

Malária: estudo retrospectivo de casos clínicos suspeitos de infeção por *Plasmodium sp.* entre 2010 e 2014

Malaria: a retrospective study of clinical suspected infection cases by Plasmodium sp. between 2010 and 2014

Tânia Reis, Idalina Ferreira, Susana Martins, Anabela Vilares, Maria João Gargate

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas, INSA.

_Resumo

A malária é uma infeção parasitária causada por um protozoário intracelular obrigatório (género *Plasmodium*), cuja transmissão é assegurada quando uma fêmea de mosquito género *Anopheles* infetada efetua a sua refeição de sangue num indivíduo. Estão descritas mais de 150 espécies mas apenas 5 infetam o Homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e mais recentemente, *P. knowlesi*, uma espécie que causa malária em macacos no sudeste asiático. É a doença parasitária mais frequentes para o Homem, encontrando-se infetada cerca de 5% da população mundial, sendo o *P. falciparum* o agente mais disseminado, responsável por mais de 80% dos casos mundiais e o que apresenta uma patogenia mais agressiva. O objetivo deste estudo foi descrever as características demográficas dos casos de malária, em doentes com quadro clínico compatível e cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado. As metodologias de diagnóstico utilizadas foram, serológicas (IFI), moleculares (PCR em tempo real, adaptada de Swan *et al.*) e a pesquisa direta em gota espessa e esfregaço. Foram analisadas 471 amostras, 6 das quais provenientes do surto de ébola (África Ocidental, 2014). Detetaram-se 55 (11,7%) casos positivos. Todos os casos positivos de malária são importados. A maioria dos casos ocorreu em viajantes, indivíduos adultos. Pelo facto da transmissão local continuar a ser possível na Europa e pela quantidade de viagens efetuadas entre a Europa e os países endémicos, salienta-se a necessidade de vigilância e prevenção desta parasitose.

_Abstract

Malaria is a human disease caused by a protozoan infection of red blood cells transmitted by the bite of a female anopheline mosquito. There are described more than 150 species of Plasmodium but only five infected humans, P. falciparum, P. vivax, P. malariae, P. ovale and more recently P. knowlesi, a specie that causes malaria in monkeys in Southeast Asia. Malaria is the most important parasitic disease of man; approximately 5% of the world's population is infected. P. falciparum is the most widespread specie responsible for over 80% of cases worldwide and which has a more aggressive pathogenesis. The aim of the study was to describe the demographic characteristics of malaria cases, in patients with clinical symptoms compatible with malaria and whose laboratory diagnosis was confirmed. The methods of diagnosis used were: serological (IIF), molecular (real-time PCR, adapted Swan et al.) and direct visualization of thick and thin blood smears. We analyzed 471 specimens, 6 of which belonging to Ebola outbreak (West Africa, 2014). Fifty-five (11.7%) were positive cases. All positive cases of malaria are imported. Most cases occurred in adults travellers. Since local transmission continues to be possible in Europe and the big number of trips between Europe and endemic countries are a reality underlines the need of surveillance and prevention of this disease.

_Introdução

A malária, também designada por paludismo, é uma infeção parasitária causada por um protozoário intracelular obrigatório do género *Plasmodium*, cuja transmissão é assegurada quando uma fêmea infetada de mosquito pertencente ao género *Anopheles*, efetua a sua refeição de sangue num indivíduo. O ciclo de vida do *Plasmodium* pode ser dividido em três fases: a fase sexuada que ocorre no hospedeiro invertebrado (mosquito) e duas fases assexuadas que ocorrem no Homem⁽¹⁾. Estão descritas mais de 150 espécies de *Plasmodium*, mas apenas 5 infetam o Homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e mais recentemente, *P. knowlesi*, uma espécie que causa malária em macacos no sudeste asiático e que foi identificada com sendo patogénica para humanos⁽²⁾.

A malária é a doença parasitária mais frequente para o Homem, em que cerca de 5% da população mundial está infetada, sendo o *P. falciparum* o agente mais disseminado, responsável por mais de 80% dos casos mundiais e o que apresenta uma patogenia mais agressiva⁽³⁾.

Em 1955 peritos da Organização Mundial da Saúde (OMS) concretizaram a missão de erradicação da malária através da utilização bem-sucedida do diclorodifeniltricloroetano (DDT) e da eficácia dos antimaláricos sintéticos. Em Portugal, os últimos casos de malária autóctone foram diagnosticados em 1959. Desde então, todos os casos identificados foram casos importados e ocorreram em viajantes regressados de países tropicais onde a doença é endémica.

A sintomatologia de malária surge geralmente 8 a 25 dias após a infeção com sintomas semelhantes a uma síndrome gripal: febre, dores de cabeça, calafrios, anemia hemolítica, hemoglobina na urina, icterícia. No caso do *P. falciparum* podem surgir

manifestações clínicas mais graves como malária cerebral, disfunção multiorgânica, acidose metabólica e síndrome de stress respiratório do adulto (2). Dada a sua sintomatologia inespecífica, é absolutamente necessário a realização do diagnóstico laboratorial. A metodologia laboratorial considerada de referência ou “gold standard” continua a ser a observação direta do esfregaço sanguíneo e gota espessa em lâminas coradas com Giemsa, pois permite a identificação e diferenciação da espécie e a determinação da parasitemia (4).

Na Europa, o número de casos declarados entre 2008 e 2012 mantêm-se constantes com aproximadamente 1 caso por 100.000 habitantes, com uma diminuição observada em 2012, com 5161 casos notificados pelos 26 Estados-Membros da União Europeia, quando comparado com o ano 2011 (5482 casos) e 2010 (6759 casos). Quase todos os casos foram importados, à exceção da Grécia que tem vindo a declarar casos autóctones de *P. vivax* desde 2009. A Itália notificou 2 casos prováveis de malária autóctone em 2009-2011, assim como a Holanda e França que confirmaram casos de malária sem historial de viagens recentes (5). Em Portugal, no período de 2009 e 2012 notificou-se um total de 217 casos importados: 41 casos em 2009, 54 casos em 2010, 64 casos em 2011 e 58 casos em 2012 (6).

A malária é uma doença evitável através da utilização de drogas profiláticas. É recomendada a utilização da terapia combinada com derivados da artemisinina para a doença aguda, principalmente em crianças e o tratamento intermitente preventivo em mulheres grávidas. A utilização de redes mosquiteiras impregnadas em inseticidas de ação prolongada, a pulverização intradomiciliária com inseticidas de efeito residual e a drenagem de águas paradas onde os mosquitos depositam os seus ovos, constituem os fatores que mais têm contribuído para o controlo da malária (7).

_Objetivo

Descrever as características demográficas dos casos de malária, em doentes com quadro clínico compatível e cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2010 e dezembro de 2014.

_Material e métodos

Foi efetuada a análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de malária, que recorreram ao Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do INSA para confirmação ou exclusão do diagnóstico, entre 2010 e 2014, tendo sido também analisados os dados demográficos de cada doente elegível para o estudo.

As metodologias de diagnóstico laboratorial utilizadas foram: serológicas (determinação de anticorpos IgG para *Plasmodium falciparum* – IFI (Euroimmun)); moleculares (PCR em tempo real que permite a amplificação e deteção de 4 espécies de *Plasmodium* sp., através de um conjunto de primers e sondas para o gene 18S, adaptada de Swan *et al.*) e a pesquisa direta em gota espessa e esfregaço após coloração de Giemsa.

_Resultados

Entre 2010 e 2014 foram analisadas um total de 471 amostras no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do INSA, para pesquisa de *Plasmodium* sp., 6 das quais resultantes de casos suspeitos de infeção pelo vírus ébola na sequência da epidemia que ocorreu na África Ocidental em 2014/2015. Obtiveram-se 55 (11,7%; 55/471) casos positivos de infeção por *Plasmodium* sp. durante o período em análise: 44 (80%) casos foram diagnosticados por métodos serológicos; 8 (14,5%) por PCR e 3 (5,5%) por pesquisa direta em gota espessa e esfregaço após coloração de Giemsa.

Na **tabela 1** apresenta-se o número total de casos com quadro clínico suspeito de infeção por *Plasmodium* sp, recebidos no INSA entre 2010 e 2014, e o número de casos com diagnóstico laboratorial confirmado por ano de diagnóstico.

Relativamente aos 44 casos com serologia positiva, 34 são provenientes de parturientes que nasceram ou viajaram nos últimos 3 anos para regiões endémicas de malária e cuja média etária destas mulheres é de 30 anos. Os restantes 10 casos (7 do sexo masculino e 3 do sexo feminino) são viajantes para zonas endémicas, residentes em Portugal, com uma média de idade de 46 anos. Dos 3 casos positivos por pesquisa direta em gota espessa e esfregaço (2 pertencentes ao sexo

Tabela 1: Distribuição anual dos casos de infeção por *Plasmodium* sp. analisados no INSA entre 2010-2014, por ano de diagnóstico.

Ano	Nº total de casos analisados	Diagnóstico laboratorial
		Resultado positivo Nº (%)
2010	7	3 (42,8)
2011	16	2 (12,5)
2012	9	0
2013	142	11 (0,1)
2014	297	39 (0,1)
Total	471	55 (11,7)

masculino, um ao sexo feminino), foi identificado um caso como *P. falciparum* em 2010 e os outros dois foram identificados apenas ao nível do género *Plasmodium* em 2012. Todos estes casos declararam viagens recentes a Angola. Com respeito aos 8 casos positivos por PCR, estes incluem: 3 casos (dois de *P. falciparum* e um *P. vivax*) suspeitos de infeção pelo vírus Ébola (surto 2014/2015, cujo diagnóstico diferencial inclui a pesquisa de *Plasmodium* sp.), em indivíduos adultos do sexo masculino provenientes da Nigéria, com diagnóstico compatível com malária (febre, mialgias cefaleias, diarreias); 2 casos provenientes da Madeira, em doentes com quadro clínico suspeito de malária, tendo sido detetado num caso DNA referente à espécie *P. ovale* num indivíduo do sexo masculino que referiu ter estado nos últimos 2 meses em Moçambique; sendo o outro uma coinfeção de *P. falciparum* com *P. malariae* num doente do sexo masculino, que se encontrava a trabalhar na Guiné Equatorial. Os restantes 3 casos são indivíduos residentes no norte do nosso país e as espécies identificadas foram *P. falciparum* e *P. ovale* em doentes que também referem ter efetuado viagens recentes para zonas endémicas de malária.

Distribuição de casos positivos: género, grupo etário e mês

Em relação à distribuição dos casos positivos de infeção por *Plasmodium* sp por género, verificou-se que 29% (16/55) pertenciam ao sexo masculino e 71% (39/55) ao sexo feminino.

Durante os cinco anos em análise observou-se que 65,5% (36/55) dos casos positivos ocorreram em adultos entre os 31 e os 50 anos de idade (gráfico 1).

Não se verificou qualquer variação sazonal quanto à distribuição do número de casos por mês ao longo dos 5 anos em estudo, exceto no mês de novembro (gráfico 2).

Gráfico 1: Distribuição dos casos positivos de infeção por *Plasmodium* sp. analisados no INSA entre 2010-2014, por grupo etário.

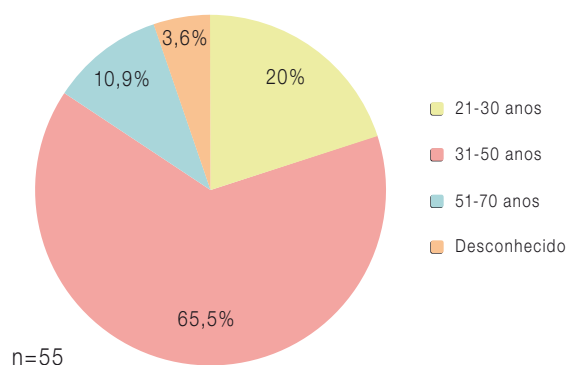
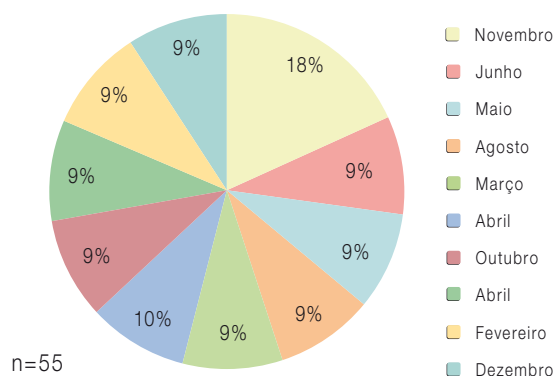


Gráfico 2: Distribuição dos casos positivos de infeção por *Plasmodium* sp. analisados no INSA entre 2010-2014, por mês.



_Discussão e conclusão

No período em estudo verificou-se um aumento do número de amostras recebidas no INSA para pesquisa de malária, sendo a proporção global de casos positivos de infeção por *Plasmodium* sp de 11,7% (55/471).

Todos os casos positivos de malária foram classificados como casos importados de zonas endémicas para o continente europeu. Portugal tem fortes ligações históricas com zonas onde esta parasitose é endémica, pois muitos países de África subsariana são ex-colónias portuguesas, assim as viagens, seja para visita de familiares, amigos ou negócios são muito frequentes. Não se verificaram desde a erradicação e até à data casos autóctones de malária no nosso país ao contrário da Grécia que declara, desde 2009, casos de *Plasmodium vivax* adquiridos localmente. Em 2012 foi igualmente notificado um caso autóctone de *Plasmodium falciparum* em França, devido a uma transfusão sanguínea proveniente de um dador que tinha residido no Benin, e igualmente em Itália, em que se registaram dois casos prováveis de malária adquirida entre 2009 e 2011 (5).

Ao contrário do que se observa na Europa diagnosticaram-se mais casos de malária pertencentes ao sexo feminino, justificado pelo facto de Portugal receber com muita frequência parturientes, nacionais ou estrangeiras, residentes nos países africanos de língua oficial portuguesa. O facto de haver na Europa uma maior frequência de *Plasmodium* sp. no sexo masculino reflete o padrão atual quanto ao género populacional de viajantes que desenvolve a sua atividade profissional entre a Europa e a África que é maioritariamente masculina (5).

Entre 2010 e 2014 observou-se que a maioria dos casos ocorreu em viajantes, entre os 31 e os 50 anos de idade. Este resultado é consistente com os registos europeus, onde a maior número de casos observados é entre os 25-44 anos de idade (5).

Com respeito à sazonalidade não verificamos uma tendência na distribuição dos casos, sendo perfeitamente aleatória, ao contrário de outros países europeus que registraram uma tendência clara do aumento de casos durante os meses de verão (julho, agosto e setembro) ocorrendo um pico no mês de Agosto e sendo o mês de janeiro o que registou um menor número de casos (5). Este cenário é possivelmente explicado pelas viagens de férias de verão para destinos onde a malária é endémica.

Pelo facto da transmissão local continuar a ser possível na Europa e pela quantidade de viagens efetuadas entre a Europa e os países endémicos salienta-se a necessidade de vigilância, preparação e prevenção desta parasitose, incluindo a melhoria do acesso dos migrantes aos serviços de saúde.

O INSA participa na vigilância epidemiológica da malária através da Rede de Vigilância de Vetores nos portos e aeroportos (REVIVE), atuando tanto no controlo do vetor como na posterior identificação da presença do parasita nos insetos. Neste sentido e relacionando o aumento das referidas viagens com as alterações climáticas que se têm vindo a verificar, nomeadamente o aquecimento global, fatores que contribuem para a disseminação da malária para a Europa, torna-se absolutamente necessária a vigilância epidemiológica do parasita nos portos e aeroportos, de modo a controlar/impedir a entrada do vector infetado no nosso país.

Agradecimentos:

À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) Gargaté, MJ. Doenças associadas a mosquitos: malária. IN: Núncio MS, Alves MJ. (eds.). Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores. Lisboa: INSA, 2014, pp. 53-8. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2232>
- (2) White NJ. Malaria. IN: Alimuddin I, Zumla AI (eds.) Manson's Tropical Diseases. 22nd ed. Philadelphia: Saunders, 2009, pp. 1201-1300.
- (3) World Health Organization. World Malaria Report 2014. Geneva: WHO, 2014. www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/report/en/
- (4) Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. Clin Microbiol Rev. 2002;15(1):66-78. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC118060/
- (5) European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2014: emerging and vector-borne diseases. Stockholm: ECDC, 2014. http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/emerging-vector-borne-diseases_annual-epidemiological-report-2014.pdf
- (6) Direção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória, 2009-2012 - Volume I. Lisboa: DGS, 2014. <http://www.dgs.pt/?cr=25699>
- (7) Roll Back Malaria Partnership. Economic costs of malaria. Geneva: World Health Organization, [2003] www.rollbackmalaria.org/files/files/toolbox/RBM%20Economic%20Costs%20of%20Malaria.pdf