

Disciplina de Microbiologia

Data da Aula prática: 22/03 a 26/03/2004

semana 8

Caso clínico: Doente regressado de Angola com febre.

Um estudante do sexo masculino de 21 anos apresenta-se com febre (39°C), mal estar geral e cefaleias. Refere que regressou de Angola há 3 semanas, onde permaneceu 2 meses. Durante a estadia em Angola fora internado com queixas semelhantes, tendo sido então medicado com cloroquina, após ter sido feito o diagnóstico de malária. Melhorou e teve alta 5 dias depois. Desde então e até há 4 dias não teve qualquer queixa. Foi feito o diagnóstico de malária, confirmado laboratorialmente, e o estudante foi internado no hospital.

1- Que espécies de *Plasmodium* podem causar malária no homem?

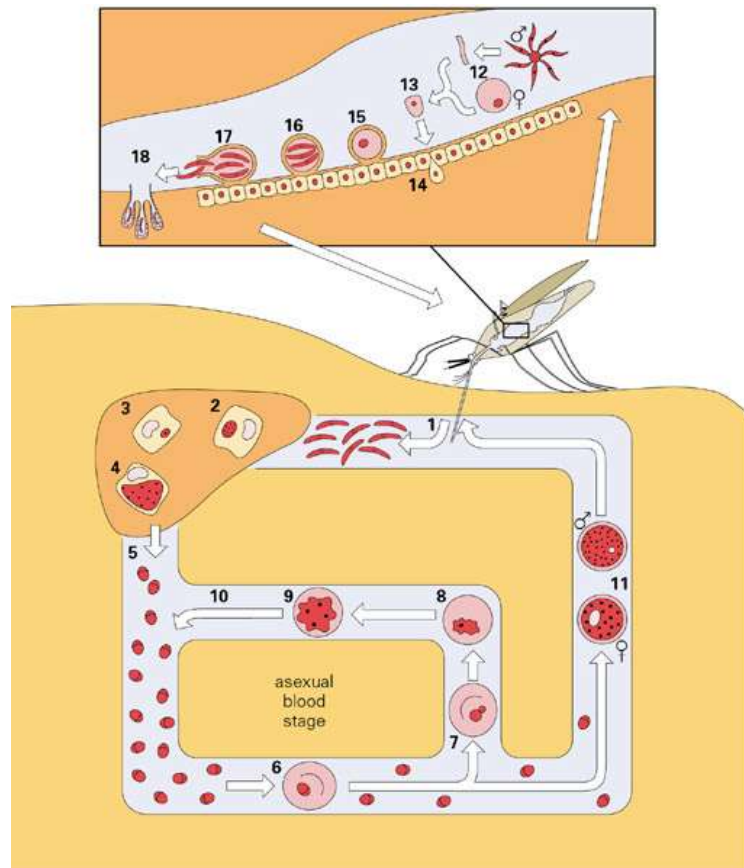
Do género *Plasmodium*, 4 espécies causam doença no Homem (os parasitas maláricos humanos):

- *Plasmodium falciparum*
- *Plasmodium vivax*
- *Plasmodium ovale*
- *Plasmodium malariae*

[Nota: há muitas mais espécies de plasmódios; quase todo o animal tem a sua, que, contudo, apenas a ele parasita.]

Espécies	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Distribuição	África central, Ocidental e Oriental, Médio Oriente, Extremo Oriente, América do Sul	Índia, África do Sul e Norte, América do Sul, Extremo Oriente	África Tropical, Índica, Extremo Oriente	África Tropical
	(especialmente, África)	(como infectam o Homem há mais tempo, têm uma distribuição mais global)		
	Nota: são as espécies mais comuns, sendo o P. Vivax o mais prevalente			
Doença	Malária Terça maligna	Malária Terça benigna	Malária quartã ou malária malárica	Malária Terça benigna ou malária ovale
Principais complicações	Malária cerebral Coma Anemia hemólise intravascular Hemoglobinúria com falência renal aguda, necrose tubular, síndrome nefrótica Dano renal – “blackwater fever” Envolvimento hepático Hipoglicémia Icterícia Edema pulmonar Choque Morte	---	Síndrome nefrótica (por deposição de complexos imunes)	---
Período de incubação	6-14	12-17 (com recidivas até 3 anos)	12-40 (com recidivas até 20 anos)	9-18 (com recidivas raras)
Hipnozoítos (recaídas)	NÃO	SIM	NÃO	SIM

Quanto ao ciclo de vida do parasita:



Quando o mosquito pica o Homem vai, ao aspirar o sangue, injectar a forma infecciosa do parasita – **esporozoíta(1)** (cerca de 7 ou 8). Estes vão chegar ao fígado onde iniciam a 1ª fase do seu ciclo no Humano, a **fase hepática**, em que os esporozoíta invadem os hepatócitos(2) e se replicam formando os **esquizontes(4)** (forma multinuclear). Depois de certo tempo, o aglomerado de parasitas leva à lise do hepatócito com a libertação dos protozoários – **merozoítos(5)**. Este ciclo hepático fica então completo, sendo de notar que ocorre apenas uma vez. Em cortes histológicos vão-se observar hepatócitos com aglomerados de parasitas (esquizontes) sendo cada parasita dentro da célula um merozoíto.

- no caso de uma infecção por *P. Vivax* ou *P. Ovale*, vão ser formados os **hipnozoítos(3)**, uma forma latente do parasita que permanece no fígado até retomar o ciclo, sendo assim responsável pelas recidivas de malária que podem ocorrer 3 a 4 meses depois da primeira infecção sem qualquer contacto com o vector.

- os fármacos usado para o tratamento da malária não têm qualquer acção no ciclo hepático!!

Quando os merozoítos, após a lise dos hepatócitos, invadem o sangue, inicia-se o **ciclo eritrocitário** (determinante na doença, diagnóstico e tratamento). Os merozoítos vão invadir os eritrócitos(6), passando a ser sucessivamente designados

de **forma em anel(7)** e **trofozoítos(8)**, após o que se multiplicam e formam **esquizontes(9)**.

Quando ocorre ruptura do eritrócito e libertação dos merozoítos(10) estes infectam os eritrócitos não parasitados. Todo este ciclo, por levar à lise dos eritrócitos é responsável por uma anemia.

Alguns dos parasitas libertados após lise eritrocitária vão apresentar-se sob a forma sexuada – **gametocitos(11)** (machos e fêmeas) – a forma que é ingerida pelo mosquito quando este volta a picar o Homem fechando o ciclo de vida do *Plasmodium*. Dentro do mosquito os gametocitos vão ser transportados até ao estômago onde ocorre fertilização (12) que resulta na formação do zigoto (13). O zigoto invade então a mucosa (14) onde se desenvolve num **oocineto** (15), onde se produzem milhares de esporozoítos (16). A certa altura, ocorre ruptura dos oocinetos com libertação de **esporozoítos(17)**, a forma infecciosa do parasita, que migram para as glândulas salivares para serem injectados numa próxima picada (18).

2- Como foi confirmado laboratorialmente o diagnóstico de malária?

O diagnóstico de malária é feito por:

• Pesquisa do parasita no sangue

- O sangue pode ser colhido em qualquer altura, no entanto, o melhor momento é entre os ataques de febre e arrepios (em que o maior número de organismos intracelulares está presente).
- Pode ser necessário fazer várias colheitas com intervalos de 6 a 8 horas.
- O sangue pode ser tratado de 2 formas:

Gota espessa

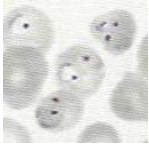







- é um método de concentração
- usado especialmente para detectar a presença de organismos (embora um observador treinado possa conseguir identificar a espécie)
- é particularmente útil em parasitémias baixas

Esfregaço de sangue

- usado para identificar a espécie

Nota: a identificação da espécie plasmódica específica é importante para o tratamento da malária

ASPECTOS MORFOLÓGICOS PARA DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Espécies	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Eritrócitos	<ul style="list-style-type: none"> - raramente aumentam de tamanho ou distorcem - podem-se ver grânulos avermelhados (“Maurer’s dots”) - pode ser infectado por múltiplos espermatozoides, podendo-se ver 3 ou 4 anéis 	<ul style="list-style-type: none"> - aumentados - com numerosos grânulos cor de rosa (“Schüffner’s dots”) 	<ul style="list-style-type: none"> - forma e tamanho normais - ocasionalmente aparecem grânulos vermelhos (Ziemann’s dots) 	<ul style="list-style-type: none"> - aumentados, geralmente numa formas distorcida, oval - Schüffner’s dots aparecem como grânulos rosa pálidos - o limite celular é fimbriado ou irregular
Trofozoitos	 <ul style="list-style-type: none"> - geralmente à periferia da célula, parecendo quase “colados” do lado de fora da célula (“posição appliqué ou accolé”) - formas em crescimento raramente visíveis no sangue periférico* 	 <ul style="list-style-type: none"> - em forma de anel, mas amebóide 	 <ul style="list-style-type: none"> - parasitas aparecem com as formas de banda ou barra e formas muito compactas, de coloração escura 	
Esquizontes	 <ul style="list-style-type: none"> - raramente visíveis no sangue periférico* * são sequestradas no fígado e baço; apenas visíveis em infecções muito numerosas 	 <ul style="list-style-type: none"> - contêm até 24 merozoítos 	 <ul style="list-style-type: none"> - geralmente com 8 merozoítos, numa roseta 	 <ul style="list-style-type: none"> - contêm cerca de 14 merozoítos
Gametócitos	<ul style="list-style-type: none"> - em forma típica de crescente 	<ul style="list-style-type: none"> - redondos 		

• Métodos serológicos

- são geralmente utilizados para estudos epidemiológicos ou para monitorização de doadores de sangue
- geralmente permanecem positivos durante um ano, mesmo após tratamento completo da infecção (*P. Vivax*)
- há reactividade cruzada entre as diferentes espécies de plasmódios

[Nota: é importante despistar infecções mistas, que podem ocorrer com qualquer combinação das 4 espécies (contudo, a mais frequente é *P. falciparum* e *P. Vivax*)]

4- Como se pode transmitir a malária?

A transmissão da malária pode ser feita de diversas formas:

- contacto com sangue infectado:
 - i. transfusão sanguínea
 - ii. partilha de seringas ou agulhas
- transmissão vertical
- picada por um vector, o mosquito (fêmea) *Anopheles* (a mais importante)

Nem todos os mosquitos têm a mesma capacidade de transmitir o parasita sendo que o **A. (C) gambiae** é a espécie que maior capacidade possui. Os mosquitos necessitam de um ambiente húmido e água estagnada para se poder multiplicar. Estes dois factores levam a que a malária, hoje em dia esteja limitada à América do Sul, África e Ásia.

5- Que espécies de *Plasmodium* podem causar infecções mais graves? Caracterize a fisiopatologia desses quadros clínicos.

A espécie de *Plasmodium* que causa a infecção mais grave é *P. falciparum* uma vez que possui a capacidade de invadir todos os eritrócitos.

Espécie	Eritrócitos parasitados	Ciclo eritrocitário (horas)	Parasitémia
<i>P. falciparum</i>	Todos	48	Teoricamente possível até 100%
<i>P. vivax</i>	Reticulócitos	48 (terça)	No máximo cerca de 5%
<i>P. ovale</i>	Reticulócitos	48 (terça)	No máximo cerca de 5%
<i>P. malariae</i>	Eritrócitos velhos	72 (quarta)	

Uma vez que temos 2-3 a 5% de reticulócitos, *P. vivax* e *P. ovale* provocam uma parasitémia de 5% enquanto que *P. falciparum* tem a capacidade de provocar uma parasitémia de 100% o que resultaria numa anemia muito grave [100% num ponto de vista teórico; para parasitémias da ordem dos 10% é já aconselhado fazer transfusão sanguínea]. Para além disto, os eritrócitos parasitados podem ficar sequestrados nos capilares cerebrais (os eritrócitos parasitados com *P. falciparum* ficam mais aderentes ao endotélio por produção de “botões” (knobs) proteináceos) levando a alterações da circulação no cérebro causando assim a **malária cerebral** (observa-se a posição de descerebração).

Outros factores que contribuem são:

- o facto do *P. Falciparum* ser muito virulento como consequência de parasitar o Homem há relativamente pouco tempo
- cada eritrócito poder ser infectado por mais de um merozoíto
- o tempo de incubação ser menor
- haver mais resistências aos tratamentos

Qualquer que seja o agente etiológico, a malária vai manifestar-se por febre muito elevada e que apresenta 3 fases:

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Fase 1: frio • Fase 2: calor (pode chegar aos 40°C) • Fase 3: suor | <p>Nota: existem 3 doenças que apresentam este padrão de febre: Malária, Influenza, Febre Tifóide</p> |
|--|--|

A recorrência dos episódios de febre vai depender do ciclo eritrocitário de cada uma das espécies (malária terçã e quartã). De notar que o ciclo eritrocitário de *P. falciparum* não é regular.

A febre deve-se à libertação de toxinas, interleucinas... durante a libertação dos merozoítos.

Na infecção de *P. falciparum*, após o aparecimento dos sintomas iniciais de síndrome gripal, rapidamente ocorrem os calafrios e febre de forma diária, aos quais se segue o desenvolvimento da doença fulminante – malária terçã maligna. Também ocorrem sintomas que se assemelham aos de infecção intestinal: diarreia, náuseas e vômitos – mimetismo maligno.

Este tipo de malária também pode estar associado a:

- Lesão renal – febre hemoglobinúrica
Hemólise renal intravascular com rápida destruição dos eritrócitos produz hemoglobinúria acentuada que pode resultar em insuficiência renal aguda, necrose tubular, síndrome nefrótica e morte.
- Comprometimento hepático
Caracterizado por dor abdominal, vômito de bÍlis, diarreia intensa e rápida desidratação.

As infecções pelas espécies *P. vivax* e *P. ovale*, devido à produção de hipnozoítos, são caracterizadas pela ocorrência de recidivas da infecção.

Se o agente etiológico for *P. vivax*, o doente apresenta sintomas vagos de tipo gripal, com cefaleias, dores musculares, fotofobia, anorexia, náusea e vômitos. Com a evolução da infecção, ocorre libertação dos merozoítos, restos celulares tóxicos e hemoglobina para a circulação que produzem a febre típica da malária. Se não for tratada, a infecção crónica por *P. vivax* podem resultar em lesões cerebral, renal e hepática em consequência do tamponamento capilar destes órgãos por massas de eritrócitos aderentes. *P. vivax* causa a chamada **malária terçã benigna** pois a maioria dos doentes tolera as crises e pode sobreviver durante anos sem tratamento. As infecções de *P. ovale* provocam **malária ovale ou terçã benigna** cujo quadro se assemelha ao observado com *P. vivax*. No entanto, se as infecções não forem tratadas duram apenas cerca de um ano.

A infecção por *P. malariae* manifesta-se por sintomas semelhantes aos da gripe sendo que a febre apresenta uma periodicidade de 72h – **malária malariae ou quartã**. Os ataques são moderados a intensos e demoram várias horas. As infecções não tratadas podem persistir até 20 anos.

7- Como se deve fazer o tratamento da infecção?

O tratamento da doença pode ser feito a vários níveis. No caso de ser uma emergência médica, devemos sempre ter em mente as complicações resultantes da infecção e que podem ameaçar a vida do doente, como por exemplo:

- Avaliação das vias respiratórias e da respiração – é possível que os doentes entrem em paragem respiratória, pelo que se deve sempre estar atento a esta situação.
- Anemia hemolítica grave – deve-se proceder a uma transfusão sanguínea normalmente sob a forma de “papa de eritrócitos”.
- Hipoglicémia – o parasita metaboliza a glicose presente nos eritrócitos 70x mais rápido que os próprios eritrócitos, podendo assim causar hipoglicémia. Deve-se monitorizar a glicemia dos doentes, e administrar soros glicosilados ou glicose por via oral, se necessário.
- Pesquisar por sinais de possíveis lesões microvasculares.
- Pesquisar por sinais de malária cerebral (alteração do estado mental, tonturas, coma).
- No caso do grau de parasitismo por *P. falciparum* ser superior a 10%, pode ser necessário recorrer a uma transfusão por troca (“Exchange transfusion”), que deve ser mantida, até que o grau baixe até 5%.

Dados que podem ajudar a uma terapêutica mais adequada:

- Determinação do local para onde o paciente viajou e há quanto tempo chegou.
- Possibilidade de infecção prévia, e nesse caso, qual das espécies causou essa infecção.
- Inquirir qual a terapêutica profilática que o doente tomou (se tomou...) e quando foi administrada a última dose.
- Quando não se conhecer o agente, ou no caso duma infecção mista, assumir infecção por *P. falciparum* resistente à cloroquina. Assumir também resistência à mefloquina se a infecção tiver sido contraída no sudeste asiático.

Em casos de infecção sem complicações, em doentes adultos não imunodeficientes e cujo agente causador não seja o *P. falciparum*, não é necessário internar o doente. No entanto, é sempre necessário acompanhá-lo para avaliar a eficácia da terapêutica.

A terapêutica de escolha, caso não hajam resistências continua a ser a cloroquina. Em caso de resistência, opta-se por um derivado das quininas. Pode-se também usar o paracetamol em urgência (para dores e febre). Existem 4 classes de

fármacos para combater a malária, espalhados por 2 categorias de fármacos (Anti-protozoários e anti-maláricos).

1. os compostos relacionados com a quinolina
2. os antifolatos
3. os derivados da artemisina
4. e os agentes antimicrobianos.

P. falciparum

Devido à resistência que se desenvolveu à cloroquina e à possível evolução para uma situação mais grave, existem 3 regimes para tratar a infecção por este agente:

1. Quinina-sulfato (10mg/kg 8-8h) + doxiciclina (100mg/dia) durante 7 dias. Devido aos inúmeros efeitos secundários, é preciso incentivar o doente a cumprir a terapêutica até ao fim, para evitar as recidivas.
2. Malarone™ (atovaquona 250mg + proguanil 100mg) – 4/dia durante 3 dias. Tem o senão de ser muito dispendiosa.
3. Mefloquina (15mg/Kg no 1º dia + 10mg/Kg no 2º dia). Devem ser administrados antieméticos antes da terapêutica para reduzir o risco de vômito.

Em casos mais graves, existe outro regime:

(Quinina (IV) é o fármaco de escolha, mas deve ser administrada lentamente, por levar a hipotensão se administrada rapidamente)

1. Quinina dihidroclorido (20mg/Kg) (IV), administrada conjuntamente com soro glicosilado ou salino normal, seguida 4h depois por infusões de 8-8h de quinina dihidroclorido (10mg/Kg).

P. vivax

A maior parte das estirpes deste agente são sensíveis à cloroquina. Contudo, a cloroquina não tem efeito na porção do ciclo de vida extra-eritrocitário hepático, pelo que é necessária outra droga para erradicar completamente o agente.

Dia 1 – 1 dose cloroquina 10mg/kg + 5mg/kg 6/8h depois

Dia 2 – 1 dose cloroquina 5mg/kg

Dia 3 – 1 dose cloroquina 5mg/kg

Dias 4-17 – primaquina 7.5mg 2/dia

É necessário avaliar actividade da G6PD antes de introduzir a primaquina. Se a infecção tiver tido origem na Nova Guiné, é necessário administrar primaquina 3/dia em vez de 2. É possível que ainda hajam 2/3 recorrências antes do parasita ser totalmente eliminado.

P. mallariae, P. ovale

Tratamento igual ao anterior à excepção de não ser necessária primaquina para tratar infecções por *P. ovale*.

Aplicações Terapêuticas das Principais Drogas Anti-protozoárias/Anti-maláricas na Malária			
<i>Fase</i>	<i>Fármaco</i>	<i>Modo administração*</i>	<i>Particularidades</i>
Pré-eritrocitária	Primaquina	Oral	Perigo de favismo, usada na cura radical
Sanguínea	Cloroquina	Oral	Segura
“	Quinina**	Oral, IM	Alguma toxicidade
“	Proguanil	Oral	Associado a cloroquina
“	Primetamina	Oral	Combinado com sulfadoxina
“	Tetraciclina**	Oral	Nunca em crianças
“	Mefloquina	Oral	Segura
“	Doxiciclina	Oral	Nunca em crianças

* - Todos estes fármacos podem também ser administrados por via intravenosa (IV).

** - Úteis no tratamento de Malária por *P. falciparum* cloroquina resistentes.

6- Como se poderia ter feito a profilaxia da doença?

A profilaxia da malária é bastante complexa, na medida em que já existem muitas resistências aos fármacos usados, especialmente no *P. falciparum*, que é o agente que causa a infecção mais grave. Resistências à cloroquina, ao maloprim, ao lariam, à halofrantina e mesmo à quinina já foram descritas. Foi também identificada uma estirpe na Nigéria resistente à malarona.

Porque a malária causada por *P. falciparum* pode ser fatal, estas resistências são um factor alarmante e de preocupação clínica. O tipo de profilaxia depende então do local de infecção (região, país, etc.) e das resistências do agente.

As grávidas são particularmente vulneráveis à malária, resultando daqui muitos problemas para os fetos (aborto, malformações, baixo peso à nascença). Além disso, devido a exalarem uma maior quantidade de ar por cada inspiração e por terem a superfície corporal em média mais quente (0.7° C), atraem mais o mosquito.

Devido às inúmeras resistências à cloroquina, e também porque combinações de fármacos como a cloroquina + Fansidar podem ter efeitos secundários, a cloroquina já não é a melhor opção. A profilaxia deve ser iniciada 1 semana antes da viagem, para averiguar reacções adversas aos fármacos e para permitir que se atinjam níveis terapêuticos séricos adequados.

A profilaxia não é só farmacológica, compreende também medidas para evitar as picadas de mosquito (a melhor maneira de prevenir a doença). Estes mosquitos picam normalmente entre o anoitecer e o amanhecer, pelo que é à noite que se devem ter os maiores cuidados: roupa que tape a maior parte possível do

corpo e a aplicação de repelente nas áreas expostas (ou mesmo na roupa, se for fina) são 2 medidas que previnem em muito o risco de infecção por malária.

Existem 4 regimes de profilaxia, cuja escolha depende do local de viagem e da sensibilidade às drogas do viajante:

1. Cloroquina – Para algumas regiões ainda pode ser uma escolha, mas que não deixa, porém, de ser muito limitada. Deve ser tomada 1 semana antes da viagem, e durante 4 semanas depois da vinda do país de risco. A dose é de 300mg/semana. A cloroquina tem a contrapartida de ser segura para lactantes, grávidas e crianças.
2. Doxiciclina – Provavelmente o melhor agente profilático, especialmente para áreas de maior risco. Contudo, não pode ser administrada em lactantes, grávidas e crianças com menos de 8 anos. Além disso, pode diminuir a eficiência dos métodos contraceptivos orais. Dose 100mg/dia. Começar 1 ou 2 dias antes da viagem e manter até 4 semanas depois do regresso. Para assegurar que não há hiperssensibilidade por parte do doente, pode-se começar a profilaxia 1 semana antes.
3. Mefloquina (Loriam) – é ainda muito usado, pois tem uma semi-vida muito longa, pelo que se pode tomar semanalmente. A dose é de 250mg/semana e deve-se começar a tomar 1 semana antes da partida. Existe uma reacção adversa importante que é o síndrome cerebral agudo que tem uma prevalência de 1/15000. Não deve também ser tomada por condutores de autocarro ou pilotos de aviões.
4. Malorone™ (combinação de atovaquona e proguanil) – é seguro, eficaz e tem poucos efeitos secundários, contudo é muito caro e tem de ser tomado diariamente. A dose é de 1 comprimido/dia, e deve começar 1 ou 2 dias antes da partida e continuada até 7 dias depois do regresso.

Não existe vacina profilática nem terapêutica.

3- Como se pode justificar que o doente tenha malária, apesar de ter sido tratado com cloroquina?

A cloroquina, como a maioria dos restantes antimaláricos, é apenas eficaz contra as formas eritrocitárias, não tendo qualquer efeito contra os hipnozoítos.

Embora não nos seja dito há quanto tempo ocorreu a infecção, sabemos que, no mínimo, há 3 semanas, houve o tratamento com cloroquina, que resultou numa regressão dos sintomas (facto que apoia uma infecção por um plasmódio que não o *P. falciparum*, hoje em dia considerado em quase todo o mundo resistente a este fármaco).

Deste modo, estamos aparentemente perante uma recidiva da infecção, provavelmente devido a formas hipnozoítas latentes no fígado. Ou seja, o doente deve ter sido infectado por um *P. vivax* ou *P. ovale*, tendo os hipnozoítos sobrevivido ao tratamento com cloroquina visto eles serem destruídos apenas pela administração de primaquina.

[Nota: o *P. malariae* também apresenta a capacidade de recidivar, contudo, se não tratado, visto que não tem a capacidade de formar hipnozoítos no fígado]

Deste modo, podemos deduzir que terá ocorrido um erro no diagnóstico da espécie causadora (um erro de espécies ou não diagnosticar uma infecção mista) ou um erro no tratamento, já que, caso não haja identificação do agente, este deve ser

sempre tratado assumindo-se ser *P. falciparum* resistente à cloroquina e através também de cloroquina, para prevenir as recidivas por prováveis hipnozoítos.

Outras hipóteses:

- terem surgido resistências
- não cumprimento da terapêutica

Joana Lopes
Tiago Abreu
Vânia Sacramento

Turma P3 – Prof. Nuno Serrano