

MALÁRIA E BABESIOSE

9 de Março de 2007

Leccionada pelo Doutor Acácio Gonçalves Rodrigues



A MALÁRIA é uma doença tão antiga como a humanidade, mas o seu agente foi apenas reconhecido em 1880. Em Portugal houve malária endémica até aos anos 60, nomeadamente na região do Douro. Neste momento, tanto Portugal como a restante Europa, estão em risco de vir a ter novos casos de malária.

Existem 156 espécies pertencentes ao Género Plasmodium e que transmitem a doença a vertebrados, mas apenas 4 espécies são causadoras de malária no homem: *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax* e *P. malariae*.

O factor crucial na expansão e distribuição da doença é a existência de um VECTOR, neste caso um mosquito pertencente ao género Anopheles. Dentro deste género existem várias espécies capazes de transmitir a doença, o que significa que o parasita se adaptou ao longo dos anos às diferentes espécies de mosquito Anopheles o que aumentou o potencial de disseminação da doença.

O MOSQUITO ANOPHELES habita preferencialmente em zonas pantanosas ou à beira de rios, em regiões onde há estações quentes e húmidas, essenciais para o mosquito depositar os ovos e para estes eclodirem, mas também em que haja uma estação com descida de temperatura, portanto mais fria. O que é necessário para o mosquito é que haja então variação da temperatura.

Ciclo de vida do parasita

Tudo começa com a picada do mosquito fêmea (o macho não vive tempo suficiente para que se complete o ciclo). Este, antes de sugar o sangue, injecta a sua saliva que contém a forma infectante que se chama ESPOROZOÍTO.

Estes esporozoítos desaparecem rapidamente da corrente sanguínea (cerca de 1h) e vão para os hepatócitos onde ocorre o ciclo de reprodução – CICLO EXOERITROCÍTICO.

Os esporozoítos dividem-se por esquizobolia e formam uma célula gigante multinucleada – ESQUIZONTE - que se divide em várias células – MEROZOÍTOS - e

É da lise dos eritrócitos que provem a maioria dos sintomas da malária e que corresponde às fases de crise desta: febre, arrepios, tremores, mialgias intensas, mal-estar geral que dura entre 15 minutos a 1 hora.

Este ciclo de hemólise, entrada em novos eritrócitos e novamente lise passado alguns dias vai ter uma duração variável de espécie para espécie: para o *P. vivax* e *P. ovale* acontece de 3 em 3 dias e diz-se que o doente tem uma MALÁRIA TERÇÃ; para o *P. malariae* acontece de 4 em 4 dias e por isso diz-se MALÁRIA QUARTÃ; para o *P. falciparum*, o mais grave de todos, tem-se MALÁRIA TERÇÃ MALIGNA em que os ciclos podem ocorrer de 3 em 3 dias, dia sim/dia não ou mesmo todos os dias.

É importante saber que, mesmo antes dos eritrócitos lisarem, estes contêm no seu interior parasitas o que leva à alteração da sua função e que leva por isso a outros problemas da infecção por malária. Os trofozoítos tornam os eritrócitos “pegajosos”, levando ao “entupimento” dos capilares, nomeadamente dos capilares renais, levando a insuficiência renal aguda que normalmente se torna crónica devido às crises sucessivas de malária; dos capilares pulmonares e dos capilares cerebrais, sendo que a malária cerebral é a forma mais comum de coma e morte nas crianças infectadas.

Quantas crises vai ter então um doente que desenvolveu malária?

A história natural de malária diz que, e não estando o doente a ser tratado, no caso de infecção por *P. falciparum*, e a não ser que o doente morra devido à sintomatologia das complicações renais e cerebrais gravíssimas (sendo este o quadro mais frequente), no período de cerca de 1 ano, o parasita “cansa-se” e o doente fica curado de malária. Isto porque este parasita nunca refaz o ciclo exoeritrocítico e, portanto, o doente fica curado a não ser que haja reinfeção. Mas no caso de infecção por *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae* a situação complica-se o que explica o facto de pessoas que voltaram à Europa e que nunca mais tiveram contacto com o mosquito, passados poucos anos ou mesmo até passados 20 anos, têm crises de malária.

No caso do *P. vivax* e *P. ovale*, alguns dos merozoítos não entram para a corrente sanguínea e permanecem quiescentes nos hepatócitos. Passam a designar-se por HIPNOZOÍTOS. Portanto, passado algum tempo, o doente pode voltar a ter crises de malária, isto é, recidivar.

No caso do *P. malariae*, acredita-se que alguns merozoítos permanecem quiescentes nos eritrócitos, algures na medula óssea. Portanto não refaz o ciclo exoeritrocítico. Daí não falarmos de recidivas mas sim de recaídas.

Distribuição Geográfica

Malaria Endemic Countries, 2003



Temos malária endémica em:

- Zonas tropicais, subtropicais e temperadas;
- Altitudes inferiores a 1500 metros (o mosquito não sobrevive a alturas superiores);

O reservatório de malária são os animais vertebrados e em África, onde a malária é endémica, são também as pessoas.

Neste momento na Europa e restantes países não infectados não temos malária endémica porque deixou de haver um nível crítico de doentes humanos ou animais permanentemente infectados (o tal reservatório). A malária existente é “importada”, isto é, doentes que vêm para a Europa infectados, mas que, neste momento, não constituem o tal nível crítico para que tenhamos malária endémica.

O risco de voltar a haver malária tem então a ver com estas imigrações de populações infectadas e com o impacto das mudanças climáticas, nomeadamente o aquecimento global.

Em África, neste momento, passa-se uma situação muito preocupante que é a associação entre a infecção por HIV, tuberculose e malária.

Impacto

- Neste momento 1/3 da população mundial está infectada;
- 300 a 400 milhões de novas infecções por ano;
- 1 a 5 milhões de mortes devido a malária por ano. Mortes por:

- Insuficiência renal;
- Edema pulmonar;
- Enfarte cerebral;
- Coma;
- Hipóxia aguda;
- Anemia crónica.

Estas mortes são directamente advindas do tal “entupimento” dos capilares pelos eritrócitos infectados, da alteração da perfusão dos órgãos ou então, se a parasitose for intensa, e, principalmente no caso de infecção por *P. falciparum* que infecta quase todos os eritrócitos sejam estes novos ou velhos, o doente tem uma lise maciça de eritrócitos e tem uma baixa acentuada de aporte de oxigénio aos órgãos.

Principalmente nas formas mais clássicas de malária a causa mais frequente de morte é a anemia crónica (a malária é uma das causas principais de anemia crónica em África) e a insuficiência renal. A forma mais grave, e geralmente relacionada com o *P. Falciparum* de malária, é o enfarte cerebral e portanto com coma, alterações neurológicas.

O *P. Falciparum* tem estirpes resistentes a cloroquina, que era o tratamento padrão. Estas novas estirpes com elevada resistência estão em franca disseminação, o que acarreta problemas a nível de impacto.

O *P. vivax* é o parasita mais prevalente no mundo, seguido do *P. falciparum*, depois *P. malariae* e por último *P. ovale* (que é o que se encontra mais restringido geograficamente). Em termos numéricos o *P. falciparum* pode vir a ultrapassar o *P. vivax*, no entanto este último ainda é mais frequente.

Em termos de protecção natural as Talecemias, deficiência da glicose 6- fosfato, protege contra a malária. A falta do antigénio de Duphy confere resistência à infecção por *P. vivax*, porque o vivax liga-se especificamente ao antigénio Duphy dos eritrócitos.

MALÁRIA CEREBRAL

- 1 a 2 milhões de crianças por ano. África Sub-sahariana;
- Os sintomas: convulsões, seguidas de perda de consciência súbita e por fim coma profundo;
- Mortalidade com tratamento 20%, tratamento 100%;

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

É de grande interesse mundial e é no diagnóstico que a OMS tem muito investido nos últimos tempos. Na malária, particularmente, tem havido um forte incentivo para o desenvolvimento de vacinas até agora sem eficácia. Há também novos ênfases no ramo de detecção de antígenos que mostram ser de grande utilidade.

Assim sendo, o diagnóstico laboratorial baseia-se essencialmente nos seguintes métodos:

1. Microscopia, com a comparação da morfologia das diferentes espécies de *Plasmodium*;
2. Técnicas de Biologia Molecular;
3. Detecção imunológica.

1 – MICROSCOPIA

A MICROSCOPIA continua a ser o principal método de diagnóstico. Nesta procuram-se as diferentes formas do parasita no sangue periférico ou manifestações associadas aos próprios eritrócitos.

Através da microscopia visualizamos as diferentes formas do *Plasmodium* nos glóbulos rubros do sangue periférico. Convém salientar que a colheita de sangue deve ser feita em locais com capilares finos de fácil acesso como o lóbulo da orelha ou a polpa de um dedo. Vamos ver também diferentes alterações nos próprios glóbulos rubros, como consequência destes parasitas.

Formas de Plasmodium:

- Anel de “trofozoíto jovem”
- Trofozoíto
- Esquizonte
- Gametócito

Alterações dos glóbulos rubros – GR :

As manifestações associadas aos eritrócitos são provocadas por parasitas específicos. Alguns provocam granulações (deposições de pigmentos) que resultam da acção do parasita sobre a hemoglobina, desdobrando-a em globina e hematina. Portanto o pigmento férrico deposita-se e origina o chamado PIGMENTO MALÁRICO. É necessário também avaliar se existe ou não deformação do eritrócito, por exemplo o *P. Vivax* e o *P. ovale* deformam, *P. malariae* e o *P.falciparum* não deformam. O GRAU DE PARASITÊMIA também deve ser avaliado para estimar a sobrevida.

A microscopia tem a vantagem de poder ser efectuada em qualquer lugar onde possa ser utilizado um microscópio de campo claro.

ERITRÓCITO EM ANEL DE SINETE – eritrócito está deformado e tem GRANULAÇÕES DE SCHUFFNER, o que exclui o diagnóstico de infecção por *P. falciparum* ou *P malariae*.

O *P.vivax* e o *P. ovale* têm uma apetência para eritrócitos jovens porque são estes que se deixam deformar mais facilmente.

Glóbulos rubros não deformados e que têm granulações maiores do que as anteriores - GRANULAÇÕES DE MAURAN – e com a presença de mais de 2 formas dentro do mesmo eritrócito é indicativo de que se trata de *P. falciparum*.

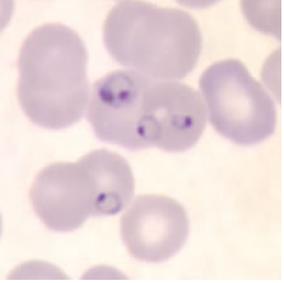
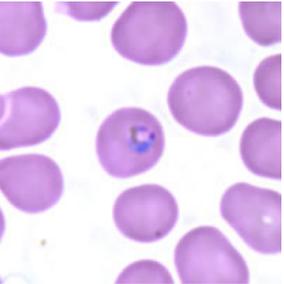
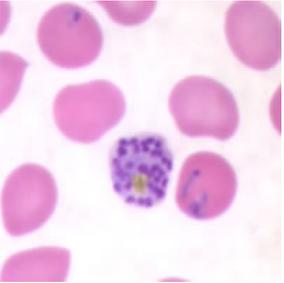
O anel vai perdendo o vacúolo, este vai “enchendo” de citoplasma, evoluindo assim para ESQUIZONTE. No caso do *P. malariae* na fase de evolução de trofozoito para esquizonte apresenta aspecto característico em banda, ao contrário dos restantes que têm aspecto ameboide.

O trofozoíto maduro vai dividir-se em várias células que lisam o eritrócito e originam esquizontes. Os esquizontes variam com as diferentes espécies, de acordo com o número de núcleos e a sua organização.

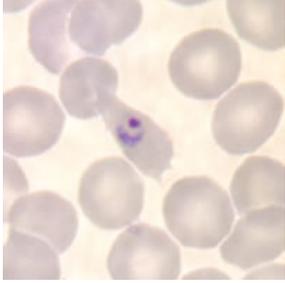
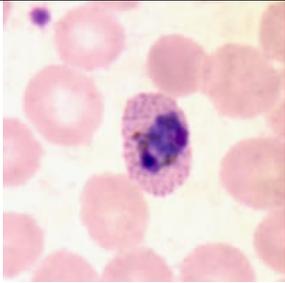
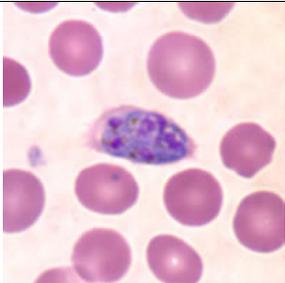
O gametócito do *P. Falciparum* tem a forma característica de foice, sendo esta uma característica exclusiva desta espécie de *Plasmodium*.

No sangue periférico infectado por espécies não *P. falciparum* podem aparecer todas as formas: esquizonte, trofozoíto, gametócitos...em pequena quantidade mas aparecem. No caso do *P. falciparum* só aparecem gametócitos ou eritrócitos em anel de sinete porque as outras formas passam a estar no sangue visceral.

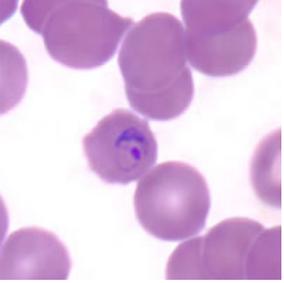
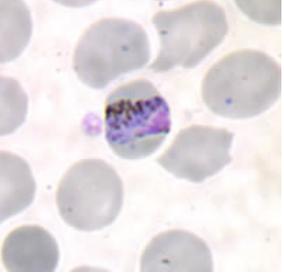
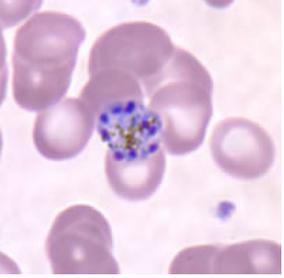
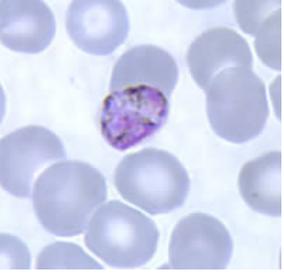
P. Falciparum

<p>- Anel</p>		
<p>- Trofozoító</p>		<ul style="list-style-type: none">- Não deforma o GR;- Apresenta mais de duas formas no interior do GR;- 8 -24 Merozoítas;- Pigmento negro;- Gametócito de forma crescente, em «foice»;- A nível do sangue periférico apenas se encontram a forma de Gametócito e «anéis». O restante apenas é visível no sangue visceral.
<p>- Esquizonte</p>		
<p>- Gametócito</p>		<p>* Pormenores em anexo</p>

P. Ovale

<p>- Anel</p>		<p>- Deforma o GR; - Tem tendência para células jovens; - 6-14 Merozoítas; - Pigmento; - Gametócito de forma redonda.</p> <p>* Pormenores em anexo</p>
<p>- Trofozoíto</p>		
<p>- Esquizonte</p>		
<p>- Gametócito</p>		

P. Malariae

<p>- Anel</p>		<ul style="list-style-type: none"> - Não deforma o GR; - Trofozoíto em forma de banda; - 6-12 Merozoítas; - Pigmento; - Gametócito de forma redonda.
<p>- Trofozoíto</p>		
<p>- Esquizonte</p>		
<p>- Gametócito</p>		

Em determinadas situações a simples observação ao MO pode não distinguir espécies ou formas de *Plasmodium* pelo que existe uma técnica fundamental na confirmação, a **técnica da gota espessa**. Convém ter atenção que esta técnica provoca a lise dos GR e portanto vai perder também algumas das suas características identificativas.

2 - TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Embora já existam *primers* para a identificação das 4 espécies na comunidade científica, ainda não está disponível como método de rotina.

Devido à dificuldade de distinção entre certas espécies, nomeadamente entre *P. vivax* e *P. ovale* ou em casos de terapêutica, que inviabilizam as amostras, recorre-se por exemplo a testes de diagnóstico moleculares como é o caso do PCR. Actualmente esta direccionado apenas para o *P. Vivax* nomeadamente para o seu gene Circumsporoite. A sua sensibilidade é de 91-96%, mesmo assim muito baixa, uma vez que é um tipo de parasitose muito frequente.

3 - DETECÇÃO IMUNOLÓGICA

Além da microscopia e métodos moleculares, existem outras formas de identificação destes parasitas associadas à presença de determinados antígenos ou actividade enzimática. Estes métodos incluem:

- Detecção de um antígeno de superfície, “*histidine rich protein-2*”/ HRP-2, associada principalmente a *P. falciparum* e *P. vivax*;
- Detecção de uma isoenzima, a desidrogenase láctica, (pLDH), própria do parasita, identificada quer pela sua actividade enzimática quer pelo método imunológico com uso de anticorpos específicos.

Estes testes são testes bastante promissores, e estão na base de kits de diagnósticos que têm sido desenvolvidos nestes últimos tempos. Apesar de tudo isto são demasiado genéricos, não permitindo a distinção entre espécies. Além disso são bastante caros e a sua sensibilidade está longe de ser a ideal.

CONTROLO DA MALÁRIA

Faz-se por diversas formas, nomeadamente por tentativa de eliminação do vector, por prevenção da picada do mosquito e ainda por meio da Químio-profilaxia.

Eliminação do vector

- Uso de insecticidas (pouco relevante em zonas endémicas);

- Desmatção (mais significativo em zonas endémicas, principalmente por desmatção das margens de rios e ribeiros);
- Luta biológica.

Prevenção da picada

- Repelentes e métodos de barreira;
- População “tampão”.

NOTA: Deve evitar-se exposição durante o fim da tarde e noite, alturas do dia onde a probabilidade da picada é maior.

Quimio-profilaxia

- Cloroquina (mais usado);
- Mefloquina ou doxiciclina (em casos de resistência para o *P. falciparum*).

NOTA: Esta profilaxia é aconselhável a viajantes para zonas endémicas e deve ser feito antes, durante e depois da estadia.

Modalidades Terapêuticas

A terapêutica pode ser:

- **Supressiva** – consiste numa prevenção primária, evitando a infecção e sintomatologia;

Se já houver infecção, recorre-se:

- **Terapêutica** – tem o objectivo de erradicar o ciclo eritrocítico (importante para o *P. falciparum*).
- **Radical** – erradica o ciclo exa-eritrocítico (importante para o *P. vivax* e *P. ovale*).
- **Gametocida** – erradica os Gametócitos eritrocíticos, prevenindo assim a infecção do mosquito.

Tratamento Farmacológico

- Quinina (retirado por ter toxicidade hepática, mas retomada por casos de resistência)
- Cloroquina
- Primaquina
- Primetamina/ sulfadoxia

- Mefloquina
- Ciclidina
- Mais recentes: apesar de muito caros são muito promissores.
 - Arteneter
 - Artesunato

Formas «mistas» de Malária

Acontece quando um indivíduo está infectado por duas espécies de Plasmodium ao mesmo tempo. Este fenómeno acontece frequentemente quando há associação entre o *P. falciparum* e *P. vivax*. Estes estão relacionados isoladamente com períodos síncronos de febre. Contudo quando em associação passa a haver uma assincronidade. O *P. ovale* é uma excepção uma vez que mesmo isolado apresenta períodos assíncronos de febre.

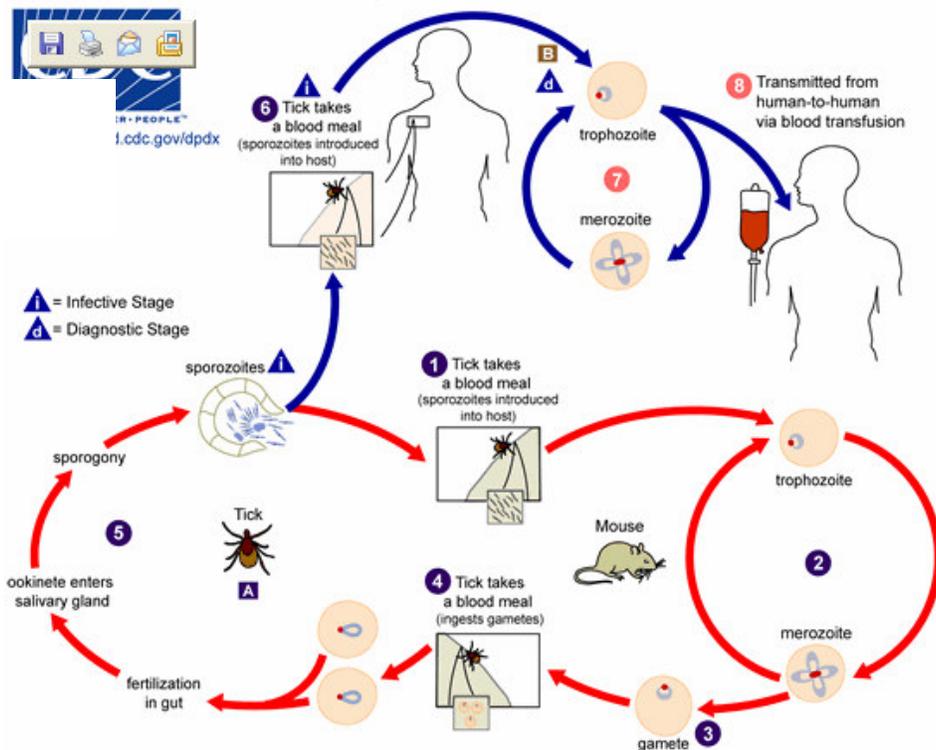
Formas clínicas

- Endémica: como é o exemplo de África;
- Importação: mais típicas na Europa onde não existe o vector da doença e que só acontece por casos vindos do exterior;
- Introduzida: como resultado de um reservatório do qual surge um surto em locais incomuns;
- Transfusional: em casos de transfusão sanguínea, cujo dador tenha tido Malária há vários anos;
- Percutânea: é típica em toxicómanos e não atinge o fígado;
- Congénita: por via placentária.

BABESIOSE

Trata-se de uma patologia causada por parasitas denominados babesias. Existem mais de 100 espécies embora sejam poucas as que provocam infecções nos humanos, como é o exemplo da *Babesia microti* e *Babesia divergens*. Há também uma espécie muito conhecida a *Babesia bovis*, responsável por grande número de infecções nos bovinos da América. A *Babesia microti* é mais frequente na América, enquanto que a *Babesia divergens* é mais típica na Europa.

Ciclo de vida:



Este ciclo de vida envolve, além do humano, mais dois hospedeiros, o rato branco *Peromyscus leucopus*, e a carrapa, *Ixodes dammini* (*I. scapularis*). Quando o rato é picado por uma carrapa infectada, os esporozoítos são introduzidos e vão-se instalar nos GR, onde se realiza reprodução assexuada. Já no sangue, estes parasitas podem-se diferenciar em gâmetas masculino e feminino. O **vector definitivo**, a carrapa *Ixodes dammini*, ingerindo estes gâmetas permite a fertilização e assim a realização do ciclo esporogónico. A transmissão vertical apenas se processa em Babesias de grandes dimensões, e não em pequenos parasitas como é o caso da *B. microti*.

Os humanos entram neste ciclo quando são picados por carrapas portadoras de Babesia. Há introdução de esporozoítos que entram nos GR, havendo replicação assexuada, e posterior multiplicação de parasitas no sangue humano. Este fenómeno é responsável pelas manifestações clínicas da doença.

Manifestações Clínicas:

A maioria das infecções é assintomática. Os sintomas surgem depois de 1-4 semanas de incubação e são essencialmente: mal-estar geral, febre (sem periodicidade), sudação, arrepios, fadiga intensa, anemia hemolítica (causada por ruptura dos eritrócitos), insuficiência renal e

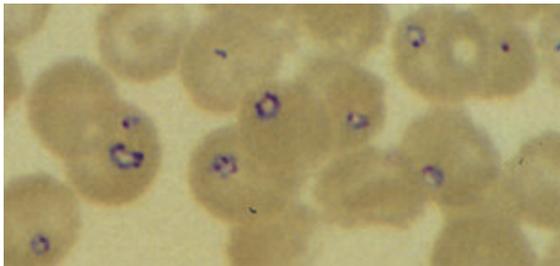
hepato-esplenomegalia. As manifestações da doença são mais severas em indivíduos imunodeprimidos ou com baço removido. Nesses indivíduos, a infecção é muito semelhante à malária causada pelo *P. falciparum*. As infecções causadas por *B. divergens* tendem a ser mais severas que as causadas por *B. microti*.

NOTA: O diagnóstico é estabelecido através da identificação dos parasitas, os quais se assemelham aos causadores da malária. Em microscopia este parasita encontra-se igualmente no interior dos GR, no entanto, é de dimensões menores quando comparado com o *Plasmodium*.

Diagnóstico laboratorial:

Baseia-se essencialmente nos seguintes métodos:

- Microscopia;



Babesia microti. Apresenta algumas semelhanças com *P. Falciparum*, mas difere em termos de tamanho e pela ausência de pigmento.

- Detecção de antígenos por IFA;
- Técnicas de Biologia Molecular.

Tratamento

Normalmente recorre-se à clindamicina, com associação ou não com outros fármacos.

Para desgravar a aula recorreremos também ao site <http://www.dpd.cdc.gov>, à sebenta e ao livro recomendado. Se encontrarem algum erro, avisem-nos!
m04061@med.up.pt

Ana Leonor, Ana Vieira e Joana Carneiro, Turma 2

ANEXOS:

Comparison of the *Plasmodium* Species Which Cause Human Malaria



<i>Plasmodium</i> species	Stages found in blood	Appearance of Erythrocyte (RBC)	Appearance of Parasite
<i>P. falciparum</i>	Ring	normal; multiple infection of RBC more common than in other species	delicate cytoplasm; 1-2 small chromatin dots; occasional appliqué (accollé) forms
	Trophozoite	normal; rarely, Maurer's clefts (under certain staining conditions)	seldom seen in peripheral blood; compact cytoplasm; dark pigment
	Schizont	normal; rarely, Maurer's clefts (under certain staining conditions)	seldom seen in peripheral blood; mature = 8-24 small merozoites; dark pigment, clumped in one mass
	Gametocyte	distorted by parasite	crescent or sausage shape; chromatin in a single mass (macrogametocyte) or diffuse (microgametocyte); dark pigment mass

<i>P. vivax</i>	Ring	normal to 1-1/4 X, round; occasionally fine Schüffner's dots; multiple infection of RBC not uncommon	large cytoplasm with occasional pseudopods; large chromatin dot
	Trophozoite	enlarged 1-1/2-2 X; may be distorted; fine Schüffner's dots	large ameboid cytoplasm; large chromatin; fine, yellowish-brown pigment
	Schizont	enlarged 1-1/2-2 X; may be distorted; fine Schüffner's dots	large, may almost fill RBC; mature = 12-24 merozoites; yellowish-brown, coalesced pigment
	Gametocyte	enlarged 1-1/2-2 X; may be distorted; fine Schüffner's dots	round to oval; compact; may almost fill RBC; chromatin compact, eccentric (macrogametocyte) or diffuse (microgametocyte); scattered brown pigment

<i>P. ovale</i>	Ring	normal to 1-1/4 X, round to oval; occasionally Schüffner's dots; occasionally fimbriated; multiple infection of RBC not uncommon	sturdy cytoplasm; large chromatin
	Trophozoite	normal to 1-1/4 X; round to oval; some fimbriated; Schüffner's dots	compact with large chromatin; dark-brown pigment
	Schizont	normal to 1-1/4 X; round to oval; some fimbriated; Schüffner's dots	mature = 6-14 merozoites with large nuclei, clustered around mass of dark-brown pigment
	Gametocyte	normal to 1-1/4 X; round to oval; some fimbriated; Schüffner's dots	round to oval; compact; may almost fill RBC; chromatin compact, eccentric (macrogametocyte) or more diffuse (microgametocyte); scattered brown pigment

P. malariae	Ring	normal to 3/4 X	sturdy cytoplasm; large chromatin
	Trophozoite	normal to 3/4 X; rarely, Ziemann's stippling (under certain staining conditions)	compact cytoplasm; large chromatin; occasional band forms; coarse, dark-brown pigment
	Schizont	normal to 3/4 X; rarely, Ziemann's stippling (under certain staining conditions)	mature = 6-12 merozoites with large nuclei, clustered around mass of coarse, dark-brown pigment; occasional rosettes
	Gametocyte	normal to 3/4 X; rarely, Ziemann's stippling (under certain staining conditions)	round to oval; compact; may almost fill RBC; chromatin compact, eccentric (macrogametocyte) or more diffuse (microgametocyte); scattered brown pigment

Keypoints for *Plasmodium* Species Which Cause Human Malaria



Infected RBCs

Size	Shape	Schüffner's Dots
<N, N: PM N: PF >N: PO > >N: PV	Crescent: PF (gametocytes) Ameboid: PV Fimbriation: PO Elongated: PO	PV, PO

Parasites Found In Circulating Blood

Rings	Trophozoites	Schizonts (mature)	Gametocytes
Rings only (±gametocytes): PF Numerous: PF Multiply infected RBCs: PF Accessory chromatin dots: PF Delicate: PF	Ameboid: PV Compact: PO PM PF (rarely seen) Band form: PM	6-12 nuclei: PM 6-14 nuclei: PO 12-24: PV 8-24: PF (rarely seen) Rosettes: PM	Crescent: PF Round: PV PO PM