) e inclinação (0.323406) da regressão linear da mefloquina foram utilizados para determinação da concentração plasmática da mefloquina usando a equação da reta $y = a + b \cdot x$.

3.5.5 Concentração Plasmática da Mefloquina

Os resultados da determinação das concentrações plasmáticas da mefloquina encontram-se descritas na Tabela 19. Os valores encontrados nos dias pré-estabelecidos foram expressos em média, desvio padrão e intervalo de concentração. As concentrações em D1 e D3 não foram determinadas nos pacientes (19, 20, 22, 23, 26, 29, 30), passando a serem determinadas a partir do paciente 37, em decorrência de um ajuste metodológico.

Tabela 19 – Concentração plasmática de mefloquina em pacientes com malária *falciparum*.

Participantes	Concentração de mefloquina em µg/mL							
	D- 0	D- 1	D- 3	D- 5	D- 7	D- 14	D- 21	D- 28
19	ND	-	1,029	-	ND	0,150	-	ND
20	ND	-	1,072	-	ND	0,130	-	ND
22	ND	-	0,647	-	0,128	0,043	-	ND
23	ND	-	0,579	-	0,154	0,100	-	ND
26	ND	-	0,464	-	0,138	0,057	-	ND
27	ND	-	0,260	-	0,140	0,121	-	ND
29	ND	-	1,081	-	0,246	0,158	-	ND
30	ND	-	0,184	-	0,109	0,094	-	ND
37	ND	0,454	0,235	0,416	0,159	0,159	0,005	ND
38	ND	0,839	1,094	0,697	0,573	0,159	0,060	ND
39	ND	1,042	0,266	0,464	0,312	0,299	0,041	ND
40	ND	0,351	0,584	0,313	0,204	0,099	0,056	ND
42	ND	0,480	0,279	0,248	0,087	0,107	0,087	ND
43	ND	0,294	0,299	0,283	0,121	0,111	0,034	ND
44	ND	0,645	0,375	0,258	0,214	0,172	0,049	ND
45	ND	1,768	0,344	0,292	0,159	0,228	0,051	ND
47	ND	0,764	0,448	0,264	0,055	0,054	0,032	ND
48	ND	0,449	0,531	0,373	0,191	0,002	0,049	ND
Média	0	0,709	0,543	0,361	0,187	0,125	0,046	0
Desvio Padrão	0	0,4399	0,3177	0,1385	0,1205	0,0692	0,0213	0
Mínimo	0	0,294	0,184	0,248	0,055	0,002	0,005	0
Máximo	0	1,768	1,094	0,697	0,573	0,299	0,087	0

ND: Não detectado

Ressalta-se que, em todos os participantes desse grupo não foi detectado presença de mefloquina em D0, o pico plasmático foi detectado em D1, sofreu uma leve diminuição em D3 e declinou a partir de D5 e assim prosseguiu até zerar completamente em D28. Na Figura 20, o gráfico da média aritmética durante os vinte e oito dias de monitoramento, demonstra o perfil da concentração plasmática da mefloquina.

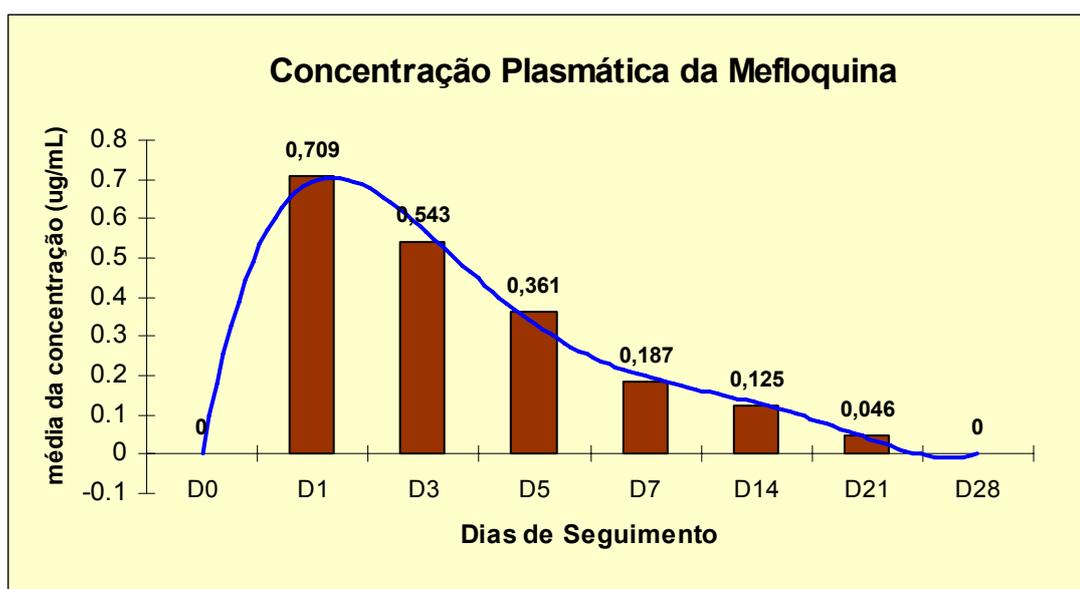


Figura 20 - Gráfico do perfil da concentração plasmática da mefloquina.

3.6 CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E A PARASITEMIA

A correlação entre as concentrações plasmáticas da quinina e a parasitemia dos participantes do grupo A classificados como sensíveis, encontram-se apresentada na Figura 21.

O teste da regressão polinomial quadrática ($Y' = a + (b_1)X + (b_2)X^2$) demonstrou que o número de parasitos/mm³ desses participantes depende da concentração plasmática da quinina. Sendo o coeficiente de regressão (r^2) = 0.9423 e o valor de F (regressão) estatisticamente significativo, $p = 0.0000$.

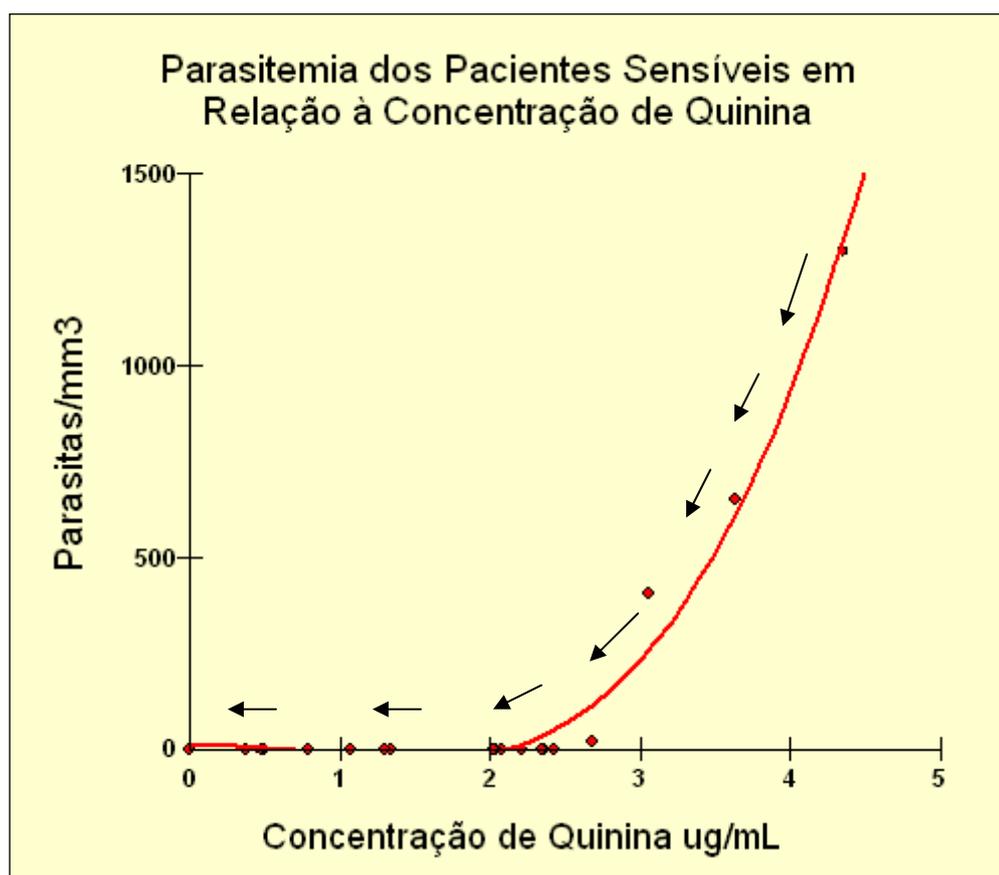


Figura 21 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes sensíveis do grupo A em relação à concentração plasmática da quinina.

A correlação entre as concentrações plasmáticas da quinina e a parasitemia dos participantes do grupo A classificados como resistentes (RI), encontram-se apresentada na Figura 22.

O teste da regressão polinomial quadrática ($Y' = a + (b_1)X + (b_2)X^2$) demonstrou que o número de parasitos/mm³ desses participantes depende da concentração plasmática da quinina. O valor de F (regressão) foi estatisticamente significativo, $p = 0.0004 < 0.05$. Porém, observa-se pelo coeficiente de regressão (r^2) = 0.7670 que, somente 76.70% do comportamento da parasitemia é explicado pela concentração plasmática da quinina, devendo outros fatores ter influenciado nesse comportamento.

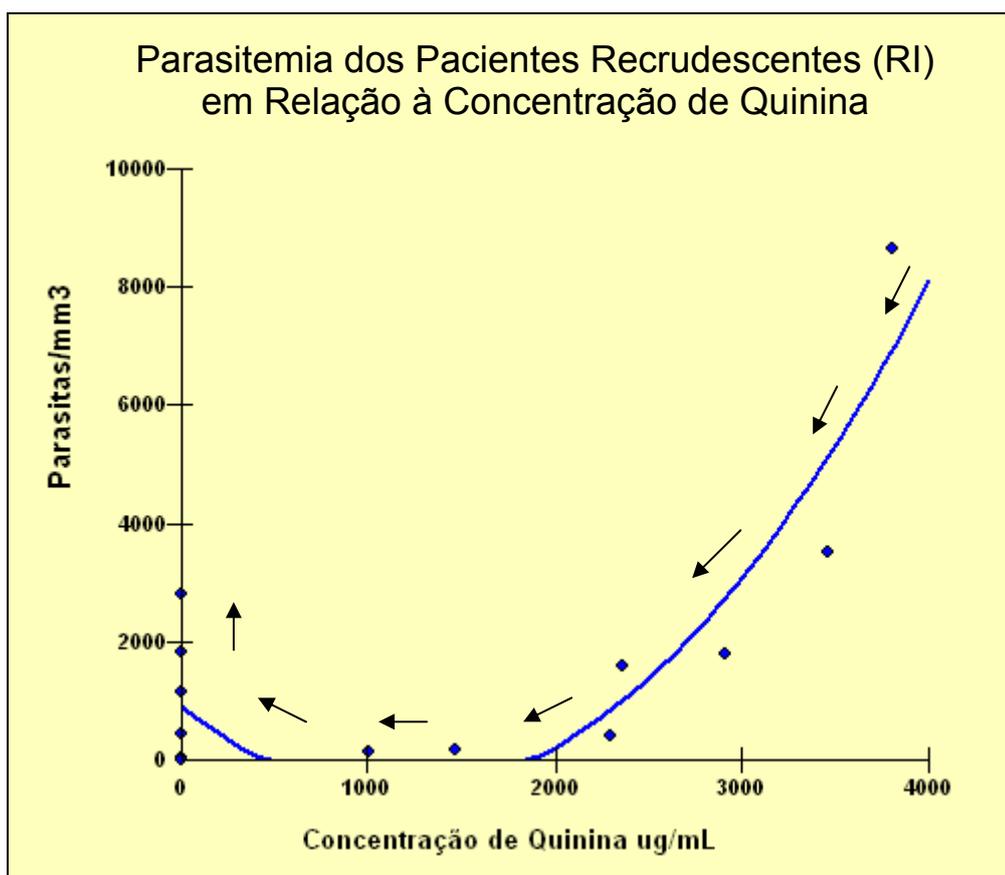


Figura 22 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes resistentes (RI) do grupo A em relação à concentração da quinina.

A correlação entre as concentrações plasmáticas da mefloquina e a parasitemia dos participantes do grupo B encontra-se apresentada na Figura 23. O teste da regressão polinomial quadrática ($Y' = a + (b_1)X + (b_2)X^2$) demonstrou que o número de parasitos/mm³ desses participantes depende da concentração plasmática da mefloquina. Sendo que, o coeficiente de regressão (r^2) = 0.9182 e o valor de F (regressão) foi estatisticamente significativo, $p = 0.0000 < 0.05$.

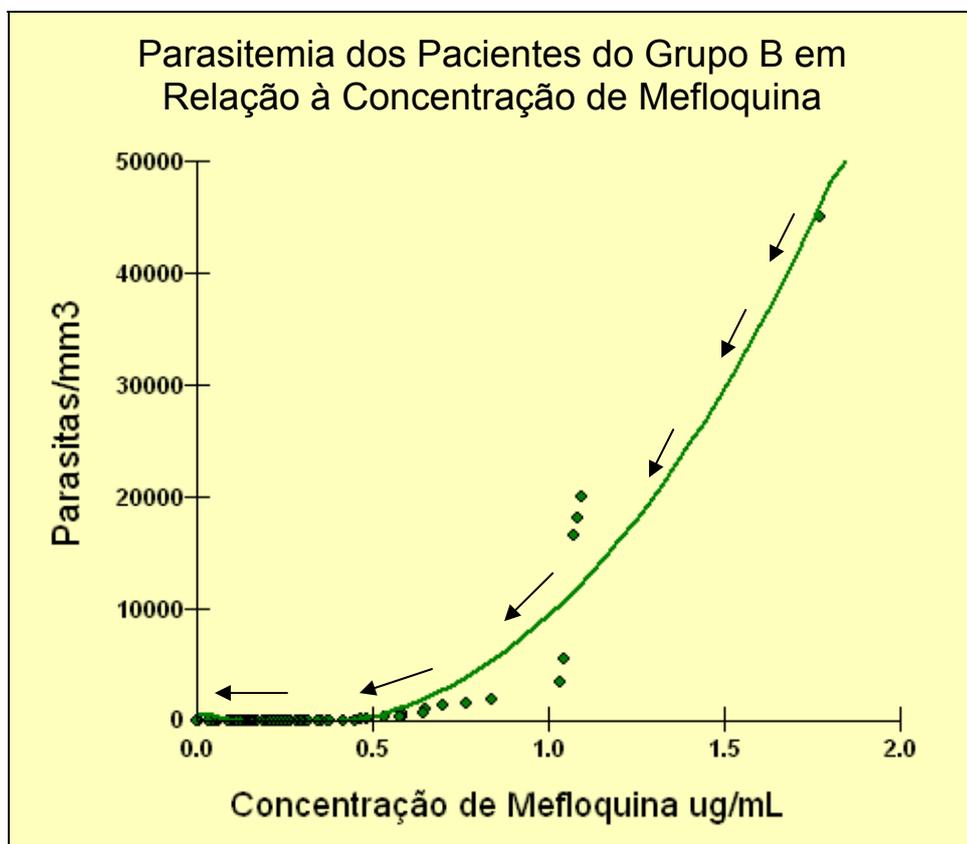


Figura 23 - Regressão polinomial quadrática da parasitemia dos pacientes do grupo B em relação à concentração da mefloquina.

4 DISCUSSÃO

A multiplicidade de esquemas terapêuticos, objetivando maior eficácia no controle de cepas resistentes do *P. falciparum*, visa contornar problemas regionais de resistência (Souza *et al.*, 1997). As razões para o desenvolvimento e a propagação da resistência do parasito às drogas incluem fatores díspares relacionados uso do antimalárico, aos aspectos intrínsecos da droga e de sua farmacocinética, as características do parasito, a imunidade do hospedeiro, o vetor e o ambiente (Bloland, 2001).

No Brasil o Ministério da Saúde recomenda como escolha para o tratamento das infecções por *Plasmodium falciparum* a quinina em três dias associada a doxiciclina em cinco dias, sendo o esquema alternativo a mefloquina em dose única (BRASIL/MS/FNS/CENEPI, 2001a).

Na Amazônia Legal o uso de medicamentos antimaláricos vem sendo acompanhado pela Rede Amazônica de Vigilância da Resistência às Drogas Antimaláricas, objetivando avaliar a manutenção da eficácia desses fármacos (RAVREDA) (OPAS/OMS, 2004).

Neste estudo os esquemas de primeira e segunda escolha recomendados pelo Ministério da Saúde foram acompanhados em seu progresso e avaliados por vinte e oito dias, sendo os teores sangüíneos desses fármacos monitorados em trinta participantes.

Os pacientes do grupo A tratado com quinina associado a doxiciclina, assim como, os do grupo B tratados com mefloquina foram predominantemente constituídos por adultos do sexo masculino. Entretanto, a proporção de menores de 15 anos de idade foi menor no grupo A com 14.3%

em comparação com o grupo B com 22.22%. A média de idade entre os dois grupos não apresentou diferença estatística significativa.

No que se refere à densidade parasitária, a média geométrica dos participantes do Grupo (A) subdivididos em sensíveis e resistentes (RI) não apresentou diferença estatística significativa em D0, D1, D2, D3, D5 e D7, assim como, a média geométrica da densidade parasitária dos participantes do grupo (A) e do grupo (B) em D0, também não apresentou diferença estatística significativa. Esses resultados sugerem a homogeneidade da densidade parasitária entre os grupos no início do seguimento.

A recuperação (cura) parasitológica da malária é avaliada convencionalmente pelo clareamento da parasitemia no esfregaço de sangue periférico (White & Krishna, 1989). Enquanto que, a eficácia do tratamento pela droga antimalárica é avaliada em termos da velocidade com que os sintomas desaparecem e a parasitemia declina (usualmente relatado como o tempo de clareamento da parasitemia) e a proporção de pacientes no qual a infecção recua dentro de um período definido (WHO, 1973).

Com relação ao tempo de clareamento da parasitemia tanto para os participantes do grupo A, quanto para o grupo B, o TCP ocorreu na primeira semana de tratamento, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os TCP dos dois grupos. Estes resultados corroboram com Leal *et al.*, (2003), que pesquisaram a resposta de portadores de malária falciparum, não-complicada, ao tratamento com quinino associado a doxiciclina em ensaio clínico aberto no Estado do Acre, onde, todos os 21 pacientes apresentaram TCP no período de 5 dias.

No que concerne à resposta clínica e parasitológica, os resultados deste estudo para o esquema quinina e doxiciclina concordam com os estudos anteriores nos estados da Amazônia brasileira (Calvosa *et al.*, 2002, Leal *et al.*, 2003), bem como, com estudos recentes realizados por Calvosa (2005), no estado do Amapá, onde o percentual da resposta clínica adequada ao tratamento classificada como sensível foi de 68,6% e o fracasso tardio do tratamento com resistência tipo RI foi de 33,3%.

O presente estudo vem corroborar com o de Calvosa (2005), visto que, o percentual da resposta clínica adequada ao tratamento classificado parasitologicamente como sensíveis foi de 66.7% havendo, entretanto, quatro casos (33,3%) de fracasso tardio do tratamento classificado parasitologicamente como resistência tipo RI, sem nenhum caso de RII ou RIII. Esses resultados reforçam a diminuição da eficácia do esquema de tratamento quinina associado a doxiciclina em casos de malária *falciparum* não complicada.

Neiva (1910), registrou no Brasil a ocorrência do primeiro insucesso no tratamento da malária causada por *P. falciparum* com quinina, e sugerindo que a seleção de parasitos resistentes acontece em decorrência do uso contínuo, prolongado ou em subdosagem das drogas, como sendo os principais fatores indutores de mutantes resistentes (Neiva, 1910, citado em Couto, 2001, p.22). No entanto, os fatores responsáveis pelo aparecimento e propagação da resistência do parasito não são completamente conhecidos. Porém a resistência do parasito pode acontecer para qualquer droga antimalárica e a pressão da droga é um pré-requisito de seleção crítico e essencial para o desenvolvimento desta resistência (Talisuna *et al.*, 2004).

Quanto a resposta clínica e parasitológica para o esquema da mefloquina, os dezoito participantes (100%) tiveram resposta clínica adequada (RCA) ao tratamento, sendo classificados parasitologicamente como sensíveis (S), resalta-se que, todos os pacientes que apresentaram resposta de resistência (RI) frente a quinina, também foram sensíveis a mefloquina,

Estes resultados são similares àqueles encontrados anteriormente na Amazônia, como os estudos de Cerutti Jr. *et al.* (1999), que acompanharam, 94 pacientes com malária por *P. falciparum* tratados com mefloquina (1000-mg em dose única de mefloquina), os quais responderam com 99% de cura, com a ocorrência de somente um caso de resistência RI.

Em outro estudo Magill *et al.*, (2004), avaliaram a eficácia da mefloquina na bacia Amazônica peruana realizando testes *in vivo* e não evidenciaram resistência, encontrando 100% de cura.

Calvosa (2005), ao avaliar a resistência e eficácia ao tratamento da malária no Estado do Amapá de 2001 a 2005, encontrou 97% de respostas sensíveis ocorrendo somente 3% de resistência (RI) com o uso da mefloquina.

Apesar de relatos de resistência *in vivo* na Amazônia brasileira (Cerutti Jr *et al.* 1999; Noronha *et al.*, 2000, Calvosa, 2005), assim como, de evidências da redução de sensibilidade *in vitro* em amostras isoladas dessa região (Santos *et al.*, 1987; Couto *et al.*, 1993; Calvosa *et al.*, 2000: Couto, 2001), os resultados obtidos no presente estudo, demonstram que a mefloquina continua apresentando uma alta taxa de cura no Estado do Amapá.

No que se refere à concentração plasmática da quinina, os valores expressos em média \pm desvio padrão em D1, D3 e D5 foram

respectivamente 2.5750 μ g/mL , 2.3334 μ g/mL e 0.532 μ g/mL para os pacientes sensíveis (S) e de 2.4667 μ g/mL, 2.1784 μ g/mL e 0.4500 para os paciente resistentes (RI). Estes resultados demonstram que as concentrações plasmáticas da quinina mantiveram-se elevadas nos primeiros dias de tratamento declinando posteriormente no período de convalescença, concordando com estudos de White *et al.*, (1982), nos quais evidenciaram que, as propriedades farmacocinéticas foram alteradas na fase aguda da malária por *P. falciparum*, com redução no volume aparente de distribuição da quinina que resultou em concentrações elevadas no sangue.

Os níveis aumentados de proteínas de ligação no plasma reduziram a fração livre da droga, causando o pico plasmático inicial, o que provavelmente explica por que as concentrações plasmáticas da quinina no presente estudo tenham se mantidas elevadas nos primeiros dias de seguimento do tratamento.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações plasmáticas da quinina nos pacientes sensíveis e recrudescentes em D1, D3 e D5, bem como, os perfis das concentrações plasmáticas da quinina na primeira semana de tratamento não diferiram entre os pacientes curados e aqueles cujas infecções recrudesceram. Assim, o efeito parasiticida máximo, e, por conseguinte, o mais elevado número de morte de parasitos, pode ser assumido neste primeiro ciclo de exposição à droga para todos os pacientes do grupo A.

Os primeiros resultados das concentrações de mefloquina *in vivo* em seres humanos foram obtidos por Desjardins *et al.*, (1979). Os quais

estudaram a farmacocinética da mefloquina em sangue total de vinte pacientes, destes, quatro receberam dose única 1000mg de mefloquina, o qual foi semelhante ao esquema empregado neste estudo. A mensuração da droga foi por absorção no UV usando HPLC, os valores em média \pm desvio padrão foram expressos em $\mu\text{g/mL}$ e o pico da concentração encontrado foi de $0.710 \pm 0.11\mu\text{g/mL}$.

Considerando que, a concentração plasmática da mefloquina no plasma é levemente mais baixa que no sangue total (Ter-Kuile *et al.* 1994), o presente estudo vem corroborar com Desjardins *et al.*, (1979), visto que, o pico da concentração plasmática da mefloquina foi de $0.709 \pm 0.4\mu\text{g/mL}$, medidos por absorção no UV usando HPLC. O pico da concentração foi encontrado em D1, sendo os outros valores determinados em D0 ($0 \mu\text{g/mL}$), D3 ($0.543 \mu\text{g/mL}$), D5 ($0.361 \mu\text{g/mL}$), D7 ($0.187 \mu\text{g/mL}$), D14 ($0.125 \mu\text{g/mL}$), D21 ($0.046 \mu\text{g/mL}$) e D28 ($0 \mu\text{g/mL}$) respectivamente.

O perfil da concentração plasmática da mefloquina demonstrado nesse estudo apresentou comportamento similar àqueles encontrados anteriormente por (Desjardins *et al.*, 1979; Schwartz *et al.*, 1982; Karbwang & White 1990; Palmer *et al.*, 1993), nos quais, a mefloquina apresentou eliminação plasmática longa, com variações individuais, entre 10 a 40 dias e média de 21 dias.

Drogas com uma meia-vida de eliminação longa tem duas valiosas propriedades terapêuticas. Primeiro, elas podem prover proteção à longo prazo contra reinfecção. Principalmente em áreas de moderada ou alta transmissão, porque são prevenidos episódios adicionais da doença. Isto ajuda

na recuperação da anemia, a principal causa de morbidez de malária e um contribuinte para mortalidade. De maneira semelhante, na malária epidêmica, onde a população é altamente suscetível, e a ocorrência da doença repentina pode ser de aproximadamente 100%, mas com epidemia de curta duração e infreqüente (Snow *et al.*, 1999) as drogas de meia-vida longas são de relevante valor. Segundo, as drogas de meia-vida longas não requerem várias administrações o que reduz o risco de sub dosagem e alguns dos problemas de submissão ao tratamento (Hastings *et al.*, 2002).

Porém, por serem excretadas lentamente, tais drogas poderão apresentar concentrações sub-terapêuticas, que, apesar de alcançar o propósito inicial de cura, podem constituir uma potente força seletiva para o aparecimento de resistência aos antimaláricos (Watkins & Mosobo 1993). Isto sugere que, drogas com meia-vida longa são benéficas à terapia individual, mas são desvantajosas à população.

A despeito da relativa facilidade de quantificar a carga de infecção em pacientes com malária, quando comparados aqueles com infecção bacteriana ou viral, existem poucas informações na relação entre as concentrações de antimaláricos no plasma *in vivo* e a resposta terapêutica (Simpson *et al.*, 2000; Pukrittayakamee *et al.*, 2003).

A relação concentração-efeito tem sido estudada extensivamente *in vitro*, mas a extrapolação direta para o *in vivo* não pode ser assumida sem a consideração de fatores adicionais. No ajuste artificial de culturas *ex vivo*, os parasitos da malária crescem em meio nutriente na ausência de células do hospedeiro ou de proteínas de ligação, enquanto as concentrações das drogas

antimaláricas permanece constante (Pukrittayakamee *et al.*, 2003).

Em relação a correlação entre as concentrações plasmáticas da quinina e a parasitemia dos participantes do grupo A classificados como sensíveis, o teste da regressão polinomial quadrática demonstrou que 94,23% da dinâmica da parasitemia dependeram da concentração plasmática da quinina.

No que se refere à correlação entre as concentrações plasmáticas da quinina e a parasitemia dos participantes do grupo A classificados como resistentes (RI), o teste da regressão polinomial quadrática demonstrou que, somente 76.70% da dinâmica da parasitemia foi explicado pela concentração plasmática da quinina.

Estimativas das concentrações *in vivo* de alcalóides da *cinchona* requeridas para uma resposta terapêutica adequada em pacientes com malária foram primeiramente feitas em uma série clássica de estudos conduzidos nos Estados Unidos após a Segunda Guerra Mundial (Earle *et al.*, 1948). Estes estudos confiaram em um ensaio espectrofotométrico impreciso para determinação da quinina e quinidina (que incluiu todos os metabólitos fluorescentes e que superestimou a verdadeira concentração dos referidos fármacos), estava baseado em amostragem sanguínea diária e as infecções foram induzidas artificialmente por uma única cepa (Earle *et al.*, 1948).

Em um estudo conduzido por Pukrittayakamee *et al.*, (2003), a concentração plasmática da quinina durante o de tratamento de sete dias e a subsequente resposta terapêutica foi estudada em 30 pacientes adultos com malária *falciparum* não complicada monitorados durante ≤ 28 dias, que

receberam um regime oral somente com quinina (10mg/kg/dia) durante sete dias (n 22) ou em combinação com Rifampin® (n 8). A utilização da Rifampin® resultou em um marcado aumento no sistema de liberação da quinina, isto levou a redução da concentração da quinina no sangue influenciando na falha do tratamento. Os resultados desse estudo sugerem uma concentração parasiticida mínima (MPC) da quinina no plasma em média de 3.4 µg/mL e uma concentração mínima inibitória (MIC) de 0.7 µg/mL para malária por *P. falciparum* não complicada na Tailândia, e concluíram que, para assegurar a cura, a concentração parasiticida mínima precisa ser excedida durante quatro ciclos assexuados (aproximadamente 6 dias), quando da utilização desse esquema terapêutico.

Estudos realizados por Couet *et al.*, (1991), em trinta e seis pacientes portadores de malária grave na África divididos em dois grupos de igual tamanho, onde o grupo A foi tratado com quinina na dose de 20mg/kg por administração endovenosa, e o grupo B foi tratado igualmente com a quinina em combinação com a doxiciclina em dose igual a 200mg/dia pela mesma via, os autores observaram que, não houve nenhum efeito da doxiciclina sob a farmacocinética da quinina na fase aguda da malária. No entanto, devido a doxiciclina ser um esquizonticida de ação lenta, usado como antimalárico complementar, sua adequada absorção é primordial para perfazer a eliminação total dos parasitos no indivíduo (Newton *et al.*, 2005).

No presente estudo a concentração plasmática da doxiciclina em D3 para os os participantes sensíveis foi de $1,1275 \pm 0,1054$ µg/mL, e para os participantes recrudescentes foi de $1,3425 \pm 0,8262$ µg/mL, não houve

diferença estatisticamente significativa nas concentrações plasmáticas entre sensíveis e resistentes (RI).

A concentração mínima efetiva de doxiciclina é de 0.8µg/ml no soro (Doxycycline.com, 2005), os resultados demonstraram que esta concentração foi adequadamente alcançada para todos os pacientes do grupo A. Não houve diferença significativa nos perfis das concentrações plasmática da quinina e nos níveis plasmáticos de doxiciclina em D3, tanto para os pacientes sensíveis, como para os resistentes (RI), sugerindo que outros fatores influenciaram na recrudescência da infecção. Possivelmente a pressão de seleção da droga exercida sob os parasitos, pode ter selecionado mutantes resistentes para as concentrações da quinina+doxiciclina utilizada nesse esquema terapêutico, estudos posteriores serão necessários para elucidar esse questionamento.

No que se refere à correlação entre as concentrações plasmáticas de mefloquina e a parasitemia dos participantes do grupo B, onde todos os dezoito pacientes tiveram resposta clínica adequada (RCA) ao tratamento e foram classificados parasitologicamente como sensíveis (S), o teste da regressão polinomial quadrática demonstrou que 91.82% da dinâmica da parasitemia desses pacientes dependeram da concentração plasmática de mefloquina.

Nosten *et al.*, (1987), ao investigarem o tratamento da malária na Costa da Birmânia Tailandesa com mefloquina – sulfadoxina – pirimentamina observaram que, nos pacientes cujos parasitos foram relativamente sensíveis, as concentrações parasiticidas mínimas estimadas *in vivo* foram baixas (menos

que 500ng/mL), conseqüentemente a taxa de redução dos parasitos foram mantidas por tempo suficiente para completa eliminação da infecção.

Os resultados do presente estudo similarmente demonstraram que todos os parasitos foram sensíveis a mefloquina resultando na completa cura dos pacientes, houve uma correlação altamente significativa entre a concentração plasmática e a parasitemia ao longo de 28 dias de seguimento. Isto sugere que houve a manutenção da concentração durante um período de tempo necessário para completa eliminação dos parasitos, corroborando com estudo de Wernsdorfer, (1994), que relatou, ser imperiosa essa prerrogativa.

Devido a sua ampla incidência e aos efeitos debilitantes, a malária é a doença que mais contribui para a decadência do homem da Região Amazônica. A utilização de drogas e esquemas de tratamentos seguros e eficazes, são pressupostos básicos para a efetividade e alcance da redução da morbimortalidade pela malária (Brasil/MS/SVS, 2005). Nesse sentido, os resultados que foram encontrados neste estudo vêm contribuir para a avaliação da farmacoresistência dos parasitos da malária na Amazônia brasileira.

5. CONCLUSÃO

- O percentual de 33.3% de resistência do tipo RI ao esquema terapêutica quinina associado a doxiciclina, reforça a diminuição da eficácia desse esquema em casos de malária *falciparum* não complicada.
- No grupo A, em 94,23% pacientes sensíveis o comportamento da parasitemia foi correlacionado com o perfil da concentração plasmática da quinina, mas, somente 76,70% dos pacientes recrudescentes apresentaram essa correlação.
- Houve absorção adequada da quinina e doxiciclina tanto para os pacientes sensíveis, quanto, para os resistentes (RI), portanto, não foi a má absorção da droga a causa da recrudescência. Os resultados sugerem que houve resistência do *P. falciparum* ao tratamento administrado.
- A mefloquina continua apresentando uma alta taxa de cura no estado do Amapá.
- A correlação entre as concentrações plasmáticas de mefloquina e a parasitemia dos participantes do grupo B sugere que houve a absorção da droga e manutenção adequada da concentração durante um período de tempo necessário para completa eliminação dos parasitos.
- A concentração plasmática de mefloquina manteve níveis residuais da droga, constituindo uma força seletiva para o surgimento da resistência para mefloquina no futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYRES, M., AYRES JR., M., AYRES, D.L. SANTOS, A.S. dos. **BioEstat 3.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil Mamirauá, 2003.
- ASAWAMAHASAKDA, W., ITTARAT, S., CHANG, C. C., MCELROY, P., MESHNICK, S. R. Effects of antimalarials and proteinase inhibitors on plasmodial haemozoin production. **Molecular and Biochemical Parasitology**, **67**: 183–191, 1994.
- BAIRD, J.K. Drug Therapy: Effectiveness of antimalarial Drugs. **Massachusetts Medical Society**. **352**: 1565-1577, 2005.
- BARCELLOS, N. M. S. **Farmacocinética**. Disponíveis em < <http://www.farmacia.ufmg.br/cespmed/text7.htm>. acesso outubro de 2005.
- BERGQVIST, Y., CHURCHILL, F. Detection and determination of antimalarial drugs and their metabolites in body fluid. **Journal of Chromatography** **434**: 1-20, 1988.
- BLOLAND, P.B. Drug resistance in malaria. **World Health Organization /CDS/CSR/DRS** ;12-13, 2001.
- BOULOS, M., DUTRA, A. P., DISANTI, S.M., SHIROMA, M., AMATO NETO, V. Avaliação clínica do quinino para o tratamento de malária por *plasmodium falciparum*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **28**: 211-213, 1997.
- BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA / ASSESORIA DE DESCENTRALIZAÇÃO E CONTROLE DE ENDEMIAS CENTRO

NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA. **Manual de Terapêutica da Malária**, Brasil, 2001a.

BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE/ REDE AMAZÔNICA DE VIGILÂNCIA DA RESISTÊNCIA ÀS DROGAS ANTIMALÁRICAS. **Protocolo para avaliação da eficácia terapêutica *in vivo* dos medicamentos utilizados para o tratamento da malária da malária por *Plasmodium falciparum* sem complicações no Brasil**, 2001b.

BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Guia De Vigilância Epidemiológica**, 5 ed. V II. Brasília, Brasil, 477-96p., 2003a.

BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Boletim Epidemiológico da Malária** n.º 02-2003, Brasil, 2003b.

BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Situação Epidemiológica da Malária no Brasil 2005**, Brasil, 2005.

BRUCE-CHWATT, L. J. **Essential Malariology**. New York, Wiliam Heinemann Medical Books Ltd, 1985.

BRUCE-CHWATT, L.J., BLACK, R.H., CANFIELD, C.J., CLYDE, D.F., PETERS, W., WERNSDORFER, W. H. *Chemotherapy of malaria*. 2nd rev. **WHO Monograph Series No.27**, Geneva, 1986.

CALVOSA, V.S.P., ADAGU, I.S., PÓVOA, M.M. *Plasmodium falciparum* : emerging *in vitro* mefloquina resistance in Para State, North Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**,

95: 330-331, 2000.

CALVOSA, V.S.P., LIMA, E., COUTO, A.A. Protocolo multicêntrico: avaliação da resposta terapêutica do *Plasmodium falciparum* para dois esquemas antimaláricos: sulfato de quinino (3 dias) + Doxiciclina (5 dias) e mefloquina (dose única) no município de Macapá-AP, de setembro a novembro de 2001. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **35:** 351, 2002.

CALVOSA, V.S.C. **Resistência e eficácia ao tratamento da malária no Estado do Amapá, 2001 a 2005.** Tese de Doutorado. Belém, Universidade Federal do Pará, 2005. p.

CENTERS OF DISEASE CONTROL E PREVENTION. **Division of Parasitic Diseases – Malaria. Parasitic Disease Information**, 2002. Disponível em < <http://www.cdc.gov/ncidod/dpd/parasites/malaria/default.htm> > Acesso em: 15 janeiro 2004.

CERUTTI, C.Jr, DURLACHER, R.R., DE ALENCAR, F.E.C., SEGURADO, A.A.C., PANG, L.W. *In vivo* efficacy of mefloquine for the treatment of falciparum malaria in Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, **180:** 2077-2080, 1999.

CHANTHAVANICH, P., LOOAREESUWAN, S., WHITE, N.J., WARRELL, D.A., WARRELL, M.J., DIGIOVANNI, J.H., VON BREDOW, J. Intragastric mefloquine is absorbed rapidly in patients with cerebral malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **34:** 1028-36, 1985.

CHEMICAL LAND 21.COM. **Doxycycline Hyclate**. Disponível em < <http://www.chemicalland21.com/lifescience/phar/DOXYCYCLINE%20HYCLATE.htm> >

Acesso em: 10 março, 2005.

CHEMICAL LAND 21.COM. **Quinine**. Disponível em <[http://www.chemicalland21.com/lifescience/phar/\(-\)-QUININE.htm](http://www.chemicalland21.com/lifescience/phar/(-)-QUININE.htm). Acesso em: 10 março, 2005.

CHEVLI, R., FITCH, C. D. The antimalarial drug mefloquine binds to membrane phospholipids. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **21**: 581–586, 1982.

CHOPRA, I. Mode of action of the tetracyclines and the nature of bacterial resistance to them, In: **Handbook of Experimental Pharmacology**. Springer-Verlag KG, J. J. Hlavka and J. H. Boothe (ed.). Berlin, 1985. p. 317-392.

CHOU, A. C., CHEVLI, R., FITCH, C. D. Ferriprotoporphyrin IX fulfills the criteria for identification as the chloroquine receptor of malaria parasites. **Biochemistry** **19**: 1543– 1549, 1980.

CHOU, A. C., FITCH, C. D. Control of heme polymerase by chloroquine and other quinoline derivatives. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, **195**: 422–427, 1993.

CIÊNCIA VIVA. **Health in the XXI Century**. Disponível em <http://www.cienciaviva.pt/healthXXI/reynaldo/img/mapa.jpg>. Acesso em agosto 2004.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 6 ed. Capinas, Editora da UNICAMP. 1995. 279p.

COUET, W., LAROCHE, R., FLOCH, J.J., ISTIN, B., FOURTILLAN, J.B., SAUNIERE, J.F. Pharmacokinetics of quinine and doxycycline in patients with acute falciparum malaria: a study in Africa. **Therapeutic Drug Monitoring**, **13**: 496-501, 1991.

- COUTO, A.A., CALVOSA, V.S., LIMA, J.E., SOUZA, J.M. Evolução da resistência *in vitro* do *Plasmodium falciparum* a antimaláricos em área de prospecção de ouro no Estado Do Amapá, entre 1983 e 1990. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **26**: 215-220. 1993.
- COUTO, A.A. **Caracterização de cepas de *Plasmodium falciparum* e monitoramento longitudinal da resistência a drogas em duas áreas da Amazônia brasileira.** Tese de Doutorado. Belém, Universidade Federal do Pará & Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001. 138p.
- DEANE, L.M. Malaria vectors in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **81**: 5-14, 1986.
- DEANE, L.M. A cronologia da descoberta dos transmissores da malária na Amazônia brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **84**: 149 -56, 1989.
- DE OLIVEIRA-FERREIRA, J., LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R., TEVA, A., DEANE, L.M., DANIEL-RIBEIRO, C.T. . Natural malaria infections in anophelines in Rondonia State, Brazilian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **43**: 6-10, 1990.
- DESJARDINS, R.E., PAMPLIN, C.L., BREDOW, J. VON., BARRY, K.G., CANFIELD, C.J. Kinetics of a new antimalaria, mefloquine. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, **26**: 373-379, 1997.
- DE SOUZA, J.M., HEIZMANN P., SCHWARTZ D.E. Single-dose kinetics of mefloquine in Brazilian male subjects. **Bulletin of World Health Organization**, **65**: 353-356, 1987.
- DESNEVES, J., G., THORN, A., BERMAN, D., GALATIS, N., LA GRECA, J.,

- SINDING, M., FOLEY, L. W., DEADY, A. F. Cowman, and L. Tilley. Photoaffinity labelling of mefloquine-binding proteins in human serum, uninfected erythrocytes and *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, **82**: 181–194, 1996.
- DORN, A., STOFFEL, R., MATILE, H., BUBENDORF, A., RIDLEY, R.G. Malarial haemozoin/beta-haematin supports haem polymerization in the absence of protein. **Nature**, **374**: 269-271, 1995.
- DORN, A., VIPAGUNTA, S.R., MATILE, H., JAQUET, C., VANNERSTROM, J.L., RIDLEY, R.G. An assessment of drug-haematin binding as a mechanism for inhibition of haematin polymerisation by quinoline antimalarials. **Biochemical Pharmacology**, **55**: 727–736, 1998.
- DOXYCYCLINE.COM **Prescribing information for doctors and healthcare professionals**. Disponível em <http://www.doxycycline.com/prescribing.htm>
Acesso em: 15 Março 2005.
- DUA, K.V., SARIN, R., PRAKASH, A. Determination of quinine in serum, plasma, red blood cells and whole blood in healthy and *Plasmodium falciparum* malaria cases by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, **614**: 87-93p, 1993.
- DUTRA, A. P. **Malária – Profissionais de saúde**, 2001. Disponível em:
< [http:// www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria/texto_malaria_pro.htm](http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria/texto_malaria_pro.htm) >.
Acesso em: 11 abril 2004.
- EARLE, D. P., BERLINER, R. W., TAGGART, J. V., WELCH, W. J., ZUBROD, C. G., BOWMAN-WISE, N., CHALMERS, T. C., GRIEF, R. L., SHANNON J. A. Studies on the chemotherapy of the human malarías. II. Method for the

- quantitative assay of suppressive antimalarial action in falciparum malaria. **Journal Clinical Investigation**, **27**:75–79, 1948.
- EDSTEIN, M.D., VEENENDAAL, J.R., HYSLOP, R. Excretion of mefloquine in human breast milk. **Chemotherapy**, **34**:165-169, 1988.
- EGAN, T. J., ROSS, D. C., ADAMS, P. A., Quinoline anti-malarial drugs inhibit spontaneous formation of beta-haematin (malaria pigment). **Federation of European Biochemical Societies Letters**, 352 – 354, 1994.
- EGAN, T. J., MARQUES, H .M. The role of haem in the activity of chloroquine and related antimalarial drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, **493**: 190-192, 1999.
- FARMACOPÉIA PORTUGUESA. In: **Doxiciclina**. VII edição oficial, volumes 1^o e 2^o, (eds) Instituto Nacional de Farmácia e do Medicamento, 2002.
- FOLEY, M., L. TILLEY. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance. **International Journal for Parasitology** , **27**: 231–240, 1997.
- FOLEY, M., TILLEY, L. Quinoline Antimalarials: Mechanisms of actions and Resistance Prospects for New agents. **Pharmacology and Therapy**, **79**: 55-87, 1998.
- FORATTINI, O.P. Família Culicidae. In: **Entomologia Médica**. Forattini O.P, EDUSP (eds.) São Paulo, 1962, 123 – 301p.
- FRANKE, U. Drug monitoring of quinine by HPLC in cerebral malaria with acute renal failure treated by haemofiltration. **European Journal of Clinical Pharmacology**, **33**: 293-296, 1987.
- GARNHAM, P.C.C., DUGGAN, A.J. **Catalogue of the Garnhan Collection of Malaria Parasites and Other Haemosporidia**. London, WilliamClowes Ltd,

1986, 191p.

GEARY, T. G., BONANNI, L. C., JENSEN, J. B., GINSBURG, H. Effects of combinations of quinoline-containing antimalarials on *Plasmodium falciparum* in culture. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, **80**: 285–291, 1986.

GREENWOOD, B.M., BOJANG, K., WHITTY, C. J., TARGETT, G.A. Malaria (Review). **Lancet**, **365(9469)**: 1487-1497, 2005.

GUSTAFSSON, L.L., BEERMAN, B., ABBI,Y.A. **Handbook of drugs for Tropical Parasitic Infection**. London. New York and Philadelphia, 58-59/122-126p., 1987.

HAKANSON, A., LANDBERG-LINDGREN A., BJORKMAN, A. Comparison of the activity in vitro of mefloquine and two metabolites against *Plasmodium falciparum*. **Transactions of the Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **84**: 503-4, 1990.

HASTINGS, I.M., WATKINS, W. M., WHITE, N.J. The evolution of drug-resistant malaria: the role of drug elimination half-life. **Transactions of the Royal Society**, **357**: 505-519, 2002.

HAWLEY, S. R., BRAY, P. G., MUNGTHIN, M. ATKINSON, J. D., O'NEILL, P. M., WARD, .S. A. Relationship between antimalarial drug activity, accumulation, and inhibition of heme polymerization in *Plasmodium falciparum* in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **42**: 682–686, 1998.

HEDDINI, A. Malaria pathogenesis: a jigsaw with an increasing number of pieces. **International Journal for Parasitology**, **32**: 1587 – 1598, 2002.

- JACOBS, G. H., AIKAWA, M., MILHOUS, W. K. AND RABBEGE, J. R. An ultrastructural study of the effects of mefloquine on malaria parasites. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, **36**: 9–14, 1987.
- JUMA F. D., OGETO, J.O. Mefloquine disposition in normals and in patients with severe *Plasmodium falciparum* malaria. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, **14**: 15-17, 1989.
- KAPETANOVIC, I.M., DIGIOVANNI, J.D., BARTOSEVICH, J., MELENDEZ, V., VON BREDOW, J., HEIFFER, M. Analysis of the antimalarial, mefloquine, in blood and plasma using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, **277**: 209-215, 1983.
- KARBWANG, J., BUNNAG, D., BRECKENRIDGE, A.M., BACK, D.J. The pharmacokinetics of mefloquine when given alone or in combination with sulphadoxine and pyrimethamine in Thai male and female subjects. **European Journal of Clinical Pharmacology**, **32**:173–177, 1987.
- KARBWANG, J., BACKJ D.J., BUNNAG, D., BRECKENRIDGE, A.M. A comparison of the pharmacokinetics of mefloquine in healthy Thai volunteers and in Thai patients with falciparum malaria. **European Journal of Clinical Pharmacology**, **32**: 677-680, 1988.
- KARBWANG, J., WHITE, N.J. Clinical pharmacokinetics of mefloquine. **Clinical Pharmacokinetics**, **19**: 264-279, 1990.
- KARLE, J. M., KARLE, I. L. Crystal Structure of (–)-Mefloquine Hydrochloride Reveals Consistency of Configuration with Biological Activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **46**: 1529–1534, 2002.
- KIRCHGATTER, K., DEL PORTILLO, H. A. Clinical and molecular aspects of

- severe malaria. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, **77**: 455-475, 2005.
- KRONGSTAD, D.J., SCHLESINGER P.H. A perspective on antimalarial action. **Biochemical Pharmacology**, **35**: 547-552, 1986.
- LARIAM PRODUCT MONOGRAPH, **mefloquine hydrochloride tablets - Antimalarial Agent**. Disponível em: < <http://www.rochecanada.com/pdf/lariampmE.pdf> >. Acesso em 20 setembro 2005.
- LIMA, R.D. **Manual de farmacologia clinica, terapêutica e toxicologia**. Guanabara Kogan,1992.
- LEAL, O., LEAL, E. A. S., BORGES JÚNIOR, F. R. P., PAEZ, M. L. T., TEODÓSIO, S., TAVARES-NETO, J. Resposta clínico-parasitológica ao tratamento com quinino associado à doxiciclina em casos de malária falciparum não-complicada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **36**: 751-754, 2003.
- LEVINE, N.D. Blood parasites: The malaria and related parasites. In: **The Protozoan Phylum Apicomplexa, CRC Press Inc. Raton Florida. 02**: 11-21, 1988.
- LOOAREESUWAN, S. WHITE, N.J., WARRELL, D.A., FORGO. I., DUBACH, U.G., RANALDER, U.B., SCHWARTZ, D.E. Studies of mefloquine bioavailability and kinetics using a stable isotope technique: a comparison of Thai patients with falciparum malaria and healthy Caucasian volunteers. **British Journal of Clinical Pharmacology**, **24**: 37-42, 1987.
- MAGILL, A.J., ZEGARRA, J., GARCIA, C., MARQUIÑO, W., RUEBUSH II, T. K. Efficacy of sulfadoxine-pyrimethamine and mefloquine for the treatment

of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in the Amazon basin of Peru. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37**: 279-281, 2004.

MARTINDALE - THE COMPLETE DRUG REFERENCE. In: **Quinina, Doxycycline, Mefloquina**. Editor Sweetman, S.C. (ed). Pharmaceutical Press, thirty-third edition, London, 2002. 445p, 200p, 438p.

MOUCHET, J. Agriculture and vector resistance. **Insect Sci Applic** **9**: 297-302, 1988.

NA-BANGCHANG, K., DAVIS, T.M., LOOAREESUWAN. S., WHITE, N.J., BUNNAG, D., KARBWANG, J. Mefloquine pharmacokinetics in pregnant women with acute falciparum malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**, **88**: 321-323, 1994.

NEWTON, P.N., CHAULET, J.F., BROCKMAN, A., CHIERAKU, L. W., DONDORP, A., RUANGVEERAYUTH, R., LOOAREESUWAN, S., MOUNIER, C., WHITE, N.J. Pharmacokinetics of Oral Doxycycline during Combination Treatment of Severe Falciparum Malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **49**: 1622-1625, 2005.

NORONHA, E., ALECRIM, M.G., ROMERO, G.A., MACEDO, V. Resistência à mefloquina do tipo RIII em crianças com malária *falciparum* em Manaus, AM, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33**: 201-205, 2000.

NOSTEN, F., IMVITHAYA, S., VINCENTI, M., DELMAS, G., LEBIHAN, G., HAUSLER, B., WHITE, N. J. Malaria on the Thai-Burmese border:

treatment of 5,192 patients with mefloquine-sulfadoxine-pyrimethamine.

Bulletin of World Health Organization, **65**:891–896, 1987.

OLLIARO, P. L., CASTELLI, F., CALIGARIS, S., DRUILHE, P., CAROSI, G.
Ultrastructure of *Plasmodium falciparum* in vitro. II. Morphological patterns
of different quinolines effects. **Microbiológica** **12**: 15–28, 1989.

ORADELL, N.J. Quinamm (Merrell Dow). In: PDR Physicians' desk reference.
Medical Economics Comunucation, **45**: 1308-1309,1991.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD / ORGANIZACIÓN
MUNDIAL DE LA SALUD. Manual para el diagnostico microscopico de la
malaria. **Publicación Científica, OPS/OMS, nº 276**, 1975.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE / ORGANIZAÇÃO MUNDIAL
DA SAÚDE. **126^a SESSÃO DO COMITÊ EXECUTIVO-MALÁRIA**,
Washington, 2000.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE / ORGANIZAÇÃO MUNDIAL
DA SAÚDE. **BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO: 22**, n.º 1, 2001.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD / ORGANIZACIÓN
MUNDIAL DE LA SALUD / RAVREDA-AMI. disponível em <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/ravreda-ami.htm> acessado em 11/04/2004.

ORJIH, A.U., RYERSE, J.S., FITCH, C.D. Hemoglobin catabolism and the
killing of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* by chloroquine.
Experientia, **50**: 34–39, 1994.

PAGOLA, S., STEPHENS, P.W., BOHLE, D. S., KOSAR, A. D., MADSEN, S. K.
The structure of malaria pigment β -haematin. **Nature**, **404**: 307-310, 2000.

PALMER, K.J., HOLLIDAY, S.M., BROGDEN, R.N. Mefloquine, a review of its

antimalarial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy.

Drugs, 45: 430-475, 1993.

PANISKO, D.M., KEYSTONE, J.S. Treatment of malaria. **Drugs, 39:** 160-189, 1990.

PEREZ C., CARLOS. Measurement of plasmatic Levels. **Revista chilena de infectologia, 19:** 33-37, 2002.

PETERS, W., HOWELLS, R. E., PORTUS, J., ROBINSON, B. L., THOMAS, S., WARHURST, D. C. The chemotherapy of rodent malaria, XXVII. Studies on mefloquine (WR 142,490). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 71:** 407-418, 1977.

PETERS, W. Drug resistance in malária parasites of animals and man. **Advances in Parasitology, 41:** 1-62, 1998.

PHILLIPS, R.E. Quinine pharmacokinetics and toxicity in pregnant and lactating women with *falciparum* malaria. **British Journal of Clinical Pharmacology, 21:** 677-683, 1986.

PÓVOA, M.M., SILVA, A.N.M., SANTOS, C.C.B., SEGURA, M.N.O., MACHADO, R.L.D. Malaria transmission. **Ciência e Cultura, 52:** 208 -12, 2000.

PUKRITTAYAKAMEE, S., WANWIMOLRUK, S., STEPNIEWSKA, K., JANTRA, A., HUYAKORN, S., LOOAREESUWAN, S., WHITE, N.J. Quinine Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships in Uncomplicated *Falciparum* Malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:** 3458-3463, 2003.

RACHOU, R.G. Anofelinos no Brasil: comportamento das espécies vetoras da

malária. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** **10**: 145-181,1958.

RAYNES, K., FOLEY, M., TILLEY, L., DEADY, L. Novel bisquinoline antimalarials: synthesis, antimalarial activity na The *pfmdr1* gene of *Plasmodium falciparum* confers cellular resistance to antimalarial drugs in yeast cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of América**, **93**: 9942–9947, 1996.

RIBEIRO, M. C. DE A., AUGUSTO, O., FERREIRA, A. M. da C. Influence of quinoline-containing antimalarials in the catalase activity of ferriprotoporphyrin IX. **Journal of Inorganic Biochemistry**, **65**: 15–23, 1997.

RIDLEY, R. G. Haemoglobin degradation and haem polymerization as antimalarial drug targets. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, **49**: 43–48, 1997a.

RIDLEY, R. G., A. DORN, S. R. Vipagunta, and J. L. Vennerstrom. Haematin (haem) polymerization and its inhibition by quinoline antimalarials. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, **91**: 559–566, 1997b.

RUSSEL PF, WEST LS, MANWELL RD. **Practical Malariology**. W. B. Saunders Company (eds.), Philadelphia , 1946.

RUZ, N., ZABALA, M., KRAMER, M.G., CAMPANERO, M.A., DIOS-VIÉITEZ, M.C., BLANCO-PIETRO, M.J. Rapid and simple determination of doxycycline in serum by high-performance liquid chromatography application to particulate drug delivery systems. **Journal of Chromatography A**, **1031**: 295-301, 2004.

- SANTOS, M.A.V., COUTO, A.A., OLIVEIRA, S.G., ROSÁRIO, V.E. Estudos *in vitro* dos níveis de resistência do *Plasmodium falciparum* a drogas, de 1983 a 1986. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **29**: 346-353, 1987.
- SAIVIN, S., HOUIN, G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. **Clinical Pharmacokinetics**, **15**: 355-66, 1988.
- SCHMIDT, L. H., CROSBY, R., RASCO, J., VAUGHAN, D. Antimalarial activities of various 4-quinolinemethanols with special attention to WR-142,490 (mefloquine). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **13**: 1011-1030, 1978a.
- SCHMIDT, L. H., CROSBY, R., RASCO, J., VAUGHAN, D. Antimalarial activities of the 4-quinolinemethanols WR-184,806 and WR-226,253. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **14**: 680-689, 1978b.
- SEGURA, M.N.O. Estudo do *Anopheles (Nyssorhyncus) darlingi* Root 1926 e *Anopheles (Nyssorhyncus) albitarsis* Arribalzaga 1878 (Diptera: Culicidae) como vetores de malária numa mesma área de transmissão e caracterização das espécies do complexo albitarsis. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Pará, Belém, 1998.
- SCHWARTZ, D.E., ECKERT, G., HARTMANN, D., WEBER, B., RICHARD-LENOBLE, D., EKUE, J.M., GENTILINI, M. Single Dose Kinetics of Mefloquine in Man. **Chemotherapy**, **28**: 70-84, 1982.
- SCHWARTZ, D.E., ECKERT, G., EKUE, J.M. Urinary excretion of mefloquine and some of its metabolites in African volunteers at steady state. **Chemotherapy**, **33**: 305-308, 1987.

- SHANNON, R.C. Anophelines of the Amazon Valley. **Proceedings of the Entomological Society of Washington, 35**: 117-143, 1933.
- SIMPSON, J.A., WATKINS, E.R., PRICE, R.N., AARONS, L., KYLE, D.E., SINGHASIVANON, V., CHONGSUPHAJASIDDHI, T., SABCHAREON, A., ATTANATH, P., WEBSTER, H.K., EDSTEIN, M.D., LIKA, I.D. Pharmacokinetic study of mefloquine in Thai children aged 5-12 years suffering from uncomplicated *falciparum* malaria treated with MSP or MSP plus primaquine. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmokinetics, 19**: 27-32, 1994.
- SLATER, A. F. G., CERAMI, A. Inhibition by chloroquine of a novel heme polymerase enzyme activity in malaria trophozoites. **Nature, 355**: 167–169, 1992.
- SLATER, A. F. G. Chloroquine: mechanism of drug action and resistance in *Plasmodium falciparum*. **Pharmacology and Therapeutics, 57**: 203–235, 1993.
- SNOW, R. W., CRAIG, M., DEICHMANN, U., MARSH, K. Estimating mortality, morbidity and disability due to malaria among Africa's non-pregnant population. **Bulletin of World Health Organization, 77**: 624–640, 1999.
- SNOW, R.W., GUERRA, C.A., NOOR, A.M., MYINT, H.Y., HAY, S.I. The global distribution of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature, 434**: 214-217, 2005.
- SOUZA, J.M., COUTO, A.A.R.D., SILVA, E.B., ABDON, N.P., SILVA, R.S.U. Malária. In: **Doenças infecciosas e parasitárias: Enfoque amazônico**. Leão RNQ (eds) CEJUP, Belém, p. 645-669, 1997.

- STEPNIEWSKA, K., TAYLOR, W.R., MAYXAY, M., PRICE, R., SMITHUIS, F., GUTHMANN, J.P., BARNES, K., MYINT, H.Y., ADJUIK, M., OLLIARO, .P, PUKRITTAYAKAMEE, S., LOOAREESUWAN, S., HIEN, T.T., FARRAR, J., NOSTEN, F., DAY, N..P, WHITE, N.J. In Vivo Assessment of Drug Efficacy against *Plasmodium falciparum* Malaria: Duration of Follow-Up. **Antimicrobial Agents e Chemotherapy**, **48**: 4271–4280, 2004.
- SUEBSAENG, L., WERNSDORFER, W.H., ROONEY, W. Sensitivity to quinine and mefloquine of *plasmodium falciparum* in Thailand. **Bulletin of World Health Organization**, **64**: 759-765, 1986.
- SUGIOKA Y, SUZUKI M. The chemical basis for the ferriprotoporphyrin IX-chloroquine complex induced lipid peroxidation. **Biochimica at Biophysyca Acta**, **1074**:19-24, 1991.
- SULLIVAN JR, D. J., MATILE, H., RIDLEY, R. G., GOLDBERG, D. E. A common mechanism for blockade of heme polymerization by antimalarial quinilines. **Journal of Biological Chemistry**, **273**: 3103-3107, 1998.
- SUPANARANOND, W. Disposition of oral quinine in acute falciparum malaria. **European Journal of Clinical Pharmacology**, **40**: 49-52, 1991.
- TALISUNA, A. O., BLOLAND, P., D’ALESSANDRO, U. History, Dynamics, and Public Health Importance of Malaria Parasite Resistance **Clinical Microbiology Reviews**. **17**: 235–254, 2004.
- TAVARES, W. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos. In: **Tetraciclinas**. Atheneu (Eds), São Paulo, 2001, 735 -736 p.
- TER-KUILE, F. O., TEJA-ISAVATHARM, P., EDSTEIN, M. D., KEERATITHAKUL, D., DOLAN, G., NOSTEN, F., PHAIPUN, L.,

- WEBSTER, H. K., WHITE, N. J. Comparison of capillary whole blood, venous whole blood, and plasma concentrations of mefloquine, halofantrine, and desbutyl-halofantrine measured by high-performance liquid chromatography. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **51**:778–784, 1994.
- THELU, J., BURNOD, J., BRACCHI, V., AMBROISE-THOMAS, P. Identification of differentially transcribed RNA and DNA helicase-related genes of *Plasmodium falciparum*. **DNA and Cell Biology**, **13**: 1109–1115, 1994.
- TRACY, J.W., WEBSTER, Jr., L.T. Fármacos usados no tratamento das protozoonoses, Malária. In: **As Bases Farmacológicas da terapêutica**. Goodman & Gilman (eds). Rio de Janeiro. 40: 709-740, 1996.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA AND THE NATIONAL FORMULARY (USP 28-NF 23). In: **Quinine, Doxyclyne, Mefloquine**. United States Pharmacopeial Convention, 2005. 1697p, 697p. 3253p.
- VIEIRA, J.L.F. **Monitorização das concentrações plasmáticas da quinina em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum***. Tese (Doutorado em Toxicologia), São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1998, 118p.
- VILLALÓN, J.M. **Overview of Malaria: A First Step to a Cure**. disponível em <http://ecology.cwru.edu/malaria/Malaria%20Tutorial.htm>. Acesso em: 11 abril 2004.
- WATKINS, W.M., MOSOBO, M. Treatment of *Plasmodium falciparum* malaria with PSD: selective pressure for resistance is a function of long elimination

- half life. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**, **87**: 75–78. 1993.
- WARD, S. A., BRAY, P. G., HAWLEY, S. R. Quinoline resistance mechanisms in *Plasmodium falciparum*: the debate goes on. **Parasitology**, **114**: S125–S136, 1997
- WARHURST, D.C. The quinine-haemin interaction and its relationship to antimalarial activity. **Biochemical Pharmacology**, **30**: 3323-3327. 1981.
- WARHURST, D.C., CRAIG, J.C., ADAGU, I.S., LEE, S.Y. The relationship of physico-chemical properties and structure to the differential antiplasmodial activity of the cinchona alkaloids. **Malaria Journal**, **2**: 26, 2003.
- WERNSDORFER, W.H., PAYNE, D Drug sensitivity tests in malaria parasites. **In Malaria Principles and Praticce of Malariology**. (eds). Churchill Livingstone, EDINBURGH, 1765-1800, 1965.
- WERNSDORFER, W.H., MCGREGOR, SIR I. **In Malaria Principles and Praticce of Malariology**. (eds). Churchill Livingstone, EDINBURGH, 1988.
- WERNSDORFER, W.H. The development and spread of drug-resistant malaria. **Parasitologia Today**, **07**:11, 1991.
- WERNSDORFER, W.H. Epidemiology of drug resistance in malaria. **Acta Tropica**, **56**:145-156, 1994.
- WERNSDORFER, W.H. Antimalarial drugs. **Handbook of malaria infection in the tropics**. G. Carosi and F. Castelli (ed.), Bolonia, Itália, 151-198, 1997.
- WHITE, N. J., LOOAREESUWAN, S., WARRELL, D. A., WARRELL, M. J., BUNNAG, D., HARINASUTA, T. Quinine pharmacokinetics and toxicity in

- cerebral and uncomplicated falciparum malaria. **American Journal of Medicine, 73**: 564–572, 1982.
- WHITE, N.J., LOOAREESUWAN, S., SILAMUT, K. Red cell quinine concentrations in falciparum malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 32(3)**: 456-460, 1983.
- WHITE, N.J. Clinical pharmacokinetics of antimalarial drugs. **Clinical Pharmacokinetics 10**: 187-215, 1985.
- WHITE, N. J., KRISHNA, S. The treatment of malaria: some consideration and limitation of the current methods of assessment. **Transactions of the Society of Tropical Medicine and Hygiene, 83**: 767–777, 1989.
- WHITE, N.J. Mefloquine Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Models: Implications for Dosing and Resistance. **Antimicrob Agents Chemother, 44**: 3414-3424, 2000.
- WHITE, N.J., PONGTAVORNPINYO, W. The de novo selection of drug-resistant malaria parasite. **The Royal Society, 270**: 545-554, 2003.
- WHITE, N.J. Antimalarial drug resistance – Review Series. **The Journal of Clinical Investigation, 113**: 1084-1092, 2004.
- WISER, M.F. **Mechanisms of Drug Action and Resistance (Focus on Antimalarials), 2003**. Disponível em < [http:// www.tulane.edu/~wiser/protozzology/notes/drugs/.html#action](http://www.tulane.edu/~wiser/protozzology/notes/drugs/.html#action). Acesso em maio, 2005.
- WONGSRICHANALAI, C., PICKARD, A.L., WERNSDORFER, W.H., MESHNICK, S.R. Epidemiology of drug-resistant malaria, Reviews. **THE LANCET Infectious Diseases, 2**: 209-218, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs for uncomplicated malaria in areas with intense transmission. **WHO/MAL/1077 Division of Control of Tropical Diseases.** Geneva, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chemotherapy of malaria and resistance to antimalarials. **WHO Scientific Group, Technical Report Series N°529,** Geneva, 1973.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert Committee On Malaria 20th Reporter.** Geneva, 2000.

ANEXO 01

Termo de Esclarecimento

Você tem um tipo de doença denominada Malária e está sendo convidado a participar do estudo denominado “Monitoramento da concentração plasmática da quinina e mefloquina em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* no Estado do Amapá – Brasil”. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante. O objetivo deste estudo é quantificar os níveis plasmáticos das drogas antimaláricas quinina e mefloquina por cromatografia líquida de alta eficiência, correlacionando-os com a negatização da parasitemia, e caso você participe, será necessário fazer exames de sangue, consultas médicas semanais, fazer perguntas sobre seu estado de saúde.

Você, ou a pessoa pela qual é responsável será tratada para malária com o mesmo medicamento que está sendo usado pelo serviço de saúde do seu município para o tratamento desta doença. Com a sua autorização iniciaremos um acompanhamento do tratamento no 1º, 3º, 7º, 14º, 21º e 28º dias após o paciente ter recebido a primeira dose do medicamento.

As visitas de acompanhamento serão feitas por um profissional da equipe, o qual irá pedir informações sobre o seu estado de saúde e coletará sangue da ponta do dedo e do seu braço para fazer exames de laboratório.

Será coletado 10ml de sangue da veia no 1º, 3º, 7º, 14º, 21º e 28º dias. Você poderá ter algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço, poderá ficar uma mancha roxa que desaparecerá em um curto espaço de tempo.

Depois que os resultados dos exames estiverem pronto, a pessoa que participar da pesquisa poderá ver estes resultados. Esse sangue não será usado para mais nada.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado com um número.

ANEXO 02

Consentimento Livre, Após Esclarecimento

Eu, _____

li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo.

Eu concordo em participar do estudo.

Macapá,//.....	
Assinatura do voluntário (ou responsável legal):	Número do documento de identidade:
Assinatura do pesquisador responsável:	Assinatura do pesquisador orientador:
Telefone de contato dos pesquisadores:	
Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o pesquisador responsável pelas informações contidas neste consentimento livre e esclarecido, cujo número de telefone encontra-se junto a sua assinatura.	