

## CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* DA REGIÃO AMAZÔNICA

Álvaro A. COUTO\*

Durante décadas, vários grupos de pesquisadores vêm desenvolvendo as mais variadas investigações no campo da malária, voltadas principalmente à região Amazônica brasileira.

A partir de 1981, o Instituto Evandro Chagas – Fundação SESP, iniciou o Programa Malária, objetivando a caracterização do *P. falciparum*, cobrindo, portanto, uma lacuna nas investigações levadas a efeito no país. Esta iniciativa contou com a participação do Dr. Virgílio E. do Rosário, responsável pela implantação do Programa, com o apoio do CNPq e OMS/TDR.

Para o desenvolvimento dessas pesquisas foi inicialmente necessário a implantação da técnica do cultivo *in vitro* com base no método clássico de Trager & Jensen (1976), o que permite a manutenção e crescimento dos parasitas, possibilitando a obtenção da quantidade necessária para a realização das técnicas laboratoriais envolvidas no processo de caracterização.

Três métodos foram selecionados para a análise das características do *P. falciparum*:

1. Análise enzimática através da eletroforese em acetato de celulose, com base no método de Carter (1973) para seis enzimas: GPI, ADA, PEP, LDH, GDH e PGD.
2. Análise antigênica através de anticorpos monoclonais em imunofluorescência indireta, conforme método descrito por McBride (1981).
3. Análise da suscetibilidade a drogas em microtestes baseado no método de Rieckmann (1978) para cloroquina, mefloquina, quinino e amodiaquina.

No período de 1981 a 1982 foram coletados 164 cepas e submetidas a análises preliminares, fase de implantação e adaptação das técnicas laboratoriais. Já de 1983 a 1986, foram coletadas 352 cepas oriundas de diversas localidades da região Amazônica, destas, 180 foram caracterizadas, utilizando-se os marcadores já mencionados.

O perfil enzimático das cepas brasileiras mostrou variações de tipos enzimáticos apenas para as enzimas GPI, ADA e PEP (1,2).

Identificou-se grande diversidade antigênica para a

maioria dos anticorpos testados. Para o anticorpo 3A10/11, produzido na Austrália, e o grupo de anticorpos 6.1, 7.3, 7.6 e 12.2, produzidos em Edinburg, foi predominante a reação negativa (2,4,5).

Nos testes de sensibilidade às drogas, observou-se que para cloroquina quase a totalidade das amostras (83%) foi resistente, enquanto que para mefloquina todas as amostras testadas até 1984 foram sensíveis. Entretanto, nos testes realizados a partir de 1985, observou-se a emergência de cepas resistentes para essa droga. Para amodiaquina e quinino houve um certo equilíbrio entre cepas sensíveis e resistentes (2,6).

A análise das características do *P. falciparum* por área geográfica, permitiu a comprovação da ocorrência de parasitos distintos, constituindo populações mistas coexistindo na mesma cepa. Essas observações induziram à caracterização de amostras isoladas de um mesmo paciente, o qual não respondeu a um ou mais tratamento (3).

Três casos de pacientes recrudescentes do Projeto Mefloquina – SUCAM – Hospital Barros Barreto foram estudados (FRL, PPS e APJ). Estes pacientes foram mantidos internados durante o curso das investigações, não havendo possibilidades de uma nova infecção. Este estudo nos permitiu supor que as características reveladas posteriormente estavam presentes no início da infecção, e que a população original era constituída por parasitos distintos, portanto por vários clones.

Pela confirmação da ocorrência de cepas mistas, detectadas pelos métodos de caracterização, foi aplicada a técnica da clonagem, utilizando-se o método das diluições sucessivas; Rosário (1981), o que permite a separação individual de parasitos de uma cepa, obtendo-se assim populações geneticamente homogêneas.

Três cepas foram clonadas, IEC 132/83, IEC 145/83 e IEC 54/83. Dos clones obtidos, 3 (C,E,F); 5 (12, 13, 77, 22, 30) e 4 (3, 11, 12, 14) respectivamente, foram caracterizados o que permitiu melhor identificar a constituição da cepa original.

Paralelamente ao estudo da caracterização de cepas de *P. falciparum* estão sendo desenvolvidas outras linhas de pesquisa:

1. Adaptação de *P. falciparum* (clones) em hemácias de primatas do gênero *Saimiri*, trabalho iniciado

---

Instituto Evandro Chagas – FSESP – Programa Malária

em colaboração com a Dra. Antoniana Kretli e Dra. Eliana Rocha – Instituto René Rachou, Belo Horizonte-MG.

2. Tentativas de adaptação de *P. brasilianum* ao cultivo contínuo *in vitro*, em colaboração com a Dra. Mércia Arruda – FIOCRUZ – Rio de Janeiro, RJ e Dr. José Augusto Muniz – Centro Nacional de Primatas – FSESP, Belém-PA.
3. Tentativas de adaptação do *P. vivax* ao cultivo contínuo *in vitro*, trabalho iniciado em colaboração com Dr. Virgílio E. do Rosário – Biomedical Research – Institute – Maryland, USA.

Após o processamento, as cepas foram criopreservadas em nitrogênio líquido, objetivando formação de um banco de cepas caracterizadas. O Programa detém cerca de 300 amostras criopreservadas, o que permitirá sua utilização posterior.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COUTO, A.; et alii – Análise enzimática de 56 amostras de *Plasmodium falciparum* da Bacia Amazônica. *Rev. Brasil. de Malariol. e Doenças Tropicais*, **35**: 11-19, 1983.
2. ROSÁRIO, V.E. – Caracterização de cepas de *P. falciparum* do Brasil. *Rev. FSESP*, **28** (2): 115-136, 1983.
3. ROSÁRIO, V.E. et alii – Caracterização de cepas de *Plasmodium falciparum* coletadas de pacientes recrudescentes. *Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo*, **27** (5): 274-278, 1985.
4. SCHOFIELD, L.; et alii – A specific S – Antigen of *Plasmodium falciparum* is expressed in a proportion of primary isolates in Brazil, Thailand and Papua New Guinea. *Trans. of The Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, **79**: 493-494, 1985.
5. THAITHON, S.; et alii – Clonal diversity in a single isolate of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Trans. of The Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, **78**: 242-245, 1984.
6. VASCONCELOS, M.A. & ROSÁRIO, V.E. – Testes de sensibilidade *in vitro* de amostras de *Plasmodium falciparum* da Bacia Amazônica (Brasil). *Rev. Bras. Malariol. e Doenças Trop.*, **35**: 21-28, 1983.