



**Universidade Federal do Amazonas**

**Mestrado em Ciências da Saúde**

**Alterações cito-histológicas na medula óssea de pacientes  
com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

**Elizabeth Nogueira de Andrade**

**Manaus**

**2010**



**Universidade Federal do Amazonas**

**Mestrado em Ciências da Saúde**

**Elizabeth Nogueira de Andrade**

**Alterações cito-histológicas na medula óssea de pacientes  
com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, na área de concentração de Hematologia.

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira**

**Manaus**

**2010**

ANDRADE, Elizabeth Nogueira de

**Alterações cito-histológicas na medula óssea de pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum* / Elizabeth Nogueira de Andrade - Manaus, UFAM, 2010**

146 p. ilustr.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Amazonas.

1. Malária. 2. Biópsia de medula óssea. 3. *Plasmodium falciparum*. 4. Mielograma 5. Diseritropoiese. 6. Agregado linfóide

I. Título

CDD 616.9362

**ELIZABETH NOGUEIRA DE ANDRADE**

**ALTERAÇÕES CITO-HISTOLÓGICAS NA MEDULA ÓSSEA  
DE PACIENTES COM MALÁRIA AGUDA POR *PLASMODIUM*  
*FALCIPARUM***

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, na área de concentração de Hematologia.

Aprovada em 17 de maio de 2010

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Costa Alecrim

Centro Universitário Nilton Lins

Prof. Dr. Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda

Universidade do Estado do Amazonas

Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira (Orientador)

Universidade Federal do Amazonas

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu marido Edson, que acredita que o agir faz com que as coisas aconteçam e que o agir, associado ao esforço, é o caminho para a conquista; que também acredita na ética do coração e diz que ela faz das vitórias atos permanentes e duradouros na história da existência.

Portanto, querido, por ontem, hoje e todos os meus amanhãs, meu amor e meu agradecimento pelo incentivo para a realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais pelo exemplo de vida e apoio sempre constante.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Lima Ferreira o qual foi mais que um orientador; foi um amigo sempre disposto a ajudar e a encontrar caminhos.

Aos professores do Mestrado em Ciências da Saúde, a todos e a cada um que de sua maneira especial contribuíram para que eu chegasse até aqui.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Regina Regis Silva, da UNIFESP pela avaliação das biópsias de medula óssea.

A bibliotecária Eliane Maria Medeiros e Silva pela inestimável ajuda na pesquisa bibliográfica.

À Fundação de Medicina Tropical do Amazonas por me permitir levar a cabo este trabalho em suas dependências.

À Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas pelo apoio na execução dos exames laboratoriais.

Ao Dr. Paulo Su pelo apoio na realização das biópsias e aspirados de medula óssea.

Ao Prof. Francisco Joaquim de Alencar pela competente salvaguarda do vernáculo.

## RESUMO

**Andrade, Elizabeth N. Alterações Cito-histológicas na medula óssea de pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.** Manaus. 2010 (Dissertação de Mestrado)

**Introdução:** A malária é um dos mais graves problemas da saúde que afeta os brasileiros, sendo que se encontra na Região Amazônica a maior quantidade de pessoas afetadas pela doença. Naquela região, o Estado do Amazonas é aquele que apresenta a maior casuística da doença. A malária é uma doença com forte impacto pessoal e coletivo, sendo considerada a doença mais debilitante a afetar os moradores daquela região. A esta importância epidemiológica agrega-se o notório comprometimento do setor hematopoiético pela malária, impondo a necessidade de estudos que aumentem o entendimento sobre a questão como se propõe esta pesquisa.

**Metodologia:** Foram estudados 29 pacientes portadores de malária por *Plasmodium falciparum*, primo infectados, virgens de tratamento, maiores de 15 anos, atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas no período de 1998 a 1999. Dados clínicos, laboratoriais (hematológicos, bioquímicos), mielograma e biópsia de medula óssea coletados dos pacientes foram analisados visando identificar alterações decorrentes do comprometimento da medula óssea na malária aguda por *Plasmodium falciparum*.

**Resultados:** Os pacientes estudados apresentaram nível de parasitemia baixo (52%); plaquetopenia com a contagem de plaquetas no sangue periférico variando negativamente com a parasitemia periférica (p valor 0,016); hemólise, presumida pelo teste de Coombs positivo, em 16 pacientes; diseritropoiese, dismegacariopoiese e fagocitose de leucócitos totalizando 152 eventos dispoiéticos acometendo as três séries medulares e presença de agregados linfóides (17,24%)

**Conclusões:** A malária aguda por *Plasmodium falciparum* proporcionou neste estudo alterações medulares importantes que afetam a maturação celular na medula óssea, principalmente na linhagem eritróide e megacariocítica, além de ocasionar o aparecimento de agregados linfóides de potencial evolutivo incerto.

**Palavras chave:** Malária, Biópsia de medula óssea, *Plasmodium falciparum*, Mielograma, Diseritropoiese, Agregado linfóide.



## ABSTRACT

**Andrade, Elizabeth N. Cyto-histological changes in the bone marrow of patients with acute malaria caused by *Plasmodium falciparum*.** Manaus. 2010 (Master Dissertation)

**Introduction:** Malaria is one of the most serious health problems affecting Brazilians, and it is in the Amazon area that one can find the largest number of people affected by the disease. In that region, the State of Amazonas is by far, the place that presents the highest incidence of the illness. Malaria brings a strong impact on personal and collective grounds and is considered the most debilitating disease affecting residents of that large area of land. Such epidemiological importance plus an outstanding harm to the hematopoietic sector imposes the need for studies that enhance a better understanding of the problem as proposed by this research.

**Methods:** A study of a 29 patient group with falciparum malaria, primo-infected and no previous treatment, all older 15 years of age, admitted to the Tropical Medicine Foundation of Amazonas from 1998 to 1999. Clinical and laboratory data (hematology, biochemistry), myelogram and bone marrow biopsy collected from patients were analyzed to identify changes resulting from bone marrow impairment in acute malaria caused by *Plasmodium falciparum*.

**Results:** The patients studied had low levels of parasitemia (52%), thrombocytopenia with platelet counts in peripheral blood, varying inversely to peripheral parasitemia (p value 0.016), hemolysis presumed positive by Coombs test in 16 patients; dyserythropoiesis, dysmegakariopoiesis and leukocyte phagocytosis in a total of 152 dyspoietics events involving the three medullary series and presence of lymphoid aggregates (17.24%)

**Conclusions:** Acute malaria caused by *Plasmodium falciparum* in this study provided important changes that affect cell maturation in bone marrow, primarily in erythroid and megakaryocytic lineage, besides causing the appearance of uncertain evolutionary potential lymphoid aggregates.

**Keywords:** Malaria, Bone marrow biopsy, *Plasmodium falciparum*, Myelogram, Dyserythropoiesis, Lymphoid aggregate.

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de exames positivos para malária na Região Norte e demais regiões.....	22
Gráfico 2 - Distribuição dos casos de malária nos estados da Região Norte no período de 1990 a 2006 .....	23
Gráfico 3 - Número de casos positivos de malária no Estado do Amazonas no período de 1990 a 2006. ....	24
Gráfico 4 - Curva em escala logarítmica do crescimento populacional do Estado do Amazonas e do número de casos positivos para malária neste Estado no período de 1990 a 2005. ....	25
Gráfico 5 - Distribuição por faixa etária e sexo dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	51
Gráfico 6 – Distribuição do número de dias com sintomas no momento do diagnóstico .....	54
Gráfico 7 - Distribuição do grau de parasitemia periférica em cruces dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	56
Gráfico 8 – Distribuição da contagem de leucócitos no sangue periférico em relação ao tempo de início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	58
Gráfico 9 – Distribuição do nível de hemoglobina em relação ao tempo de início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	59
Gráfico 10 – Distribuição do nível do hematócrito em relação ao tempo de início dos sintomas, organizado em faixas de 5 dias nos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	60
Gráfico 11 - Distribuição da contagem de plaquetas em relação ao tempo do início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	61

Gráfico 12 – Distribuição do início dos sintomas em relação à parasitemia em cruces no sangue periférico dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	62
Gráfico 13 - Correlação entre o nível de parasitemia e a contagem de plaquetas no sangue periférico dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	63
Gráfico 14 – Distribuição dos achados de celularidade e eosinofilia (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	64
Gráfico 15 – Distribuição dos achados de maturação celular (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	65
Gráfico 16 – Distribuição das alterações morfológicas (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	66
Gráfico 17 – Distribuição dos achados de celularidade (série eritróide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	67
Gráfico 18 – Distribuição dos achados de maturação celular (série eritróide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	68
Gráfico 19 – Distribuição dos processos fagocíticos (série eritróide) encontrados no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	69
Gráfico 20 – Distribuição dos achados de celularidade (série megacariocítica) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	70
Gráfico 21 – Distribuição das alterações morfológicas (série megacariocítica) no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	71
Gráfico 22 - Distribuição das alterações morfológicas acometendo mais de um tipo de série medular dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	72
Gráfico 23 – Distribuição dos eventos dispoieticos encontrados no mielograma dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	73

Gráfico 24 - Correlação entre idade e celularidade medular na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	78
Gráfico 25 – Distribuição dos achados de celularidade global e de eosinófilos (série mielóide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> ...	79
Gráfico 26 – Distribuição dos achados de maturação celular (série mielóide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	81
Gráfico 27 – Distribuição dos achados de celularidade (série eritróide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	82
Gráfico 28 – Distribuição dos achados de maturação celular (série eritróide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	84
Gráfico 29 – Distribuição dos achados de celularidade (série megacariocítica) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	85
Gráfico 30 – Distribuição da presença de micromegacariócitos na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	86
Gráfico 31 – Distribuição de agregado linfóide na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	88

## LISTA DOS QUADROS

Quadro 1 - Número de casos de malária, conforme espécie causadora, nos últimos cinco anos em Manaus, Amazonas .....	26
Quadro 2 - Distribuição da frequência das profissões dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	52
Quadro 3 – Distribuição dos sinais e sintomas dos pacientes com malária aguda por . <i>Plasmodium falciparum</i> .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição quanto a idade dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	50
Tabela 2 - - Tempo dos sintomas dos pacientes incluídos com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	53
Tabela 3 - Exames laboratoriais no sangue periférico dos pacientes com malária aguda por <i>Plasmodium falciparum</i> .....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eritrofagocitose no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X. ....	74
Figura 2 - Eritroblasto binucleado no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.....	74
Figura 3 - Divisão celular (mitose) atípica de célula da série eritróide no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X. ....	75
Figura 4 - Micromegacariócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000 X. ....	75
Figura 5 – Fagocitose de hemácia e leucócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X. ....	76
Figura 6 - Fagocitose de leucócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.....	76
Figura 7- Alterações megaloblásticas no aspirado medular (coloração May-Grunwald-Giemsa) 1000X.....	77
Figura 8 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo aumento dos eosinófilos com localização preferencial no interstício. H&E, 400X.....	80
Figura 9 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo hiperplasia eritróide (*) e megacariócito hiperlobado (seta). H&E,400 X .....	83
Figura 10 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo no espaço intertrabecular, hiperplasia eritróide (*) e megacariocítica .(seta) H&E.200X. ....	83
Figura 11 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo hiperplasia de micromegacariócitos. H&E, 400X. ....	87
Figura 12 - Grande agregado linfóide com margens infiltrantes presente na biópsia de medula óssea, localização paratrabecular H&E 400X. ....	89

Figura 13 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo megaloblastose (seta). H&E, 400X.....	90
Figura 14 - Pigmento malárico em biópsia de medula óssea. Demonstração de hemozoína através da microscopia óptica com filtro de polarização. H&E 400X. ....	91



## LISTA DE SIGLAS

**ANOVA** – Análise de variância

**CIVD** - Coagulação Intravascular Disseminada

**DATASUS** – Divisão de Informática do Sistema Único de Saúde-Brasil

**Fe** - Ferro

**H&E** – Hematoxilina & Eosina

**Hb** - Hemoglobina

**FHEMOAM** – Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

**HLA** – Antígeno Leucocitário Humano

**Ht** - Hematócrito

**FMTAM** - Fundação de Medicina Tropical do Amazonas

**K+** - Potássio

**MS** – Ministério da Saúde

**Na+** - Sódio

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**SIVEP-Malária** - Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica da Malária

**SPSS** – Statistical Package for the Social Sciences

**SVS** – Secretária de Vigilância em Saúde

**IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA .....	i
AGRADECIMENTOS .....	iv
RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vii
LISTA DE GRÁFICOS .....	viii
LISTA DOS QUADROS .....	xi
LISTA DE TABELAS .....	xii
LISTA DE FIGURAS .....	xiii
LISTA DE SIGLAS .....	xv
SUMÁRIO .....	xvi
1. INTRODUÇÃO .....	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	20
2.1 Malária no Mundo .....	20
2.2 Malária no Brasil .....	21
2.3 Malária no Amazonas .....	23
2.4 Etiologia da malária .....	27
2.5 Ciclo Evolutivo .....	27
2.6 Alterações hematológicas na malária .....	29
2.6.1 Anemia .....	29
2.6.1.1 Hemólise por ação do parasito .....	29
2.6.1.2 Hemólise por mecanismo auto-imune .....	30
2.6.1.3 Diseritropoiese e eritropoiese ineficaz .....	31
2.6.1.4 Eritrofagocitose (Hemofagocitose) .....	32
2.6.1.5 Metabolismo do Ferro .....	33
2.6.1.6 Citocinas inflamatórias e a anemia na malária .....	34
2.6.2 Alterações plaquetárias .....	35
2.6.3 Alterações na série branca .....	36
2.6.3.1 Neutrófilos .....	36
2.6.3.2 Monócitos .....	37
2.6.3.3 Eosinófilos .....	37
2.6.3.4 Linfócitos .....	37
2.6.4 A importância do estudo da medula óssea na malária .....	38

3. OBJETIVOS .....	41
3.1 Objetivo Geral: .....	41
3.2 Objetivos Específicos: .....	41
4. METODOLOGIA .....	42
4.1 Local de estudo: .....	42
4.2 Modelo de Estudo .....	42
4.3 Amostra populacional.....	42
4.3.1 Critérios de inclusão na pesquisa: .....	43
4.3.2 Critérios de exclusão na pesquisa:.....	43
4.4 Procedimentos .....	43
4.4.1 Biópsia da medula óssea .....	43
4.4.2 Aspirados de medula óssea.....	44
4.4.3 Exames laboratoriais de rotina .....	45
4.4.4 Interpretação das punções .....	45
4.4.4.1 Mielograma .....	45
4.4.4.2 Biópsia da Medula Óssea .....	46
4.4.4.2.1 Técnicas de coloração: .....	46
4.4.4.2.2 Exame histopatológico das biópsias de medula óssea.....	46
4.4.4.2.3 Celularidade: .....	47
4.4.4.2.4 Parasitos na medula óssea: .....	47
4.4.4.2.5 Identificação de hemozoína na medula óssea.....	47
4.4.5 Análise Estatística: .....	47
4.4.6 Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos .....	48
5. RESULTADOS .....	49
5.1 Dados clínicos: .....	49
5.2 RESULTADOS dos exames laboratoriais, no sangue periférico.....	57
5.3 Dados do mielograma.....	64
5.4 Dados da biópsia da medula óssea .....	78
5.4.1 Hemozoína na medula óssea .....	90
5.5 COMPARAÇÕES entre os achados do mielograma e da histopatologia da medula óssea.....	92
6. DISCUSSÃO.....	94
6.1 Sangue periférico .....	94
6.2 Citologia medular .....	97

6.3. Histopatologia Medular.....	99
6.3.1 Avaliação quantitativa do tecido hematopoiético.....	99
6.3.2 - Agregado linfóide.....	100
6.3.2 Presença de hemozoína.....	101
7. CONCLUSÕES.....	103
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	105
ANEXO 1.....	121
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	121
ANEXO 2.....	122
Modelo do arquivo digital em Microsoft Access.....	122
ANEXO 3.....	123
Descrição dos mielogramas.....	123
ANEXO 4.....	136
Descrição dos exames histopatológicos das biópsias da medula óssea.....	136
ANEXO 5.....	146
Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa.....	146

## 1. INTRODUÇÃO

Este trabalho visa estudar e identificar as alterações encontradas na medula óssea dos pacientes acometidos de malária por *Plasmodium falciparum*, procurando relacioná-las com a magnitude da infecção parasitária, bem como com a extensão da anemia apresentada.

Dados epidemiológicos demonstram ser a malária uma das principais doenças endêmicas em nosso País, adquirindo caráter verdadeiramente epidêmico na região norte, principalmente no Amazonas.

Estes dados mostram que entre as duas formas de malária existentes na região amazônica, a forma ocasionada pelo *Plasmodium vivax* é a de caráter mais benigno, em contraste com a forma desencadeada pelo *Plasmodium falciparum* que se manifesta quase sempre com grave comprometimento orgânico, embora estudo local tenha chamado a atenção para a potencialidade da malária pelo *Plasmodium vivax* para apresentar também formas graves da doença (ALECRIM, 2000).

Considerando a gravidade potencial da malária por *Plasmodium falciparum* é mister que se some a maior quantidade possível de conhecimento desta doença. Assim, tendo em conta que a malária é essencialmente uma doença que afeta o sistema hematopoiético, buscamos identificar na medula óssea, fábrica principal deste sistema vital para a economia orgânica, as alterações relacionadas com a presença do parasito no organismo.

Busca-se, portanto, estudar esta particularidade do adoecer do paciente com malária, procurando quantificar o problema, identificar suas características, determinar o padrão morfológico medular predominante, proporcionando, se possível, novos conhecimentos, senão locais, que venham ajudar no manuseio dos indivíduos doentes.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 MALÁRIA NO MUNDO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) em seu relatório do ano de 2008 (AREGAWI; CIBULSKIS; OTTEN; WILLIAMSAND ; DYE, 2009) sobre a situação mundial da malária afirma que:

*“Metade da população mundial corre o risco de contrair o paludismo, e calcula-se que, em 2006, uns 250 milhões de casos resultaram em cerca de 1 milhão de mortes. Avaliou-se em 2006 que 3,3 bilhões de pessoas corriam o risco de contrair o paludismo. Deste total, 2,1 bilhões tinham um risco baixo (< 1 caso notificado para 1.000 pessoas), 97% das quais viviam em regiões não africanas. O 1,2 bilhão de pessoas em grande risco ( $\geq 1$  caso por 1.000 pessoas) viviam principalmente nas Regiões subSaariana da África (49%) e do Sudeste da Ásia (37%).*

*Calculou-se terem ocorrido 247 milhões de episódios de paludismo em 2006, com um largo intervalo de incerteza (5<sup>o</sup>- 95<sup>o</sup> percentiles) de 189 milhões a 327 milhões de casos. Oitenta e seis por cento, ou 212 milhões de casos (152-287 milhões), ocorreram na Região Africana. Oitenta por cento dos casos na África tiveram lugar em 13 países, e mais da metade na Nigéria, República Democrática do Congo, Etiópia, República Unida da Tanzânia e Quênia. Entre os casos ocorridos fora da Região Africana, 80% foram na Índia, Sudão, Mianmar, Bangladech, Indonésia, Papua-Nova Guiné e Paquistão.*

*Em 2006, calcula-se ter havido 881.000 (610.000 – 1.212.000) mortes devido ao paludismo, das quais 91% (801.000, limites 520.000 – 1.126.000) tiveram lugar na África e 85% foram de crianças menores de 5 anos de idade.*

*As estimativas da incidência do paludismo baseiam-se, em parte, nos números de casos registrados pelos programas nacionais de controle do paludismo. Na maior parte dos países, estes registros de casos estão longe de ser completos. Em 2006, os programas nacionais de controle do paludismo comunicaram um total de 94 milhões de casos, ou seja, 38% da incidência mundial estimada. A verdadeira proporção de episódios de paludismo detectados por programas nacionais de controle teria sido inferior a 38% pois, em certos países, os casos notificados incluem pacientes que são diagnosticados clinicamente, mas que não têm o paludismo. Os programas nacionais de controle do paludismo notificaram 301.000 mortes devido à doença, ou seja, 34% das mortes calculadas em todo o mundo em 2006.”*

Estima-se que mais de 100 países em todo o mundo estejam com a malária entre os seus problemas sanitários mais prementes.

## 2.2 MALÁRIA NO BRASIL

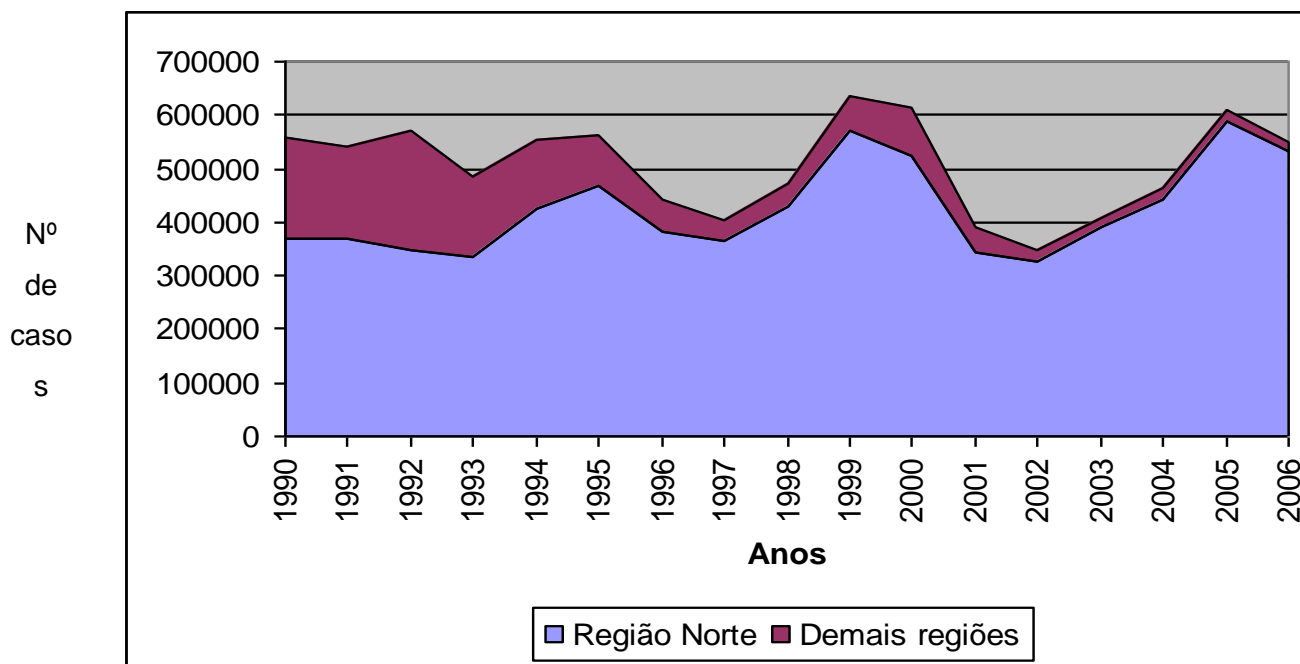
Em meados dos anos sessenta, o número de lâminas positivas para malária era da ordem de 103.516, tendo terminada aquela década com 52.469 casos positivos registrados.

Face ao reconhecimento das dificuldades geo-sociais, principalmente na região amazônica onde o problema era mais agudo, passou-se a adotar a estratificação epidemiológica sugerida pela OMS, a fim de ajustar as metas aos recursos e às necessidades epidemiológicas (LOIOLA; DA SILVA ; TAUIL, 2002b).

Em 1986 a malária já atingia a cifra de 443.627 lâminas positivas, apesar da “Operação Impacto”, iniciada neste ano, e que se caracterizou por uma imensa mobilização de recursos, tanto humanos quanto materiais e financeiros. Planejada para ser uma ação intensa e de curto prazo, dirigida a reduzir rapidamente os níveis de morbi-mortalidade nos estados de Mato Grosso, Pará e Rondônia, que concentravam mais de 80% da malária da região, não se alcançou o objetivo desejado já que em 1990 o número de exames positivos alcançou a cifra de 560.396 lâminas positivas para malária.

Em 1990, todos os estados da Amazônia legal apresentaram índice Parasitário Anual (IPA) acima de sete lâminas positivas por 1.000 hab.: Maranhão (7,2 por 1.000), Amazonas (16,9 por 1.000), Pará (22,6 por 1.000), Mato Grosso (28,8 por 1.000), Acre (38,5 por 1.000), Amapá (43,2 por 1.000), Rondônia (128,3 por 1.000) e Roraima (146,5 por 1.000) (BARATA, 1995).

De 1990 a 2006 a malária sempre se manteve em níveis elevados conforme atestam os dados governamentais (DATASUS-MS, 2009a) dispostos no gráfico 1, onde se observa que a doença se manifesta prioritariamente na Região Amazônica.



**Gráfico 1 - Número de exames positivos para malária na Região Norte e demais regiões**

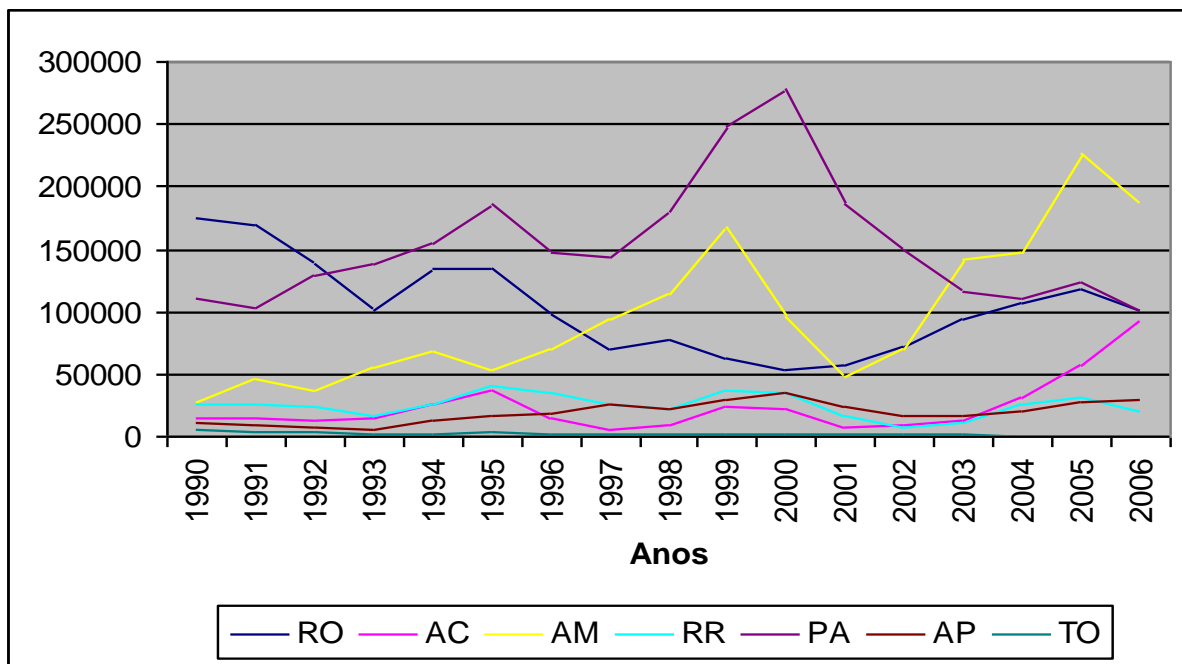
**Fonte: DATASUS-MS e SVS-MS**

A malária é um grave problema de saúde pública na Amazônia que perdura há vários anos (CAMARGO, 1995; CARDOSO; FERREIRA; CAMARGO ; SZARFARC, 1992; LOIOLA; DA SILVA ; TAUIL, 2002a; BARATA, 1995; CARDOSO ; GOLDENBERG, 2007).

A Amazônia responde por mais de 90% dos casos de malária diagnosticados, sendo o Estado do Amazonas o campeão nacional da doença com 131.437 casos positivos em 2008, seguido do Pará com 66.266 casos e Rondônia com 48.932 casos notificados (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE-MS, 2009).

Os dados consolidados no período de 1990 a 2006 (Gráfico 2) mostram o comportamento da malária nos diversos estados da Região Norte, onde se destaca o comportamento antagônico da malária nos Estados do Amazonas e Pará a partir do ano de 2002 quando no primeiro estado a curva adota uma tendência ascendente diferente do observado no Pará onde o número de casos apresenta uma diminuição (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE-MS, 2009).



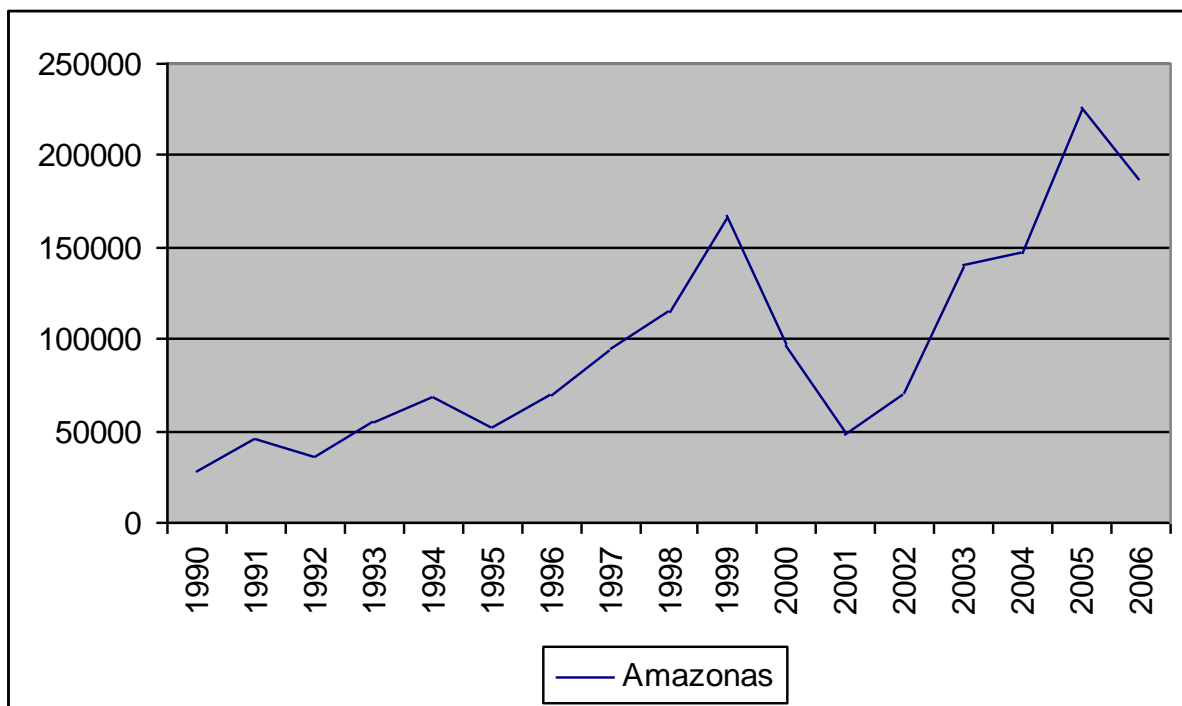


**Gráfico 2 - Distribuição dos casos de malária nos estados da Região Norte no período de 1990 a 2006**

**Fonte: DATASUS-MS e SVS-MS**

### **2.3 MALÁRIA NO AMAZONAS**

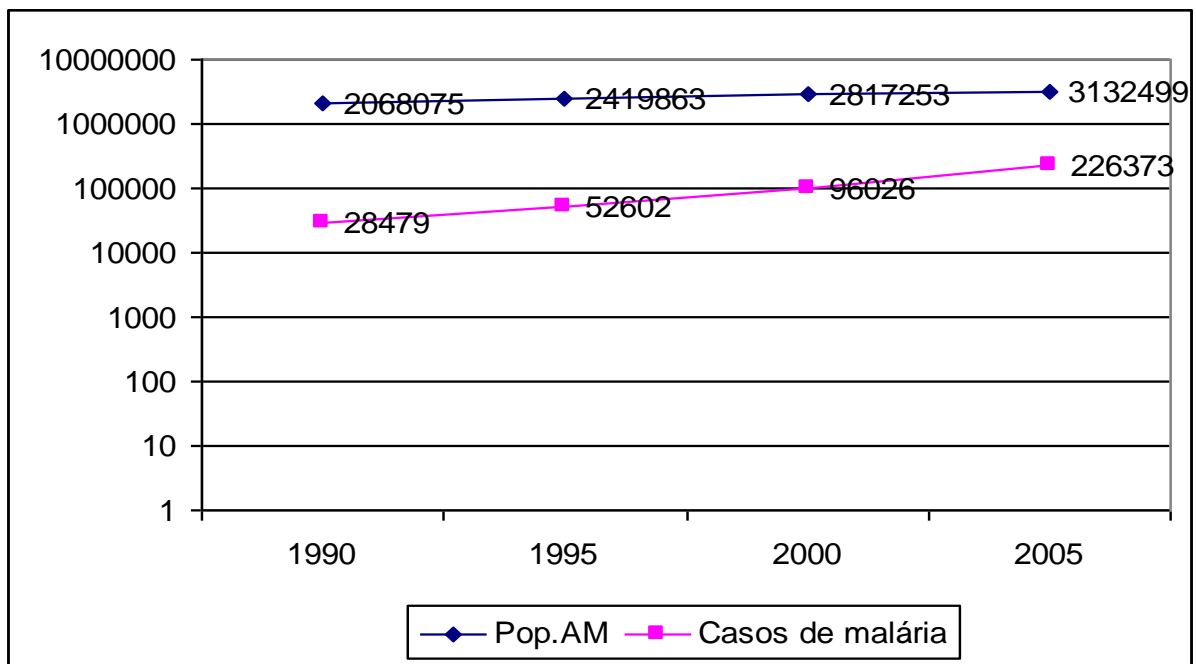
O comportamento temporal da malária no Amazonas (**Gráfico 3**) mostra uma curva ascendente demonstrando o descontrole desta endemia.



**Gráfico 3 - Número de casos positivos de malária no Estado do Amazonas no período de 1990 a 2006.**

**Fonte: DATASUS-MS e SVS-MS**

Em 1985 tivemos, em todo o Estado, um total de 28.479 casos de malária registrados; em 2005 este número havia alcançado a cifra de 226.373 casos registrados, o que demonstra um crescimento de quase sete vezes, sem igual correspondência com o crescimento populacional do Estado como podemos observar no gráfico 4 (DATASUS-MS, 2009a; DATASUS-MS, 2009b)



**Gráfico 4 - Curva em escala logarítmica do crescimento populacional do Estado do Amazonas e do número de casos positivos para malária neste Estado no período de 1990 a 2005.**

**Fonte: DATASUS-MS e SVS-MS**

O quadro 1 mostra a incidência de casos de malária na cidade de Manaus, Amazonas de acordo com o tipo de plasmódio causador da doença nos últimos cinco anos, demonstrando que nesta cidade o tipo de infecção mais comum é por *Plasmodium vivax*..

	2004	2005	2006	2007	2008
<i>P. falciparum</i>	28.872	56.645	41.295	33.649	19.084
<i>P. vivax</i>	117.361	167.007	141.193	161.772	113.100
<i>P. vivax + P. falciparum</i>	1.346	2.750	3.238	1.826	1.077
<i>P.malariae</i>	0	7	3	0	0
<i>P. ovale (*)</i>	0	4	1	0	0
<b>Total</b>	147.579	226.413	185.730	197.247	133.261

**Quadro 1 - Número de casos de malária, conforme espécie causadora, nos últimos cinco anos em Manaus, Amazonas**

**Fonte: SIVEP/2009.**

(\*) Casos importados

Este quadro epidemiológico anteriormente explicitado, penso que justifica plenamente todos os estudos envolvendo esta doença.

Como reconhece o próprio governo federal, a malária é a doença que mais contribui para a decadência do homem da Região Amazônica, além de reduzir os esforços das pessoas para

desenvolver seus recursos econômicos, capacidade produtiva e melhorarem suas condições de vida (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE-MS, 2006).

## **2.4 ETIOLOGIA DA MALÁRIA**

A malária humana é uma doença infecto-contagiosa causada por um protozoário do gênero *Plasmodium*, que possui quatro espécies infectantes:

a) *Plasmodium vivax*

b) *Plasmodium falciparum*

c) *Plasmodium malariae*

d) *Plasmodium ovale*

Das quatro espécies, a mais importante do ponto de vista de disseminação e comprometimento humano é a malária causada pelo *P. vivax*, embora o *Plasmodium falciparum* seja o mais importante quanto à morbidade e à mortalidade, sendo esta última característica agravada pelo crescente aumento da resistência do protozoário às drogas anti-malarígenas, em especial à cloroquina. (FERREIRA, 2004)

## **2.5 CICLO EVOLUTIVO**

Uma das características dos parasitos da malária é o caprichoso ciclo evolutivo que apresentam. O processo de parasitose contempla a existência de diversas formas intermediárias do parasito.

O indivíduo se infecta com o esporozoíta, que é inoculado na corrente sanguínea através da saliva do mosquito do gênero *Anopheles*. Uma vez na corrente sanguínea, aqueles

esporozoítas que conseguiram escapar das defesas macrofágicas, dirigem-se ao fígado onde penetrado nos hepatócitos ali se multiplicam dando origem aos esquizontes teciduais primários. O processo gestacional do esquizonte tecidual primário dura de 6 a 16 dias, após o qual se rompe liberando uma miríade de merozoítas, cuja quantidade varia em número de acordo com a espécie do *Plasmodium*, sendo mais elevado este número na espécie *falciparum*.

Uma característica própria das espécies *vivax* e *ovale* é a sua capacidade de hibernarem nos hepatócitos, possibilitando uma reinfeção endógena futura, com a forma de hipnozoíta.

Já na corrente sangüínea os merozoítas rapidamente penetram nas hemácias em cujo interior se transformam em trofozoítas jovens que a partir de um processo inicial de diferenciação transformam-se em trofozoítas irregulares, os quais mediante duplicação nuclear adquirem a forma de esquizontes hemáticos, que dão origem a uma nova miríade de merozoítas, agora chamados de hemáticos.

Ocorrendo o consumo da hemoglobina das hemácias e seu posterior rompimento, tem-se reiniciado o ciclo assexuado da multiplicação dos plasmódios dentro do organismo humano.

Entretanto ao fim de poucos dias, alguns merozoítas sofrem transformação dando origem às formas sexuadas do plasmódio, chamadas de macrogametócito (feminino) e microgametócito (masculino), os quais são sugados pela fêmea do mosquito *Anopheles* quando esta pica um humano infectado.

Já no interior do aparelho digestivo do mosquito, o microgametócito, transformado em microgameta após processo de exflagelação vai fecundar o macrogameta, dando origem ao zigoto, que após transformação passa a ser um oocineto, penetrando a seguir na parede do estômago do mosquito onde se transforma em oocisto dentro dos quais se desenvolvem novos esporozoítas que migram até as glândulas salivares do mosquito a partir de onde podem novamente infectar o homem fechando o ciclo (FERREIRA, 2004).

## **2.6 ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NA MALÁRIA**

Há mais de 90 anos, Marchiafava reconheceu que a fisiopatologia da anemia pelo *Plasmodium falciparum* era algo complexo, e especulou que a infecção causava não apenas hemólise, mas também dano medular, como foi posteriormente comprovado (KNUTTGEN, 1963b).

Diversas são as manifestações hematológicas decorrentes da parasitemia pelo *Plasmodium*. Antigamente acreditava-se que as diversas espécies do parasito apresentavam comprometimentos diferenciados. Pensava-se que o *P. vivax* desenvolvia-se dentro de células jovens, ao passo que a espécie *falciparum* parasitava todos os tipos de células vermelhas, independente de seu estágio evolutivo. Estes conceitos foram modificados pelos trabalhos de Pasvol que demonstrou ser a preferência por células jovens comum a todos os tipos de plasmódios (PASVOL; WEATHERALL ; WILSON, 1980).

### **2.6.1 Anemia**

A anemia é uma das mais importantes complicações da malária, mormente em crianças, morando em áreas endêmicas, principalmente aquelas com infecções devidas ao *Plasmodium falciparum* (MCGREGOR; GILLES; WALTERS; DAVIES ; PEARSON, 1956).

Diversos são os mecanismos que levam à anemia na malária. Estes serão mais bem detalhados a seguir.

#### **2.6.1.1 Hemólise por ação do parasito**

O comprometimento hematológico mais usual decorre da destruição das hemácias (hemólise) pelo parasito na esquizogonia, ao ponto da malária ser considerada por muito tempo como uma anemia hemolítica (PHILLIPS ; PASVOL, 1992).

A hemólise periférica desempenha um papel importante na patogênese da anemia da malária, sendo mais importante nos episódios agudos que em pacientes com baixa parasitemia e de curso prolongado. Este transtorno acomete tanto as células parasitadas quanto as não parasitadas.

A hemoglobina das hemácias é digerida, pelos parasitos durante o seu desenvolvimento e há rompimento da membrana celular das hemácias quando os esquizontes são liberados de seu interior (WICKRAMASINGHE ; ABDALLA, 2000b)

As hemácias no sangue periférico estão sob risco de hemólise por ação direta dos parasitos por duas razões: A primeira, em função do desenvolvimento do parasito intracelular, muitas hemácias são seqüestradas na microvascularização. Na segunda razão, as hemácias, sem parasitos intracelular, possuem abundantes antígenos de superfície (Pf 155) que são reconhecidos pelo baço e por ele destruídas (ANGUS; CHOTIVANICH; UDOMSANGPETCH ; WHITE, 1997)

#### **2.6.1.2 Hemólise por mecanismo auto-imune**

A partir dos trabalhos de Zuckerman estabeleceu-se que a destruição das hemácias na malária aguda é maior do que pode ser explicada pelo grau de parasitemia, tendo sugerido um componente auto-imune para justificar a discrepância observada, embora paradoxalmente muitos pacientes anêmicos não apresentem um teste de Coombs positivo (ZUCKERMAN ; SPIRA, 1961b; ZUCKERMAN, 1960b)



Os pacientes infectados com *Plasmodium falciparum* produzem uma IgG com atividade específica contra antígeno produzido na esquizogonia. O envolvimento passivo do complexo antígeno-anticorpo na membrana celular, com fixação de complemento, deixa as células vermelhas suscetíveis à fagocitose, com conseqüente anemia. Antígenos maláricos podem estar presentes no soro por três semanas após a eliminação dos parasitas (MCGREGOR; TURNER; WILLIAMS ; HALL, 1968). A anemia de mecanismo imune também pode persistir por várias semanas (WOODRUFF; ANSDELL ; PETTITT, 1979).

A hemólise da malária causada por um mecanismo imunológico tem sua demonstração no trabalho de (FACER; BRAY ; BROWN, 1979b) onde o teste de Coombs foi positivo em 50 % da população estudada, sendo as células vermelhas sensibilizadas por imunoglobulina do tipo IgG, com ou sem vários componentes do complemento, sendo C3d o mais comum. A IgG no eluato de células vermelhas tinham um anticorpo com atividade específica contra o antígeno esquizonte do *Plasmodium falciparum* (FACER, 1980). Naquele estudo, contudo nem todas as crianças com este anticorpo estavam severamente anêmicas.

### **2.6.1.3 Diseritropoiese e eritropoiese ineficaz**

O envolvimento da medula óssea apresenta várias formas de comprometimento. A existência de diseritropoiese ou eritropoiese ineficaz não pode ser atribuída à deficiência de folatos, vitamina B12 ou ferro; mas parece decorrerem de uma ação própria do *Plasmodium* (WICKRAMASINGHE; LOOAREESUWAN; NAGACHINTA ; WHITE, 1989b).

Nas formas crônicas do *P. falciparum*, severas mudanças diseritropoiéticas tem sido descritas na medula óssea (ABDALLA; WEATHERALL; WICKRAMASINGHE ; HUGHES, 1980).

Vários mecanismos estão envolvidos na diseritropoiese, destacando-se o fator de necrose tumoral (TNF) que proporciona alterações nucleares e cariorexis (CLARK ; CHAUDHRI,

1988b), persistindo os seus efeitos mesmo após o desaparecimento da parasitemia (PHILLIPS et al., 1986b).

Existem dois diferentes, porém não mutuamente exclusivos mecanismos envolvidos no problema. O primeiro é que um ou mais fatores produzidos pelo *Plasmodium falciparum* e pelo *Plasmodium vivax* impedem diretamente a eritropoiese por ação de algum efeito tóxico sobre progenitores eritróides ou eritroblastos, ou ambos. O segundo mecanismo é que a eritropoiese é afetada indiretamente pelo efeito de produtos oriundos dos parasitos sobre os linfócitos T ou uma ou mais células do micro ambiente hematopoiético, tais como os macrófagos (WICKRAMASINGHE et al., 2000b).

#### **2.6.1.4 Eritrofagocitose (Hemofagocitose)**

A síndrome hemofagocítica é caracterizada pela proliferação de macrófagos que exibem fagocitose de elementos hematopoiéticos. Sabe-se que a síndrome hemofagocítica pode estar associada a infecções com alguns relatos de pacientes com malária (OHNISHI et al., 2007).

Os mecanismos da síndrome hemofagocítica não são bem conhecidos, mas os níveis séricos elevados de citocinas têm sido relatados nos pacientes portadores de malária e que apresentam esta síndrome (OHNO; SHIRASAKA; SUGIYAMA ; FURUKAWA, 1996)

Durante a infecção, existem mudanças nos componentes da membrana dos eritrócitos tais como exposição da fosfatidilserina e aumento do nível de algumas proteínas regulatórias de complemento, as quais contribuem para a eritrofagocitose e lise por ativação do complemento (WAITUMBI; OPOLLO; MUGA; MISORE ; STOUTE, 2000).

Eritrofagocitose tem sido relatada em medula óssea de camundongos estimulada por fator de necrose tumoral (CLARK ; CHAUDHRI, 1988a), bem como existem evidências que a

interleucina 18 também desempenha um importante papel na patogênese da síndrome (TAKADA et al., 1999).

Os estudos existentes sobre o assunto mostram que a síndrome hemofagocítica tende a desaparecer com o tratamento da malária (ABDELKEFI et al., 2004; AOUBA; NOGUERA; CLAUVEL ; QUINT, 2000; ZVULUNOV; TAMARY ; GAL, 2002) e que os casos mais prolongados são encontrados em pacientes portadores de malária por *P. falciparum*.

### **2.6.1.5 Metabolismo do Ferro**

O plasmódio é um parasito obrigatoriamente intracelular, de tal forma que retira os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento de componentes intracelulares das hemácias danificadas ou dos existentes no plasma do hospedeiro. Estima-se que 25-75% da hemoglobina, sua maior fonte de proteína, seja digerida em vacúolos digestivos durante a fase de crescimento do parasito (MCKERROW; SUN; ROSENTHAL ; BOUVIER, 1993).

À semelhança de outros seres vivos, o plasmódio necessita de ferro para as suas reações enzimáticas, respiratórias e de oxi-redução. As suas principais fontes são o ferro originário da ruptura da hemoglobina, o ligado à transferrina plasmática e o contido na ferritina intracelular, (ROSENTHAL ; MESHNICK, 1996).

Para ter acesso ao ferro ligado à transferrina plasmática, o parasito deverá induzir uma ligação da transferrina aos receptores nas hemácias. A retirada deste ferro já foi identificada em diversos experimentos sem, contudo ser identificada uma especificidade no mecanismo. Esta inexistência de especificidade tem sido demonstrada pela pouca correlação entre a retirada de ferro marcado com rádio isótopos e o nível de parasitemia em meio de cultura (POLLACK ; FLEMING, 1984) e o número de antígenos parasitários ligados à transferrina (RODRIGUEZ ; JUNGERY, 1986)

Por outro lado a incorporação do ferro pelas células vermelhas circulantes está diminuída provavelmente como resultado da destruição intramedular dos normoblastos e células vermelhas jovens (CONRAD, 1971) (SRICHAIKUL; SIRIASAWAKUL ; POSHYACHINDA, 1976) .

#### **2.6.1.6 Citocinas inflamatórias e a anemia na malária**

Atualmente existe uma grande aceitação para o fato das citocinas estarem profundamente envolvidas, principalmente através do Fator de Necrose Tumoral e da Interleucina-1, nos mecanismos essenciais das doenças sistêmicas causadas por agentes infecciosos. A malária tem sido através dos tempos vista como uma doença da parasitização das hemácias, acompanhada pelo sequestro intravascular destas células infectadas. Este pensamento ainda é muito forte em alguns pesquisadores, que consideram ser necessário este mecanismo para que a malária pelo *Plasmodium falciparum* possa ocorrer e se manifestar em sua forma mais virulenta (TAYLOR et al., 2004; PLANCHE; DZEING; NGOU-MILAMA; KOMBILA ; STACPOOLE, 2005).

É consenso que a associação de doença grave com resposta inflamatória provoca anemia de causa multifatorial (SCHARTE ; FINK, 2003).

A estabilidade da membrana celular depende da bomba de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>, a qual está alterada nos processos infecciosos graves, e ocorre nas hemácias destes pacientes quer estejam parasitadas ou não (ILLNER ; SHIRES, 1982). Uma via conhecida de alteração desta bomba de prótons, com o conseqüente acúmulo de Na<sup>+</sup> intracelular e posterior morte celular, é aquela mediada pelo Óxido nítrico. Esta via sofre influência direta das citocinas e pode ser um dos caminhos a justificar a ocorrência da anemia na malária grave (CLARK et al., 2003)

## 2.6.2 Alterações plaquetárias.

A malária aguda afeta o mecanismo hemostático de duas formas distintas. Moderada trombocitopenia é comum durante a parasitemia não complicada, contudo, na malária aguda severa pode ocorrer a coagulação intravascular vascular disseminada (CIVD) como uma complicação do quadro clínico do paciente.

Uma depleção moderada da contagem plaquetária sem outro distúrbio da hemostasia é observado regularmente durante a parasitemia da malária (BEALE; CORMACK ; OLDREY, 1972; BUTLER; TONG; FLETCHER; DOSTALEK ; ROBBINS, 1973; VREEKEN ; CREMER-GOOTE, 1978; SKUDOWITZ; KATZ; LURIE; LEVIN ; METZ, 1973c).

A sobrevivência das plaquetas, transfundidas de doadores saudáveis, encontra-se diminuída na malária, provavelmente em decorrência de sua destruição no baço, sendo possivelmente este o maior fator na etiologia da trombocitopenia na malária (SKUDOWITZ; KATZ; LURIE; LEVIN ; METZ, 1973b).

A hiperplasia dos megacariócitos poderá estar associada à plaquetopenia que ocorre na malária decorrente quer provavelmente por distúrbio da coagulação (MARQUES, 2004); da esplenomegalia com o sequestro das plaquetas no baço na infecção malárica aguda (SKUDOWITZ; KATZ; LURIE; LEVIN ; METZ, 1973a); da penetração dos trofozoítas nas plaquetas (FAJARDO ; TALLENT, 1974) ou através da ação de auto-anticorpos contra glicoproteínas plaquetárias (CONTE; TASSI; BELLETTI; RICCI ; TAZZARI, 2003).

A patogenia da hiperplasia dos megacariócitos poderia ser explicada como mecanismo compensador induzido através dos fatores estimuladores de colônias, tais como as citocinas decorrentes da plaquetopenia.

Na região Amazônica estudo realizado mostrou que a plaquetopenia na malária foi um evento frequente; associado de forma independente à parasitemia periférica, ao gênero masculino e à primo-infecção (LACERDA, 2007b).

### **2.6.3 Alterações na série branca**

As alterações dos leucócitos na malária são variáveis e dependem de muitos fatores, tais como infecção aguda, parasitemia, severidade da doença, o estado imunitário do paciente e infecções recorrentes. Leucócitos circulantes representam somente uma pequena proporção do pool de leucócitos global e as mudanças numéricas no sangue periférico no paciente com malária freqüentemente representam a redistribuição destas células entre dois compartimentos, o pool circulante e o pool marginal. (ABDALLA ; PASVOL, 2004)

A contagem global usualmente é normal ou pode haver discreta leucopenia em adultos com malária falciparum aguda.

Os glóbulos brancos estão normais em crianças com malária crônica (ABDALLA, 1988b) assim como em adultos na Tailândia com malária vivax (WICKRAMASINGHE; LOOAREESUWAN; NAGACHINTA ; WHITE, 1989a).

Leucopenia parece ser um achado relativamente comum em adultos não imunes com malária sem aparente relação com o uso de profilaxia medicamentosa (GOLDSTEIN, 1968b).

#### **2.6.3.1 Neutrófilos**

Neutrofilia não é uma manifestação comum em adultos não imunes com malária, embora possam ser encontradas granulações tóxicas e desvio para a esquerda (GOLDSTEIN, 1968a).

Em relato de casos provenientes de Singapura, a contagem de neutrófilos foi normal em todos os pacientes portadores de malária vivax ou falciparum (KUEH ; YEO, 1982a).

Durante os dois primeiros dias iniciais de febre, os neutrófilos podem estar aumentados e posteriormente podem estar reduzidos (ABDALLA, 1988c; CHARMOT ; BASTIN, 1979b).

### **2.6.3.2 Monócitos**

Em alguns casos de infecção aguda ou crônica por *Plasmodium falciparum* pode haver monocitose. A monocitose, e os monócitos são freqüentemente vacuolados, ou o citoplasma pode conter pigmento malárico e hemácias fagocitadas (FACER; BRAY ; BROWN, 1979a). A presença do pigmento malárico nos monócitos é bastante útil no diagnóstico da doença posto que é mais freqüentemente visto que os próprios parasitos, e persiste por vários dias após o término da parasitemia. Estudos mostram que a monocitose é um achado comum em malária crônica (ABDALLA, 2004).

### **2.6.3.3 Eosinófilos**

Em relação aos eosinófilos, na admissão, os pacientes com infecção aguda por *Plasmodium falciparum* tem eosinopenia e durante a convalescência a eosinofilia pode ser uma boa resposta à infecção malarígena.(KUEH ; YEO, 1982b; GOLDSTEIN, 1968c; ABDALLA, 1990).

A infecção pelo *Plasmodium falciparum* suprime a eosinofilia pré-existente, retornando quando o paciente faz o tratamento para a malária (SHANKS ; WILAIRATANAPORN, 1992).

### **2.6.3.4 Linfócitos**

Na literatura antes dos anos setenta o número de linfócitos era visto como normal, mais recentemente a literatura relata linfopenia, às vezes intensa, sendo um achado comum em malária aguda em adultos não imunes (RICHARDS; BEHRENS ; DOHERTY, 1998), e é menos severa em crianças com malária em áreas endêmicas. (ABDALLA, 1988a; WYLER, 1976; GREENWOOD; ODULOJU ; STRATTON, 1977).

Alguns estudos mostram que a linfopenia em alguns casos de malária aguda, ocorre por provável redistribuição dos linfócitos, com sequestração em órgãos como o baço (FACER ; JENKINS, 1989).

Existem impressionantes mudanças nos linfócitos circulantes durante a malária aguda. Os linfócitos de pacientes com malária, colocados em meio de cultura, rapidamente se transformam em blastos mesmo sem o estímulo mitogênico (OSUNKOYA; WILLIAMS ; REDDY, 1972). A coloração de Romanovsky em um esfregaço de sangue, realizada a partir do terceiro dia do aparecimento da febre, demonstra numerosos linfócitos transformados com citoplasma fortemente basófilo e grandes núcleos com nucléolos.

Plasmócitos algumas vezes podem ser observados (CHARMOT ; BASTIN, 1979a)

#### **2.6.4 A importância do estudo da medula óssea na malária**

Por ser a malária considerada pela OMS a doença tropical e parasitária que mais causa problemas sociais e econômicos no mundo, predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais, com maior impacto sobre o desenvolvimento humano que se tem conhecimento e estudos acumulados, por ter uma distribuição geográfica intimamente ligada a áreas de expansão econômica e de ocupação de terras inexploradas, ela interfere de maneira inequívoca no desenvolvimento destas regiões.

As alterações na medula óssea, produzidas pela malária, não estão bem estabelecidas, e de forma especial, é escassa a literatura malarígena produzida na região amazônica relacionada com estudos sobre as alterações hematológicas.

Esperamos que os dados obtidos neste estudo permitam o conhecimento do perfil hematológico e da medula óssea dos seres humanos que vivem na região amazônica e adquiriram a doença por *Plasmodium falciparum*, e que esses dados possam preencher lacunas na falta de conhecimento nesta área, melhorando o manejo clínico destes pacientes.



A pressão exercida pela malária tem tido profundos efeitos na história humana, quer na Europa Mediterrânea, na África sub-Saariana e nas Américas, em especial na Região Amazônica. A presença contínua do parasito junto ao homem tem sido tão intensa que se presume que possa ter ocasionado mudança no genoma humano (NAGEL, 2004). A maioria destas mudanças genéticas tem ocorrido nos muitos objetos da parasitização: as hemácias e seus antígenos, o citoesqueleto, as enzimas e a hemoglobina. Outras mudanças genéticas têm sido descritas, as quais não incluem diretamente as células vermelhas, mas os efeitos indiretos no hospedeiro que pode conduzir à proteção ou aumentar a susceptibilidade à anemia, tais como polimorfismo do antígeno HLA e o polimorfismo promotor de TNF- $\alpha$  (KWIATKOWSKI et al., 1990).

Além destas áreas de interesses mais diretos pela malária olhada do ponto de vista do hematologista, outras se mostram também promissoras tais como o estudo da patogênese do Linfoma de Burkitt, o desbalanço imunológico da esplenomegalia reativa que ocorre na malária e suas conseqüências hematológicas, o papel da citocinas sobre as defesas do hospedeiro e a interação entre malária e a deficiência ou reposição de ferro. (RU et al., 2009; ABDALLA et al., 2004).

O estudo da medula óssea na malária é algo há muito observado (ZACHARIAS, 1949a). No Brasil, Naveira já chamava a atenção para a utilização deste método diagnóstico no manuseio da malária (NAVEIRA ; LOPES, 1971a).

O estudo medular é importante não apenas para a identificação da etiologia malarígena (CUARTAS; ROTHENBERG; FECCI ; GUTTERMAN, 1972; MIRDHA; SAMANTRAY; MISHRA ; XESS, 1999; ZACHARIAS, 1949b) mas também para identificar e quantificar o dano na sede principal do sistema hematopoiético, o mais afetado pela parasitemia (WICKRAMASINGHE ; ABDALLA, 2000a; SRICHAIKUL; PANIKBUTR ;

JEUMTRAKUL, 1967b; GANDAPUR; MALIK ; RAZIQ, 1997; HELLEBERG et al., 2005;  
KNUETTGEN, 1963a; DAS; NANDA; RATH; SATAPATHY ; DAS, 1999a).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL:

Estudar o comprometimento da medula óssea em pacientes portadores de malária infectados por *Plasmodium falciparum* no município de Manaus, Amazonas, Brasil, através da punção aspirativa e biópsia da medula óssea, buscando descrever as alterações encontradas e relacioná-las com o grau de parasitemia e anemia apresentados pelos pacientes.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Descrever as alterações encontradas na citologia através do mielograma dos pacientes primo-infectados por *Plasmodium falciparum* e correlacioná-las com o grau de parasitemia e anemia apresentados pelos pacientes.
- 2) Descrever as alterações encontradas na avaliação histopatológica obtida por biópsia de medula óssea dos pacientes primo-infectados por *Plasmodium falciparum* e correlacioná-las com o grau de parasitemia e anemia apresentados pelos pacientes.
- 3) Comparar os achados encontrados no Mielograma (citologia) e na Biópsia de Medula Óssea (histopatologia).
- 4) Descrever as mudanças diseritropoiéticas na medula óssea

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 LOCAL DE ESTUDO:**

O Município de Manaus está localizado no Estado do Amazonas, sendo a população referente ao ano de 2009, estimada em 1.646.602 habitantes. Tem área de 11.401km<sup>2</sup>, com uma floresta tropical úmida com temperatura entre 20 e 38°C e um índice pluviométrico médio anual de 2.286,2 milímetros. A umidade relativa do ar mantém uma média anual de 83% alterando-se com as mudanças de temperatura. Existem duas estações climáticas na área: a da seca (maio a setembro) e a das chuvas (de outubro a abril) (IBGE, 2009). As épocas de maior transmissão da malária na região ocorrem no início e no fim da estação chuvosa e o aumento da densidade vetorial está relacionada a esta época (KLEIN; LIMA ; TANG, 1992; IBGE, 2009).

### **4.2 MODELO DE ESTUDO**

Trata-se de um estudo prospectivo observacional, individualizado, descritivo de série de casos. Os dados utilizados são referentes a pacientes do município de Manaus, atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, hospital de referência para malária.

### **4.3 AMOSTRA POPULACIONAL**

Pacientes portadores de malária aguda por *Plasmodium falciparum*, primo infectados, atendidos na rotina do ambulatório da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas no período de outubro de 1998 a setembro de 1999.

#### **4.3.1 Critérios de inclusão na pesquisa:**

- a) Serem portadores de malária, primo infectados por *Plasmodium falciparum*.
- b) Maiores de 15 anos.
- c) Virgens de tratamento para malária.
- d) Não serem portadores de outras doenças no momento do estudo, principalmente infecciosas.
- e) Não ser portador de infecção mista em associação com malária por *Plasmodium vivax*.
- f) Ausência de estado gestacional em curso.
- g) Ter realizado mielograma e biópsia de medula óssea.

#### **4.3.2 Critérios de exclusão na pesquisa:**

- a) Pacientes cujas biópsias de medula óssea apresentassem menos de 5 espaços intertrabeculares e menor que 20 mm de comprimento.
- b) Pacientes cuja citologia medular (mielograma) mostrasse esfregaços apresentando paucicelularidade.
- c) Pacientes que apresentassem histopatológicos (biópsias de medula óssea) com mais de 30% de artefatos por esmagamento.

### **4.4 PROCEDIMENTOS**

#### **4.4.1 Biópsia da medula óssea**

As biópsias da medula óssea foram realizadas com agulha de Jamishid, retirando-se fragmentos de 1 a 3 cm de comprimento por 0,2 cm de espessura, da crista ilíaca pósterosuperior direita, após cuidados de assepsia e anestesia com lidocaína a 2% sem vasoconstrictor, iniciando com um botão anestésico na pele, e a seguir até o periósteo, certificando-se que o paciente não sentisse dor.

Os fragmentos de medula óssea foram colocados em frasco escuro (identificados com o nome do paciente e nº do registro na FMTAM) com solução de Bouin por um período de 4 horas e, posteriormente, substituído por álcool a 70%, antes de serem processados no serviço de patologia da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

O processamento do fragmento da medula óssea consistiu na descalcificação com solução de ácido fórmico a 5%, por um período de tempo de 12 horas, com posterior desidratação, diafinização em xilol e inclusão final em parafina.

Foram feitos cortes tangenciais ao maior diâmetro do fragmento com espessura não superior a três micras. Os cortes histológicos foram corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Mallory e Impregnação pela prata para reticulina.

Todo este material foi devidamente arquivado, à época da coleta, após o processamento.

#### **4.4.2 Aspirados de medula óssea**

Os aspirados de medula óssea (Mielograma) foram realizados logo a seguir da biópsia, com agulha para aspiração medular, tipo Rosenthal, 15 G, e coletado no máximo, 0,5 ml de medula de crista ilíaca posterior e distendida em lâminas novas, identificadas com o nome e nº do registro do paciente, sendo os esfregaços corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa.

À semelhança do material da biópsia medular, as lâminas da citologia foram igualmente arquivadas.

### **4.4.3 Exames laboratoriais de rotina**

Os exames laboratoriais de rotina realizados neste estudo foram: pesquisa e quantificação de parasitos no sangue periférico, através do método da gota espessa; hemograma com contagem celular global, pelo sistema Counter Coulter STMK automatizado, contagem diferencial de leucócitos e leitura de lâmina, feita através de microscopia ótica; contagem de plaquetas; contagem de reticulócitos, estudo do ferro (ferro sérico, saturação de transferrina e ferritina sérica); bilirrubinas; uréia; creatinina; Coombs direto e indireto.

Os exames laboratoriais foram realizados de acordo com a rotina empregada pelo laboratório de análises clínicas da Fundação de Hemoterapia do Amazonas, com exceção do exame da gota espessa, que foi realizado na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. Considerou-se baixa parasitemia quando a contagem em cruces de parasitos na gota espessa fosse igual ou inferior a 1+.

### **4.4.4 Interpretação das punções**

#### **4.4.4.1 Mielograma**

Os esfregaços, corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa, foram examinados em pequeno aumento (100x), contado o número de megacariócitos por campo e calculada a média proporcional a 10 campos; foi estabelecido os seguintes parâmetros: média de um a três megacariócitos = normal; menos que um megacariócito hipoplasia megacariocítica ; mais de três megacariócitos = hiperplasia megacariocítica.

As séries eritróide, mielóide, megacariocítica e linfoplasmocitária foram examinadas com objetiva de imersão (1000x)

Foram contadas 400 células em campos diversos e determinada a proporção relativa dos precursores da série mielóide, série eritróide e série linfoplasmocitária.

A série eritróide foi considerada normal quando a proporção dos precursores dos setores eritropoéticos estivesse entre 18 a 25%; a série branca quando os precursores granulocitopóéticos estivessem entre 50 a 70 %; eosinófilos até 4% e a proporção relativa de linfócitos entre 11 a 20 %.

A celularidade das séries medulares nos mielogramas foi expressa como hiper celular (aumentada), hipocelular (diminuída) e normocelular (normal). A maturação celular das séries medulares foi expressa como normal (preservada/normoblástica) e alterada (megaloblastóide/desvio à esquerda). A diseritropoiese foi quantificada percentualmente a partir da contagem de 200 eritroblastos.

As lâminas do aspirados de medula óssea foram avaliadas por hematologista.

#### **4.4.4.2 Biópsia da Medula Óssea**

**4.4.4.2.1 Técnicas de coloração:** Os cortes histológicos foram corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Mallory e Impregnação pela prata para reticulina.

#### **4.4.4.2.2 Exame histopatológico das biópsias de medula óssea**

Foram examinados os vários elementos hematopoiéticos para evidenciar as seguintes alterações:

- 1) Série eritróide. A presença das ilhas de eritroblastos, a morfologia e o grau de maturação dos eritroblastos e evidência de diseritropoiese.
- 2) Série granulocítica. A morfologia e a proporção relativa dos precursores granulocíticos maduros e imaturos, e a posição dos precursores imaturos (promielócitos e mieloblastos).



- 3) Série megacariocítica: Número, alterações morfológicas, localização e presença ou ausência de *clusters*, com atenção especial ao tamanho da célula e a morfologia nuclear.
- 4) Série linfoplasmocitária: O número, localização e morfologia dos linfócitos e plasmócitos, e a presença, posição e morfologia dos agregados linfóides.
- 5) Macrófagos, retenção de pigmento de hemozoína e depósito de hemossiderina, qualquer evidência de hemofagocitose.
- 6) Estas alterações foram analisadas através de métodos morfométricos com uma ocular com uma grade micrometrada e contagem de 10 campos com objetiva de 40X. A relação entre o tecido mielóide e o tecido adiposo foi realizada com a mensuração da área com objetiva de 10X.

**4.4.4.2.3 Celularidade:** Foi feita uma estimativa quantitativa da celularidade, tomando por base a proporção entre os tecidos hematopoético e adiposo em cada secção, sendo o valor global de cada caso, resultante da média das secções examinadas.

**4.4.4.2.4 Parasitos na medula óssea:** A presença de parasitos foi pesquisada em cada caso pelo exame de 200 campos.

**4.4.4.2.5 Identificação de hemozoína na medula óssea:** Foi realizada a pesquisa de depósito de pigmento de hemozoína através da microscopia ótica com filtro de polarização.

#### **4.4.5 Análise Estatística:**

Os dados quantitativos foram previamente submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se preenchiam os critérios de distribuição normal, a fim de que pudessem ser analisados pelo teste T de Student. Os dados quantitativos que não mostrassem distribuição foram submetidos ao teste não paramétrico U de Mann-Whitney (WAGNER; MOTTA ; DORNELLES, 2004).

Os dados qualitativos foram avaliados quanto à associação pelo teste exato de Fisher ou pelo teste de McNemar e em caso de correlação pelo coeficiente de correlação de Spearman (SIEGEL ; CASTELLAN, 2006).

Para avaliação do grau de significância o alfa adotado foi de 5%, com um intervalo de confiança (IC) de 95%.

Todos os dados foram analisados através do programa de estatística para microcomputadores SPSS 16.0 (SPSS Inc. Chicago Ill)

#### **4.4.6 Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos**

Os dados coletados e os procedimentos para tal foram submetidos à análise do Comitê de ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas de onde recebeu parecer favorável, processo nº 601/98.

## 5. RESULTADOS

Foram estudados 33 pacientes, sendo posteriormente aproveitados neste estudo dados de 29 pacientes.

A apresentação dos resultados desta pesquisa foi executada, obedecendo a seguinte seqüência:

1. Dados clínicos;
2. Dados dos exames laboratoriais, excetuando mielograma e biópsia da medula óssea;
3. Dados do mielograma;
4. Dados da biópsia da medula óssea;
5. Comparação entre os achados do mielograma e da biópsia da medula óssea.

### 5.1 DADOS CLÍNICOS:

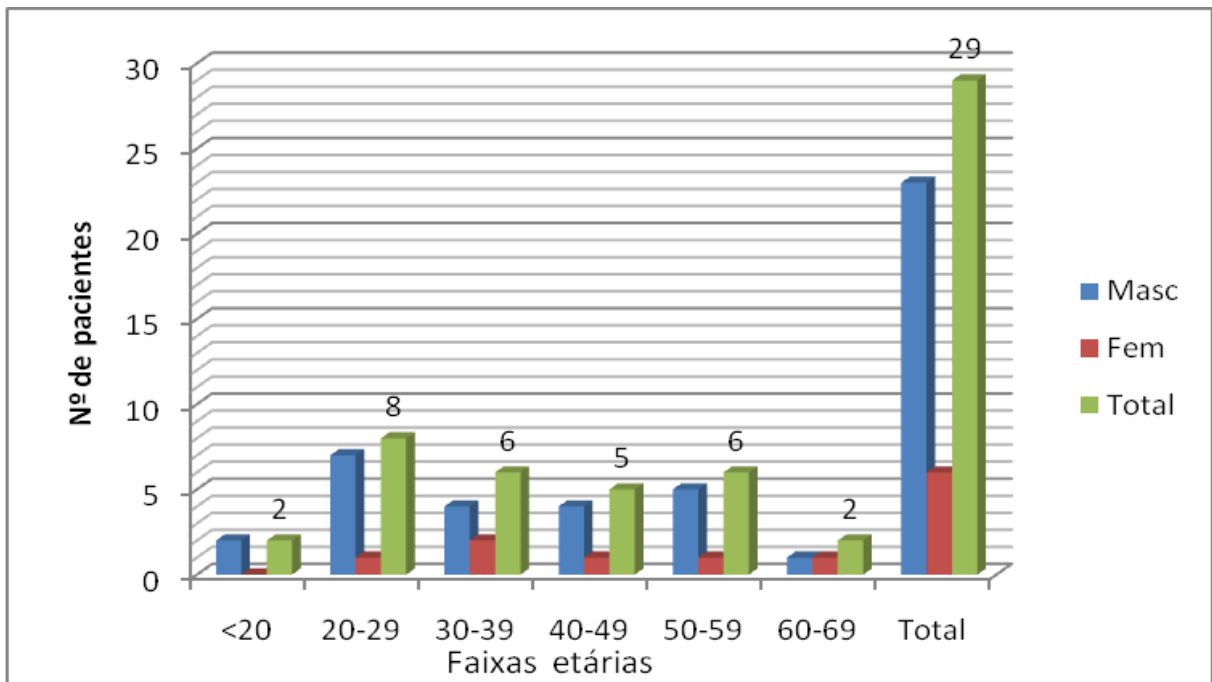
Foram estudadas as variáveis de idade, sexo, profissão, tempo de início dos sintomas, febre, calafrios, mialgia, icterícia, vômitos, artralgia e esplenomegalia.

<b>Parâmetros</b>	<b>Idade</b>
Média	38,28
Mediana	38
Desvio padrão	14,35
Mínimo	18
Máximo	67
<b>Total</b>	<b>29</b>

**Tabela 1 – Distribuição quanto à idade dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

A distribuição etária mostrou que a doença atinge pessoas numa faixa etária produtiva.

A idade mínima dos pacientes no estudo foi de 18 anos, e a máxima idade foi a de um paciente com 67 anos, com a média das idades ficando em 38 anos.



**Gráfico 5 - Distribuição por faixa etária e sexo dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Na distribuição quanto ao sexo, os homens foram mais afetados pela doença que as mulheres. No estudo observou-se 23 (79,31%) pacientes do sexo masculino e 6 (20,69%) pacientes do sexo feminino e a faixa etária mais acometida foi a de 20 a 29 anos com 8 (27,59%) pacientes.

<b>Profissão</b>	<b>Frequencia</b>	<b>Percentual</b>
Agricultor (a)	15	55,1
Caminhoneiro	1	3,4
Caseiro	1	3,4
Cozinheiro	1	3,4
Doméstica	4	13,8
Estudante	2	6,9
Fazendeiro	1	3,4
Garimpeiro	1	3,4
Químico	1	3,4
Aposentado	1	3,4
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>100</b>

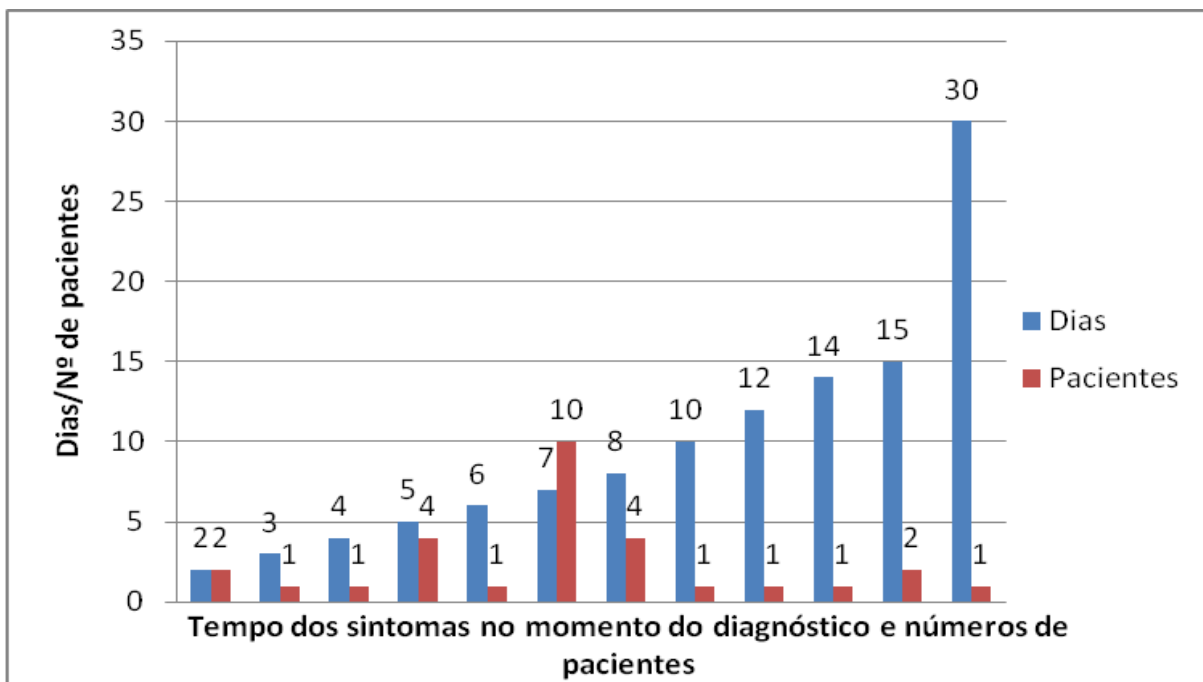
**Quadro 2 - Distribuição da frequência das profissões dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

A profissão mais afetada foi justamente aquela que mais expõe o indivíduo à picada do mosquito infectado, ou seja, a profissão de agricultor. Chama a atenção que a segunda atividade mais comprometida é uma atividade que se desenvolve dentro da própria residência (13, 8%), levantando-se a possibilidade, não confirmada por não ser um objetivo deste trabalho, de que o contato com o mosquito infectado deu-se no domicílio ou próximo a ele, talvez resultado do processo de urbanização desordenada na cidade de Manaus e seus reflexo sobre a malária (SARAIVA; AMORIM; MOURA; MARTINEZ-ESPINOSA ; BARBOSA, 2009).

<b>Parâmetros</b>	<b>Tempo de sintomas (dias)</b>
Média	8,10
Mediana	7
Desvio padrão	5,35
Mínimo	2
Máximo	30
<b>Total</b>	<b>29</b>

**Tabela 2 - - Tempo dos sintomas dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Os pacientes estudados apresentaram uma variação do tempo de aparecimentos dos sintomas (febre e calafrios) até o momento do diagnóstico variando de 2 a 30 dias. O tempo médio de aparecimento dos sintomas foi de 8 dias com um desvio padrão de 5 dias.



**Gráfico 6 – Distribuição do número de dias com sintomas no momento do diagnóstico**

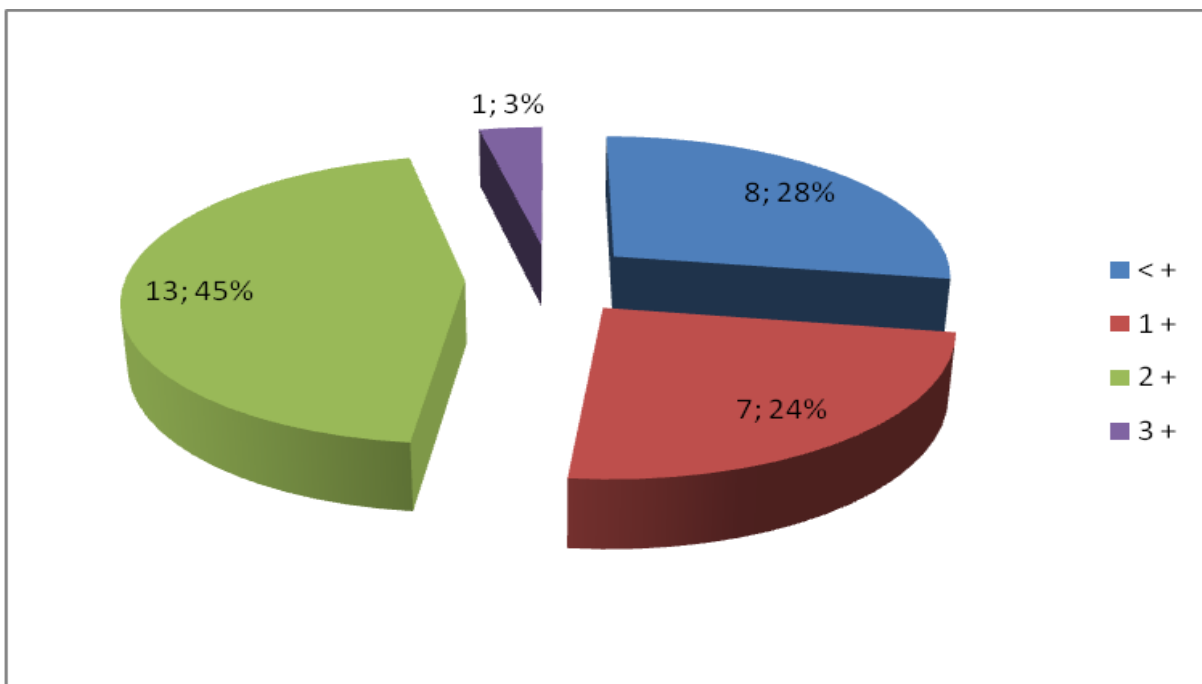
O tempo de aparecimento dos sintomas no momento do diagnóstico que apresentou maior ocorrência foi o de 7 dias (10/37,9%). 79, 3% dos pacientes apresentaram tempo de sintomas precedendo o diagnóstico igual ou inferior a 8 dias.



Sintomas	Sim (%)	Não (%)
Febre	29 (100)	0 (0)
Calafrios	28 (96,55)	1 (4,45)
Mialgias	24 (82,75)	5 (17,25)
Icterícia	9 (31,03)	20 (68,97)
Vômitos	12 (41,37)	17 (58,62)
Artralgia	22 (75,86)	7(24,13)
Colúria	9 (31,03)	20 (68,97)
Cefaléia	20 (68,97)	9 (31,03)
Mucosas hipocoradas	14 (48,27)	15 (51,73)
Esplenomegalia	8 (27,58)	21(72,42)
Hepatomegalia	8 (27,58)	21 (72,42)

**Quadro 3 – Distribuição dos sinais e sintomas nos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

Nos portadores com malária, a febre foi a manifestação clínica mais freqüente entre os pacientes estudados, seguida de calafrios, mialgia intensa, artralgia e cefaléia. Os demais sinais e sintomas se manifestaram em menos de 50 % dos casos.



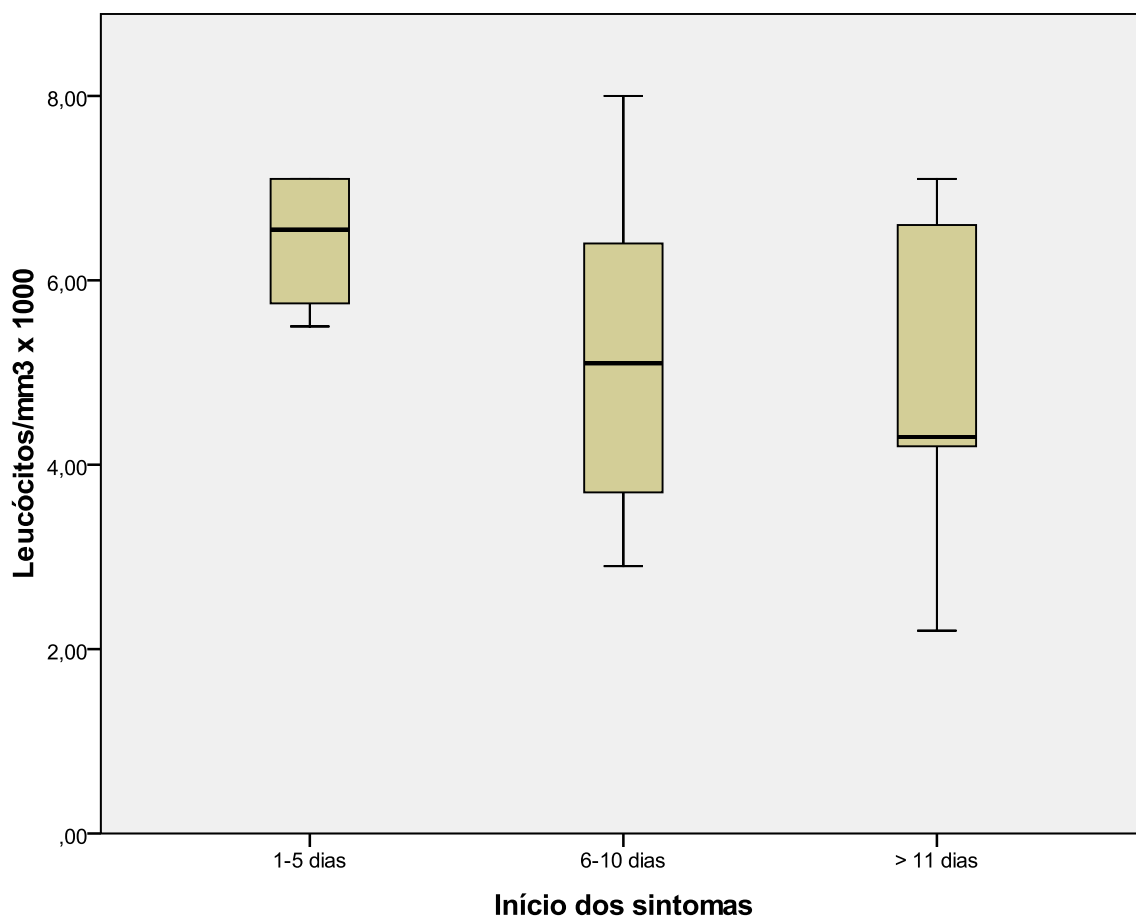
**Gráfico 7 - Distribuição do grau de parasitemia em cruces no sangue periféricodos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Dos pacientes estudados, cerca de 70% apresentaram 1 a 2 + de parasitemia no sangue periférico, 28% do grupo de estudo apresentavam menos de 1+ e 3 % do grupo apresentaram 3+ como distribuição de parasitemia periférica.

**5.2 RESULTADOS DOS EXAMES LABORATORIAIS, NO SANGUE PERIFÉRICO.**

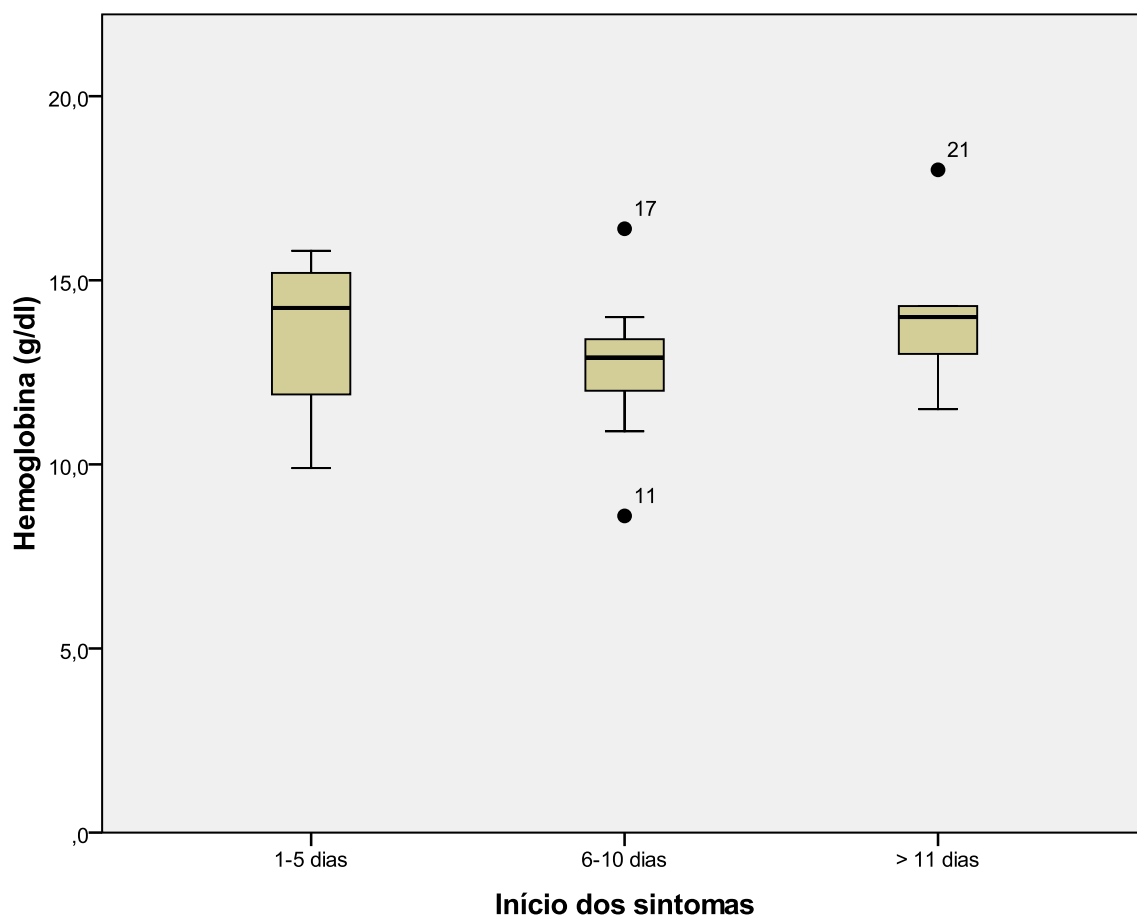
	<b>Média</b>	<b>Mediana / Moda</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Hemácias(x 10 <sup>6</sup> )	4,10	4,54	0,81	2,79	5,82	-	-
Hematócrito (%)	38,89	39,0	6,77	24	53	-	-
Hemoglobina(g/dl)	13,32	13,10	2,21	8,6	18,0	-	-
Leucócitos(x 10 <sup>3</sup> )	5,36	5,40	1,6	2,20	8,0	-	-
Bastões (%)	2	1	3,03	0	13	-	-
Neutrófilos (%)	51,89	51,0	13,98	27,0	85,0	-	-
Eosinófilos (%)	4,05	3,0	4,15	0	18,0	-	-
Basófilos (%)	0,37	0,0	0,59	0	2,0	-	-
Monócitos (%)	4,42	2,0	4,14	0	11,0	-	-
Linfócitos (%)	34,68	36,0	11,42	13,0	59,0	-	-
Plasmócitos (%)	0,05	0	0,22	0	1,0	-	-
Plaquetas(x 10 <sup>3</sup> )	109,05	97,0	56,98	23,0	233,0	-	-
Reticulócitos (%)	3,49	2,0	3,77	0	11,0	-	-
Uréia (mg/dl)	31,17	28,0	9,76	17,0	56,0	-	-
Creatinina (mg/dl)	0,82	0,80	0,24	0,3	1,2	-	-
Fe sérico (µg/dl)	81,93	44,50	134,94	20,0	581,0	-	-
Ferritina (ng/ml)	32,38	18,55	30,20	10,3	99,6	-	-
Sat. Transferrina(%)	20,43	16,00	8,38	14	34	-	-
DHL (UI/l)	423,69	452,50	160,89	132	663	-	-
Coombs Direto pos.						16	13
Coombs Ind. pos.						6	23

**Tabela 3 - Exames laboratoriais do sangue periférico dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***



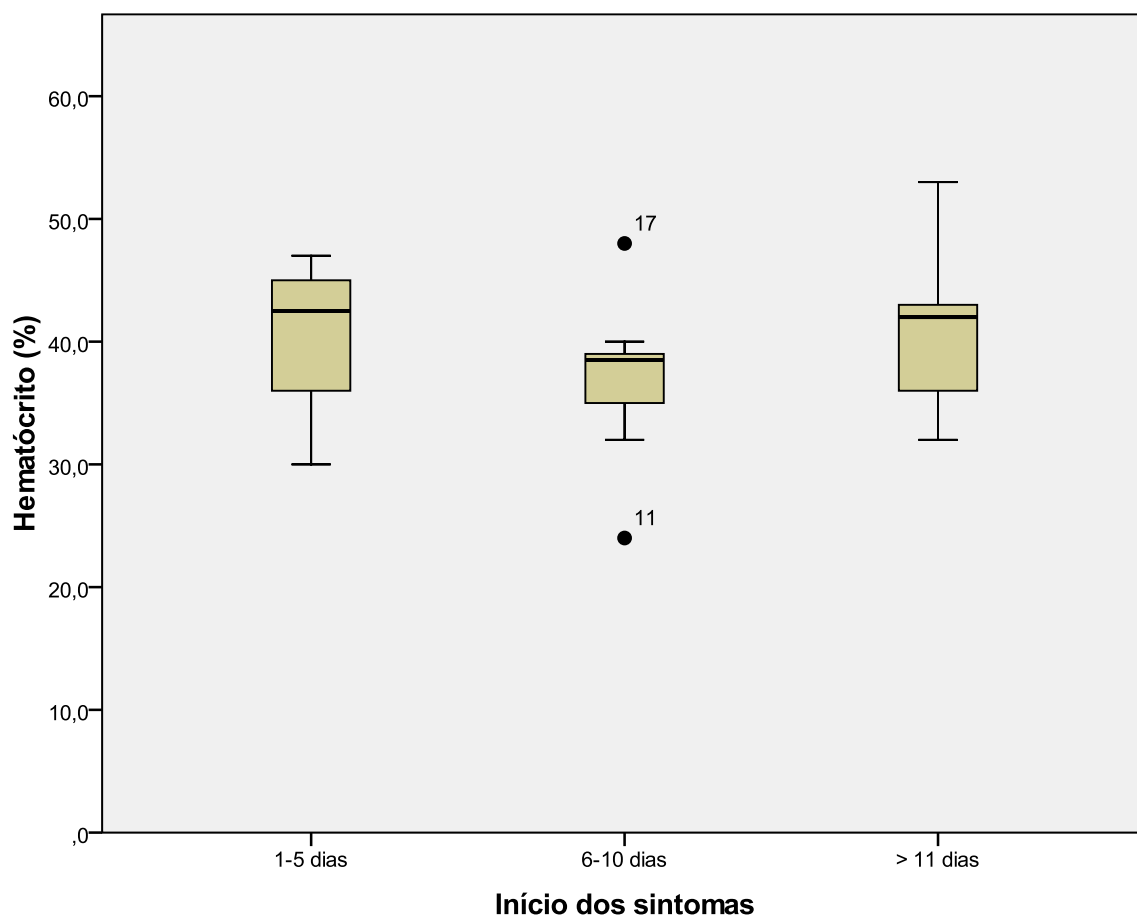
**Gráfico 8 – Distribuição da contagem de leucócitos no sangue periférico em relação ao tempo de início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Os dados coletados, quando submetidos à análise de variância (ANOVA) não demonstraram haver diferença estatisticamente significante entre as três faixas temporais do início dos sintomas em relação á contagem de leucócitos periféricos (p valor 0,332).



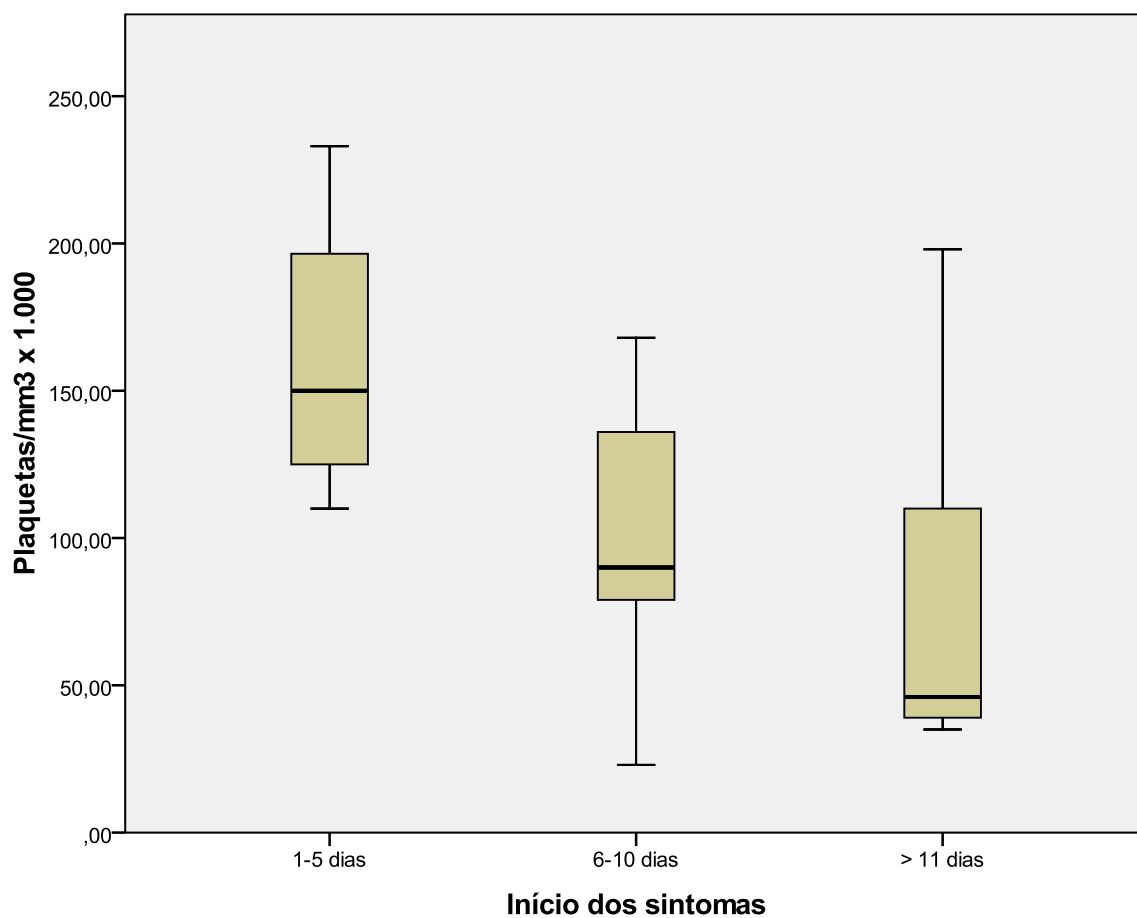
**Gráfico 9 – Distribuição do nível de hemoglobina em relação ao tempo de início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as faixas temporais de início dos sintomas em relação ao nível de hemoglobina no sangue periférico, de acordo com a ANOVA (p valor 0,447).



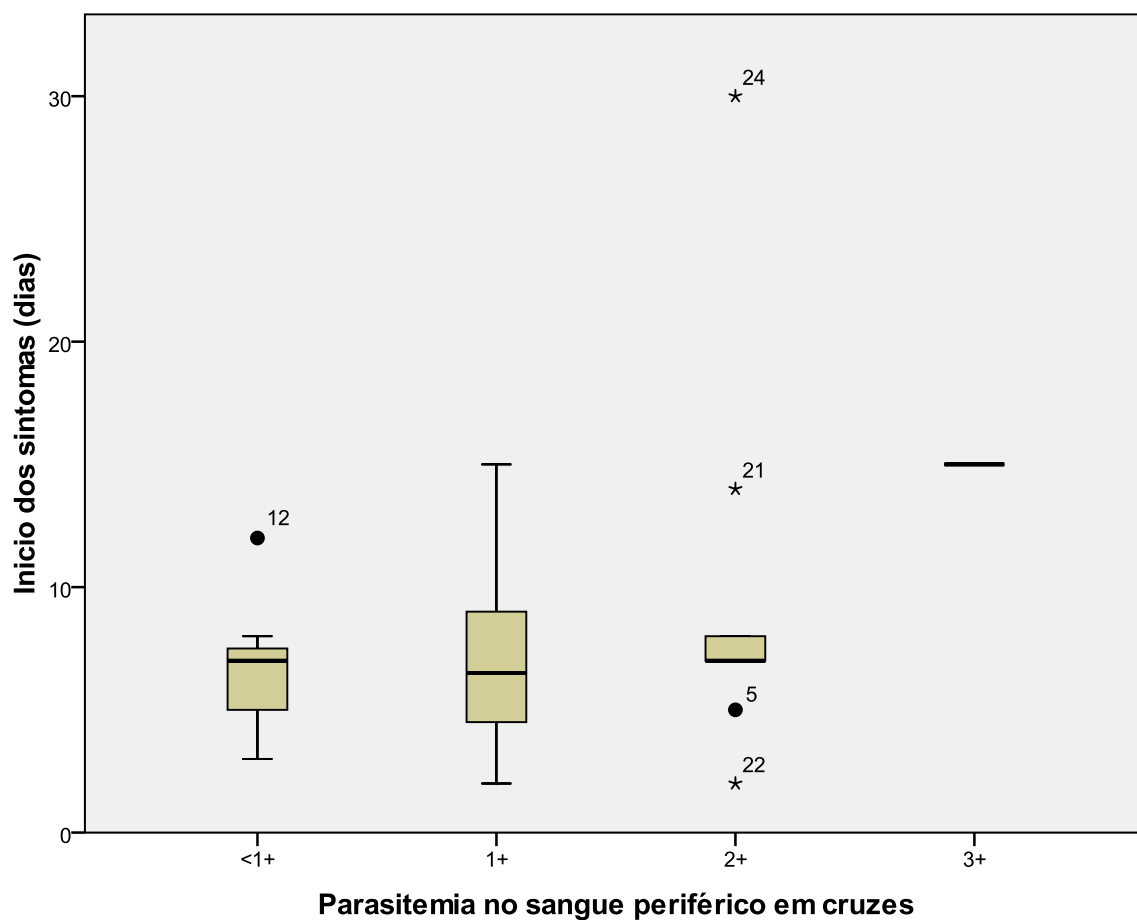
**Gráfico 10 – Distribuição do nível do hematócrito em relação ao tempo de início dos sintomas, organizado em faixas de 5 dias nos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Na análise dos dados pela ANOVA não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as faixas temporais de início dos sintomas em relação ao nível do hematócrito no sangue periférico (p valor 0,497).



**Gráfico 11 - Distribuição da contagem de plaquetas em relação ao tempo do início dos sintomas nos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

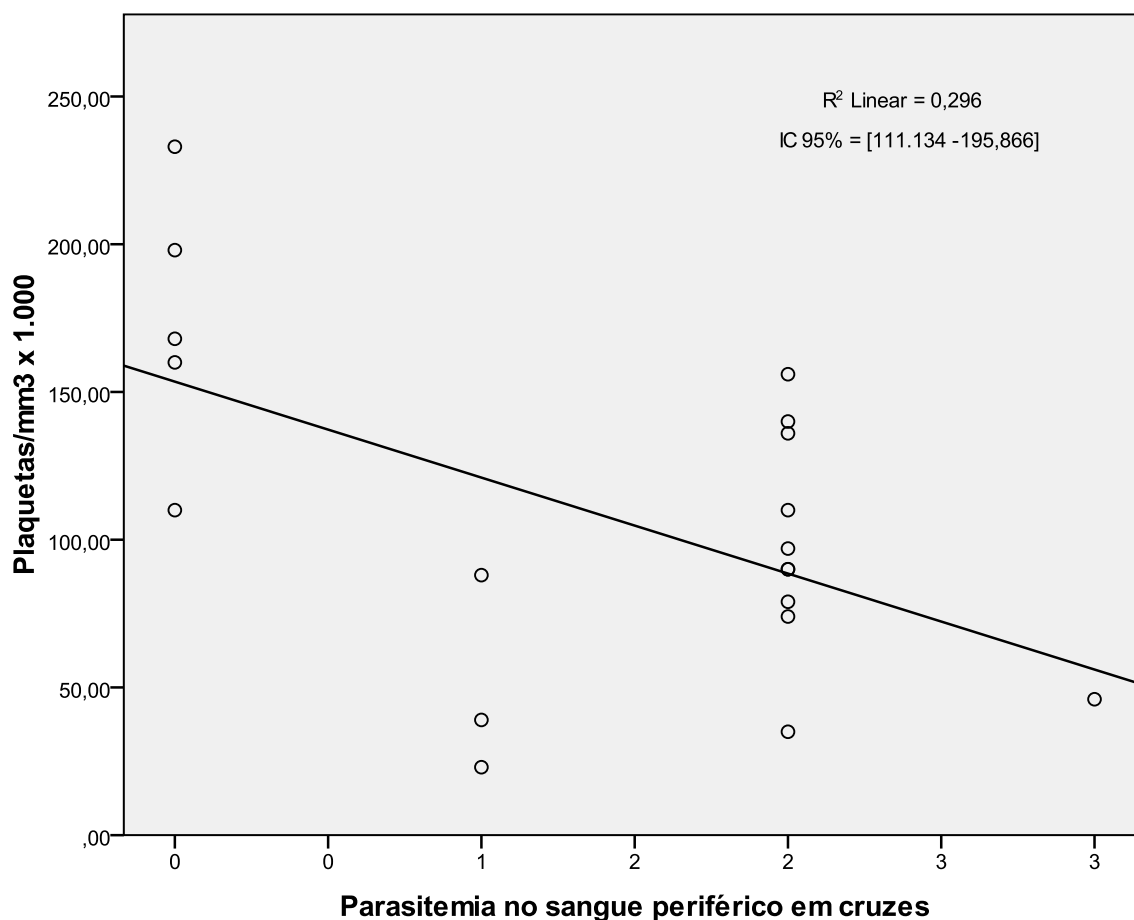
Na análise dos dados pela ANOVA não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as faixas temporais de início dos sintomas em relação à contagem de plaquetas no sangue periférico (p valor 0,107).



**Gráfico 12 – Distribuição do início dos sintomas em relação à parasitemia em cruzes no sangue periférico dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

A ANOVA demonstrou que a parasitemia no sangue periférico dos pacientes estudados não teve influência no tempo de início dos sintomas (p valor 0,459).

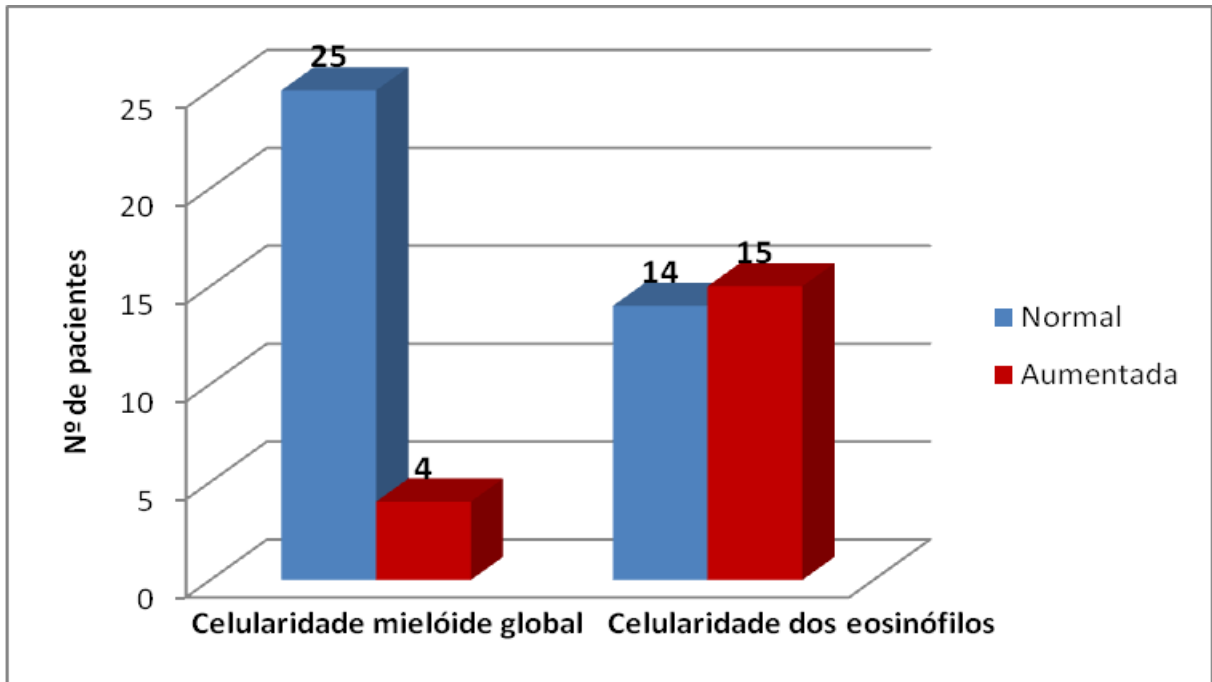




**Gráfico 13 - Correlação entre o nível de parasitemia e a contagem de plaquetas no sangue periférico dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

Observou-se uma correlação negativa estatisticamente significante (p valor 0,016) . A análise de regressão mostra que existe uma relação de regressão da contagem de plaquetas e a parasitemia no sangue periférico nos pacientes estudados, ou seja, que uma proporção na variabilidade da contagem de plaquetas pode ser explicada pela parasitemia, estimando-se que 30% desta variabilidade é explicada pela parasitemia ( $r^2=0,296$ ).

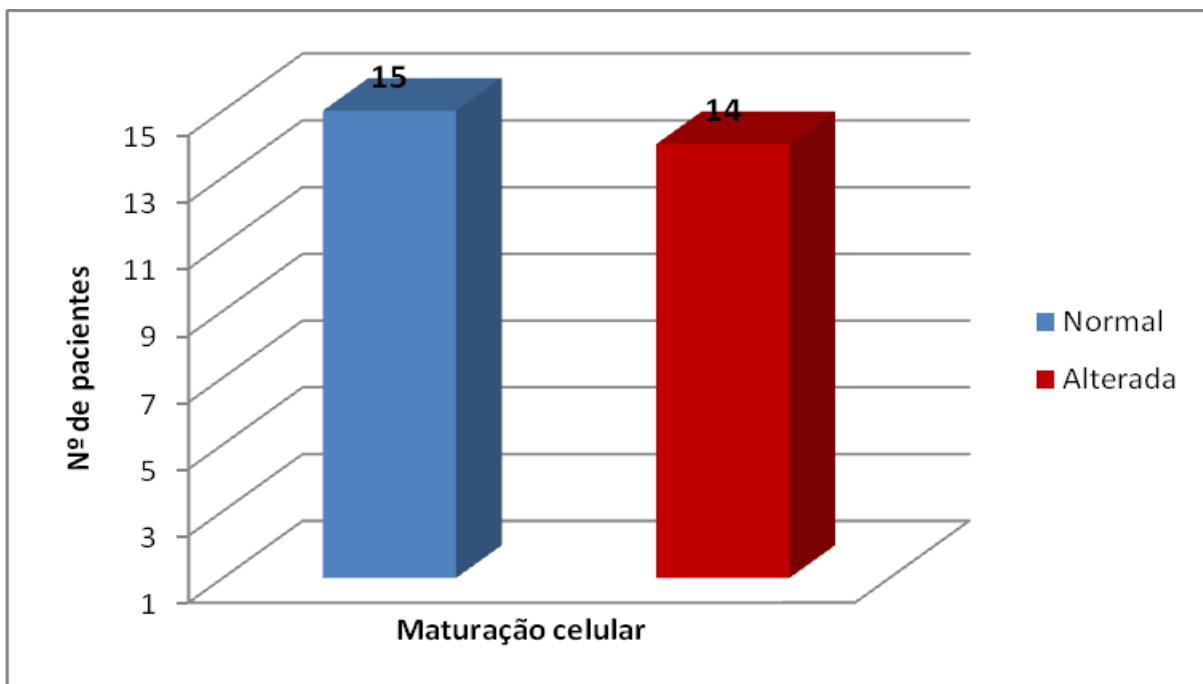
### 5.3 DADOS DO MIELOGRAMA



**Gráfico 14 – Distribuição dos achados de celularidade e eosinofilia (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

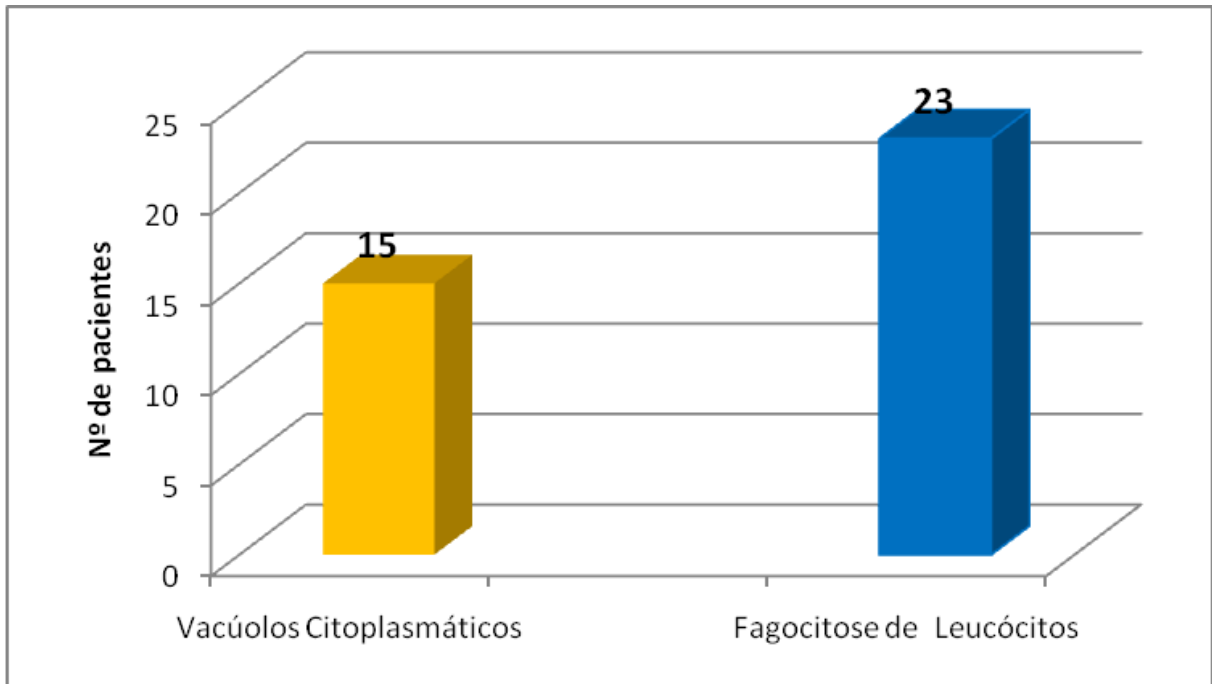
Em relação à celularidade, 25 (86,20%) pacientes apresentavam normocelularidade e 4(13,80%) pacientes apresentava hipercelularidade na avaliação do mielograma.

A presença de eosinofilia foi encontrada em 15 (51,72%) pacientes e em 14 (48,28%) pacientes os eosinófilos estavam dentro da normalidade.



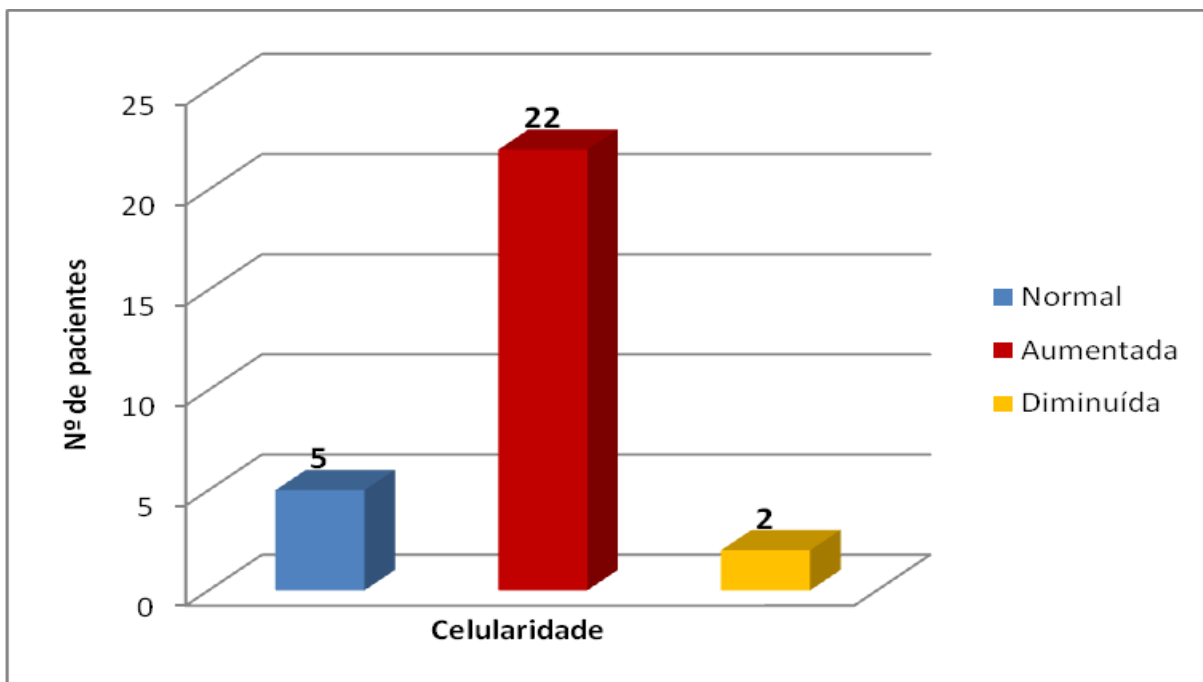
**Gráfico 15 – Distribuição dos achados de maturação celular (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

A maturação celular da série mielóide esteve normal em 15 (51,72%) pacientes e alterada em 14(48,28%) pacientes.



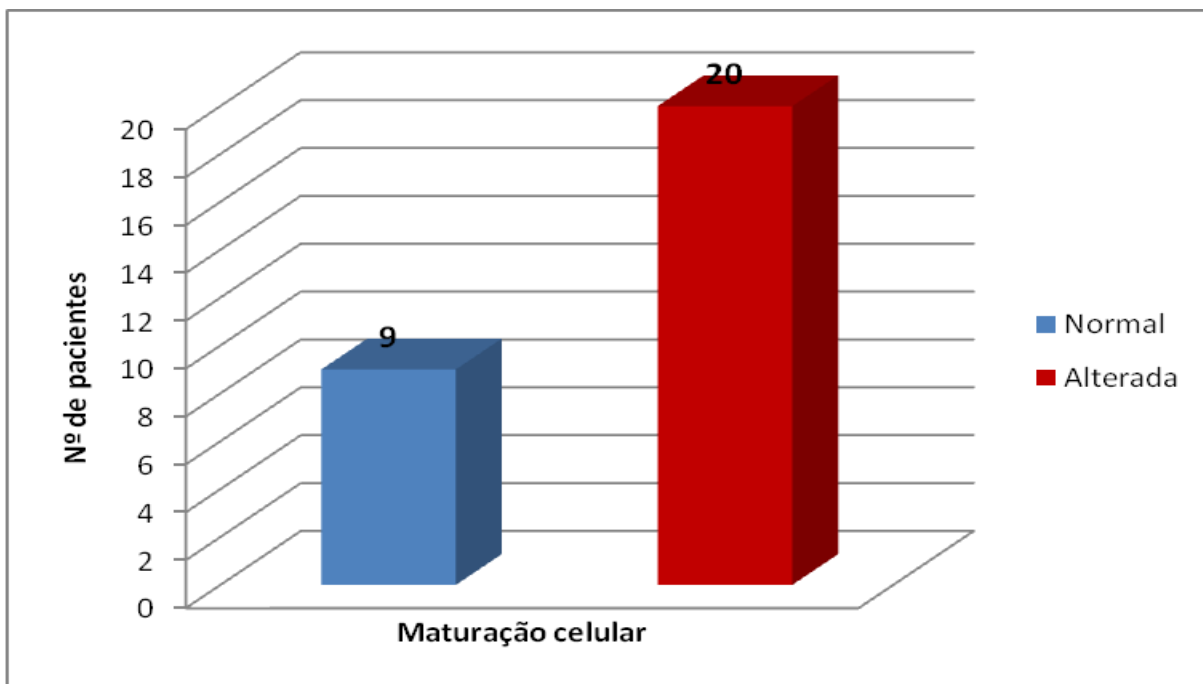
**Gráfico 16 – Distribuição das alterações morfológicas (série mielóide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

As alterações dismórficas da série mielóide no aspirado medular foram: vacúolos citoplasmáticos (15 pacientes) e fagocitose de leucócitos (23 pacientes).



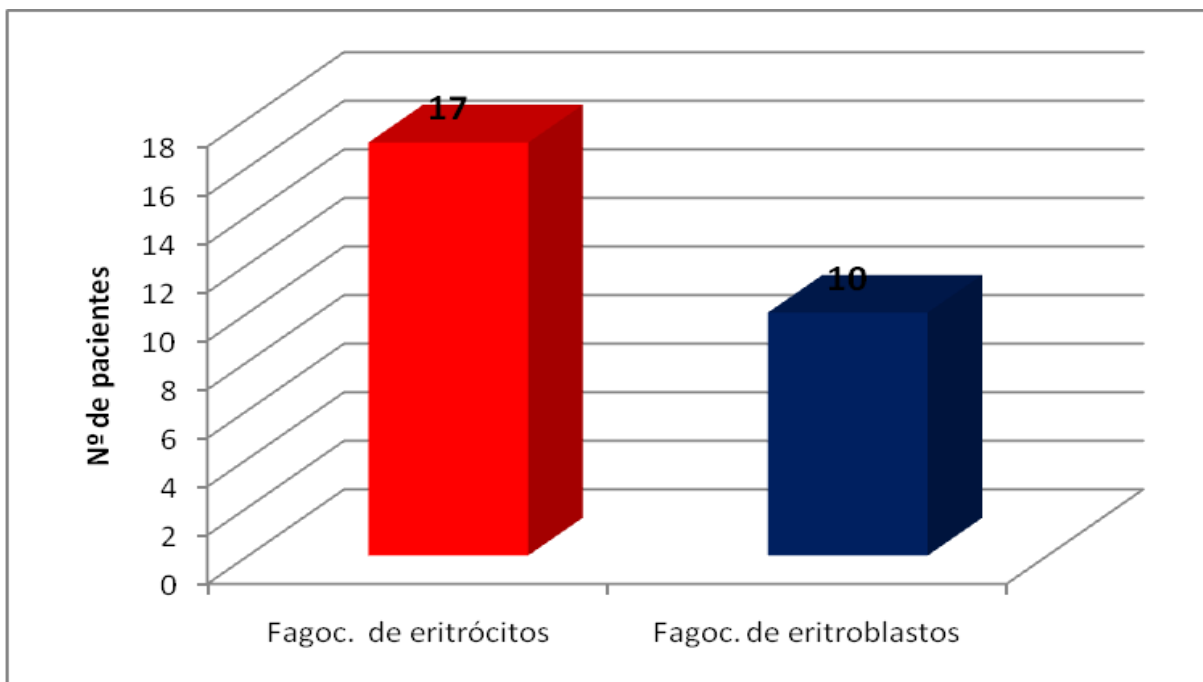
**Gráfico 17 – Distribuição dos achados de celularidade (série eritróide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

A celularidade da série eritróide foi normal em 5 (17,24%) pacientes, aumentada em 22 (75,86%) pacientes e diminuída em 2(6,90%) pacientes.



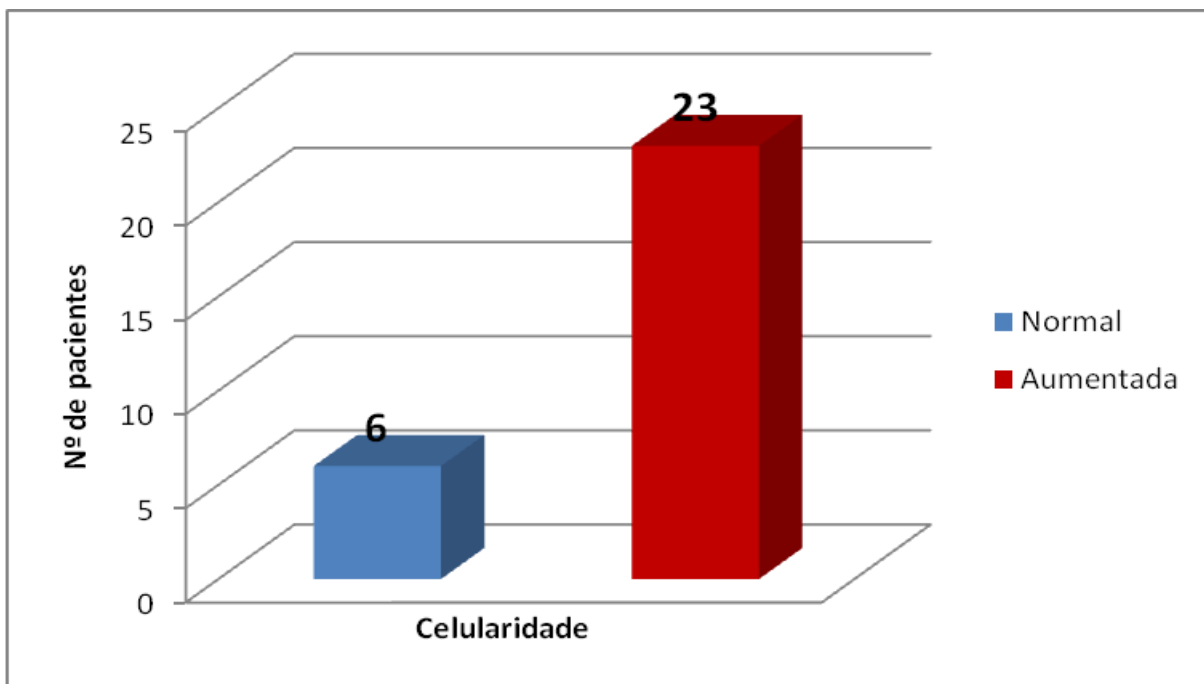
**Gráfico 18 – Distribuição dos achados de maturação celular (série eritróide) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

A maturação celular da série eritróide esteve normal em 9 (31,03%) pacientes e alterada em 20(68,97%) pacientes.



**Gráfico 19 – Distribuição dos processos fagocíticos (série eritróide) encontrados no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

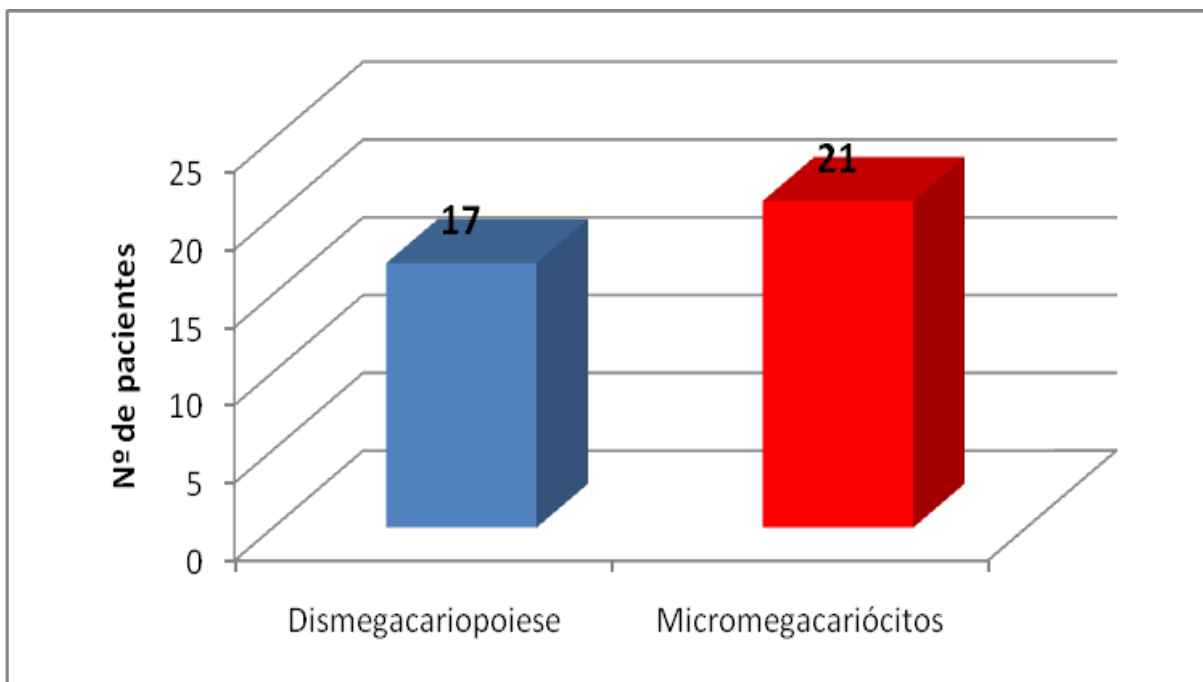
A fagocitose de elementos da série eritróide foi encontrada em 17 (62,96%) pacientes (eritrócitos) e 10 (37,04%) pacientes (eritroblastos).



**Gráfico 20 – Distribuição dos achados de celularidade (série megacariocítica) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

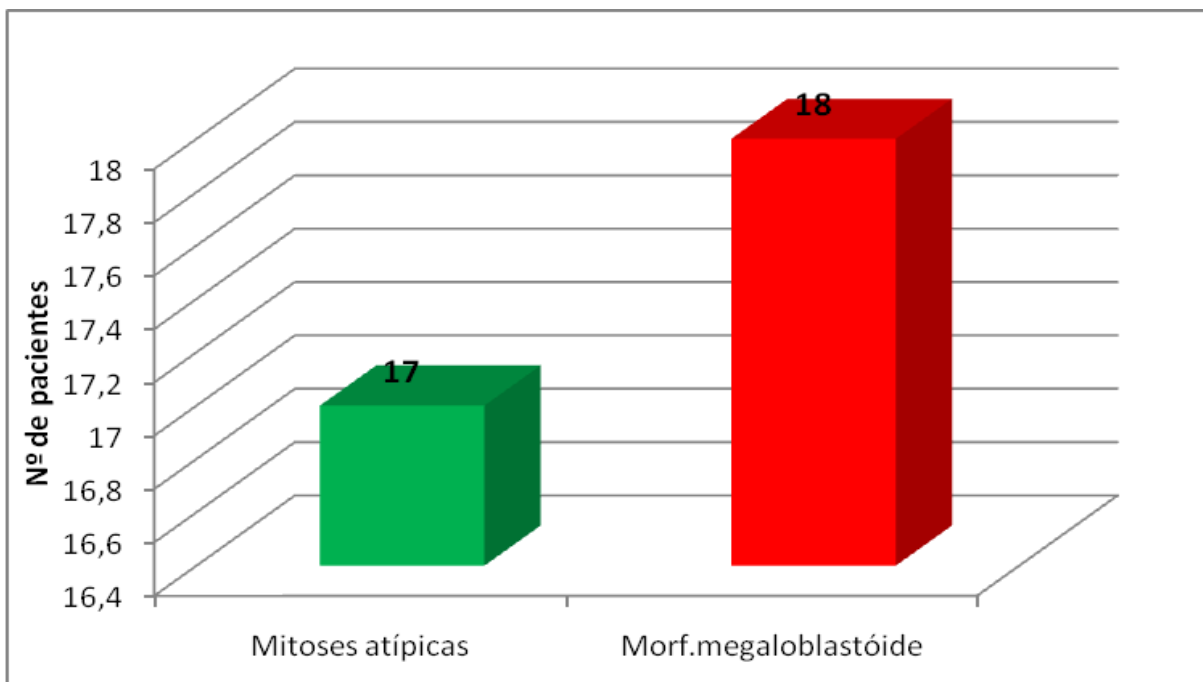
A celularidade da série megacariocítica foi normal em 6 (20,69%) pacientes e aumentada em 23(79,31%) pacientes.





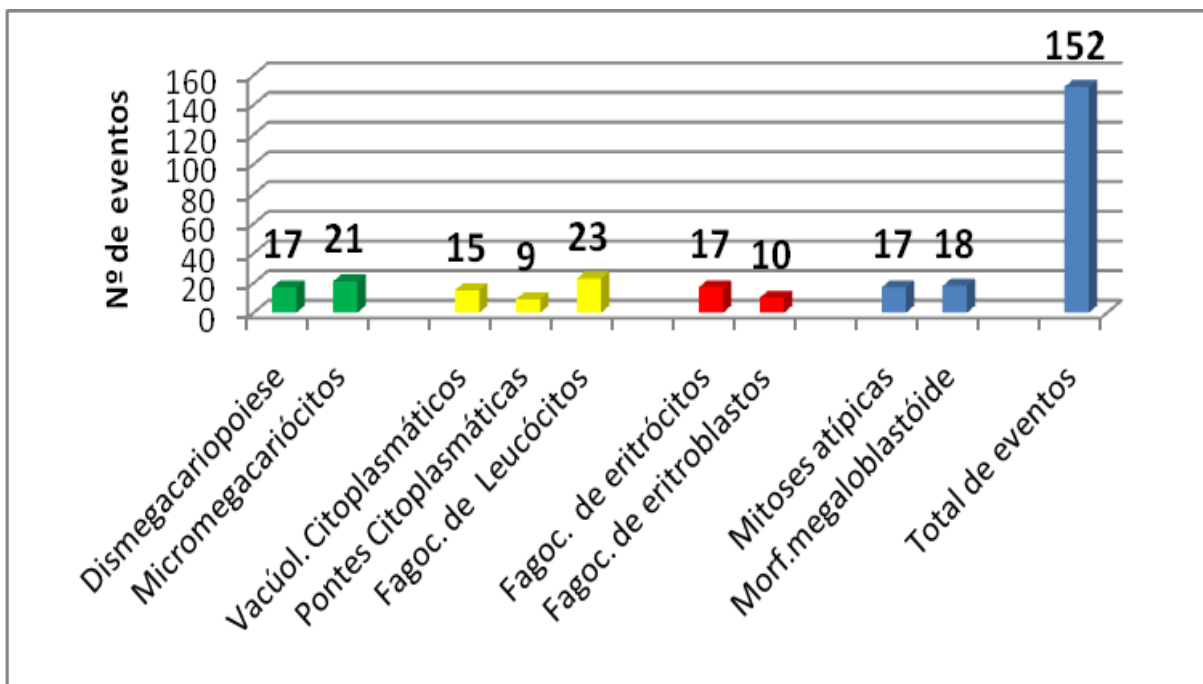
**Gráfico 21 – Distribuição das alterações morfológicas (série megacariocítica) no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum***

As alterações morfológicas encontradas nos megacariócitos dos pacientes estudados foram hipersegmentações (17 pacientes) e micromegacariócitos (21 pacientes).



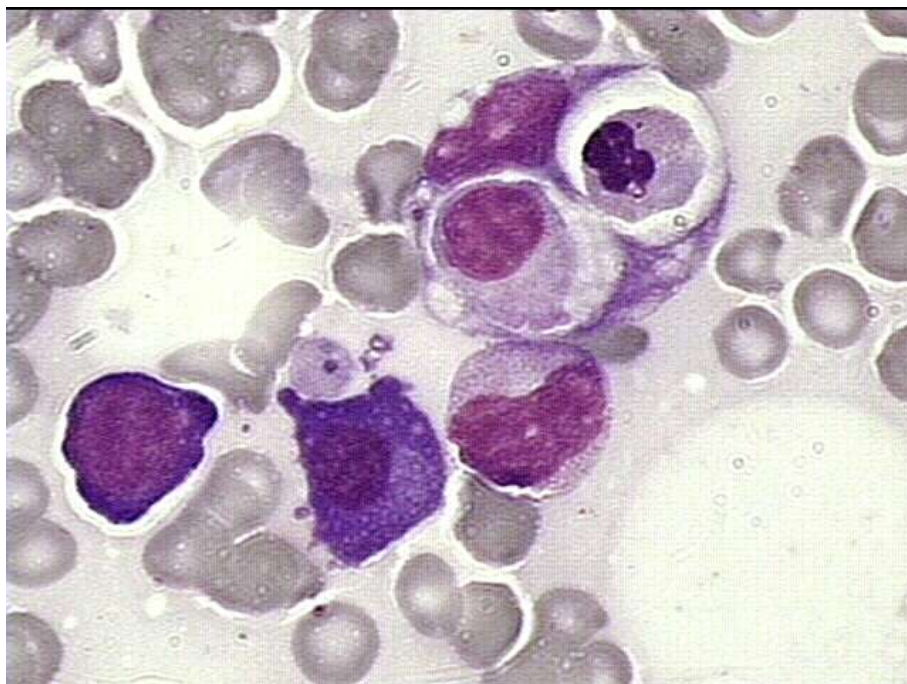
**Gráfico 22 - Distribuição das alterações morfológicas acometendo mais de um tipo de série medular dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

Foram encontradas alterações mistas (mais de uma série medular) em diversos pacientes. Mitoses atípicas foram encontradas em 17 pacientes e alterações megaloblastóide foram descritas em 18 pacientes.

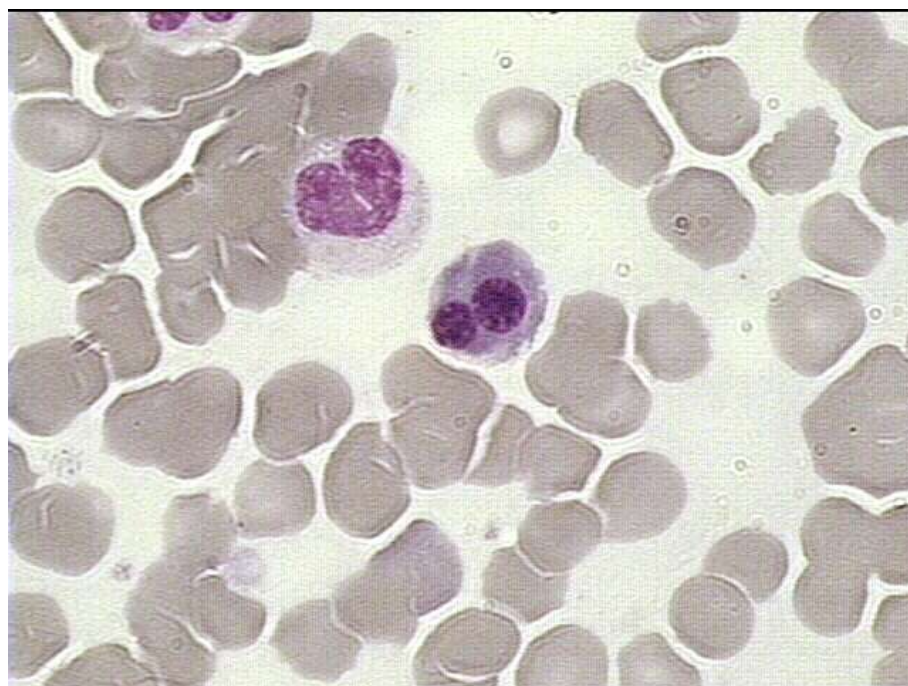


**Gráfico 23 – Distribuição dos eventos dispoiéticos encontrados no mielograma dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

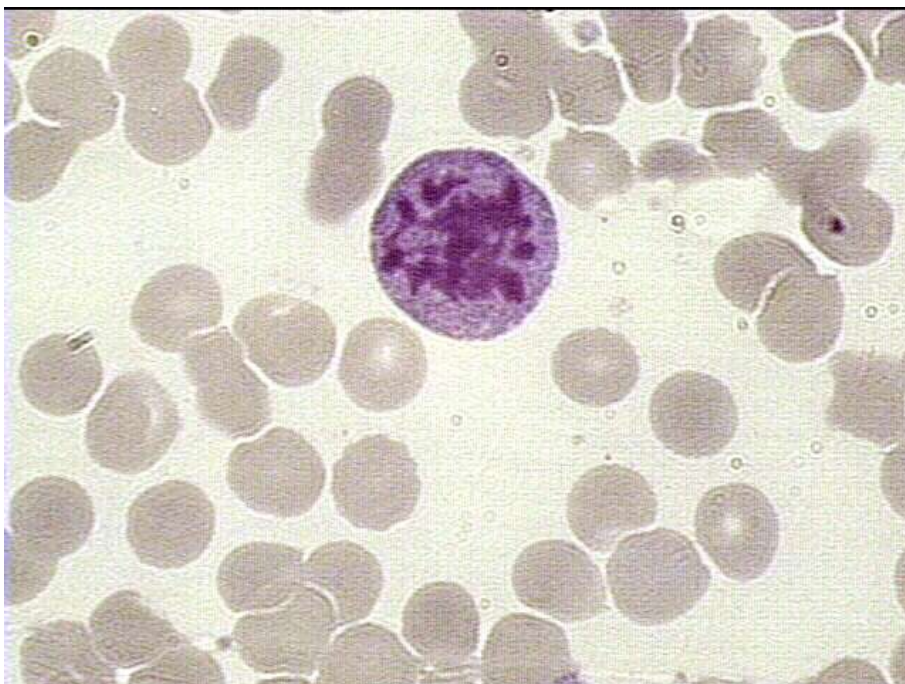
Neste estudo foram identificados 152 tipos de eventos anormais no mielograma relacionados com a infecção por *Plasmódium falciparum*. O evento mais freqüente foi a fagocitose de leucócitos que ocorreu em 23 pacientes.



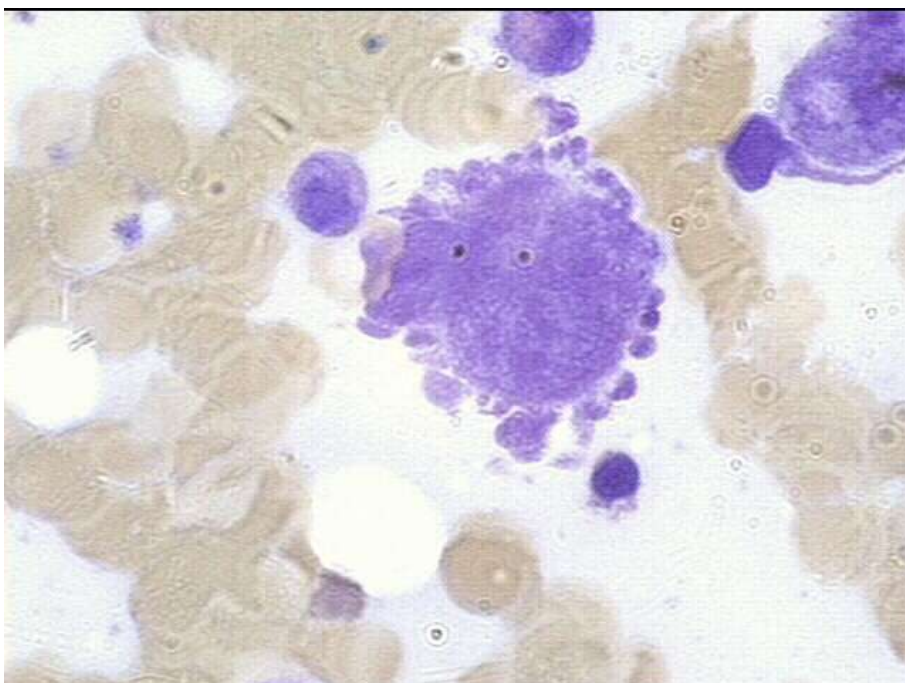
**Figura 1 - Eritrofagocitose no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**



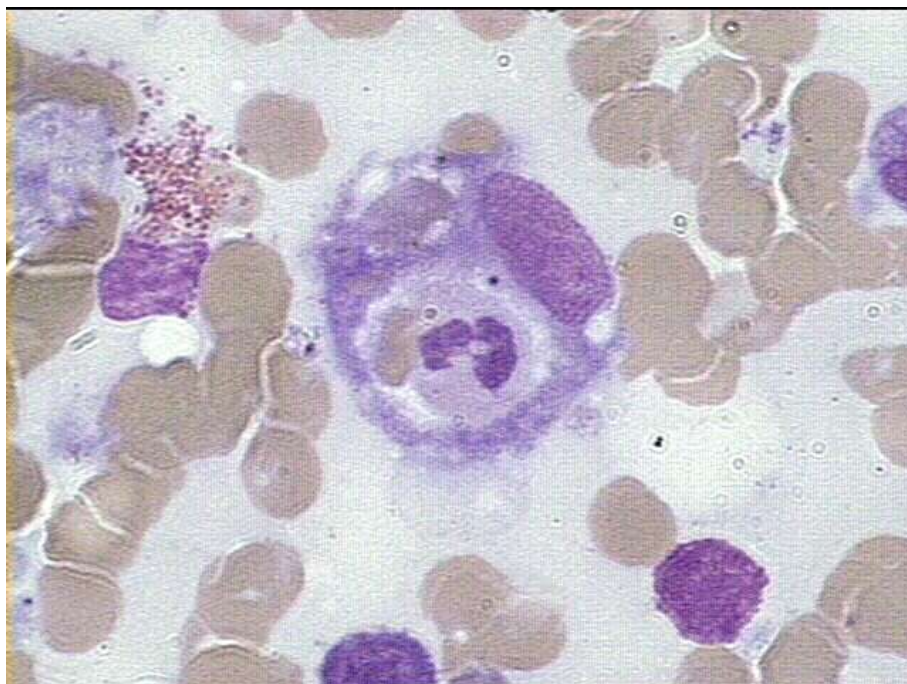
**Figura 2 - Eritroblasto binucleado no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**



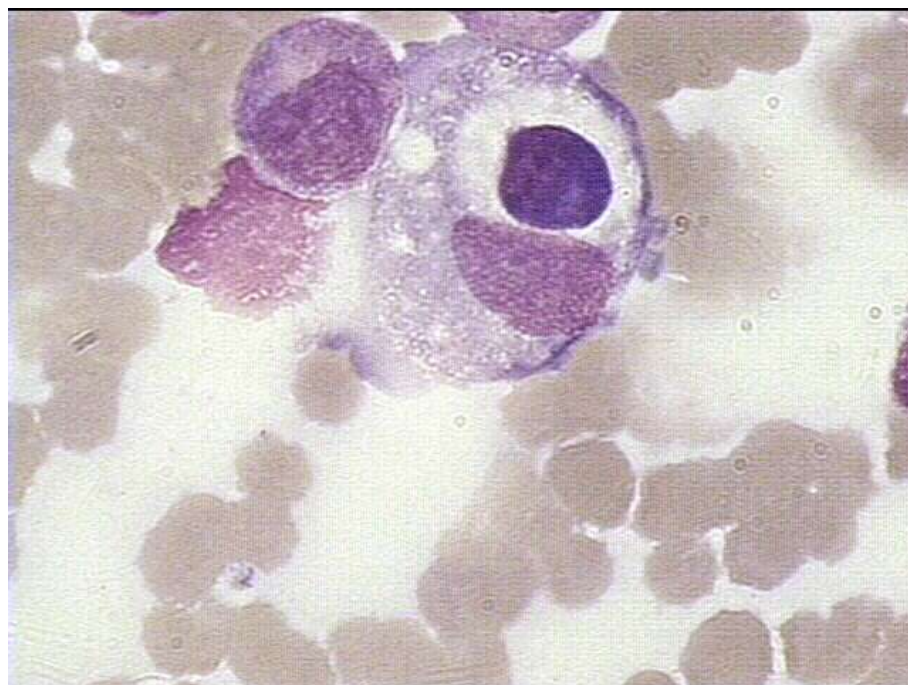
**Figura 3 - Divisão celular (mitose) atípica de célula da série eritróide no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**



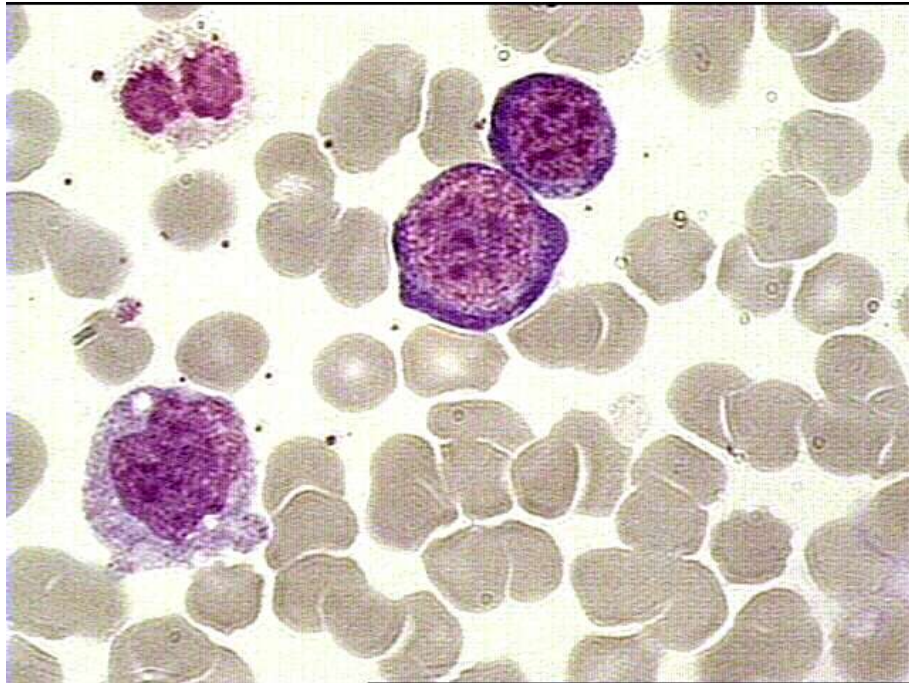
**Figura 4 - Micromegacariócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000 X.**



**Figura 5 – Fagocitose de hemácia e leucócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**

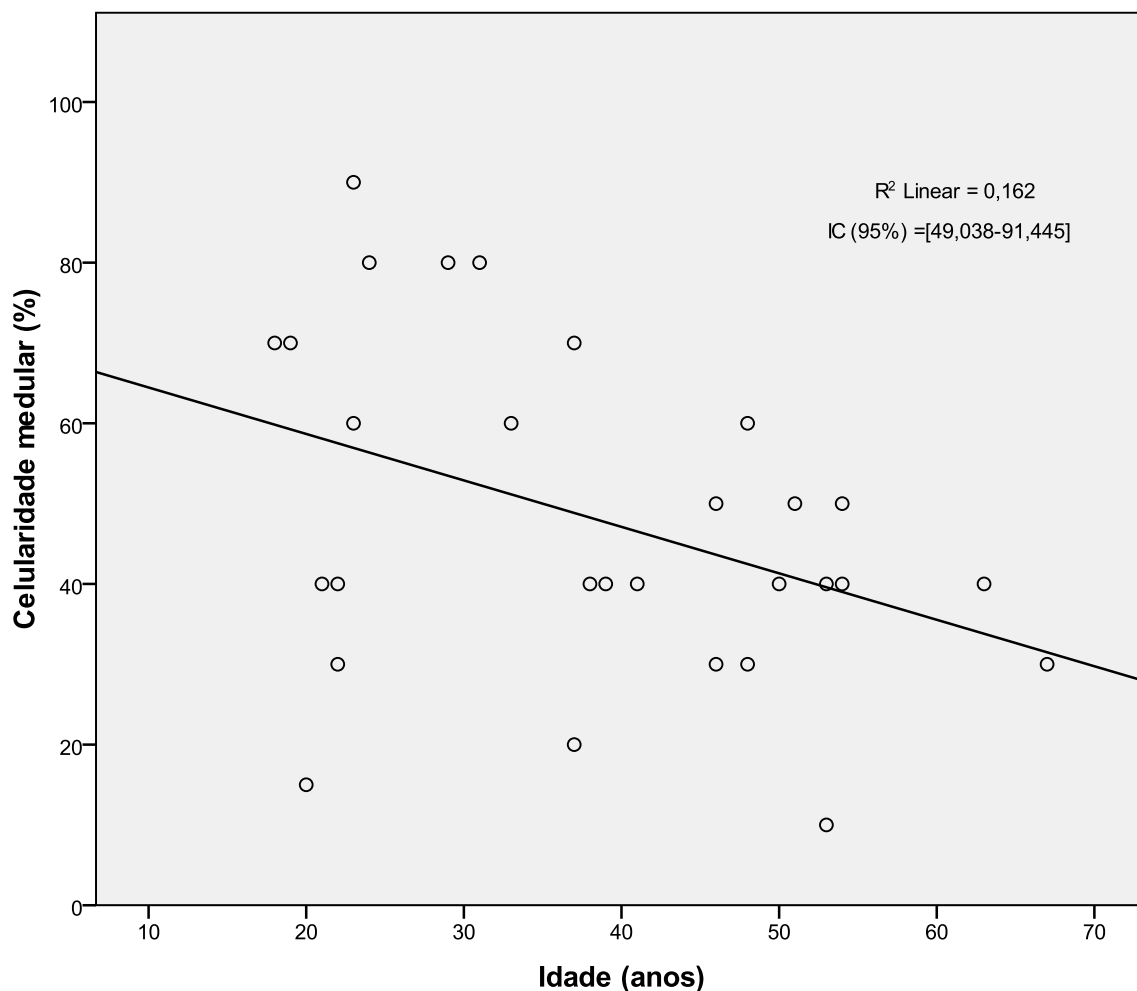


**Figura 6 - Fagocitose de leucócito no aspirado medular (coloração de May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**



**Figura 7- Alterações megaloblásticas no aspirado medular (coloração May-Grunwald-Giemsa) 1000X.**

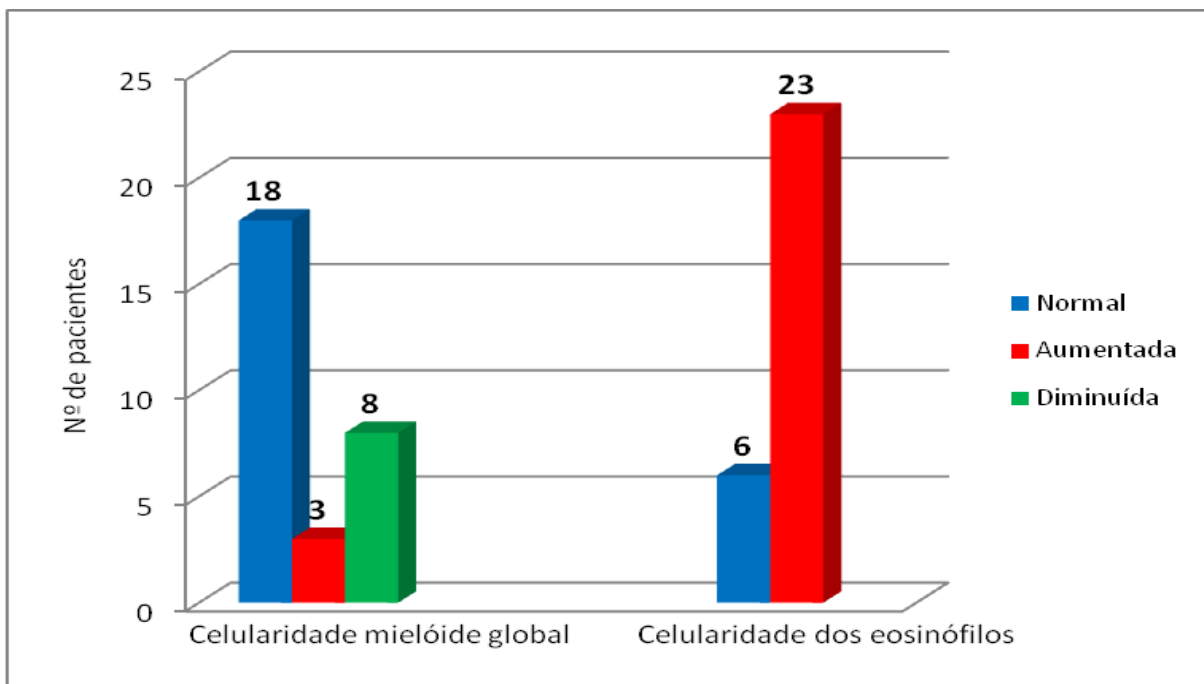
## 5.4 DADOS DA BIÓPSIA DA MEDULA ÓSSEA



**Gráfico 24 - Correlação entre idade e celularidade medular na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

A correlação entre idade dos pacientes e a celularidade observada na biópsia de medula mostrou-se negativa, ou seja, à medida que a idade aumentou a celularidade diminuiu. A idade, nos pacientes estudados, quando submetida à análise de regressão, demonstrou ser responsável em 16 % ( $r^2=0,162$ ) pela queda observada na celularidade medular. O efeito da idade sobre a celularidade foi estatisticamente significativo (p valor 0,031).

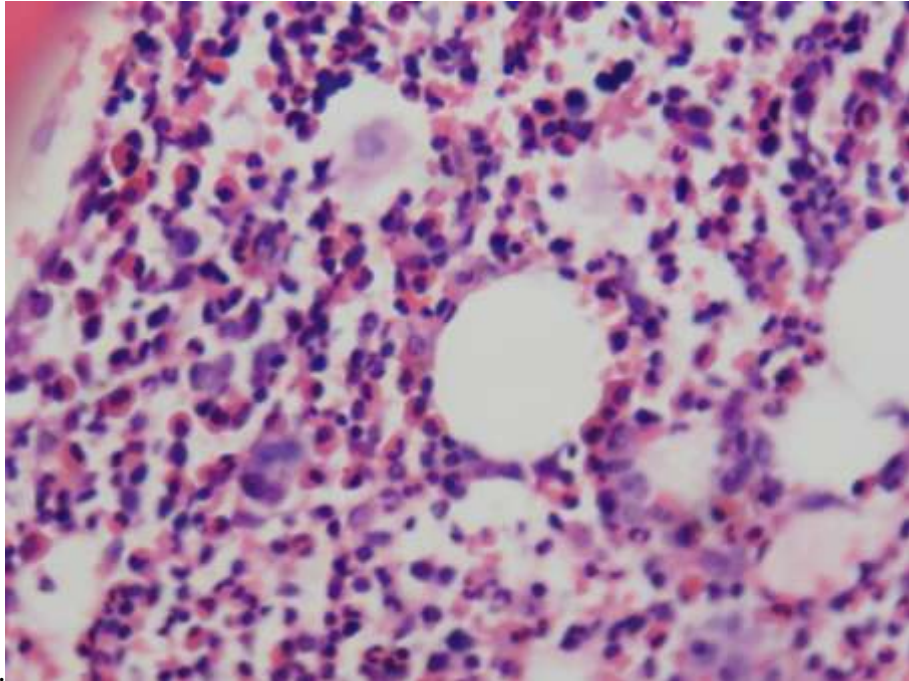




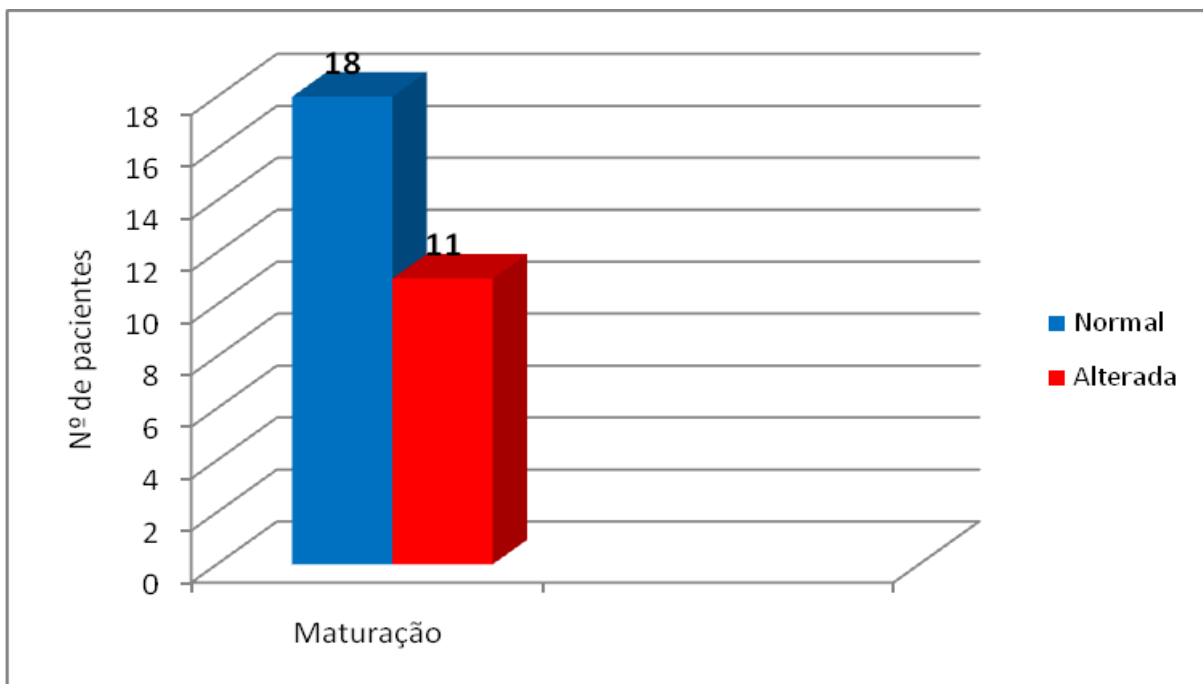
**Gráfico 25 – Distribuição dos achados de celularidade global e de eosinófilos (série mielóide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

Em relação à série mielóide, a celularidade estava normal em 18 (62,07%) pacientes, aumentada em 3 (10,34%) pacientes e em 8(27,59%) ) pacientes estava diminuída.

A presença de eosinofilia (aumento) foi encontrada em 23 (79,31%) pacientes e em 6 (20,69%) pacientes os eosinófilos estavam dentro da normalidade. (Fig. 8)

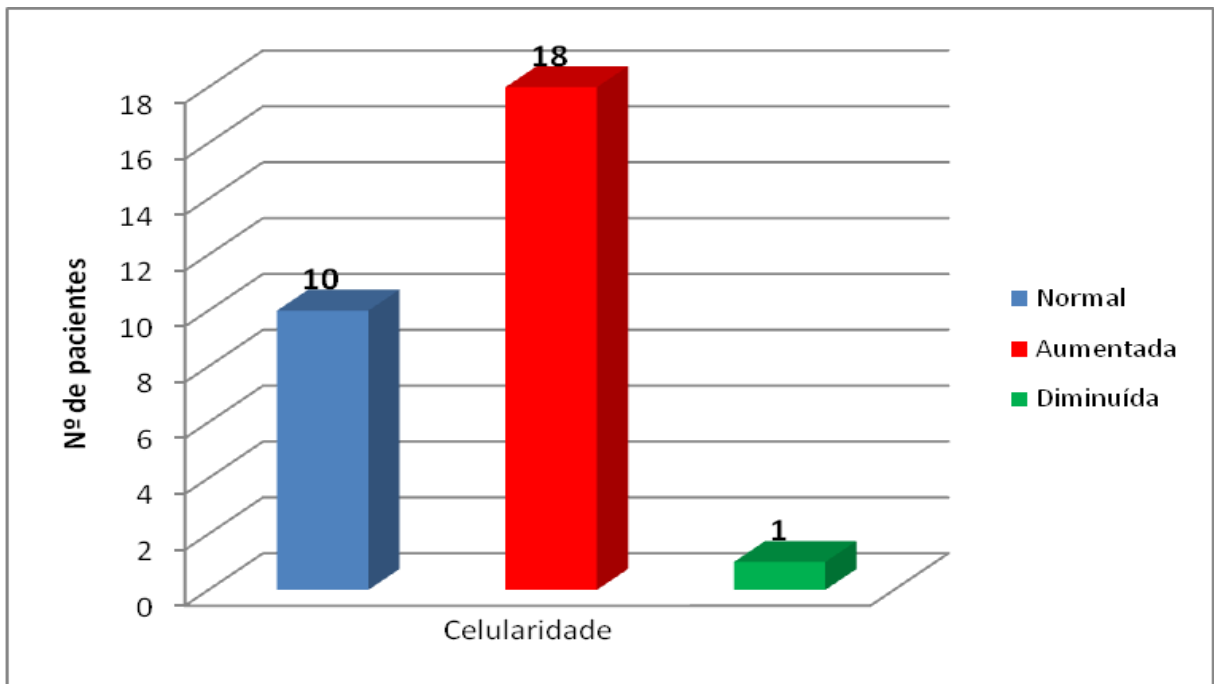


**Figura 8 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo aumento dos eosinófilos, com localização preferencial no interstício. H&E, 400X.**



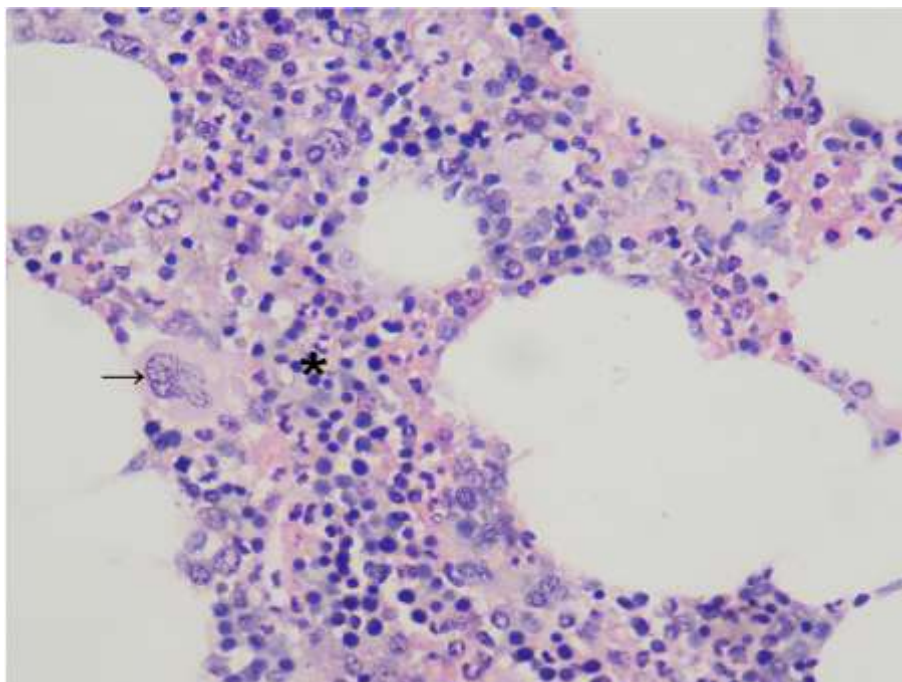
**Gráfico 26 – Distribuição dos achados de maturação celular (série mielóide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

A maturação celular esteve normal em 18 (62,07%) pacientes e alterada em 11(37,93%) pacientes.

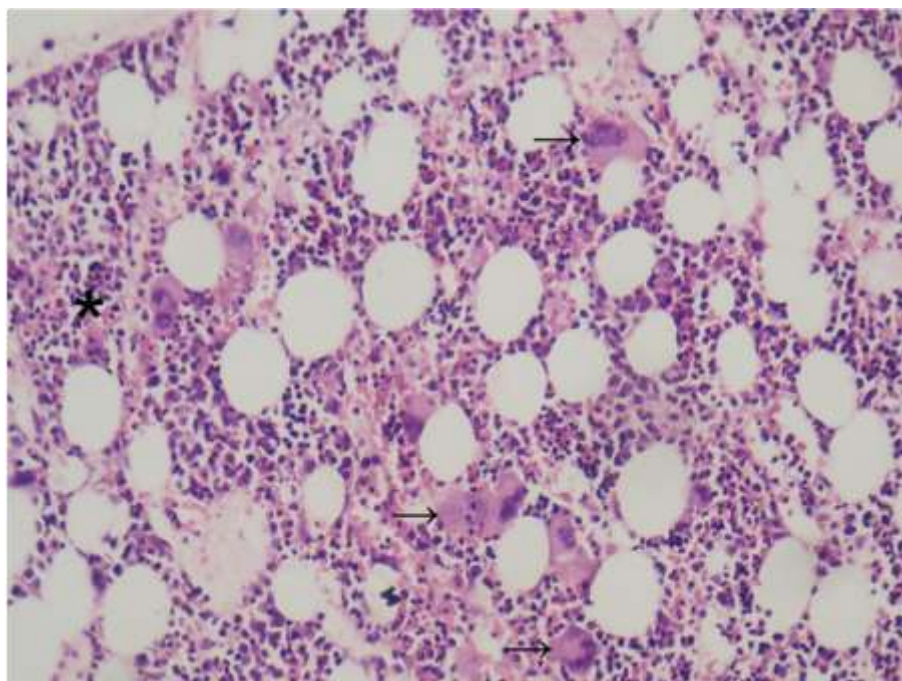


**Gráfico 27 – Distribuição dos achados de celularidade (série eritróide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

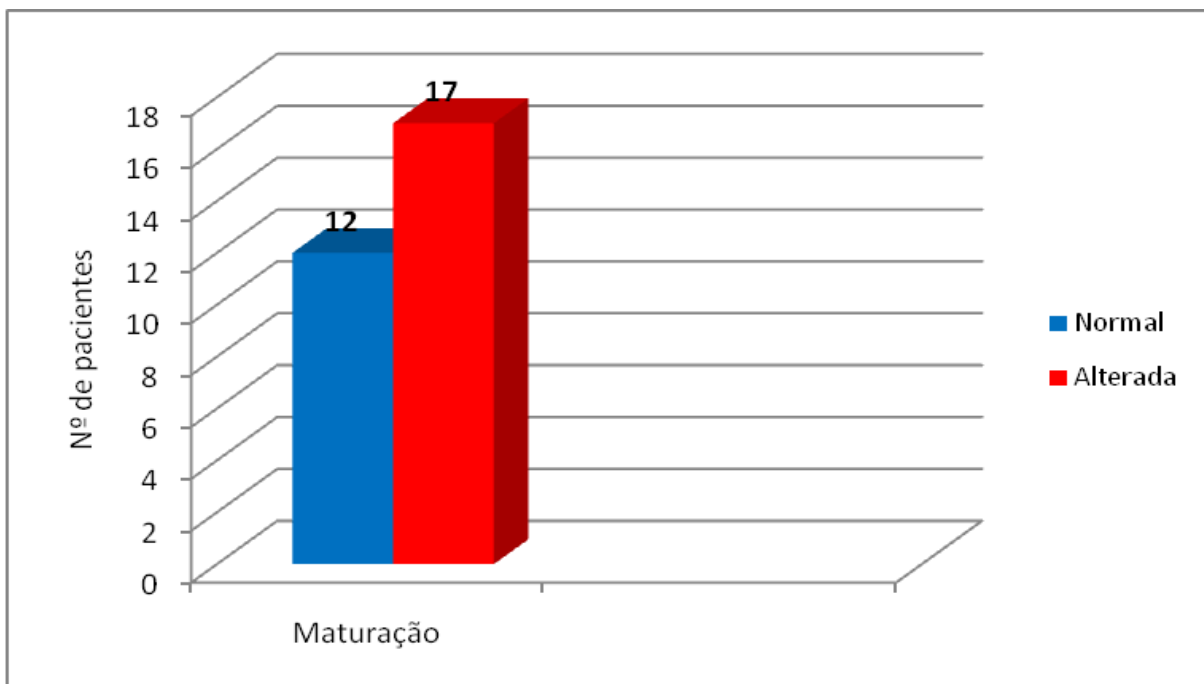
A celularidade da série eritróide foi normal em 10 (34,48%) pacientes, aumentada em 18(62,07%) pacientes (Fig. 9 e 10) e diminuída em 1(3,45%) paciente.



**Figura 9 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo hiperplasia eritróide (\*) e megacariócito hiperlobado (seta). H&E,400 X**

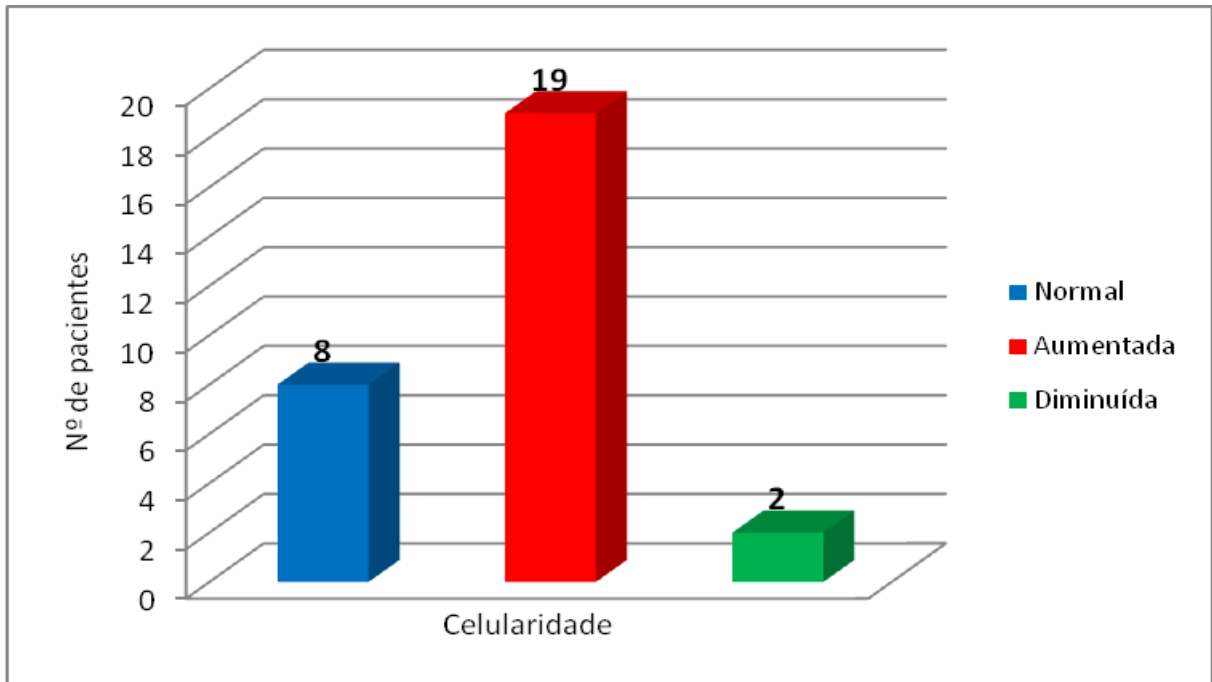


**Figura 10 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo no espaço intertrabecular, hiperplasia eritróide (\*) e megacariocítica .(seta) H&E.200X.**



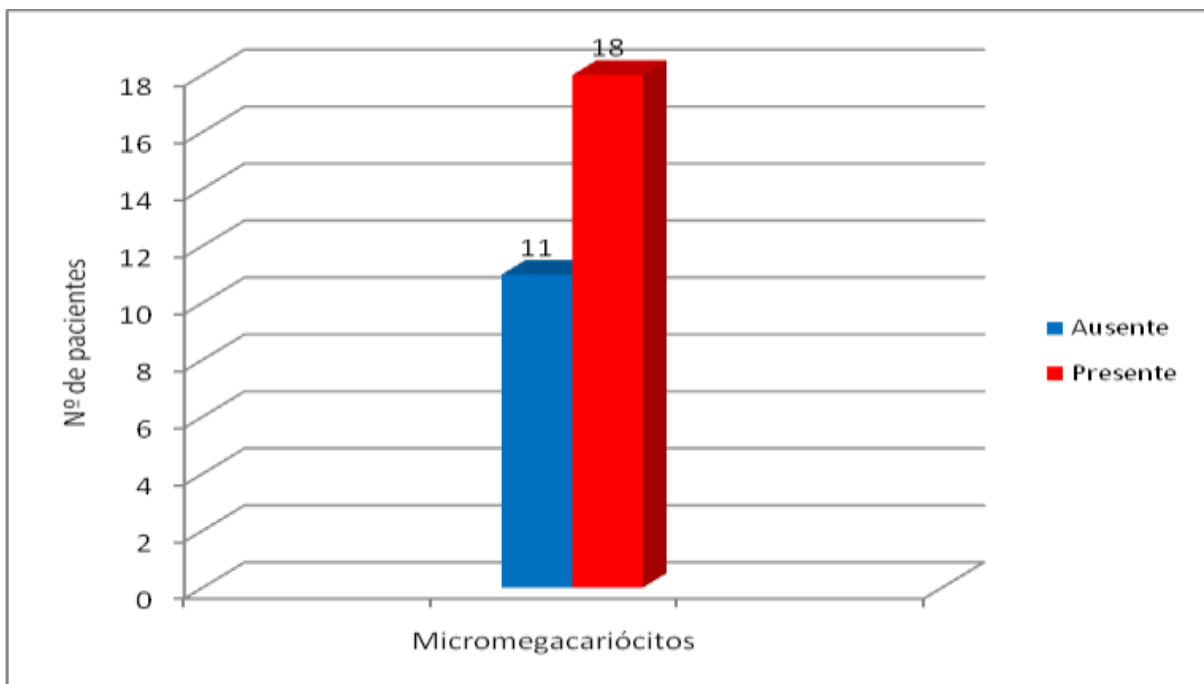
**Gráfico 28 – Distribuição dos achados de maturação celular (série eritróide) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

A maturação celular esteve normal em 12 (41,38%) pacientes e alterada em 17(58,62%) pacientes.



**Gráfico 29 – Distribuição dos achados de celularidade (série megacariocítica) na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

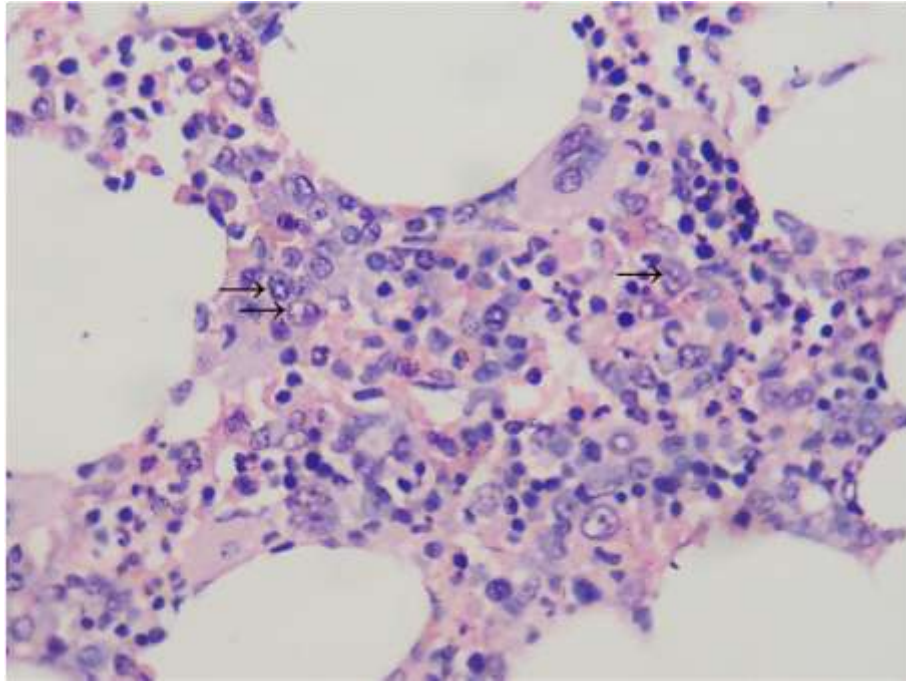
A celularidade da série megacariocítica foi normal em 8 (27,59%) pacientes, aumentada em 19(65,52%) pacientes e diminuída em 2(6,89%) pacientes.



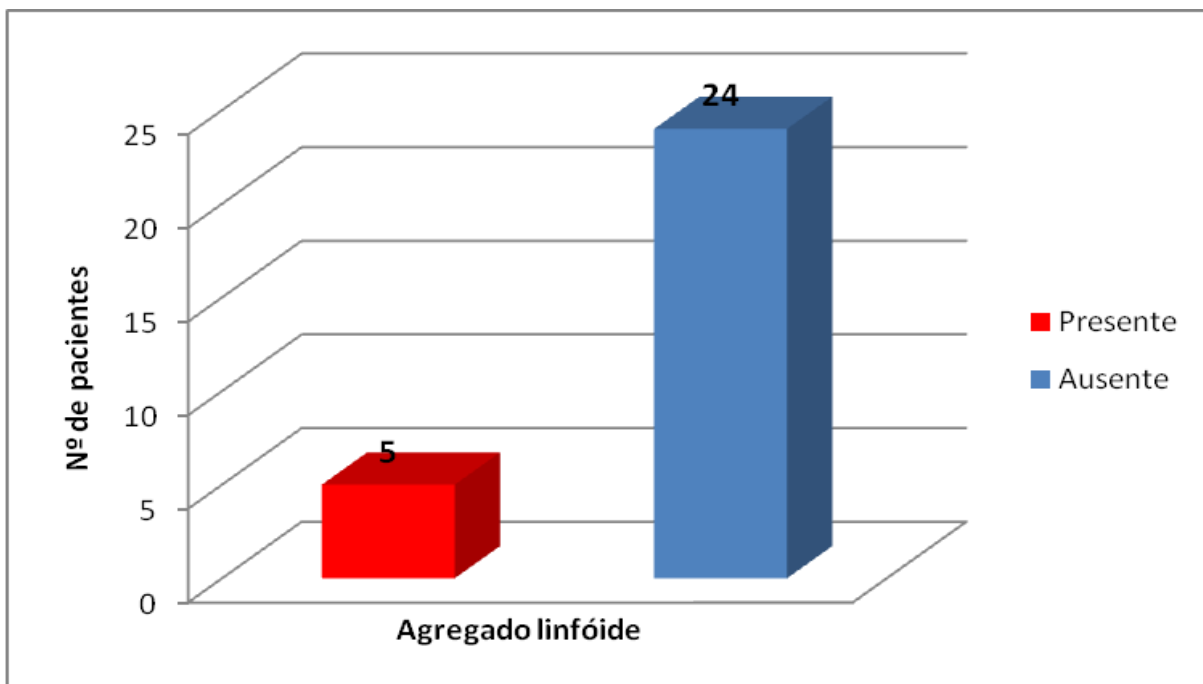
**Gráfico 30 – Distribuição da presença de micromegacariócitos na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

Os micromegacariócitos estavam presentes em 18 (62,07%) pacientes (Fig. 11) e a sua ausência foi demonstrada em 11 (37,93%) pacientes.



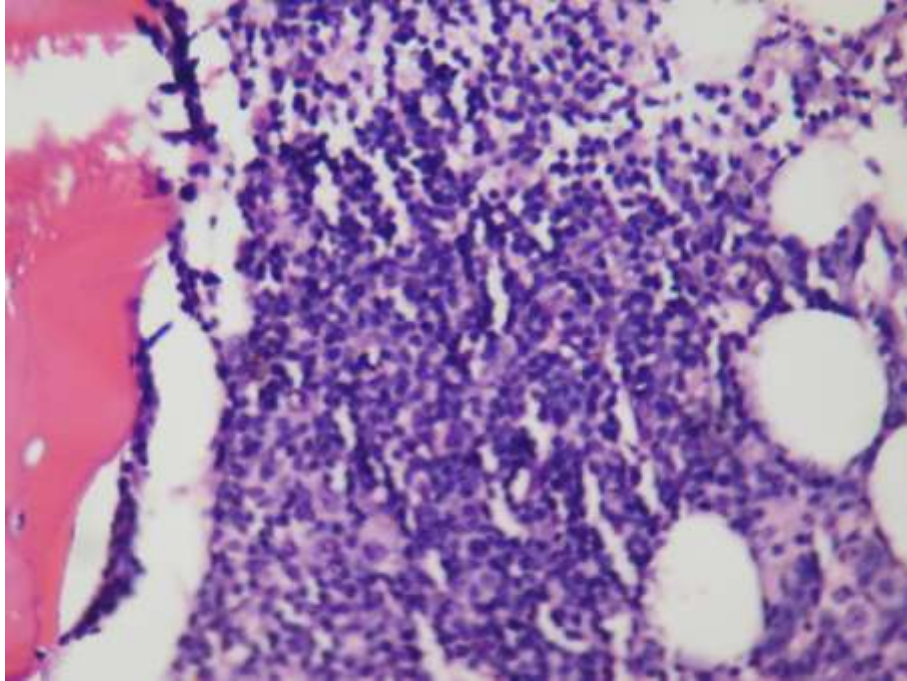


**Figura 11 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo hiperplasia de micromegacariócitos. H&E, 400X.**

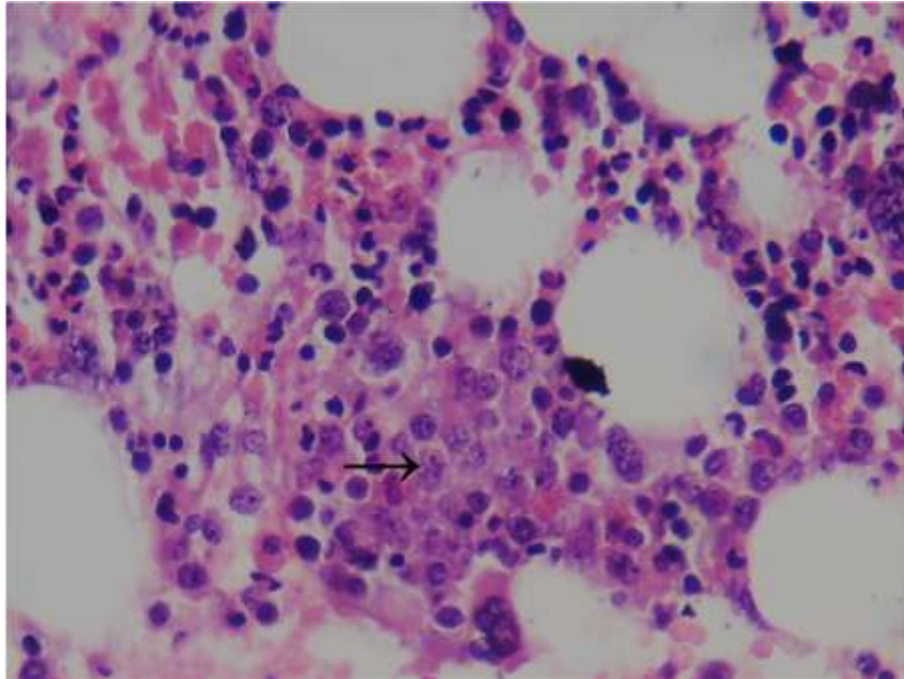


**Gráfico 31 – Distribuição de agregado linfóide na biópsia de medula óssea dos pacientes com malária aguda por *Plasmodium falciparum*.**

A presença de agregado linfóide foi encontrada em 5 (17,24%) pacientes e ausente em 24 (82,76%) pacientes (Fig. 12).



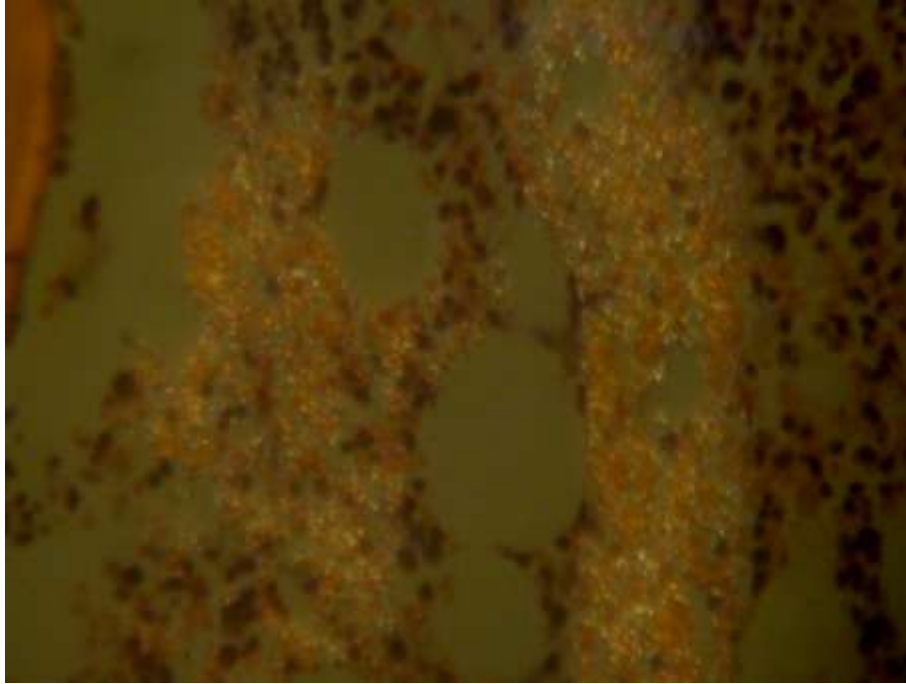
**Figura 12 - Grande agregado linfóide com margens infiltrantes presente na biópsia de medula óssea, localização paratrabecular H&E 400X.**



**Figura 13 - Corte histológico de biópsia de medula óssea exibindo megaloblastose (seta).  
H&E, 400X.**

#### **5.4.1 Hemozoína na medula óssea**

Foi realizada a pesquisa de depósito de pigmento de hemozoína através da microscopia com filtro de polarização, sendo identificado em todas as biópsias examinadas, variando de intensidade, às vezes ocupando uma área correspondente a 50% do campo examinado (Fig. 14). Na maioria dos espécimes correspondeu a menos de 5%.



**Figura 14 - Pigmento malárico em biópsia de medula óssea. Demonstração de hemozoína através da microscopia ótica com filtro de polarização. H&E 400X.**

## **5.5 COMPARAÇÕES ENTRE OS ACHADOS DO MIELOGRAMA E DA HISTOPATOLOGIA DA MEDULA ÓSSEA**

Embora o material a partir do qual são feitas as observações seja o mesmo, ou seja, a medula óssea, as técnicas empregadas, citopatologia e histopatologia, apresentam características próprias que podem proporcionar interpretações diferentes sobre os mesmos aspectos analisados.

Quando se compara o aspirado em relação à biópsia da medula óssea verifica-se que no aspirado medular o arranjo da arquitetura celular na medula e a relação entre uma célula pode ser destruída no processo de aspiração, além do fato de se poder estar aspirando uma área não representativa da doença pesquisada, principalmente nos casos de neoplasias (BACAL et al., 2004).

O aspirado parece ser superior à biópsia da medula óssea para o estudo das etapas de maturação e dos detalhes citológicos em virtude da boa qualidade de preservação celular, oferecendo um excelente retrato da produção hematopoiética (BACAL et al., 2004).

A fim de verificar o grau de concordância/discordância entre os dois métodos (mielograma e biópsia da medula óssea) foi testada a associação entre 7 itens examinados nos dois exames. Os itens foram: Celularidade dos granulócitos; Maturação dos granulócitos; Celularidade dos eosinófilos; Celularidade da série eritróide; Maturação da série eritróide; Celularidade dos Megacariócitos, Presença de micromegacariócitos;

A análise estatística realizada pelo teste de Fisher exato e pelo teste de McNemar, utilizando um alfa de 5 % demonstrou que os itens Celularidade de granulócitos; Celularidade dos eosinófilos; Celularidade dos Megacariócitos e Presença de Micromegacariócitos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes.

Os itens Maturação dos granulócitos (Fisher exato p valor 0,027), Celularidade da série eritróide (McNemar p valor 0,0250); Maturação da série vermelha (Fisher exato p valor 0,046) apresentaram discordâncias estatisticamente significantes entre os dois tipos de exames.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 SANGUE PERIFÉRICO

No presente estudo os pacientes apresentaram malária aguda e eram primo-infectados. Neste estudo os pacientes não apresentaram anemia grave e a maioria não apresentava anemia (63,16%).

Durante muito tempo considerou-se que a anemia da malária decorria da esquizogonia parasitária ou de mecanismos auto-imunes. Atualmente cada vez mais se valoriza as atividades das citocinas na gênese da anemia por intoxicação medular, situação a que Zuckerman já antevia quando chamava a atenção para a presença de anemia na ausência de um teste de Coombs positivo (ZUCKERMAN, 1960a; ZUCKERMAN ; SPIRA, 1961a) .

Neste estudo a parasitemia periférica foi baixa (considerando que 52% dos pacientes apresentaram-se com uma cruz ou menos de parasitos no sangue periférico), o que desfavoreceu à anemia por esquizogonia. A contagem de reticulócitos aumentada e a presença do teste de Coombs positivo em 16 pacientes, contudo, apontam para a existência de um processo hemolítico associado à infecção malarígena (FACER; BRAY ; BROWN, 1979c). Cabe salientar que estes estudos existentes na literatura envolveram na maioria das vezes crianças e formas crônicas de malária.

Na malária por *Plasmodium falciparum* a contagem de leucócitos geralmente é normal, podendo existir leucopenia em adultos com infecção por *Plasmodium vivax e falciparum*. Em uma pequena proporção de crianças e adultos com malária severa complicada, pode ocorrer leucocitose. Leucopenia pode ser um achado comum em adultos não imunes. (ABDALLA, 2004). Neste estudo quatro pacientes apresentavam leucopenia, e 25 pacientes tinham os leucócitos dentro dos limites da normalidade.



Os estudos das sub-populações de leucócitos em pacientes com malária mostram que as variações na contagem global dos leucócitos na malária são geralmente refletidas pela mudança na contagem dos neutrófilos. A neutropenia pode ser encontrada nestes pacientes, sendo a sua ocorrência devida à marginação neutrofílica (DALE ; WOLFF, 1973). Nos pacientes deste estudo foi encontrada neutropenia em cinco pacientes, sendo a contagem mais baixa a de 783 neutrófilos/mm<sup>3</sup>.

Em relação aos linfócitos, Abdalla chama a atenção para o fato que a literatura anterior aos anos 70 relatava que os linfócitos encontravam-se em número normal na malária ao passo que mais recentemente tem sido relatado frequente linfopenia. Esta situação parece ser mais frequente em pacientes adultos não imunes à doença (HO et al., 1986; HO et al., 1990; MERINO; LAYRISSE; GODOY ; VOLCAN, 1986). Os pacientes deste estudo, como referido anteriormente, eram primo infectados, mas ainda assim apenas dois deles apresentaram linfopenia.

Diferente do relatado na literatura (OSUNKOYA et al., 1972), não se verificou a transformação blástica de linfócitos, ressalvando contudo que não se utilizou o mesmo método de coloração utilizado do estudo citado..

Monocitose tem sido descrita como presente em 20% dos pacientes portadores de malária aguda por *Plasmodium falciparum* ou *Plasmodium vivax* (REILLY ; BARRETT, 1971), fato este não observado neste estudo, onde os pacientes apresentaram número normal de monócitos.

Em estudos publicados no passado, em relação aos eosinófilos, há relato de eosinofilia (aumento dos eosinófilos) presente em 6% dos pacientes antes do tratamento e em 20% após o tratamento (REILLY et al., 1971). No presente estudo a eosinofilia estava presente em

apenas 1 paciente , sendo que os demais apresentavam eosinófilos dentro do padrão de normalidade.

A contagem de plaquetas classicamente adotada como normal é de 150.000 a 450.000/mm<sup>3</sup>, embora em crianças com malária em Moçambique tenha sido encontrada uma variação de normalidade de 133.000 a 750.000. Naquele estudo, tanto quanto neste, o nível inferior adotado foi de 150.000/mm<sup>3</sup>. Estudo realizado em Manaus com crianças portadoras de malária por *Plasmodium falciparum* demonstrou que a plaquetopenia esteve presente em 51,8% (NORONHA, 1998).

Em estudo mais recente realizado em Manaus, a plaquetopenia foi um evento encontrado em 70,8% dos casos estudados e considerada grave (< 50.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>) em 8,9% dos pacientes (LACERDA, 2007a). Estudo anterior realizado na mesma cidade havia detectado 5,8% de plaquetopenia grave (SILVA; SANTANA FILHO; ARCANJO; ALECRIM; ALECRIM, 2000).

A contagem de plaquetas nos pacientes deste estudo, onde 48,27% deles apresentaram contagem de plaqueta abaixo do limiar de normalidade (150.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>), mostrou uma redução no número, à semelhança dos estudos acima referidos

Adicionalmente foi verificada também uma correlação com a parasitemia periférica, com a qual se relacionou de modo inverso, ou seja, quanto maior a parasitemia periférica, menor foi a contagem de plaquetas no sangue periférico dos pacientes.

A esplenomegalia, imputada comumente como a causa mais frequente da destruição plaquetária, foi encontrada em apenas 27,58% dos pacientes estudados, em contraste com os 48,27% de pacientes com plaquetopenia, sugerindo que outros fenômenos além da esplenomegalia estivessem envolvidos na gênese da plaquetopenia.

## 6.2 CITOLOGIA MEDULAR

A maioria dos estudos envolvendo o comprometimento da medula óssea em pacientes portadores de malária por *Plasmodium falciparum* foram realizados em crianças, faixa etária não analisada neste estudo. Iremos utilizar estas informações sempre que não houver estudos em adultos. Esta ressalva é importante antes de iniciarmos os comentários a seguir encadeados.

A celularidade da série mielóide em pacientes com malária aguda está reduzida (ABDALLA, 2004; PHILLIPS et al., 1986a; SRICHAIKUL; PANIKBUTR ; JEUMTRAKUL, 1967a), o que não se observou no presente estudo onde 86,2% dos pacientes apresentavam medula normocelular e 13,8% apresentaram hiper celularidade no mielograma.

A eosinofilia paradoxal (eosinofilia na medula óssea e eosinófilos normais no sangue periférico) encontrada em pacientes deste estudo é um achado já descrito por Abdalla em crianças com malária aguda, bem como em adultos com malária crônica (WICKRAMASINGHE; PHILLIPS; LOOAREESUWAN; WARRELL ; HUGHES, 1987; WICKRAMASINGHE et al., 1989a).

As alterações morfológicas são variadas e foram encontradas no presente estudo. Entre estas encontramos alterações megaloblásticas e megaloblastóides, vacuolizações citoplasmáticas, mitoses atípicas e neutrófilos agranulares. Estas alterações também foram descritas em estudos envolvendo crianças gambianas e adultos europeus não imunes (WICKRAMASINGHE et al., 1987; REILLY et al., 1971; RICHARDS et al., 1998).

O fenômeno da fagocitose de leucócitos foi observado principalmente em pacientes com alta parasitemia e, em raros casos, com baixa parasitemia (ABDALLA, 1990); diferente do que se observou no presente estudo, onde a baixa parasitemia foi presente em mais de 50% dos pacientes. Fagocitose esteve em 79,31% dos pacientes.

Medula óssea hipercelular com moderado grau de hiperplasia eritróide, principalmente normoblástica em pacientes severamente anêmicos foi descrito em pacientes portadores de malária por *Plasmodium falciparum* (DAS; NANDA; RATH; SATAPATHY ; DAS, 1999b). Este achado também foi encontrado em 75,86% dos pacientes estudados, embora não tenha ocorrido nestes pacientes a anemia severa.

A diseritropoiese é um fenômeno freqüente na infecção por malária, embora não aconteça em algumas populações, situação atribuída ao polimorfismo do *Plasmodium falciparum* induzindo a produção de diferentes níveis de fator de necrose tumoral (ALLAN et al., 1995; ALLAN; ROWE ; KWIATKOWSKI, 1993). A diseritropoiese tem sido descrita na malária ocasionada tanto pelo *Plasmodium falciparum* quanto pelo *Plasmodium vivax*, sendo mais frequente na malária crônica (DORMER; DIETRICH; KERN ; HORSTMANN, 1983). Estas mudanças são inespecíficas e podem ser encontradas em outras condições, mas o que chama a atenção é a severidade com que se manifesta em alguns casos de malária grave.

Neste estudo, embora em extensão variável, equivalentes morfológicas de diseritropoiese estavam presentes. Elas incluíam fragmentos nucleares, núcleos irregulares, cariorex, divisão mitótica nuclear incompleta, presença de eritroblastos bi e tri-nucleados e finalmente eritroblastofagocitose.

A eritrofagocitose foi um achado prevalente neste estudo (93,10%), mesmo frente ao baixo nível de parasitemia, fato que não encontra correspondência na literatura, onde a fagocitose é tida como correlacionada com a gravidade da infecção malarígena (ABDALLA, 1988c). Em malária crônica na Tailândia, ocorreu severa atividade fagocítica (WICKRAMASINGHE et al., 1987).

Achados envolvendo os megacariócitos no exame do aspirado medular são pobremente descritos da literatura. Estudo em medula óssea de pacientes com malária falciparum num período de 10 anos registrou 43 pacientes apresentando série megacariocítica normal, apenas

um apresentava diminuição da série megacariocítica e um hiperplasia megacariocítica (ALMEIDA NETTO, 1970). Em uma série de 19 pacientes com malária vivax ou falciparum foi encontrado normalidade na série megacariocítica em todos os pacientes, sendo que em um paciente foi descrito hipersegmentação megacariocítica (NAVEIRA ; LOPES, 1971b). Estudo realizado em Singapura com oito pacientes, detectou normalidade nos megacariócitos em sete pacientes e apenas um apresentava hiperplasia com presença de pró-megacariócitos.

Neste estudo o padrão foi hiperplasia megacariocítica (79,31%), sendo normal a celularidade em 20,69%. Foi encontrado também micromegacariócitos, micromegacarioblastos, hipersegmentação lobular e alguns megacariócitos não apresentavam fragmentação do citoplasma evidenciando possivelmente uma dismegacariopoiese, como sugerido por Ghosh (GHOSH ; SHETTY, 2008) e também descrito por Knuttgen (KNUTTGEN, 1987) e por Abdalla que considerou resultante do desenvolvimento acelerado dos megacariócitos (ABDALLA, 1990).

### **6.3. HISTOPATOLOGIA MEDULAR**

A revisão bibliográfica realizada neste estudo identificou apenas um trabalho em que a biópsia da medula óssea com estudo histopatológico, foi realizada em pacientes com malária.

Em concordância com o observado na literatura (BACAL et al., 2004), no presente estudo ocorreram divergências entre os achados do aspirado medular e os achados da biópsia da medula óssea na observação da maturação celular (melhor capacidade do aspirado medular em observar a maturação celular) e na quantificação da série vermelha (melhor capacidade da biópsia medular em observar a disposição espacial do conteúdo celular da medula óssea).

#### **6.3.1 Avaliação quantitativa do tecido hematopoiético**

Em relação à celularidade global da medula óssea, o tecido hematopoiético costuma ser expresso em percentual relativo ao tecido adiposo existente dentro da cavidade medular (ALVES, 2009) Estudos realizados distinguem três fases de involução: 1) até os 35 anos o tecido hematopoiético ocupa mais de 50% dos espaços medulares. 2) De 35 a 60 anos é em torno de 50% e 3) Após os 65 anos é inferior a 40% (HARTSOCK; SMITH ; PETTY, 1965). Neste estudo observou-se igualmente uma involução com o avançar da idade dos pacientes, apesar de terem sido identificadas hiper celularidades setoriais.

### **6.3.2 - Agregado linfóide**

Cabe destacar neste estudo o encontro de agregado linfóide na biópsia da medula de cinco pacientes. A medula óssea contém linfócitos, os quais são vistos de forma isolada, ou podem ser observados em agrupamentos celulares.

Esses agrupamentos, agregado ou nódulos linfóides, fazem parte de achados morfológicos encontrados na medula óssea, tanto em doenças malignas como em doenças benignas, sendo a idade também descrita como um fator relevante para o maior aparecimento desses nódulos (MAGALHAES; ROCHA FILHO; VASSALLO ; LORAND-METZE, 2003).

Nas pessoas jovens com este achado, há descrição de ser ou representar um processo reacional em associação com um grande número de doenças infecciosas (MAGALHAES; DUARTE; VASSALLO; COSTA ; LORAND-METZE, 2001; NAVONE; VALPREDA ; PICH, 1985; RYWLIN; ORTEGA ; DOMINGUEZ, 1974), inflamatórias crônicas, auto-imunes e do tecido conjuntivo (ROSENTHAL ; FARHI, 1989), anemia megaloblástica, ferropriva, SIDA e osteoporose(LAROCHE; LUDOT; BROUSSET ; MAZIERES, 1999) .

Um dos mais extensos trabalhos avaliando agregados/nódulos linfóides sugere que nódulos linfóides encontrados em biópsias de medula óssea podem não ser um achado fisiológico e que poderia servir de alerta para hematologistas e patologistas em face da possibilidade de

doença linfoproliferativa (FAULKNER-JONES; HOWIE; BOUGHTON ; FRANKLIN, 1988).

Engels estudou pacientes com artrite reumatóide e outras doenças auto-imunes mostrando a ocorrência de infiltração clonal de células B (ENGELS; OESCHGER; HANSMANN; HILLEBRAND ; KRIENER, 2007).

A análise imuno-genotípica, através do estudo do rearranjo do DNA da cadeia pesada das imunoglobulinas pela reação em cadeia da polimerase (PCR), é capaz de determinar a clonalidade de proliferações linfóides B em nível molecular em casos que escapam à detecção morfológica e imunohistoquímica. Tornou-se, portanto, um importante estudo complementar na avaliação das desordens linfoproliferativas (ENGELS et al., 2007).

Na revisão da literatura realizada, não encontramos relatos de agregado/nódulo linfóide na medula óssea de pacientes portadores de malária.

### **6.3.2 Presença de hemozoína**

A hemozoína, é um resíduo citotóxico, formado dentro de vacúolos digestivos de eritrócitos parasitados, produzido após a digestão da hemoglobina pelo parasita da malária, formando um dímero cristalino de alfa-hematina ligado a lipídios e proteínas (LAMIKANRA; THERON; KOOIJ ; ROBERTS, 2009).

Estudos clínicos e experimentais sugerem que produtos oriundos do estágio assexuado da infecção, entre eles a hemozoína possam contribuir significativamente para a anemia da malária (AWANDARE et al., 2007; CASALS-PASCUAL et al., 2006; GIRIBALDI et al., 2004).

A hemozoína apresenta ainda uma ação sobre os macrófagos reduzindo suas atividades fagocíticas (SCHWARZER et al., 1992; TARAMELLI; RECALCATI; BASILICO; OLLIARO ; CAIRO, 2000).

Os macrófagos desempenham papel destacado na malária e principalmente no comprometimento da medula óssea. Lamikanra (2009) relatou que em estudos experimentais, a fagocitose da hemozoína pelos macrófagos protegeu a maturação celular quanto à diseritropoiese, pois quando eram retirados da cultura celular ocorria um aumento da taxa de diseritropoiese.

Neste estudo a presença de hemozoína, identificada pela microscopia ótica com luz polarizada, foi encontrada na totalidade das biópsias de medula óssea, embora na maioria das biópsias tenha correspondido a apenas 5% dos campos examinados.

A soma dos achados encontrados neste estudo confirma a motivação inicial quanto à importância do estudo da medula óssea em pacientes portadores de malária, ficando um estímulo continuado para sequência do aprendizado sempre buscando o melhor para os pacientes.



## 7. CONCLUSÕES

### 1. Em relação ao sangue periférico conclui-se que:

- a. Os pacientes estudados não apresentavam anemia grave ou estavam sem anemia.
- b. A hemólise foi presente em mais da metade dos pacientes.
- c. A leucopenia foi um evento presente em apenas quatro pacientes.
- d. Os neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos, prevalentemente, em termos quantitativos, estavam dentro da normalidade.
- e. O número de plaquetas variou inversamente com a parasitemia e não sofreu influência com o tempo de evolução da doença, considerando o momento do diagnóstico.

### 2. Em relação à citologia medular conclui-se que:

#### a. Na série mielóide:

- i. Predominou a normocelularidade.
- ii. Ocorreu eosinofilia medular.
- iii. Estavam presentes alterações morfológicas variadas (núcleos irregulares, cariorex, divisão mitótica nuclear incompleta).
- iv. Foi encontrada fagocitose mesmo na presença de baixa parasitemia.

#### b. Na série eritróide:

- i. Foi encontrada hiperplasia.
- ii. Diseritropoiese foi achado freqüente (núcleos irregulares, mitoses aberrantes, eritroblastos bi e trinucleados)
- iii. A fagocitose foi um achado prevalente, embora os pacientes não apresentassem malária grave ou crônica.

#### c. Na série megacariocítica:

- i. Predominou hiperplasia.
- ii. Foi encontrada dismegacariopoiese.

**3. Em relação à histopatologia medular conclui-se que:**

- a. Houve concordância com os achados da citologia medular em relação à celularidade de granulócitos, eosinófilos e megacariócitos; bem como à presença de micromegacariócitos.
- b. Houve divergência com os achados da citologia medular em relação à maturação dos granulócitos, à celularidade e à maturação da série eritróide.
- c. Observou-se a presença de agregados linfóides.
- d. A celularidade medular global variou inversamente com a idade dos pacientes.

## 8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ABDALLA, S.; WEATHERALL, D. J.; WICKRAMASINGHE, S. N.; HUGHES, M. The anaemia of *P. falciparum* malaria. *Br.J.Haematol.*, v. 46, n. 2, p. 171-183, 1980.
2. ABDALLA, S. H. Peripheral blood and bone marrow leucocytes in Gambian children with malaria: numerical changes and evaluation of phagocytosis. *Ann.Trop.Paediatr.*, v. 8, n. 4, p. 250-258, 1988a.
3. \_\_\_\_\_. Peripheral blood and bone marrow leucocytes in Gambian children with malaria: numerical changes and evaluation of phagocytosis. *Ann.Trop.Paediatr.*, v. 8, n. 4, p. 250-258, 1988b.
4. \_\_\_\_\_. Peripheral blood and bone marrow leucocytes in Gambian children with malaria: numerical changes and evaluation of phagocytosis. *Ann.Trop.Paediatr.*, v. 8, n. 4, p. 250-258, 1988c.
5. \_\_\_\_\_. Hematopoiesis in human malaria. *Blood Cells*, v. 16, n. 2-3, p. 401-416, 1990.
6. \_\_\_\_\_. Leukocytes in malaria. In: S.ABDALLA ; G. PASVOL (Eds.). *Malaria. A hematological perspective*. London: Imperial College Press, 2004. Cap. 5 , p. 129-168.
7. ABDALLA, S. H.; PASVOL, G. *Malaria - A hematological perspective*. London: Imperial College press, 2004. 429 p.
8. ABDELKEFI, A.; BEN, O. T.; TORJMAN, L.; LADEB, S.; LAKHAL, A.; BELHADJ, S. et al. *Plasmodium falciparum* causing hemophagocytic syndrome after allogeneic blood stem cell transplantation. *Hematol.J.*, v. 5, n. 5, p. 449-450, 2004.

9. ALECRIM, M. G. C. Estudo clínico, resistência e polimorfismo parasitário na malária pelo *Plasmodium vivax*, em Manaus-AM. 2000. - Universidade de Brasília, Brasília, 2000.
10. ALLAN, R. J.; BEATTIE, P.; BATE, C.; VAN HENSBROEK, M. B.; MORRIS-JONES, S.; GREENWOOD, B. M. et al. Strain variation in tumor necrosis factor induction by parasites from children with acute falciparum malaria. *Infect.Immun.*, v. 63, n. 4, p. 1173-1175, 1995.
11. ALLAN, R. J.; ROWE, A.; KWIATKOWSKI, D. *Plasmodium falciparum* varies in its ability to induce tumor necrosis factor. *Infect.Immun.*, v. 61, n. 11, p. 4772-4776, 1993.
12. ALMEIDA NETTO, J. C. Malária por *Plasmodium falciparum* - correlação da densidade parasitária com as repercussões sistêmicas da doença e a resposta à terapêutica. 1970. - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1970.
13. ALVES, A. C. Histologia da medula óssea. *Rev.Bras.Hematol.Hemoter.*, v. 31, n. 3, p. 183-1, 2009.
14. ANGUS, B. J.; CHOTIVANICH, K.; UDOMSANGPETCH, R.; WHITE, N. J. In vivo removal of malaria parasites from red blood cells without their destruction in acute falciparum malaria. *Blood*, v. 90, n. 5, p. 2037-2040, 1997.
15. AOUBA, A.; NOGUERA, M. E.; CLAUVEL, J. P.; QUINT, L. Haemophagocytic syndrome associated with *plasmodium vivax* infection. *Br J.Haematol.*, v. 108, n. 4, p. 832-833, 2000.
16. Aregawi, M., Cibulskis, R., Otten, R., Williamsand, R., & Dye, C. (2009). *World Malaria Report 2008* Geneve: WHO.
17. AWANDARE, G. A.; OUMA, Y.; OUMA, C.; WERE, T.; OTIENO, R.; KELLER, C. C. et al. Role of monocyte-acquired hemozoin in suppression of macrophage

migration inhibitory factor in children with severe malarial anemia. *Infect.Immun.*, v. 75, n. 1, p. 201-210, 2007.

18. BACAL, N. S.; GUERRA, J. C. C.; LAZARO, R. J.; IOSHIDA, M. R. et al. Comparar 349 mielogramas com as respectivas biópsias de medula óssea em pacientes com suspeita de doença hematológicas e oncohematológicas no Centro de Hematologia de São Paulo. Centro de Hematologia de São Paulo, 2004. Disponível em: [http://www.chsp.org.br/arquivos/trabalhos\\_cientificos/2004/27%20Congresso%20da%20SBH/H/Comparar%20349%20Aspirados%20de%20BMO%20em%20Pacientes%20com%20Suspeita%20de%20Doencas%20Hematologicas.pdf](http://www.chsp.org.br/arquivos/trabalhos_cientificos/2004/27%20Congresso%20da%20SBH/H/Comparar%20349%20Aspirados%20de%20BMO%20em%20Pacientes%20com%20Suspeita%20de%20Doencas%20Hematologicas.pdf). Acesso em 28-4-2010.

19. BARATA, R. C. Malária no Brasil: panorama epidemiológico na última década. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 128-136, 1995.

20. BEALE, P. J.; CORMACK, J. D.; OLDREY, T. B. Thrombocytopenia in malaria with immunoglobulin (IgM) changes. *Br.Med.J.*, v. 1, n. 5796, p. 345-349, 1972.

21. BUTLER, T.; TONG, M. J.; FLETCHER, J. R.; DOSTALEK, R. J.; ROBBINS, T. O. Blood coagulation studies in *Plasmodium falciparum* malaria. *Am.J.Med.Sci.*, v. 265, n. 1, p. 63-67, 1973.

22. CAMARGO, E. P. A malária encenada no grande teatro social. *Estudos Avançados*, São Paulo, v. 9, n. 24, p. 211-228, 1995.

23. CARDOSO, M. A.; FERREIRA, M. U.; CAMARGO, L. M.; SZARFARC, S. C. Anemia em uma população de uma área endêmica de malária, Rondônia (Brasil). *Rev.Saude Publica*, v. 26, n. 3, p. 161-166, 1992.

24. CARDOSO, R. F. ; GOLDENBERG, P. Malária no Estado do Amapá, 1970-2003: Antecedentes e controle. *Cad.Saude Publica*, v. 23, n. 6, p. 1339-1348, 2007.

25. CASALS-PASCUAL, C.; KAI, O.; CHEUNG, J. O.; WILLIAMS, S.; LOWE, B.; NYANOTI, M. et al. Suppression of erythropoiesis in malarial anemia is associated with hemozoin in vitro and in vivo. *Blood*, v. 108, n. 8, p. 2569-2577, 2006.
26. CHARMOT, G. ; BASTIN, R. La réaction à cellules mononucléés hyperbasophiles au cours du paludisme à *P. falciparum*; sa place dans la réaction immunitaire. *Bull.Soc.Pathol.Exot.Filiales.*, v. 72, n. 4, p. 319-324, 1979a.
27. \_\_\_\_\_. The reaction of hyperbasophilic mononucleated cells during *P. falciparum* malaria; its role in the immune response. *Bull.Soc.Pathol.Exot.Filiales.*, v. 72, n. 4, p. 319-324, 1979b.
28. CLARK, I. A.; AWBURN, M. M.; WHITTEN, R. O.; HARPER, C. G.; LIOMBA, N. G.; MOLYNEUX, M. E. et al. Tissue distribution of migration inhibitory factor and inducible nitric oxide synthase in *falciparum* malaria and sepsis in African children. *Malar.J.*, v. 2, p. 62003.
29. CLARK, I. A. ; CHAUDHRI, G. Tumour necrosis factor may contribute to the anaemia of malaria by causing dyserythropoiesis and erythrophagocytosis. *Br.J.Haematol.*, v. 70, n. 1, p. 99-103, 1988b.
30. \_\_\_\_\_. Tumour necrosis factor may contribute to the anaemia of malaria by causing dyserythropoiesis and erythrophagocytosis. *Br.J.Haematol.*, v. 70, n. 1, p. 99-103, 1988a.
31. CONRAD, M. E. Hematologic manifestations of parasitic infections. *Semin.Hematol.*, v. 8, n. 3, p. 267-303, 1971.
32. CONTE, R.; TASSI, C.; BELLETTI, D.; RICCI, F.;TAZZARI, P. L. Autoimmune thrombocytopenia in malaria. *Vox Sang.*, v. 85, n. 3, p. 2212003.
33. CUARTAS, F.; ROTHENBERG, J.; FECCI, C.;GUTTERMAN, J. Diagnosis of malaria by bone marrow aspiration. *South.Med.J.*, v. 65, n. 5, p. 5231972.

34. DALE, D. C. ; WOLFF, S. M. Studies of the neutropenia of acute malaria. *Blood*, v. 41, n. 2, p. 197-206, 1973.
35. DAS, B. S.; NANDA, N. K.; RATH, P. K.; SATAPATHY, R. N.; DAS, D. B. Anaemia in acute, *Plasmodium falciparum* malaria in children from Orissa state, India. *Ann.Trop.Med.Parasitol.*, v. 93, n. 2, p. 109-118, 1999a.
36. \_\_\_\_\_. Anaemia in acute, *Plasmodium falciparum* malaria in children from Orissa state, India. *Ann.Trop.Med.Parasitol.*, v. 93, n. 2, p. 109-118, 1999b.
37. DATASUS-MS Exames positivos de malária.: São Paulo, 2009a. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2007/d04.def>. Acesso em 15-5-2009a.
38. \_\_\_\_\_. Índice parasitário anual (IPA) da malária.: São Paulo, 2009b. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2007/d04.def>. Acesso em 15-5-2009b.
39. DORMER, P.; DIETRICH, M.; KERN, P.; HORSTMANN, R. D. Ineffective erythropoiesis in acute human *P. falciparum* malaria. *Blut*, v. 46, n. 5, p. 279-288, 1983.
40. ENGELS, K.; OESCHGER, S.; HANSMANN, M. L.; HILLEBRAND, M.; KRIENER, S. Bone marrow trephines containing lymphoid aggregates from patients with rheumatoid and other autoimmune disorders frequently show clonal B-cell infiltrates. *Hum.Pathol.*, v. 38, n. 9, p. 1402-1411, 2007.
41. FACER, C. A. Direct antiglobulin reactions in Gambian children with *P. falciparum* malaria. III. Expression of IgG subclass determinants and genetic markers and association with anaemia. *Clin.Exp.Immunol.*, v. 41, n. 1, p. 81-90, 1980.
42. FACER, C. A.; BRAY, R. S.; BROWN, J. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. I. Incidence and class specificity. *Clin.Exp.Immunol.*, v. 35, n. 1, p. 119-127, 1979a.

43. \_\_\_\_\_. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with Plasmodium falciparum malaria. I. Incidence and class specificity. *Clin.Exp.Immunol.*, v. 35, n. 1, p. 119-127, 1979b.
44. \_\_\_\_\_. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with Plasmodium falciparum malaria. I. Incidence and class specificity. *Clin.Exp.Immunol.*, v. 35, n. 1, p. 119-127, 1979c.
45. FACER, C. A. ; JENKINS, G. C. Abnormal features of peripheral blood films from Gambian children with malaria. *Ann.Trop.Paediatr.*, v. 9, n. 2, p. 107-110, 1989.
46. FAJARDO, L. F. ; TALLENT, C. Malarial Parasites Within Human Platelets. *JAMA*, v. 229, n. 9, p. 1205-1207, 1974.
47. FAULKNER-JONES, B. E.; HOWIE, A. J.; BOUGHTON, B. J.;FRANKLIN, I. M. Lymphoid aggregates in bone marrow: study of eventual outcome. *J.Clin.Pathol.*, v. 41, n. 7, p. 768-775, 1988.
48. FERREIRA, M. S. Malária: Conceito, Etiologia e Ciclo Evolutivo. In: R.VERONESI ; R. FOCACCIA (Eds.). *Tratado de Infectologia*. São Paulo:2004. Cap. 98 , p. 1280-1284.
49. GANDAPUR, A. S.; MALIK, S. A.;RAZIQ, F. Bone marrow changes in human malaria: a retrospective study. *J.Pak.Med.Assoc.*, v. 47, n. 5, p. 137-139, 1997.
50. GHOSH, K. ; SHETTY, S. Blood coagulation in falciparum malaria--a review. *Parasitol.Res.*, v. 102, n. 4, p. 571-576, 2008.
51. GIRIBALDI, G; ULLIERS, D.; SCHWARZER, E.; ROBERTS, I.; PIACIBELLO, W.;ARESE, P. Hemozoin- and 4-hydroxynonenal-mediated inhibition of erythropoiesis. Possible role in malarial dyserythropoiesis and anemia. *Haematologica*, v. 89, n. 4, p. 492-493, 2004.



52. GOLDSTEIN, E. A clinical study of falciparum and vivax malaria in Vietnam servicemen. *Mil.Med.*, v. 133, n. 12, p. 991-996, 1968b.
53. \_\_\_\_\_. A clinical study of falciparum and vivax malaria in Vietnam servicemen. *Mil.Med.*, v. 133, n. 12, p. 991-996, 1968c.
54. \_\_\_\_\_. A clinical study of falciparum and vivax malaria in Vietnam servicemen. *Mil.Med.*, v. 133, n. 12, p. 991-996, 1968a.
55. GREENWOOD, B. M.; ODULOJU, A. J.;STRATTON, D. Lymphocyte changes in acute malaria. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, v. 71, n. 5, p. 408-410, 1977.
56. HARTSOCK, R. J.; SMITH, E. B.;PETTY, C. S. NORMAL VARIATIONS WITH AGING OF THE AMOUNT OF HEMATOPOIETIC TISSUE IN BONE MARROW FROM THE ANTERIOR ILIAC CREST. A STUDY MADE FROM 177 CASES OF SUDDEN DEATH EXAMINED BY NECROPSY. *Am.J.Clin.Pathol.*, v. 43, p. 326-331, 1965.
57. HELLEBERG, M.; GOKA, B. Q.; AKANMORI, B. D.; OBENG-ADJEI, G.; RODRIQUES, O.;KURTZHALS, J. A. Bone marrow suppression and severe anaemia associated with persistent Plasmodium falciparum infection in African children with microscopically undetectable parasitaemia. *Malar.J.*, v. 4, n. 1, p. 562005.
58. HO, M.; WEBSTER, H. K.; LOOAREESUWAN, S.; SUPANARANOND, W.; PHILLIPS, R. E.; CHANTHAVANICH, P. et al. Antigen-specific immunosuppression in human malaria due to Plasmodium falciparum. *J.Infect.Dis.*, v. 153, n. 4, p. 763-771, 1986.
59. HO, M.; WHITE, N. J.; LOOAREESUWAN, S.; WATTANAGOON, Y.; LEE, S. H.; WALPORT, M. J. et al. Splenic Fc receptor function in host defense and anemia in acute Plasmodium falciparum malaria. *J.Infect.Dis.*, v. 161, n. 3, p. 555-561, 1990.
60. IBGE IBGE-Cidades@ Manaus-AM.: Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. Acesso em 22-5-2009.

61. ILLNER, H. ; SHIRES, G. T. Changes in sodium, potassium, and adenosine triphosphate contents of red blood cells in sepsis and septic shock. *Circ.Shock*, v. 9, n. 3, p. 259-267, 1982.
62. KLEIN, T. A.; LIMA, J. B.;TANG, A. T. Seasonal distribution and diel biting patterns of culicine mosquitoes in Costa Marques, Rondonia, Brazil. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, v. 87, n. 1, p. 141-148, 1992.
63. KNUTTGEN, H. J. HUMAN BONE MARROW IN ACUTE MALARIAL INFECTIONS. *Z.Tropenmed.Parasitol.*, v. 14, p. 423-466, 1963a.
64. \_\_\_\_\_. HUMAN BONE MARROW IN ACUTE MALARIAL INFECTIONS. *Z.Tropenmed.Parasitol.*, v. 14, p. 423-466, 1963b.
65. KNUTTGEN, H. J. The bone marrow of non-immune Europeans in acute malaria infection: a topical review. *Ann.Trop.Med.Parasitol.*, v. 81, n. 5, p. 567-576, 1987.
66. KUEH, Y. K. ; YEO, K. L. Haematological alterations in acute malaria. *Scand.J.Haematol.*, v. 29, n. 2, p. 147-152, 1982a.
67. \_\_\_\_\_. Haematological alterations in acute malaria. *Scand.J.Haematol.*, v. 29, n. 2, p. 147-152, 1982b.
68. KWIATKOWSKI, D.; HILL, A. V.; SAMBOU, I.; TWUMASI, P.; CASTRACANE, J.; MANOGUE, K. R. et al. TNF concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral, and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet*, v. 336, n. 8725, p. 1201-1204, 1990.
69. LACERDA, M. V. G. Manifestações clínicas e patogênese da plaquetopenia na malária. 2007a. - Universidade de Brasília, Brasília, 2007a.
70. LACERDA, M. V. G. Plaquetas na malária. 2007b. - Universidade de Brasília, Brasília, 2007b.

71. LAMIKANRA, A. A.; THERON, M.; KOOIJ, T. W.;ROBERTS, D. J. Hemozoin (malarial pigment) directly promotes apoptosis of erythroid precursors. PLoS.One., v. 4, n. 12, p. e84462009.
72. LAROCHE, M.; LUDOT, I.; BROUSSET, P.;MAZIERES, B. Osteoporosis with lymphoid nodules and hematopoietic marrow hyperplasia. Clin.Exp.Rheumatol., v. 17, n. 4, p. 457-460, 1999.
73. LOIOLA, C. C.; DA SILVA, C. J.;TAUIL, P. L. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. Rev.Panam.Salud Publica, Washington, D.C., v. 11, n. 4, p. 235-244, 2002b.
74. \_\_\_\_\_. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. Rev.Panam.Salud Publica, Washington, D.C., v. 11, n. 4, p. 235-244, 2002a.
75. MAGALHAES, S. M.; DUARTE, F. B.; VASSALLO, J.; COSTA, S. C.;LORAND-METZE, I. Multiple lymphoid nodules in bone marrow biopsy in immunocompetent patient with cytomegalovirus infection: an immunohistochemical analysis. Rev.Soc.Bras.Med.Trop., v. 34, n. 4, p. 365-368, 2001.
76. MAGALHAES, S. M.; ROCHA FILHO, F. D.; VASSALLO, J.;LORAND-METZE, I. Nódulos linfóide medulares. Rev.Bras.Hematol.Hemoter., São José do Rio Preto, v. 25, n. 2, p. 81-87, 2003.
77. MARQUES, H. O. Alterações da hemostasia em pacientes com malária. 2004. - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2004.
78. MCGREGOR, I. A.; GILLES, H. M.; WALTERS, J. H.; DAVIES, A. H.;PEARSON, F. A. Effects of heavy and repeated malarial infections on Gambian infants and children; effects of erythrocytic parasitization. Br Med.J., v. 2, n. 4994, p. 686-692, 1956.
79. MCGREGOR, I. A.; TURNER, M. W.; WILLIAMS, K.;HALL, P. Soluble antigens in the blood of African patients with severe plasmodium falciparum malaria. Lancet, v. 1, n. 7548, p. 881-884, 1968.

80. MCKERROW, J. H.; SUN, E.; ROSENTHAL, P. J.;BOUVIER, J. The proteases and pathogenicity of parasitic protozoa. *Annu.Rev.Microbiol.*, v. 47, p. 821-853, 1993.
81. MERINO, F.; LAYRISSE, Z.; GODOY, G.;VOLCAN, G. Immunoregulatory alterations in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections. *Trop.Med.Parasitol.*, v. 37, n. 3, p. 241-244, 1986.
82. MIRDHA, B. R.; SAMANTRAY, J. C.; MISHRA, B.;XESS, I. Bone marrow examination for identifying malaria in fever of unknown origin. *J.Assoc.Physicians India*, v. 47, n. 2, p. 177-179, 1999.
83. NAGEL, R. L. Innate Resistance to Malaria Conferred by Red Cell Genetic Defects. In: S.H.ABDALLA ; G. PASVOL (Eds.). *Malaria. A hematological perspective*. London: Imperial College Press, 2004. Cap. 9 , p. 277-315.
84. NAVEIRA, J. B. ; LOPES, P. F. Exame da medula óssea na malária. *Rev.Bras.Med.*, v. 28, n. 5, p. 195-196, 1971b.
85. \_\_\_\_\_. Exame da medula óssea na malária. *Rev.Bras.Med.*, v. 28, n. 5, p. 195-196, 1971a.
86. NAVONE, R.; VALPREDA, M.;PICH, A. Lymphoid nodules and nodular lymphoid hyperplasia in bone marrow biopsies. *Acta Haematol.*, v. 74, n. 1, p. 19-22, 1985.
87. NORONHA, E. F. Estudo clínico-epidemiológico da malária falciparum em crianças de 0 a 14 anos atendidas no Intituto de Medicina Tropical do Amazonas em Manaus-AM-Brasil. 1998. - Universidade de Brasília, Brasília, 1998.
88. OHNISHI, K.; MITSUI, K.; KOMIYA, N.; IWASAKI, N.; AKASHI, A.;HAMABE, Y. CLINICAL case report: falciparum malaria with hemophagocytic syndrome. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, v. 76, n. 6, p. 1016-1018, 2007.

89. OHNO, T.; SHIRASAKA, A.; SUGIYAMA, T.; FURUKAWA, H. Hemophagocytic syndrome induced by Plasmodium falciparum malaria infection. *Int.J.Hematol.*, v. 64, n. 3-4, p. 263-266, 1996.
90. OSUNKOYA, B. O.; WILLIAMS, A. I.; REDDY, S. Spontaneous lymphocyte transformation in leucocyte cultures of children with falciparum malaria. *Trop.Geogr.Med.*, v. 24, n. 2, p. 157-161, 1972.
91. PASVOL, G.; WEATHERALL, D. J.; WILSON, R. J. The increased susceptibility of young red cells to invasion by the malarial parasite Plasmodium falciparum. *Br J.Haematol.*, v. 45, n. 2, p. 285-295, 1980.
92. PHILLIPS, R. E.; LOOAREESUWAN, S.; WARRELL, D. A.; LEE, S. H.; KARBWANG, J.; WARRELL, M. J. et al. The importance of anaemia in cerebral and uncomplicated falciparum malaria: role of complications, dyserythropoiesis and iron sequestration. *Q.J.Med.*, v. 58, n. 227, p. 305-323, 1986b.
93. \_\_\_\_\_. The importance of anaemia in cerebral and uncomplicated falciparum malaria: role of complications, dyserythropoiesis and iron sequestration. *Q.J.Med.*, v. 58, n. 227, p. 305-323, 1986a.
94. PHILLIPS, R. E. ; PASVOL, G. Anaemia of Plasmodium falciparum malaria. *Baillieres Clin.Haematol.*, v. 5, n. 2, p. 315-330, 1992.
95. PLANCHE, T.; DZEING, A.; NGOU-MILAMA, E.; KOMBILA, M.; STACPOOLE, P. W. Metabolic complications of severe malaria. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.*, v. 295, p. 105-136, 2005.
96. POLLACK, S. ; FLEMING, J. Plasmodium falciparum takes up iron from transferrin. *Br J.Haematol.*, v. 58, n. 2, p. 289-293, 1984.
97. REILLY, G. G. ; BARRETT, O. Leucocytes responses in acute malaria. *Am.J.Med.Sci.*, v. 162, p. 133-171.

98. RICHARDS, M. W.; BEHRENS, R. H.;DOHERTY, J. F. Short report: hematologic changes in acute, imported Plasmodium falciparum malaria. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, v. 59, n. 6, p. 859-1998.
99. RODRIGUEZ, M. H. ; JUNGERY, M. A protein on Plasmodium falciparum-infected erythrocytes functions as a transferrin receptor. *Nature*, v. 324, n. 6095, p. 388-391, 1986.
100. ROSENTHAL, N. S. ; FARHI, D. C. Bone marrow findings in connective tissue disease. *Am.J.Clin.Pathol.*, v. 92, n. 5, p. 650-654, 1989.
101. ROSENTHAL, P. J. ; MESHNICK, S. R. Hemoglobin catabolism and iron utilization by malaria parasites. *Mol.Biochem.Parasitol.*, v. 83, n. 2, p. 131-139, 1996.
102. RU, Y. X.; MAO, B. Y.; ZHANG, F. K.; PANG, T. X.; ZHAO, S. X.; LIU, J. H. et al. Invasion of erythroblasts by Plasmodium vivax: A new mechanism contributing to malarial anemia. *Ultrastruct.Pathol.*, v. 33, n. 5, p. 236-242, 2009.
103. RYWLIN, A. M.; ORTEGA, R. S.;DOMINGUEZ, C. J. Lymphoid nodules of bone marrow: normal and abnormal. *Blood*, v. 43, n. 3, p. 389-400, 1974.
104. SARAIVA, M. G.; AMORIM, R. D.; MOURA, M. A.; MARTINEZ-ESPINOSA, F. E.;BARBOSA, M. G. Expansão urbana e distribuição espacial da malária no município de Manaus, Estado do Amazonas. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, v. 42, n. 5, p. 515-522, 2009.
105. SCHARTE, M. ; FINK, M. P. Red blood cell physiology in critical illness. *Crit Care Med.*, v. 31, n. 12 Suppl, p. S651-S657, 2003.
106. SCHWARZER, E.; TURRINI, F.; ULLIERS, D.; GIRIBALDI, G.; GINSBURG, H.;ARESE, P. Impairment of macrophage functions after ingestion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes or isolated malarial pigment. *J.Exp.Med.*, v. 176, n. 4, p. 1033-1041, 1992.

107. Secretaria de Vigilância em Saúde-MS (2006). *A malária no Brasil* Brasília: Ministério da Saúde.
108. \_\_\_\_\_. Casos confirmados de Malária. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008.: Brasília, 2009. Disponível em: [http://189.28.128.100/portal/arquivos/pdf/casos\\_conf\\_malaria.pdf](http://189.28.128.100/portal/arquivos/pdf/casos_conf_malaria.pdf). Acesso em 15-5-2009.
109. SHANKS, G. D. ; WILAIRATANAPORN, C. Eosinophilic response to falciparum malaria infections. *Southeast Asian J.Trop.Med.Public Health*, v. 23, n. 4, p. 795-797, 1992.
110. SIEGEL, S.; CASTELLAN, J. N. Estatísticas não-paramétricas para a ciências do comportamento. Porto Alegre: Artmed, 2006. 448 p.
111. SILVA, S. L.; SANTANA FILHO, F. S.; ARCANJO, A. R. L.; ALECRIM, W. D.;ALECRIM, M. G. C. perfil clínico e hematológico dos pacientes internados por malária por *Plasmodium vivax* e plaquetopenia, na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, no período de janeiro de 1997 a setembro de 1999. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, v. 33, n. (Sup.1), p. 3482000.
112. SKUDOWITZ, R. B.; KATZ, J.; LURIE, A.; LEVIN, J.;METZ, J. Mechanisms of thrombocytopenia in malignant tertian malaria. *Br Med.J.*, v. 2, n. 5865, p. 515-518, 1973b.
113. \_\_\_\_\_. Mechanisms of thrombocytopenia in malignant tertian malaria. *Br.Med.J.*, v. 2, n. 5865, p. 515-518, 1973a.
114. \_\_\_\_\_. Mechanisms of thrombocytopenia in malignant tertian malaria. *Br Med.J.*, v. 2, n. 5865, p. 515-518, 1973c.
115. SRICHAIKUL, T.; PANIKBUTR, N.;JEUMTRAKUL, P. Bone-marrow changes in human malaria. *Ann.Trop.Med.Parasitol.*, v. 61, n. 1, p. 40-51, 1967b.
116. \_\_\_\_\_. Bone-marrow changes in human malaria. *Ann.Trop.Med.Parasitol.*, v. 61, n. 1, p. 40-51, 1967a.

117. SRICHAIKUL, T.; SIRIASAWAKUL, T.; POSHYACHINDA, M. Ferrokinetics in patients with malaria: haemoglobin synthesis and normoblasts in vitro. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, v. 70, n. 3, p. 244-246, 1976.
118. TAKADA, H.; OHGA, S.; MIZUNO, Y.; SUMINOE, A.; MATSUZAKI, A.; IHARA, K. et al. Oversecretion of IL-18 in haemophagocytic lymphohistiocytosis: a novel marker of disease activity. *Br J.Haematol.*, v. 106, n. 1, p. 182-189, 1999.
119. TARAMELLI, D.; RECALCATI, S.; BASILICO, N.; OLLIARO, P.; CAIRO, G. Macrophage preconditioning with synthetic malaria pigment reduces cytokine production via heme iron-dependent oxidative stress. *Lab Invest*, v. 80, n. 12, p. 1781-1788, 2000.
120. TAYLOR, T. E.; FU, W. J.; CARR, R. A.; WHITTEN, R. O.; MUELLER, J. S.; FOSIKO, N. G. et al. Differentiating the pathologies of cerebral malaria by postmortem parasite counts. *Nat.Med.*, v. 10, n. 2, p. 143-145, 2004.
121. VREEKEN, J. ; CREMER-GOOTE, T. M. Haemostatic defect in non-immune patients with falciparum malaria: no evidence of diffuse intravascular coagulation. *Br Med.J.*, v. 2, n. 6136, p. 533-535, 1978.
122. WAGNER, M. B.; MOTTA, V. T.; DORNELLES, C. C. SPSS passo a passo. Caxias do Sul: Educ, 2004. 174 p.
123. WAITUMBI, J. N.; OPOLLO, M. O.; MUGA, R. O.; MISORE, A. O.; STOUTE, J. A. Red cell surface changes and erythrophagocytosis in children with severe plasmodium falciparum anemia. *Blood*, v. 95, n. 4, p. 1481-1486, 2000.
124. WICKRAMASINGHE, S. N. ; ABDALLA, S. H. Blood and bone marrow changes in malaria. *Baillieres Best.Pract.Res.Clin.Haematol.*, v. 13, n. 2, p. 277-299, 2000a.
125. \_\_\_\_\_. Blood and bone marrow changes in malaria. *Baillieres Best.Pract.Res.Clin.Haematol.*, v. 13, n. 2, p. 277-299, 2000b.



126. WICKRAMASINGHE, S. N.; LOOAREESUWAN, S.; NAGACHINTA, B.;WHITE, N. J. Dyserythropoiesis and ineffective erythropoiesis in Plasmodium vivax malaria. Br.J.Haematol., v. 72, n. 1, p. 91-99, 1989b.
127. \_\_\_\_\_. Dyserythropoiesis and ineffective erythropoiesis in Plasmodium vivax malaria. Br.J.Haematol., v. 72, n. 1, p. 91-99, 1989a.
128. WICKRAMASINGHE, S. N.; PHILLIPS, R. E.; LOOAREESUWAN, S.; WARRELL, D. A.;HUGHES, M. The bone marrow in human cerebral malaria: parasite sequestration within sinusoids. Br.J.Haematol., v. 66, n. 3, p. 295-306, 1987.
129. WOODRUFF, A. W.; ANSDELL, V. E.;PETTITT, L. E. Cause of anaemia in malaria. Lancet, v. 1, n. 8125, p. 1055-1057, 1979.
130. WYLER, D. J. Peripheral lymphocyte subpopulations in human falciparum malaria. Clin.Exp.Immunol., v. 23, n. 3, p. 471-476, 1976.
131. ZACHARIAS, F. J. The diagnostic value of bone marrow biopsy in malaria caused by Plasmodium falciparum. Ann.Trop.Med.Parasitol., v. 43, n. 3-4, p. 297-303, 1949b.
132. \_\_\_\_\_. The diagnostic value of bone marrow biopsy in malaria caused by Plasmodium falciparum. Ann.Trop.Med.Parasitol., v. 43, n. 3-4, p. 297-303, 1949a.
133. ZUCKERMAN, A. Auto-antibody in rats with Plasmodium berghei. Nature, v. 185, p. 189-190, 1960b.
134. \_\_\_\_\_. Auto-antibody in rats with Plasmodium berghei. Nature, v. 185, p. 189-190, 1960a.
135. ZUCKERMAN, A. ; SPIRA, D. Blood loss and replacement in plasmodial infections. V. Positive antiglobulin tests in rat anemias due to the rodent malaras Plasmodium berghei and Plasmodium vinckei, to cardiac bleeding, and to treatment with phenylhydrazine hydrochloride. J.Infect.Dis., v. 108, p. 339-348, 1961b.

136. \_\_\_\_\_. Blood loss and replacement in plasmodial infections. V. Positive antiglobulin tests in rat anemias due to the rodent malaras *Plasmodium berghei* and *Plasmodium vinckei*, to cardiac bleeding, and to treatment with phenylhydrazine hydrochloride. *J.Infect.Dis.*, v. 108, p. 339-348, 1961a.

137. ZVULUNOV, A.; TAMARY, H.;GAL, N. Pancytopenia resulting from hemophagocytosis in malaria. *Pediatr.Infect.Dis.J.*, v. 21, n. 11, p. 1086-1087, 2002.

## ANEXO 1

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, abaixo qualificado, DECLARO para fins de participação no projeto de pesquisa **Alterações cito-histológicas na medula óssea de pacientes com malária por *Plasmodium falciparum*** que fui informado(a) e estou perfeitamente esclarecido (a) que a minha participação, no projeto de pesquisa dar-se-á através da coleta de dados da minha doença, da realização pela médica do exame físico, da permissão para coleta de sangue para exames laboratoriais, da permissão para que seja feita punção (introdução de uma agulha) na crista ilíaca (osso da bacia) para aspirar uma amostra do conteúdo deste osso assim como uma biópsia da medula óssea (retirada de um pedaço do osso da bacia). Sou sabedor(a) que todas as informações coletadas serão mantidas em sigilo, em especial a minha identidade (meu nome) durante toda a etapa da pesquisa. Sou ciente que minha recusa em participar do projeto, em qualquer fase de seu desenvolvimento não implicará em nenhum prejuízo ao meu tratamento.

Sou ciente que a responsável por esta pesquisa é a Dra. Elizabeth Nogueira de Andrade, a qual responderá por qualquer dano que venha a sofrer em função de procedimentos por ela realizado e que poderei encontrá-la através do telefone 36423864.

Manaus, de de 1998

## ANEXO 2

### Modelo do arquivo digital em Microsoft Access

The screenshot displays the Microsoft Access interface for a database named 'malária: Banco de dados (Access 2007)'. The main window title is 'Alterações Cito-Histológicas na Medula Óssea de Pacientes com Malária por Plasmodium falciparum'. The form is organized into two columns of input fields. The left column includes fields for 'Código:', 'Nome:', 'Idade:', 'Sexo:', 'Profissão:', 'SAME:', 'Febre:', 'Cefaleia:', 'Vômitos:', 'Icterícia:', 'Hepatomegalia:', 'Esplenomegalia:', 'Hemácias:', and 'Hematócrito:'. The right column includes fields for 'Hemoglobina:', 'Reticulócitos:', 'Eritroblastos:', 'Leucócitos:', 'Bastões:', 'Neutrófilos:', 'Linfócitos:', 'Monócitos:', 'Eosinófilos:', 'Coombs direto:' (with a checkbox), 'Coombs indireto:' (with a checkbox), 'Crioaglutininas:' (with a checkbox), 'Ferro sérico:', 'Ferritina:', 'Transferrina:', 'Glicose:', 'Uréia:', 'Creatinina:', and 'Bilirrubina:'. A vertical navigation pane on the left is labeled 'Painel de Navegação'. At the bottom, the status bar shows 'Registros: 1 de 1', 'Sem Filtros', and a search button labeled 'Pesquisar'. The Windows taskbar at the bottom indicates the system is in 'Modo formulário' and shows the time as 20:54.

Field Name	Field Name
Código:	Hemoglobina:
Nome:	Reticulócitos:
Idade:	Eritroblastos:
Sexo:	Leucócitos:
Profissão:	Bastões:
SAME:	Neutrófilos:
Febre:	Linfócitos:
Cefaleia:	Monócitos:
Vômitos:	Eosinófilos:
Icterícia:	Coombs direto: <input type="checkbox"/>
Hepatomegalia:	Coombs indireto: <input type="checkbox"/>
Esplenomegalia:	Crioaglutininas: <input type="checkbox"/>
Hemácias:	Ferro sérico:
Hematócrito:	Ferritina:
	Transferrina:
	Glicose:
	Uréia:
	Creatinina:
	Bilirrubina:

## ANEXO 3

### Descrição dos mielogramas

#### Paciente 1:

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de pontes intercelulares e presença de mitoses.
- Série mielóide normoblástica . Eosinofilia.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacarioblastos.
- Fagocitose freqüente de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos.
- Relação ME 1,1:1

#### Paciente 2:

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Mitoses atípicas
- Série mielóide normocelular, normoblástica.
- Série megacariocítica hiperplasiada, vários deles sem fragmentação do citoplasma, dissociação núcleo-citoplasma. Ausência de micromegacariócitos
- Fagocitose de eritrócitos.
- Relação ME 2:1

#### Paciente 3:

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de mitoses atípicas
- Hiperplasia da série mielóide com desvio à esquerda.
- Hiperplasia da série megacariocítica .
- Fagocitose de neutrófilos e eritroblastos
- Relação ME 2,1:1

#### **Paciente 4:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de pontes intercelulares e presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide normocelular , com maturação normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica .
- Fagocitose de granulócitos e eritroblastos.
- Relação ME 1,1:1

#### **Paciente 5:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Há dissociação núcleo citoplasma, e presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide normoblástica, Eosinofilia. Com alguns eosinófilos, apresentando multinuclearidade. Hipogranulação de neutrófilos.
- Série megacariocítica hiperplasiada, Presença de micromegacariocitos.
- Fagocitose múltipla de bastões e mononucleares

- Relação ME 1,3:1

### **Paciente 6**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma.
- Série mielóide normoblástica.
- Hiperplasia megacariocítica , com megacariócitos hiperlobulados, vários apresentando citoplasma sem fragmentação.
- Fagocitose de granulócitos, neutrófilos e bastões)
- Relação ME 1,5:1
- Coloração para ferro : +++

### **Paciente 7:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hipoplasia da série eritróide , normoblástica.
- Hiperplasia da série mielóide, normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia megacariocítica . Presença de micromegacariocitos e megacarioblastos
- Fagocitose: ausente
- Relação ME 6:1

### **Paciente 8:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides.
- Série mielóide com desvio à esquerda (aumento de promielócitos e bastões).

- Série megacariocítica normocelular. Presença de megacarioblastos
- Fagocitose freqüente de granulócitos e eritroblastos
- Relação ME 1,4:1
- Coloração para ferro : ++

**Paciente 9:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hipoplasia da série eritróide, normoblástica.
- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica com presença de micromegacariócitos
- Fagocitose freqüente de neutrófilos e eritroblastos .
- Relação ME 3:1
- Coloração para ferro: +++

**Paciente 10:**

Material: aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblásticas. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de pontes intercelulares e presença de mitoses. Eritrócitos binucleados com presença de plasmódio intracelular.
- Série mielóide hiperplásica, com desvio à esquerda, apresentando vacúolos no citoplasma. Eosinofilia.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacariócitos e plaquetas gigantes.



- Fagocitose de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos, com presença de merozoítas e gametócitos.
- Relação ME 2,5:1
- Coloração para ferro : +++

### **Paciente 11:**

Material: aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, binucleados.
- Série mielóide normoblástica. Sem eosinofilia.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacariócitos
- Fagocitose de eritroblastos .
- Relação ME 1:1

### **Paciente 12:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e presença de mitoses aberrantes.
- Série mielóide normocítica e normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica , com presença de micromegacariócitos
- Fagocitose de granulócitos e eritrócitos..
- Relação ME 1,5:1

**Paciente 13:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblásticas. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, binucleados , presença de pontes intercelulares e mitoses atípicas. Foi evidenciado presença de esquizontes dentro de eritroblastos.
- Série mielóide megaloblástica , com mielócitos e metamielócitos gigantes.presença de neutrófilos não segmentados. Vacúolos citoplasmáticos.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacariócitos.
- Linfócitos com núcleos reniformes.
- Fagocitose freqüente de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos
- Relação ME 1,4:1

**Paciente 14:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Série eritróide normocelular com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e vários binucleados.
- Série mielóide normocítica com desvio à E.
- Hiperplasia da série megacariocítica , alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacariócitos
- Fagocitose freqüente de neutrófilos , e pigmentos de hemozoína presente.
- Relação ME 2:1

**Paciente 15:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de pontes intercelulares e presença de mitoses.
- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacarioblastos.
- Fagocitose freqüente de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos
- Relação ME 1,1:1

**Paciente 16 :**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, presença de mitoses atípicas
- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica , alguns apresentando citoplasma sem fragmentação e mononucleares. Presença de micromegacariócitos
- Fagocitose de neutrófilos e eritrócitos
- Relação ME 1,3:1

**Paciente 17:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Série eritróide normocelular, com alterações megaloblastóides. Presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide normocelular, megaloblástica, . presença de mielócitos e metamielócitos gigantes. Eosinofilia.
- Hiperplasia acentuada da série megacariocítica , com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação. Presença de micromegacariócitos.
- Aumento de células reticulares, Fagocitose acentuada (1porcampo) de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos. Presença de pigmentos de hemozoína.
- Relação ME 3,5:1

#### **Paciente 18:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastoides, presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide normoblástica.Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica , com megacariócitos apresentando vacúolos no citoplasma, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, e mononucleares. Presença de micromegacariócitos.
- Presença frequente de macrófagos. Fagocitose de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos.
- Relação ME 2,2:1

#### **Paciente 19:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide normoblástica.

- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Série megacariocítica dentro da normalidade.
- Presença de fagocitose de granulócitos e eritrócitos.
- Relação ME : 2:1

**Paciente 20:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, pontes intercelulares e presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica , com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação. Presença de micromegacariócitos.
- Fagocitose freqüente de neutrófilos e eritrócitos.
- Relação ME 1:1

**Paciente 21:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Série eritróide normocelular, normoblástica.
- Série mielóide normocelular, normoblástica.
- Hiperplasia da série megacariocítica . Presença de micromegacariócitos.
- Fagocitose de neutrófilos. Presença de pigmentos de hemozoína.
- Relação ME 3,2:1

**Paciente 22:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblásticas. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma. Presença de mitoses atípicas.
- Série mielóide apresentando DE com promielócitos e metamielócitos cheio de vacúolos. Eosinofilia.
- Série megacariocítica hiperplasiada, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacariócitos
- Fagocitose de eritrócitos.
- Relação ME :1,4:1

**Paciente 23 :**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e mitoses atípicas.
- Série mielóide normocelular, com desvio a esquerda e eosinofilia
- Hiperplasia da série megacariocítica . Presença de micromegacariócitos e micromegacarioblastos.
- Fagocitose de neutrófilos e eritrócitos.
- Relação ME 2,3:1

**Paciente 24:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e presença de mitoses atípicas. Presença de núcleos vacuolados. Eritroblastos binucleados.
- Série mielóide normocítica, normoblástica. Eosinofilia. Presença de vacúolos no citoplasma das células
- Hiperplasia da série megacariocítica, com megacariócitos hiperlobulados, alguns apresentando citoplasma sem fragmentação, dissociação núcleo-citoplasma. Presença de micromegacarioblastos .
- Fagocitose de neutrófilos e eritrócitos.
- Relação ME : 2,5:1

**Paciente 25:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e presença de mitoses atípicas
- Série mielóide normoblástica. Eosinofilia.
- Série megacariocítica sem alterações.
- Fagocitose de eritrócitos
- Relação ME : 2:1

**Paciente 26:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo citoplasma, e presença de mitoses atípicas
- Série mielóide normocítica e normoblástica. Eosinofilia.

- Hiperplasia megacariocítica.
- Fagocitose de granulócitos, eritroblastos e eritrócitos.
- Relação ME : 1,6:1

**Paciente 27:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide normoblástica.
- Série mielóide normocítica e normoblástica. Eosinofilia.
- Há hiperplasia megacariocítica. Ausência de micromegacariócitos.
- Fagocitose de granulócitos e eritrócitos
- Relação ME : 2,4:1

**Paciente 28:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Hiperplasia da série eritróide com alterações megaloblastóides. Os eritroblastos apresentam-se com dissociação núcleo-citoplasma, e presença de pontes intercelulares e mitoses atípicas
- Série mielóide normocítica e normoblástica. Eosinofilia.
- Há hiperplasia megacariocítica. Presença de micromegacariócitos e micromegacarioblastos.
- Fagocitose de granulócitos e eritrócitos.
- Relação ME : 1,2:1



**Paciente 29:**

Material : aspirado de medula óssea ( realizado em crista Ilíaca posterior direita)

- Série eritróide normocítica e normoblástica.
- Série mielóide normocítica e normoblástica. Eosinofilia.
- Hiperplasia da série megacariocítica. Presença de micromegacariócitos.
- Fagocitose de granulócitos e eritrócitos
- Relação ME : 3:1

## ANEXO 4

### Descrição dos exames histopatológicos das biópsias da medula óssea

#### **Paciente 01:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 80 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e mostra desvio à esquerda. A linhagem granulocítica também tem discreto desvio à esquerda, e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Há discreta eosinofilia. Os megacariócitos estão em número pouco aumentado em relação à celularidade, as vezes agregam-se em 4 ou 5. Sua morfologia é, em geral, a usual, e raros tem núcleos hipercromáticos.

O estroma e traves ósseas não mostram alterações.

#### **Paciente 02:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 50 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em morfologia e maturação e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Observa-se aumento no número de megacariócitos e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas estão preservadas

#### **Paciente 03:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. Observa-se hiperplasia da linhagem eritroblástica com desvio à esquerda. A série granulocítica também mostra desvia à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma mostra discreta acentuação de reticulina peri-vascular e peri-trabecular. As traves ósseas estão conservadas.

**Paciente 04:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. Há evidente hiperplasia da série eritroblástica que tem desvio à esquerda. A linhagem granulocítica tem morfologia e maturação preservadas. A relação leuco-eritroblástica é de 2:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número pouco aumentado em relação à celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 05:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 50 % por células hematopoiéticas. A linhagem granulocítica mostra desvio à esquerda e sua morfologia é a usual. A série eritroblástica também mostra desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão aumentados em número e sua morfologia é a usual com raros micro megacariócitos. Eles, às vezes, formam pequenos agregados.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 06:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 60 % por células hematopoiéticas. A linhagem granulocítica tem morfologia preservada. A série eritroblástica está hiperplasiada e mostra desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 2:1. Há

aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão aumentados em número e há vários micromegacariócitos. Eles, à vezes, formam pequenos agregados.

O Estroma mostra discreto acentuação de reticulina peri-vascular. As traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 07:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 30 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hipoplasiada, mas tem morfologia e maturação conservadas. A linhagem granulocítica está conservada. Observa-se discreto aumento no número de eosinófilo e a relação leuco-eritroblástica é de 6:1. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral e há vários micromegacariócitos. Observa-se também um agregado linfóide cujos linfócitos são típicos.

O estroma mostra discreta proliferação reticulínica (fibrose grau I) e as traves ósseas estão preservadas.

**Paciente 08:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 60 % por células hematopoiéticas. Há hiperplasia da série eritroblástica com desvio à esquerda. A relação leuco-eritroblástica é de cerca de 2:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos também estão aumentados em número e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 09:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e mostra desvio à esquerda. A

linhagem granulocítica também tem desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Os megacariócitos estão pouco aumentados em relação à celularidade e sua morfologia é a usual. Há um agregado de linfócitos típicos e aumento no número de eosinófilos.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

#### **Paciente 10:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 70 % por células hematopoiéticas. A linhagem granulocítica está discretamente hiperplasiada e tem desvio à esquerda. A série eritroblástica tem morfologia preservada e desvio à esquerda também. A relação leuco-eritroblástica é de 4:1. Os megacariócitos estão em número aumentado para a celularidade em geral e há vários micromegacariócitos. Observa-se um agregado linfóide cujos linfócitos são típicos.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

#### **Paciente 11:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 20 % por células hematopoiéticas. Há hiperplasia da série eritroblástica com desvio à esquerda. A série granulocítica está preservada em morfologia e maturação e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão aumentados em número, em relação à celularidade geral e há vários micromegacariócitos.

O estroma mostra proliferação reticulínica ( fibrose grau I ) e as traves ósseas estão preservadas.

**Paciente 12:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 50 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em morfologia e maturação e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Os megacariócitos estão aumentados em relação à celularidade geral, e às vezes formam agregados, e observa-se micromegacariócitos.

Observa-se um agregado linfóide cujos linfócitos são típicos

O estroma mostra discreta acentuação da trama reticulínica e os sinusóides estão discretamente dilatados. As traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 13:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 50 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual. Há pequeno agregado linfóide.

O estroma mostra acentuação de reticulina peri-vascular e peri-trabecular. Alguns sinusóides estão pouco dilatados e as traves ósseas estão preservadas.

**Paciente 14:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 30 % por células hematopoiéticas. A linhagem granulocítica mostra discreto desvio à esquerda, a série eritroblástica está preservada em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 4:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral, há vários com núcleos hipercromáticos e micromegacariócitos.

O estroma mostra discreta dilatação dos sinusóides, reticulina preservada e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 15:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 60 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e apresenta desvio à esquerda. A linhagem granulocítica também apresenta desvio à esquerda. Há aumento no número de eosinófilos e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Os megacariócitos estão em número aumentado para a celularidade e há alguns micromegacariócitos

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 16:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas, há aumento discreto no número de eosinófilos e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 3:1. Foi observado apenas um megacariócito cuja morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 17:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 10 % por células hematopoiéticas. As linhagens eritroblástica e granulocítica estão preservadas em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 3:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 18:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 80 % por células hematopoiéticas. Observa-se hiperplasia da série eritroblástica com desvio à esquerda. A linhagem granulocítica também mostra desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 19:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 90 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em morfologia e maturação e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 3:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos embora em número compatível com a celularidade geral, distribuem-se, às vezes em agregados e tem morfologia usual.

O estroma tem reticulina sem alterações e vasos discretamente dilatados. As traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 20:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 30 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 3:1. Há evidente eosinofilia. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.



**Paciente 21:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 30 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Há discreto aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral. Há vários micromegacariócitos.

Estroma e traves ósseas sem alterações.

**Paciente 22:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 70 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e mostra desvio à esquerda. A linhagem granulocítica também tem desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de 1:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

Estroma e traves ósseas sem alterações.

**Paciente 23:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e mostra desvio à esquerda. A linhagem granulocítica também tem desvio à esquerda e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 2:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão aumentados em relação à celularidade, formam pequenos agregados, às vezes e há alguns micromegacariócitos.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 24:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e tem discreto desvio à esquerda.. A linhagem granulocítica tem morfologia e maturação preservadas e a relação leuco-eritroblástica é de cerca de 2:1.Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado e às vezes, formam agregados e há alguns micromegacariócitos. O estroma mostra proliferação reticulínica ( fibrose grau 1/2 ) e alguns vasos dilatados. As traves ósseas estão preservadas.

**Paciente 25:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 15 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada mas sua maturação está preservada. A linhagem granulocítica tem morfologia e maturação preservadas e a relação leuco-eritroblástica é de 2:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral e observa-se alguns micromegacariócitos além de megacariócitos com núcleos bizarros.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 26:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica mostra discreto desvio à esquerda.. A linhagem granulocítica tem morfologia e maturação preservadas e a relação leuco-eritroblástica é de 3:1. Há aumento discreto no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número pouco aumentado em relação à celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 27:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 80 % por células hematopoiéticas. As linhagens granulocítica e eritroblástica estão preservadas em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de 4:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número compatível com a celularidade geral e sua morfologia é a usual.

O estroma não mostra proliferação de reticulina, há discreta dilatação dos sinusóides e as traves ósseas estão preservadas.

**Paciente 28:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 15 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada mas sua maturação está preservada. A linhagem granulocítica tem morfologia e maturação preservadas e a relação leuco-eritroblástica é de 2:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral e observa-se alguns micromegacariócitos além de megacariócitos com núcleos bizarros.

O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

**Paciente 29:**

Descrição microscópica: medula óssea representada em cerca de 40 % por células hematopoiéticas. A série eritroblástica está hiperplasiada e tem desvio à esquerda. A linhagem granulocítica tem está preservada em maturação e morfologia e a relação leuco-eritroblástica é de 2:1. Há aumento no número de eosinófilos. Os megacariócitos estão em número aumentado em relação à celularidade geral e sua morfologia é usual. O estroma e as traves ósseas não mostram alterações.

## ANEXO 5

### Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa



GOVERNO DO ESTADO DO AMAZONAS  
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL – FMT/IMT-AM  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP



#### IDENTIFICAÇÃO

2ª Via

Número do Processo: 601/1998-FMT/IMT-AM  
Título do Projeto: Estudo das Alterações Histo-Citológicas da medula óssea na malária aguda por plasmidium falciparum.  
Coordenador (a): Elizabeth Nogueira de Andrade  
Relator (a) do Processo: Dr. Eucides Batista da Silva  
Dia da Sessão: 20/07/1998.

#### DECISÃO

Nesta data, acatando, por unanimidade, o voto do relator, a plenária do Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** plenamente o projeto intitulado “Estudo das Alterações Histo-Citológicas da medula óssea na malária aguda por plasmidium falciparum”.

Plenária do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical –FMT/IMT-AM, em Manaus 10 de maio de 2010.

  
DR. LUIZ CARLOS DE LIMA FERREIRA  
Coordenador de Ética em Pesquisa

