

A IMUNOCROMATOGRÁFIA COMO TESTE DE TRIAGEM NO DIAGNÓSTICO DA MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE CURITIBA

THE IMMUNOCHROMATOGRAPHY AS A TRIAGE TEST TO DIAGNOSE MALARIA IN CURITIBA

Marcyia Regina Visinoni

Farmacêutica-Bioquímica, 1990, UFPR, Pós-Graduanda em Imunologia Clínica/ UNINTER
marcyavisinoni@gmail.com

João Luiz Coelho Ribas

Farmacêutico-Bioquímico, Doutor em Farmacologia – UFPR, professor Centro Universitário Internacional UNINTER e Universidade Positivo.
joão.r@uninter.com

RESUMO

A malária é uma doença que tem cura e o tratamento é eficaz, simples e gratuito, mas pode evoluir para suas formas graves se não for diagnosticada e tratada de forma rápida e adequada. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que seu impacto sobre as populações humanas continua aumentando. Ela ocorre em mais de 90 países, pondo em risco cerca de 40% da população mundial. Representa, ainda, risco elevado para viajantes e migrantes, com casos importados em áreas não-endêmica. A malária é causada por protozoários, que se multiplicam nos glóbulos vermelhos do sangue do homem. As espécies causadoras da malária humana são quatro: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale*. O diagnóstico laboratorial específico de rotina é realizado mediante demonstração de parasitos, através do método da gota espessa ou testes imunocromatográficos (testes rápidos) em áreas de baixa endemicidade ou difícil acesso. O Laboratório Municipal de Curitiba (LMC) recebe amostras coletadas em três Unidades de Pronto Atendimento da cidade, onde pacientes com suspeita de malária coletam material para teste rápido e gota espessa e, se necessário, recebem a medicação antimalárica. A gota espessa é encaminhada ao LMC que realiza a leitura destas lâminas liberando laudos com a espécie de plasmódio encontrada. Este estudo objetiva conhecer o perfil epidemiológico da malária na rede pública de Curitiba, analisando dados disponibilizados pelo LMC, relativo ao período de 01/12/2005 à 31/12/2013. No período considerado para este estudo, foram avaliadas 824 amostras com solicitação de pesquisa de malária: 480 foram de diagnóstico e 344 foram lâminas de verificação de cura para controle de tratamento. Das 198 amostras com resultados positivos no diagnóstico, as infecções por *P. vivax* totalizaram 78,8%, por *P. falciparum* 19,7% e infecções mistas por ambos foram 1,51%. O número de pessoas do sexo masculino que realizaram lâminas para malária somou 77,7% do total. A avaliação dos resultados observados do teste rápido (imunocromatografia) quando comparado com a gota espessa (padrão ouro) resultaram em uma concordância de 98,96%.

Palavras-chave: Malária. Diagnóstico. Gota espessa. Imunocromatografia. Laboratório Municipal de Curitiba.

A imunocromatografia como teste de triagem no diagnóstico da malária no município de Curitiba

ABSTRACT

Malaria is a disease that has cure and its treatment is effective, simple and free, but it may progress to its severe forms if not diagnosed and treated quickly and appropriately. Data from the World Health Organization (WHO) show that their impact on human populations continue to increase. It occurs in more than 90 countries, endangering about 40% of world population. It also represents high risk for travelers and migrants, with cases imported into non-endemic areas. Malaria is caused by protozoa, which multiply in human red blood cells. The species that cause human malaria are four: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* and *P. ovale*. The routine specific laboratory diagnosis is made by the demonstration of parasites, through the method of thick blood tests or immunochromatographic (rapid tests) in areas of low endemicity or areas of hard access. Curitiba's Municipal Laboratory (CML) receives samples collected at three Emergency Rooms of Curitiba where patients suspected of having malaria provide material for rapid testing and thick smear and, if necessary, receive the antimalarial medication. The thick blood smear is sent to the CML that examines these blades releasing reports to the species of *Plasmodium* found. The following study aimed to evaluate the epidemiology of malaria at Curitiba's health centers, analyzing the data provided by LMC, from 12/01/2005 to 12/31/2013. During such period, 824 samples were evaluated with malaria search request: 480 were of diagnostics and 344 were of diagnostic check curing blades for treatment control. From the 198 samples with positive results in the diagnosis, 78.8% were of *P. vivax*, 19.7% of *P. falciparum* and 1.51% by both. Considering all blades analyzed for malaria 77.7% was provided by males. When comparing rapid test results (immunochromatography) to thick films (gold standard) there was a 98.96% of concordance.

Key words: Malaria. Diagnosis. Thick smear. Immunochromatography. Curitiba's Municipal Laboratory.

INTRODUÇÃO

A malária é uma doença que tem cura e o tratamento é eficaz, simples e gratuito, mas pode evoluir para suas formas graves se não for diagnosticada e tratada de forma rápida e adequada. O diagnóstico oportuno e o tratamento correto e imediato são os meios mais adequados para evitar o agravamento da doença ou óbito. A maioria dos casos de malária se concentra na região Amazônica (Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins), área endêmica para a doença. Nas demais regiões, apesar das poucas notificações, a doença não pode ser negligenciada, pois se observa uma letalidade mais elevada que na região endêmica (BRASIL, 2014).

Atualmente, com a facilidade de locomoção das pessoas torna-se imprescindível que os serviços de saúde de todo o país tenham protocolos para o

diagnóstico da malária. É importante que o paciente com sinais e sintomas desta doença seja diagnosticado e receba o tratamento o quanto antes.

Em virtude da necessidade de um diagnóstico rápido a Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba elaborou protocolo de atendimento às suspeitas de malária, onde os pacientes são encaminhados para três Unidades de Pronto Atendimento - UPAs. Na UPA é coletada amostra de sangue para realização do teste imunocromatográfico rápido e da gota espessa. Mesmo sendo o teste rápido uma triagem, o paciente que tem um resultado positivo sai do serviço com a medicação antimalárica. A gota espessa é encaminhada ao Laboratório Municipal de Curitiba (LMC) para coloração, leitura e liberação de laudo por profissionais treinados na diferenciação das várias espécies de plasmódio.

Este estudo irá avaliar os diagnósticos de malária, teste imunocromatográfico e gota espessa, que foram realizados no Laboratório Municipal de Curitiba no período de 01 de dezembro de 2005 à 31 de dezembro de 2013 tendo como objetivos: analisar os resultados observados nos testes imunocromatográficos quando comparados com o padrão ouro de diagnóstico (gota espessa); apontar a prevalência das espécies de Plasmódio nos pacientes diagnosticados com malária no Laboratório Municipal de Curitiba e quantificar o número de exames de malária realizados no período supracitado.

Histórico

A malária acompanha a humanidade provavelmente desde seu nascedouro na África há dezenas de milhares de anos. Ela apresenta características clínicas inconfundíveis que permitem distingui-la de outras doenças febris: intensos calafrios precedem a febre alta que ocorre em episódios de três a quatro horas de duração que podem se repetir todos os dias ou a intervalos de um ou dois dias, por tempo variável, até que o paciente se recupere ou morra. Além disto a doença se faz acompanhar de aumento perceptível do baço e, às vezes, tende a ressurgir depois de variáveis períodos de cura aparente. Esse caráter intermitente e exclusivo da malária permitiu reconhecer a sua presença em escritos chineses de 3000 aC, nas tábuas cuneiformes mesopotâmicas (2000 aC) e em escrituras Vedas na Índia (1800

aC). Na história médica ocidental, referências à malária vêm desde Hipócrates, que a descreveu em detalhes. Depois dele, narrativas se sucedem na história romana e por toda a Idade Média. Um fato comum a todas estas crônicas é que a ocorrência de malária está associada a regiões pantanosas, várzeas e alagadiços (CAMARGO, 1995).

A malária foi sempre, em todos os tempos, um grande algoz da humanidade. Algumas epidemias como a da peste do século XIV, podem ter tido maior dramaticidade pela agudeza de sua ocorrência, mas nenhuma outra doença se compara à malária pela tenacidade e perenidade com que flagela a humanidade. Ela não poupou qualquer segmento da terra, com exceção das regiões polares e subpolares. Grandes figuras da história como Petrarca, Dante Alighieri, e vários chefes de Estado morreram de malária. Há quem diga que até a morte de Alexandre o Grande se deveu à malária (CAMARGO, 1995).

Santo Agostinho, o primeiro arcebispo de Canterbury, morreu de uma doença, que muito provavelmente era malária, em 597 a.C.; Dante Alighieri, o poeta italiano, morreu de febre maligna em 1321 d.C..O imperador do sacro império Romano Germânico Carlos V morreu de malária em um monastério em Yuste, Espanha, em 1558; o Papa Sixtos V morreu de febre dos pântanos em 1590, da mesma forma que o seu sucessor, Urbano VII. Durante o Conclave de 1623, 8 cardeais e 30 escribas e secretários morreram de febre induzida por malária, enquanto outras pessoas presentes ficaram doentes (FRANÇA, 2008).

A malária foi tratada com quinino a partir do século XVII mas até fins do século passado acreditava-se que era contraída pela aspiração de emanações venenosas (miasmas) de pântanos e alagadiços. Em 1880, Laveran, na Argélia, descobriu seu agente causador, um parasita dos glóbulos vermelhos do sangue. Mais tarde, outros autores descobriram que eram quatro as espécies parasitas da malária: *Plasmodium falciparum*, causador de uma forma particularmente grave da doença, muitas vezes mortal; *P. vivax*, responsável por uma forma menos grave mas recidivante, e *P. malariae* e *P. ovale*, causadores de formas mais atenuadas. Em 1900, Ross, na Índia, descobriu que o parasita era transmitido ao homem pela picada de mosquitos hematófagos, pernilongos, que Grassi reconheceu como sendo do

Revista Saúde e Desenvolvimento | vol. 8, n.4 | jul-dez. 2015

gênero Anopheles. A época da Segunda Grande Guerra, surgem os inseticidas de ação residual. Drogas sintéticas eficazes foram acrescentadas à farmacopéia antimalárica. Todavia, a transposição de cada uma dessas etapas não foi tranqüila e não se ateve aos domínios da medicina. Facções se hostilizaram em um amplo espectro de confrontos não científicos criando conflitos que permearam toda a história da malária (CAMARGO, 1995).

Mesmo antes de se saber que a malária era transmitida por mosquitos, já em várias partes do mundo existia um certo controle da malária — a relação entre malária e águas paradas, por exemplo, é muito antiga: os romanos já faziam o controle nos arredores de Roma, naturalmente pela secagem de pântanos. Paludismo vem de *palus*, que significa exatamente água estagnada ou pântano (TAUIL et al, 1985).

O controle da malária no Brasil tem uma história remota. Em 1898, antes mesmo da descoberta de que a transmissão da malária se fazia por mosquitos do gênero *Anopheles*, Adolfo Lutz já havia antecipado, de forma ainda empírica, a veiculação da doença por anofelinos, quando atribuiu a mosquitos da espécie *Anopheles cruzi* o “surto de paludismo” entre trabalhadores da estrada de ferro São Paulo-Santos, então em construção. Propunha por isso que os acampamentos fossem montados longe da floresta, onde esses mosquitos tinham como criadouros bromélias arborícolas. Em 1905 Carlos Chagas, outro cientista brasileiro, tendo comprovado ser intradomiciliar a transmissão, adotou o uso de imagocidas no controle da malária, pela queima de enxofre no interior das habitações. Até então as atividades anti-vetoriais priorizavam o uso de larvicidas (SILVEIRA, 2001).

No início dos anos 40 o controle da malária passou a ter alcance nacional, com três instituições atuando em diferentes espaços geográficos: o Serviço Especial de Saúde Pública (SESP) na região amazônica, o Serviço Estadual de Malária de São Paulo naquele estado e o Serviço Nacional de Malária (SNM), criado em 1941, cobria o restante do país. A partir de 1950 o SNM passou a atuar também na Amazônia. De início a metodologia e o instrumental tecnológico eram aqueles mesmos adotados e disponíveis pela campanha de erradicação do *Anopheles gambiae*. A malária era

naquele momento altamente prevalente e dispersa pelo país, com mais da metade dos casos registrados na região extra-amazônica (SILVEIRA, 2001).

É incontestável o fato de que a estratégia de erradicação da malária preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e adotada pelo Brasil a partir de 1965, baseada na ação intradomiciliar do diclorodifeniltricloroetano (DDT) contra os anofelinos transmissores e no uso de drogas antimaláricas para esgotamento das fontes de infecção (seres humanos parasitados pelos plasmódios), foi capaz de eliminar a malária de extensas áreas do território brasileiro (regiões Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul) onde uma parcela significativa da nossa população vivia sob o risco de contrair a malária. Cerca de 40 milhões de brasileiros estiveram, nessas áreas, expostos a algum risco de contrair esta doença até 1979, quando tais áreas foram consideradas livres da transmissão autóctone de malária (LOIOLA et al, 2002).

Para erradicar a malária, o governo brasileiro criou, em 1965, através de uma lei (4 709, de 6 de setembro de 1965), a Campanha de Erradicação da Malária (CEM). A CEM tinha autonomia administrativa e financeira, quadro de pessoal e orçamento próprios, era organizada dentro dos princípios rígidos da disciplina e hierarquia e tinha capacidade técnica e operacional suficientes para executar, verticalmente, suas ações de cobertura integral das medidas de controle em todas as áreas maláricas do país (LOIOLA et al, 2002).

O estado do Paraná, classificado como região extra-amazônica para transmissão da malária, teve o aumento da incidência da doença com o fechamento da barragem de Itaipu, em 1982, com o início da formação do lago localizado a 16 km da Foz do Rio Iguaçu, até o município de Guaíra, contribuindo para o aumento da densidade do *Anopheles darlingi*, com ocorrência de surtos da doença, uma vez que a manutenção de casos de malária no estado decorre de diversos fatores como: presença do vetor, condições climáticas favoráveis e presença de casos importados da doença advindas das áreas endêmicas do país e do Paraguai. Com base na situação epidemiológica observada ao longo dos anos, a Superintendência Campanhas de Saúde Pública - SUCAM priorizou onze municípios considerados limdeiros, situados à margem esquerda do Lago de Itaipu sendo estes os municípios

Revista Saúde e Desenvolvimento | vol. 8, n.4 | jul-dez. 2015

de: Foz do Iguaçu, Santa Terezinha do Itaipu, Santa Helena, Missal, Itaipulândia, entre Rios do Oeste, Pato Bragado, Marechal Cândido Rondon, Mercedes e Guairá (HESS, 2013).

Em 2000 o controle da malária no Estado do Paraná foi oficialmente descentralizado, passando para o estado e municípios as responsabilidades com atividades direcionadas ao controle. Embora estas atividades já ocorressem em parceria com essas instituições, porém sob a responsabilidade da Fundação Nacional de Saúde, e executada por quatro Distritos Sanitários, localizados em Foz de Iguaçu, Londrina, Paranaguá e Jacarezinho (FERREIRA & LUZ, 2003).

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que seu impacto sobre as populações humanas continua aumentando: ocorre em mais de 90 países, pondo em risco cerca de 40% da população mundial. Representa, ainda, risco elevado para viajantes e migrantes, com casos importados em áreas não-endêmicas (BRASIL, 2009).

Malária

A malária é causada por protozoários, que se multiplicam nos glóbulos vermelhos do sangue do homem. As espécies causadoras da malária humana são quatro: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale*. O *falciparum* é responsável por uma forma muito grave de malária, outrora chamada de terçã maligna. Das mortes anuais devidas à malária, mais de 95% são causadas pelo *falciparum*. O *vivax* causa uma doença mais branda, a terçã benigna, que, no entanto, tem o inconveniente de retornar após ter sido aparentemente curada. Isso, porque nas células do fígado do homem infectado podem permanecer algumas formas em hibernação (CAMARGO, 2003).

A ocorrência de malária está intimamente associada à presença e proliferação de mosquitos do gênero *Anopheles*. São muitíssimas as espécies de *Anopheles*, cada uma com suas preferências evolutivas e alimentares. Todas elas

põem seus ovos em coleções d'água, mas algumas preferem águas paradas, outras preferem águas limpas de fluxo lento, ou sujas, ou de fluxo rápido. Algumas exigem muito calor, muitas gostam de temperaturas amenas. As fêmeas alimentam-se sempre de sangue e podem ser permissivas ou exigentes quanto ao fornecedor desse sangue, picando todo tipo de animal ou um tipo de animal apenas. Os machos alimentam-se de fluídos de plantas e flores e, portanto, não transmitem a malária (CAMARGO, 2003).

No Brasil, ocorrem predominantemente as espécies *P. vivax* e *P. falciparum* e, com menor frequência, *P. malariae* (FERREIRA *et al.*, 2001).

A malária, importante doença parasitária há séculos – apesar das ações de controle implantadas há décadas em muitas partes do mundo –, é também conhecida como impaludismo, febre palustre, maleita e sezão (BRASIL, 2009).

Infecções mistas ocorrem ocasionalmente (aproximadamente 5% das vezes), mas é necessário tomar cuidado com o estabelecimento do diagnóstico, a menos que haja evidência definitiva de duas populações separadas de parasitas. As infecções mistas mais comuns são *P. falciparum* e *P. vivax* (HENRY, 2008).

O curso da malária não tratada depende da espécie. A maioria dos casos fatais de malária é por *P. falciparum*. Os pacientes com infecção por *P. vivax* ou *P. ovale* podem apresentar recidivas depois de muitos meses ou, ocasionalmente, anos. As pessoas com infecção por *P. falciparum* ou *P. malariae* podem apresentar períodos livres de sintomas, mas sofrem de recrudescências esporádicas devido à parasitemia persistente de baixo grau (HENRY, 2008).

O plasmódio possui dois ciclos biológicos: o primeiro, no homem - hospedeiro intermediário - desenvolve o ciclo esquizogônico ou assexuado; o segundo, no mosquito - hospedeiro definitivo - desenvolve o ciclo esporogônico ou sexuado. Após a picada o parasito, na forma infectante de esporozoíta, penetra a corrente sanguínea do homem pela qual chega até os hepatócitos, onde se multiplicam de maneira intensa, veloz e constantemente por esquizogonia; estes, após multiplicação intensa, atingirão o estágio invasivo chamado merozoíta. Essa fase do ciclo é chamada de pré-eritrocítica ou exoeritrocítica, na qual a célula hepática se rompe liberando os merozoítas, os quais invadirão as hemácias dando

início ao ciclo eritrocítico. Nas hemácias os merozoítas, agora trofozoítas, desenvolvem a esquizogonia sanguínea e transformam-se em esquizontes, os quais rompem as células sanguíneas liberando milhares de elementos filhos: os merozoítas, que irão invadir novas hemácias. Alguns merozoítas evoluem para gametócitos, que podem ser microgametócito (masculino) ou macrogametócito (feminino), os quais são ingeridos pelos Anopheles, dando início ao ciclo esporogônico ou sexuado. Ao picarem o homem infectado, os anofelinos ingerem juntamente com as hemácias, macrogametócitos e microgametócitos. Esses vão para o estômago do mosquito liberando os parasitos. Isto é devido à ruptura da hemácia causada pelo constante movimento de contração e expansão dos parasitos. Após este processo de liberação os microgametócitos darão origem a microgametas (masculinos) flagelados que irão de encontro com os macrogametas (femininos) formando então o zigoto. Este se movimenta sob a forma de oocineto, penetra o epitélio do estômago do mosquito e se fixa do lado de fora, onde se transforma em oocisto que é envolvido por uma membrana elástica. Quando os oocistos estão maduros, rompem-se liberando os esporozoítas na hemocele do mosquito, estes atingem as glândulas salivares e praticamente todo o corpo do inseto, se concentrando no aparelho bucal (probóscide) (HESS, 2013).

Modo de transmissão

Ocorre por meio da picada das fêmeas do mosquito *Anopheles*, quando infectados por *Plasmodium spp.* Ao picar uma pessoa infectada, os plasmódios circulantes no sangue humano, na fase de gametócitos, são sugados pelo mosquito, que atua como hospedeiro principal e permite o desenvolvimento do parasito gerando esporozoítos no chamado ciclo esporogônico. Por sua vez, os esporozoítos são transmitidos aos humanos pela saliva do mosquito no momento das picadas seguintes. O ciclo do parasito dentro do mosquito tem duração variada conforme as espécies envolvidas, com duração média de 12 a 18 dias, sendo, em geral, mais longo para *P. falciparum* do que para *P. vivax* (BRASIL, 2015).

Segundo o Ministério da Saúde (2015) o risco de transmissão depende do horário de atividade do vetor. Os vetores são abundantes nos horários crepusculares, ao entardecer e ao amanhecer. Todavia, os vetores continuam ativos durante todo o período noturno, porém em menor quantidade em algumas horas da noite. Não há transmissão direta da doença de pessoa a pessoa. Outras formas de transmissão, tais como por transfusão sanguínea, compartilhamento de agulhas contaminadas ou transmissão congênita também podem ocorrer, mas são raras.

A malária induzida por transfusão pode ocorrer quando os doadores de sangue apresentam malária subclínica e pode se mostrar fatal para o recipiente. Da mesma forma, a malária congênita pode acometer bebês nascidos de mães de áreas endêmicas. O bebê adquire a infecção ao nascimento como resultado da ruptura dos vasos sanguíneos da placenta resultando em transfusão materno-fetal. A malária transfusional ou congênita não deve recidivar porque nestas condições não há esquizogonia exoeritrocítica (HENRY, 2008).

Período de incubação

O período de incubação da malária varia de acordo com a espécie de plasmódio. Para *P. falciparum*, de 8 a 12 dias; *P. vivax*, 13 a 17 dias; e *P. malariae*, 18 a 30 dias (BRASIL, 2015).

Período de latência

Nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, alguns esporozoítos originam formas evolutivas do parasito denominadas hipnozoítos que podem permanecer em estado de latência no fígado. Estes hipnozoítos são responsáveis pelas recaídas da doença, que ocorrem após períodos variáveis, em geral dentro de 3 a 9 semanas após o tratamento para a maioria das cepas de *P. vivax*, quando falha o tratamento radical (tratamento das formas sanguíneas e dos hipnozoítos) (BRASIL, 2015).

Revista Saúde e Desenvolvimento | vol. 8, n.4 | jul-dez. 2015

Período de transmissibilidade

O mosquito é infectado ao sugar o sangue de uma pessoa com gametócitos circulantes. Os gametócitos surgem na corrente sanguínea, em período, a partir do início dos sintomas, que varia de poucas horas para o *P. vivax* e de 7 a 12 dias para o *P. falciparum*. Caso não seja adequadamente tratado, o indivíduo pode ser fonte de infecção por até 1 ano para malária por *P. falciparum*; até 3 anos para *P. vivax*; e por mais de 3 anos para *P. malariae* (BRASIL, 2015).

Suscetibilidade e imunidade

Em geral, toda pessoa é suscetível à infecção por malária. Indivíduos que tiveram vários episódios de malária podem atingir um estado de imunidade parcial, apresentando quadro oligossintomático, subclínico ou assintomático. Mas uma imunidade esterilizante, que confere total proteção clínica, até hoje não foi observada (BRASIL, 2015).

Negróides com caráter falciforme são menos suscetíveis à malária por *P. falciparum* e as pessoas que não apresentam determinados antígenos do grupo sanguíneo Duffy são protegidas das infecções por *P. vivax*. A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) tem sido associada com a proteção contra a malária, mas as evidências são menos marcantes do que com essas outras anormalidades genéticas (HENRY, 2008).

Complicações

Malária cerebral, com edema, convulsões, delírio, coma; anemia hemolítica, edema pulmonar agudo, insuficiência renal aguda, hepatopatia aguda, disritmias cardíacas e alterações gastrointestinais, como diarreia profusa, hemorragia. As formas graves estão relacionadas à parasitemia elevada, acima de 2% das hemácias parasitadas, podendo atingir até 30% dos eritrócitos (PARANÁ, 2015).

Diagnóstico

A principal manifestação clínica da malária em sua fase inicial é a febre, associada ou não a calafrios, tremores, suores intensos, dores de cabeça e dores no corpo. A pessoa que contraiu a doença pode ter também vômitos, diarreia, dor abdominal, falta de apetite, tonteira e sensação de cansaço. O diagnóstico e o tratamento tardios podem resultar no agravamento da doença com quadros de anemia grave, insuficiência renal e hepática e coma, dentre outras complicações clínicas (FIOCRUZ, 2014).

O diagnóstico clínico é realizado na presença de sintomas sugestivos de malária, como febre alta, acompanhada de calafrios, sudorese profusa e cefaléia, em padrões cíclicos. Podem apresentar sinais prodrômicos, a exemplo de náuseas, vômitos, astenia, fadiga e anorexia. Outros sintomas característicos: anemia hipocrômica, com hematócrito elevado no início do período febril, esplenomegalia dolorosa, quadro clínico associado à história epidemiológica de residência ou procedência de área endêmica, e a resposta rápida ao uso de antimaláricos podem concluir o diagnóstico (PARANÁ, 2015).

O diagnóstico laboratorial específico de rotina é realizado mediante demonstração de parasitos, através do método da gota espessa ou esfregaço (sendo usado preferencialmente o método da gota espessa) ou testes imunocromatográficos (testes rápidos) em áreas de baixa endemicidade ou difícil acesso. Existem ainda os testes de imunodiagnóstico, como a imunofluorescência indireta (IFI), imunoabsorção enzimática (ELISA), aglutinação, precipitação e radiodiagnóstico, não sendo entretanto utilizados na prática diária. Dentre os métodos de imunodiagnóstico, o IFI e o ELISA são mais factíveis operacionalmente. Outro método desenvolvido é a captura de antígeno através anticorpos monoclonais que, apesar de baixo custo e fácil realização, é de auxílio apenas para malária por *P. falciparum*, não fornecendo resultados quantitativos, o que pode levar a resultados falsos positivos (PARANÁ, 2015).

A avaliação laboratorial dos pacientes com suspeita de possuírem malária continua dependendo do exame em tempo hábil de extensões sanguíneas delgadas

Revista Saúde e Desenvolvimento | vol. 8, n.4 | jul-dez. 2015

e espessas para demonstrar os parasitas intra-eritrocíticos. Embora direta em abordagem, a performance destas metodologias pode ser problemática. A identificação segura dos organismos exige treinamento contínuo para manter a experiência; portanto, aqueles laboratórios que raramente encontram amostras positivas podem preferir enviá-las a centros de referência, desde que processadas e comunicadas em tempo hábil (HENRY, 2008).

Tradicionalmente, o diagnóstico da malária é feito pela visualização microscópica do plasmódio em exame da gota espessa de sangue, corada pela técnica de Giemsa ou de Walker. Recentemente, novas técnicas científicas estão sendo empregadas para desenvolver diagnósticos simples, eficazes e passíveis de realização fora do laboratório, destacando-se os testes imunocromatográficos rápidos – cuja indicação ainda é limitada para áreas de difícil acesso ou baixa prevalência (BRASIL, 2009).

Diagnostico diferencial

Febre tifóide, febre amarela, hepatite infecciosa, leishmaniose visceral, esquistossomose masônica, leptospirose. Em crianças, pesquisar outras doenças do trato respiratório, urinário e digestivo. Outras doenças febris, como infecção urinária, tuberculose miliar, salmoneloses septicêmicas, endocardite bacteriana, que cursam com esplenomegalia ou anemia ou hepatomegalia, devem ser descartadas (PARANÁ, 2015).

Imunocromatografia

O desenvolvimento de testes imunocromatográficos com alto grau de sensibilidade e especificidade trouxe rapidez e agilidade no diagnóstico e no início do tratamento da malária. Esta ferramenta é muito efetiva, principalmente, em

regiões não endêmicas, onde existe deficiência de profissionais treinados na leitura da gota espessa.

A OMS recomenda diagnóstico rápido da malária ou por microscopia ou teste de diagnóstico rápido da malária (RDT) em todos os pacientes com suspeita de malária antes do tratamento ser administrado. O teste de diagnóstico melhora a gestão de todos os pacientes com doenças febris, e também pode ajudar a reduzir o surgimento e a propagação da resistência aos medicamentos antimaláricos (WHO, 2014).

A principal estratégia dos programas de controle da malária no mundo atual é o diagnóstico precoce e a terapêutica eficaz. Por esta razão, muito esforço tem sido investido na busca de métodos que sejam rápidos e eficientes para o diagnóstico específico dos parasitas da malária. Contudo, o diagnóstico de certeza só é possível pela demonstração do parasita, ou de antígenos relacionados, no sangue periférico do paciente (DE CARLI, 2011).

O desenvolvimento recente de ensaios de imunocaptura para a detecção da lactato-desidrogenase específica do *Plasmodium* parece fornecer um alto grau de sensibilidade e especificidade no diagnóstico da malária (HENRY, 2008).

Os testes de diagnóstico rápido para malária funcionam como ferramentas alternativas para o diagnóstico da doença e assim aumentam as chances de um diagnóstico precoce acompanhado de um tratamento mais rápido e adequado, interrompendo a transmissão da doença na área e diminuindo os níveis de morbimortalidade (FADUL, 2007). Testes de diagnóstico rápido da malária têm o potencial de melhorar significativamente a gestão de infecções de malária, especialmente em áreas remotas com acesso limitado a serviços de microscopia de qualidade (WHO, 2014).

Os esquemas terapêuticos diferem entre as espécies, o que torna fundamental a determinação do tipo de *Plasmodium* através da realização de exame laboratorial para detecção dos parasitas ou de seus antígenos no sangue periférico; somente a sintomatologia não é suficiente para definir o agente etiológico (CIMERMAN, 2010).

O DiaMed OptiMAL-IT Malária é um teste específico que detecta a presença da desidrogenase láctica do Plasmodio (pLDH), enzima produzida pelas formas sexuada e assexuada do parasita. Apresenta excelente correlação com o método da gota espessa, detectando níveis de parasitemia periférica de 50 a 100 parasitas/ μ L de sangue (correspondente a uma parasitemia de 0,001-0,002%).

O teste indica a presença ou ausência de *Plasmodium sp* e possibilita o diagnóstico diferencial entre *P. falciparum* (responsável por casos fatais de malária) e as demais espécies, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. Permite ainda, o monitoramento do tratamento de malária, sendo útil na detecção de cepas de *Plasmodium sp* resistentes. O DiaMed OptiMAL-IT Malária é um teste rápido com resultados obtidos em apenas 20 minutos, além de fácil execução e interpretação, não exigindo especialistas para a sua realização (DIAMED, 2015).

O Laboratório Municipal de Curitiba é um dos poucos serviços da rede pública de Curitiba e Região Metropolitana capacitado no diagnóstico laboratorial diferencial da malária, sendo considerado laboratório de referência, além de participar do controle de qualidade para malária no LACEN (Laboratório Central do Estado do Paraná).

O protocolo de atendimento ao paciente com suspeita de malária, da Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba, orienta que os casos suspeitos sejam encaminhados para uma das três UPAs que estão capacitadas para este procedimento. São elas: UPA Pinheirinho, UPA Matriz e UPA Campo Comprido. Na UPA, os profissionais da enfermagem atendem o paciente fazendo a coleta de sangue para realização do Teste Rápido (Diamed Optimal-IT), gota espessa (padrão ouro no diagnóstico) e uma amostra de sangue com EDTA. O Teste Rápido é usado para triagem, porém, se o mesmo der POSITIVO o usuário sai do serviço com a medicação antimalárica.

Os materiais coletados na UPA (teste rápido, gota espessa e tubo de sangue com EDTA) são encaminhados, no próximo dia útil, ao Laboratório Municipal de Curitiba conforme protocolo da Secretaria Municipal de Saúde. A lâmina com a gota espessa segue para coloração, leitura e liberação de laudo por profissionais treinados na diferenciação das várias espécies de plasmódio.

A imunocromatografia como teste de triagem no diagnóstico da malária no município de Curitiba

A gota espessa por concentrar uma quantidade de sangue relativamente maior, aumenta a possibilidade de encontrar parasitas, o que o torna o método de eleição para o diagnóstico laboratorial da malária e continua sendo o “padrão ouro” para a confirmação específica da doença. O esfregaço sanguíneo tem a vantagem de facilitar a identificação da espécie por permitir maior detalhe da morfologia do parasito e das alterações características do eritrócito parasitado permitindo conferir o diagnóstico de espécies em segunda instância (BRASIL, 2006).

O laudo é liberado com a espécie de plasmódio encontrada, a parasitemia semiquantitativa e parasitemia quantitativa conforme Quadro 1. O laudo impresso é encaminhado para a epidemiologia do Distrito Sanitário da UPA que encaminhou a amostra.

Quadro 1 – Avaliação semiquantitativa e quantitativa da parasitemia da malária na gota espessa de sangue.

Número de parasitos contados / campo	Parasitemia Semiquantitativa (cruzes)	Parasitemia Quantitativa (por mm³)
40 a 60 por 100 campos	+ /2	200 a 300
1 por campo	+	301 a 500
2 a 20 por campo	++	501 a 10.000
21 a 200 por campo	+++	10.001 a 100.000
200 ou mais por campo	++++	>100.000

Quando um teste é positivo para malária, o paciente sai do serviço com a orientação para comparecer ao Laboratório Municipal para coleta da lâmina de verificação de cura (LVC). Estas coletas são realizadas 7, 14, 21 e 28 dias após o início do tratamento. O laudo destas coletas é encaminhado, também, para a Epidemiologia do Distrito Sanitário da UPA que fez o diagnóstico da doença.

MATERIAIS E MÉTODO

Foram resgatados dados retrospectivos dos exames de malária realizados no período de 01 de dezembro de 2005 à 31 de dezembro de 2013 através de relatórios

obtidos pelo sistema de informática do LMC, sistema Labsystem – Sistema de Automação em Laboratórios. Além disso, os registros das leituras da Imunocromatografia foram analisados cruzando os dados com o resultado da leitura da gota espessa.

A abordagem desta pesquisa é quantitativa, sendo um estudo transversal exploratório.

A coleta de dados incluiu: número total de amostras recebidas para pesquisa de malária, quantitativo de resultados positivos e negativos, sexo dos pacientes que tiveram suas amostras analisadas, cruzamento dos resultados obtidos no teste rápido com os resultados da gota espessa, assim como identificação das espécies de plasmódio. Com a análise destes relatórios foram construídas tabelas onde os dados estão tabulados.

Este trabalho teve seu projeto aprovado pelo CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética) sob número 38966214.6.0000.5573 assim como pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba – Prot.92/2014.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS

No período considerado para este estudo, foram avaliadas 824 amostras com solicitação de pesquisa de malária, conforme tabela 1. Destas, 480 foram de diagnóstico e 344 foram lâminas de verificação de cura para controle de tratamento.

A imunocromatografia como teste de triagem no diagnóstico da malária no município de Curitiba

Tabela 1 – Quantitativo de amostras recebidas pelo Laboratório Municipal para pesquisa de plasmódio (por ano).

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Total
Diagnóstico	03	72	71	92	59	47	53	40	44	480
LVC	01	30	68	119	39	18	33	09	27	344
Total exames	04	102	139	211	98	65	86	49	70	824

Entre as amostras analisadas, 77,7% (640) foram de pacientes do sexo masculino e 22,3% (184) do sexo feminino. Isto se deve ao fato de que grande parte dos homens viajam a trabalho, indo da Região Não-Endêmica para a Região Endêmica, onde adquirem a doença ou retornam com suspeita da mesma.

Como é mostrado na tabela 2 as lâminas negativas no diagnóstico totalizaram 282 amostras. Das 198 amostras com resultados positivos no diagnóstico 78,8% (156) foram de *Plasmodium vivax*, 19,7% (39) *Plasmodium falciparum* e 1,51% (3) com infecção mista (*P. vivax* + *P. falciparum*). Nenhuma infecção causada por *Plasmodium malariae* foi encontrada, o que era esperado já que no Brasil este plasmódio tem baixa incidência.

Tabela 2 - Número de amostras para diagnóstico e total de amostras por espécie de plasmódio, por ano.

	Diagnóstico	<i>P.vivax</i>	<i>P.falciparum</i>	<i>P. vivax</i> +	Negativas
2005	03	01	02	----	----
2006	72	33	07	01	31
2007	71	28	06	01	36
2008	92	24	11	----	57
2009	59	19	04	01	35
2010	47	15	----	----	32
2011	53	14	05	----	34
2012	40	08	02	----	30
2013	43	14	02	----	27
TOTAL	480	156	39	03	282

A avaliação dos resultados observados do teste rápido (imunocromatografia) quando comparado com a gota espessa (padrão ouro) resultaram em uma concordância de 98,96% (tabela 3). Dos 462 resultados, apenas 6 foram discordantes.

3 amostras tiveram TR negativo com GE com parasitemia $<+2$ e $+2$. Esta discordância se deve à baixa parasitemia e/ou a quantidade de sangue utilizada para fazer o teste rápido inferior ao que preconiza o fabricante. Vale ressaltar que o volume de sangue total indicado no teste já é, por si só, um volume pequeno. Se não for coletado a quantidade adequada o resultado do teste torna-se prejudicado.

3 amostras tiveram TR negativo e GE com parasitemia de ++ ou +++. Não foi possível repetir o TR de uma das amostras pois foi enviado sangue coletado sem anticoagulante inviabilizando a repetição. Não há registro se as outras 2 tiveram os TR repetidos no laboratório para confirmar o resultado Negativo. Estas discordâncias também ocorrem devido ao profissional que fez o exame na UPA não seguir as orientações do fabricante quanto ao volume de amostra e tempo de realização das várias etapas do teste, bem como a sua falta de conhecimento do mesmo. Cabe aqui enfatizar o fato de que a rotatividade dos profissionais da enfermagem é grande, e, mesmo com treinamentos periódicos, pode haver uma deficiência neste atendimento ao usuário.

Tabela 3 - Concordância de resultados entre gota espessa e teste rápido, por ano.

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Total	% Concordância
Nº total Amostras	03	70	71	79	58	46	53	40	42	462	
Nº de Discordantes	---	01	02	02	---	---	---	---	01	06	
										456	98,96

CONCLUSÃO

Os pacientes com suspeita de malária devem ser encaminhados a um serviço de saúde para que o seu diagnóstico seja realizado o quanto antes evitando um agravamento do seu quadro clínico, conduta esta que deve ser enfatizada

A imunocromatografia como teste de triagem no diagnóstico da malária no município de Curitiba

principalmente quando o paciente está fora da região Endêmica, onde os casos de malária são menos frequentes exigindo um diagnóstico epidemiológico, clínico e laboratorial eficientes.

No município de Curitiba, o Laboratório Municipal de Curitiba, é considerado referência para o diagnóstico laboratorial da malária, pois conta com profissionais capacitados na diferenciação das várias espécies, refletindo no tratamento, que varia de acordo com a espécie de plasmódio diagnosticada. A espécie mais encontrada foi a de *Plasmodium vivax*, como era de se esperar, já que no Brasil esta espécie tem uma maior incidência. Nenhuma gota espessa com *Plasmodium malariae* foi encontrada e três casos foram confirmados com malária mista (*P. vivax* + *P. falciparum*).

Este trabalho concluiu os objetivos pré-estabelecidos de apontar a espécie de plasmódio mais encontrada nos pacientes que fizeram exame para malária no LMC, quantificar o total de amostras examinadas, indicar a porcentagem de homens e mulheres deste total e avaliar o uso da Imunocromatografia como triagem nos casos suspeitos de malária.

Considerando a imunocromatografia como triagem, desde que foi implantada, ela está contribuindo de maneira efetiva no diagnóstico da malária no município de Curitiba. Sem esta ferramenta, muitos pacientes teriam seus quadros agravados principalmente quando se trata da malária causada pelo *P. falciparum* ou a suspeita de malária demoraria para ser descartada. Além disso, o resultado do Optimal-IT deve ser interpretado no contexto epidemiológico, clínico e terapêutico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Ações de Controle da Malária: Manual para Profissionais de Saúde na Atenção Básica**. Editora MS, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária**. Brasília, 2009.

CAMARGO, Erney Plessmann. **A malária encenada no grande teatro social**. Estud. av., São Paulo, v. 9, n. 24, Aug. 1995. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40141995000200010&lng=en&nrm=iso>. access on 04 Apr. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40141995000200010>.

CAMARGO, Erney Plessmann. **Malária, maleita, paludismo**. *Cienc. Cult.* [online]. 2003, vol.55, n.1, pp. 26-29. ISSN 2317-6660. http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252003000100021&script=sci_arttext&tlng=en Acesso em 07/04/2015

CIMERMAN, Benjamin; CIMERMAN, Sergio. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2 ed – São Paulo. Editora Atheneu, 2010.

DE CARLI, Geraldo Attilio. **Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. 2.ed – São Paulo: Atheneu, 2011.

Diamed OptiMAL – IT. Teste Individual. Diagnóstico da malária em 20 minutos. Disponível em <http://www.diamed.com.br/cmi/Pagina.aspx?388> Acessado em 16/04/2015

FADUL, Danielle Scerne. **Avaliação do nível de concordância do teste imunocromatográfico Optimal-IT® e a Gota Espessa no diagnóstico da malária, no município de Mazagão-Ap, Brasil** [dissertação] Belém 2007 disponível em: http://www.baip.ufpa.br/arquivos_baip/teses_dissertacoes/danielle_scerne_fadul.pdf Acesso em 26/09/2014

FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-imunes**. Guanabara Koogan, 2001.

FERREIRA, S. M; LUZ, E.. **Malária no Estado do Paraná – aspectos históricos e prognose**. Acta Biológica Paranaense. Curitiba, 32 (1, 2, 3, 4): 129-156. 2003.

A imunocromatografia como teste de triagem no diagnóstico da malária no município de Curitiba

<file:///C:/Documents%20and%20Settings/gerencia/Meus%20documentos/Downloads/622-1181-1-PB.pdf>. Acesso em 07/07/2015.

FRANÇA, T.C.C.; SANTOS, M.G.; VILLAR, J.D.F.. **Malária: aspectos históricos e quimioterapia.** *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 5, 1271-1278. <http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n5/a60v31n5.pdf> Acesso em 13/06/2015.

HENRY, John Bernard. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais.** Manole, 2008.

HESS, Ximene Baggio. Aspectos epidemiológicos da malária no estado do Paraná nos últimos 10 anos. UFPR - 2013. <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/30359/Monografia%20Ximene%20Baggio%20Hess.pdf?sequen> Acesso em 14/04/2015.

SILVEIRA, A. C.; REZENDE, D.F. **Avaliação da estratégia global de controle integrado da malária no Brasil**– Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2001. 120p. : il <http://bvssp.icict.fiocruz.br/pdf/silveiraac.pdf> Acesso em 06/06/2015

<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/662-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/malaria/11342-descricao-da-doenca>
Acesso em 28/09/2014

<http://www.fiocruz.br/ioc/media/malaria%2ofolder.pdf>

TAUIL, Pedro; DEANE, Leônidas; SABROZA, Paulo and RIBEIRO, Cláudio. **A malária no Brasil.** *Cad. Saúde Pública* [online]. 1985, vol.1, n.1, pp. 71-111. ISSN 0102-311X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1985000100009>. Acesso em 04/04/2015

WORLD HEALTH ORGANIZATION. <http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/en/>
Acesso em 18/10/2014.

<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/662-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/malaria/11342-descricao-da-doenca>
[29/03/2015.](#)

PARANÁ, Secretaria Estadual da Saúde. Vigilância Ambiental - Malária - Aspectos Clínicos e Epidemiológicos, 2015.

<http://www.saude.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=482>
Acessado em 04/04/2015.