



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**

**ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**TESE DE DOUTORADO**

**EFICIÊNCIA DA FITA DE NITROGÊNIO DA UREIA SALIVAR NO  
DIAGNÓSTICO NA LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM MALÁRIA  
EM ANGOLA**

**DOUTORANDO: EUCLIDES NENGA MANUEL SACOMBOIO**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. ROBERTO PECOITS FILHO**

**CO-ORIENTADORA: Dr<sup>a</sup>. VIVIANE CALICE DA SILVA**

**CURITIBA**

**2017**

EUCLIDES NENGA MANUEL SACOMBOIO

EFICIÊNCIA DA FITA DE NITROGÊNIO DA UREIA SALIVAR NO DIAGNÓSTICO  
NA LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM MALÁRIA EM ANGOLA

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Orientador: Prof. Dr. Roberto Flávio Silva Pecoits Filho.

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Viviane Calice da Silva

CURITIBA

2017

**Curitiba, 06 de Abril de 2017**

**||**

Dados da Catalogação na Publicação  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR  
Biblioteca Central  
Pamela Travassos de Freitas – CRB 9/1960

S122e  
2017 Sacomboio, Euclides Nenga Manuel  
Eficiência da fita de nitrogênio da ureia salivar no diagnóstico na lesão renal aguda em pacientes com malária em Angola / Euclides Nenga Manuel Sacomboio ; orientador: Roberto Flávio Silva Pecoits Filho ; co-orientadora: Viviane Calice da Silva. – 2017.  
65, [4] f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,  
Curitiba, 2017  
Bibliografias: 57-65

1. Ciência da saúde. 2. Creatinina. 3. Diagnóstico. 4. Lesão renal aguda.  
5. Malária. 6. Nitrogênio. I. Pecoits Filho, Roberto Flávio Silva. II. Silva,  
Viviane Calice da. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.  
Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDD 20. ed. – 610



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Escola de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE TESE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE DOUTORADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.**

Aos 06 dias do mês de abril de 2017, realizou-se a sessão pública de defesa de tese, "EFICIÊNCIA DA FITA DE NITROGÊNIO DA UREIA SALIVAR (SUN) NO DIAGNÓSTICO NA LESÃO RENAL AGUDA (LRA) EM PACIENTES COM MALÁRIA EM ANGOLA" apresentado por **Euclides Nenga Manuel Sacomboio** para obtenção do título de Doutor; Área de Concentração: Medicina e áreas afins.

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Roberto Flávio Silva Pecoits-Filho (PUCPR)	
Profª. Drª. Andrea Novais Moreno do Amaral (PUCPR)	
Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon (PUCPR)	
Profª. Drª Elizabeth Daher (UFC)	
Prof. Dr. Gláucio Valdameri (UFPR)	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Roberto Flávio Silva Pecoits-Filho

Conceito: Aprovado

Profª. Drª. Andrea Novais Moreno do Amaral

Conceito: APROVADO

Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon

Conceito: Aprovado

Profª. Drª Elizabeth Daher

Conceito: APROVADO

Prof. Dr. Gláucio Valdameri

Conceito: Aprovado

Parecer Final:  Aprovado

Observações da Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Roberto Flávio Silva Pecoits-Filho  
Presidente da Banca Examinadora

Profª. Drª. Cristina Pellegrino Baena  
Coordenadora do PPGCS em Ciências da Saúde  
Escola de Medicina - PUCPR

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me dar saúde, força de vontade, coragem e guiar meus passos em todas as caminhadas e fazer com que todos os meus planos se tornem realidades concretizadas.

A toda minha família em geral, irmãos, irmãs, tios, tias, primos e primas em especial a minha estimada mãe Adelina Mafumbo e o meu padrasto Carlos Ferreira por me incentivarem e orientarem em todas as vezes que me senti sozinho e longe de casa e por estarem sempre comigo embora em outro continente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Flávio Silva Pecoits Filho, pela orientação neste trabalho, pelos ensinamentos, pela dedicação, pela paciência e pela confiança depositada mesmo sabendo que seria um percurso difícil para mim já que este era um assunto no qual eu tinha pouco ou quase nenhum conhecimento.

A coordenação e professores do programa de pós-graduação em Ciências da Saúde em especial a professora Andreia Moreno, a Viviane Cálice Silva e nossa estimada secretária Jane Dominica, por toda a atenção e o carinho prestado durante estes anos de curso, e também os professores do grupo de pesquisa clínica do hospital Nossa Senhora da Luz por todo o acompanhamento durante minha estadia por lá.

A minha noiva Filomena Filho, as minhas filha Laudeline e todos os amigos e colegas do laboratório pelos momentos compartilhados e pela amizade durante esses todos esses períodos de estudo.

Aos colegas dos outros laboratório, a Irene e a Elaine pela disponibilidade, paciência e ajuda em todos os momentos que necessitei.

A todos os meus amigos do Brasil e de Angola que sempre dão aquele incentivo, elogiam e torcem para que tudo possa dar certo.

A Universidade Agostinho Neto em geral e em particular ao Instituto Superior de Ciências de Saúde por me ter dispensando para formação acadêmica.

Ao Capes, CNPq e ao ISN pela bolsa de estudos e pelo financiamento do projeto de doutorado.

## **EPÍGRAFE**

**A SABEDORIA É SABER O QUE SE DEVE  
FAZER; A VIRTUDE É FAZÊ-LO. POIS  
NINGUÉM É TÃO GRANDE QUE NÃO  
POSSA APRENDER, NEM TÃO PEQUENO  
QUE NÃO POSSA ENSINAR. PORQUE  
AQUELE QUE PARECE SÁBIO ENTRE OS  
TOLOS, PARECE TOLO ENTRE OS  
SÁBIOS.**

**DAVID STARR JORDAN**

**EDUCADOR, ESCRITOR E  
NATURALISTA NORTE-AMERICANO  
(1851-1931)**

## SUMÁRIO

	PÁGINAS
<b>LISTA DAS FIGURAS</b> _____	VII
<b>LISTA DAS TABELAS</b> _____	VIII
<b>ABREVIATURAS</b> _____	IX
<b>RESUMO</b> _____	X
<b>ABSTRACT</b> _____	XI
<b>1.INTRODUÇÃO</b> _____	12
<b>1.2.MALARIA</b> _____	19
<b>1.2.1. Epidemiologia da Malária no mundo</b> _____	19
<b>1.2.2. Diagnóstico da malária</b> _____	20
<b>1.2.2.1 Técnica para o preparo, processamento e leitura da gota espessa</b> _____	20
<b>1.2.4. Tratamento da malária</b> _____	26
<b>1.3. O RIM</b> _____	27
<b>1.3.1. Doença renal na malária</b> _____	27
<b>1.3.2. Insuficiência renal aguda</b> _____	28
<b>1.3.3. Classificação da insuficiência renal aguda</b> _____	29
<b>1.3.4. Uso de ureia no diagnóstico da função renal</b> _____	31
<b>1.3.5. Nitrogênio de Ureia Salivar (SUN)</b> _____	32
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> _____	34
<b>3.OBJETIVOS</b> _____	35
<b>4. METODOLOGIA</b> _____	36

<b>5. RESULTADOS</b>	<b>40</b>
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>54</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>55</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICE</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## LISTA DE FIGURAS

	PÁGINAS
FIGURA 1. DISTRIBUIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA MALÁRIA NO MUNDO (CDC-USA, 2008)_____	20
FIGURA 2. CICLO DE VIDA DO PLASMÓDIO (BRASIL, 2005)_____	23
FIGURA 3. PATOGÊNESE DA NEFROPATIA DA MALÁRIA POR PLASMODIUM FALCIPARUM (ELSHEIKHAET AL., 2007)_____	29
FIGURA 4. CLASSIFICAÇÃO PATOFISIOLÓGICA DA LESÃO RENAL AGUDA (LRA) (SANDERS E AGARWAL, 2010)_____	30
FIGURA 5. CRITÉRIOS DE LRA (RIFLE E AKIN) (SINGBARTL e KELLUM, 2012 modificado)_____	37
FIGURA 6. FRASCO DE FITAS SUN_____	37
FIGURA 7. FLUXOGRAMA DE PACIENTES INTERNADOS POR MALÁRIA_	38
FIGURA 8. DISPERSÃO DE RESULTADOS DE SUN SOBRE BUN_____	42
FIGURA 9. CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE SUN/BUN/SCr _____	43
FIGURA 10. CAPACIDADE DIAGNOSTICA DE SUN (PELA CURVA ROC)_____	44

## LISTA DAS TABELAS

	PÁGINAS
TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DE LRA DE ACORDO COM A KDIGO _____	31
TABELA 2. DADOS SÓCIO DEMOGRÁFICOS _____	40
TABELA 3. DADOS DE PARASITEMIA EM RELAÇÃO AOS RESULTADOS SUN _____	41
TABELA 4. DISTRIBUIÇÃO DE SUN POR GRAU DE ESTADIAMENTO DA LRA _____	45
TABELA 5. DISTRIBUIÇÃO DE SUN DE ACORDO COM OS DESFECHOS _____	46

## LISTA DAS ABREVIATURAS

AKI = *acute kidney injury*

BUN= nitrogênio de ureia sanguínea

CKD= *chronic kidney diseases*

DNA= *desoxirribonucleic acid*

DRA = doença renal aguda

DRC= doença renal crônica

IRA = insuficiência renal aguda

LRA = lesão renal aguda

mg/dL =miligrama por decilitro

mL = mililitro

NTA= necrose tubular aguda

OMS = organização mundial da saúde

P2RHPf = proteínas 2 ricas em histidina de *Plasmodium falciparum*

PCR= reação de polimerização em cadeia

PNCM= programa nacional de combate à malária.

ROC= *Receiving operator curve*

RuAP = receptor de tipo-uroquinase ativador de plasminogênio

SIDA= síndrome de imunodeficiência adquirida

SDRA = síndrome do desconforto respiratório agudo

SLR = sem lesão renal

SNC= sistema nervoso central

SUN = nitrogênio de ureia salivar

suPAR=

TRS= terapia renal substitutiva

TFG = taxa de filtração glomerular

VIH ou HIV= vírus da imunodeficiência humana

## RESUMO

**Introdução:** a malária foi a primeira causa de mortalidade, morbidade e de absentismo laboral e escolar, em 2016 em Luanda. A lesão renal aguda (LRA), é uma das complicações mais graves da malária, identificada como um preditor independente de mortalidade em crianças e adultos atingindo uma taxa de letalidade de 75% nos adultos. A fita de nitrogênio urêico salivar (SUN) tem sido proposta como método para identificação de pacientes com LRA em áreas com limitação em recursos diagnósticos. **Objetivo:** foi investigar a eficiência de SUN no diagnóstico de LRA em pacientes com malária. **Metodologia:** o desenho do estudo consistiu em um estudo longitudinal, prospectivo e observacional realizado em pacientes internados por malária com suspeita de LRA. Medições simultâneas de SUN, de nitrogênio urêico sanguíneo (BUN) e de creatinina sérica (sCreat) foram realizados diariamente desde a admissão por até 4 dias de seguimento. **Resultados:** A população estudada consistiu maioritariamente 85% de crianças, adolescentes e adultos jovens com idade entre 11 a 30 anos; e do sexo masculino em 71% dos casos. SUN foi capaz de detectar alterações na função renal, entretanto subestimou valores de BUN ao longo dos dias de acompanhamento. A severidade da disfunção renal pareceu estar associada ao grau de infecção, já que a maioria dos pacientes (65%) com SUN acima de 35mg/dL apresentaram parasitemia acima de 20 parasitas por campo, a capacidade diagnóstica de SUN (AUC ROC 0,88(IC 95% 0,80-0,96)) mostrou similaridade com BUN (AUC ROC 0,92 (IC 95% 0,86-0,99)) e creatinina (AUC ROC 0,96( IC 95% 0,89-1,00)) e permitiu identificar 58% dos pacientes sem lesão renal, 29% dos pacientes que apresentaram LRA1, LRA2 e LRA3 e 13% com critérios para classificação de doença renal aguda (DRA) não alocados nos estágios 1, 2 e 3 (KDIGO). **Conclusão:** neste estudo SUN se mostrou um método eficiente e simples, que pode ser aplicado à beira do leito, permitindo monitorização da função renal em pacientes com malária especialmente em áreas de recursos diagnósticos limitados.

Palavras chaves: malária, lesão renal aguda, nitrogênio de ureia salivar (SUN), nitrogênio de ureia sanguínea (BUN), creatinina sérica, método de fita reagente.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Malaria was the leading cause of death, morbidity and absenteeism in school and work, in 2016 in Luanda. Acute kidney injury (AKI) is one of the most serious complications of malaria, identified as an independent predictor of mortality in children and adults reaching a 75% mortality rate in adults. **Objective:** to investigate the efficiency of SUN in the diagnosis of AKI in patients with malaria. **Methodology:** the study design consisted of a longitudinal, prospective and observational study performed in patients hospitalized for malaria with suspicion of AKI. Simultaneous measurements of SUN, blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (sCreat) were performed daily from admission for up to 4 days of follow-up. **Results:** The studied population consisted of 85% of children, adolescents and young adults aged 11 to 30 years; and males in 71% of cases. SUN was able to detect changes in renal function, however, it underestimated BUN values over the follow-up days. The severity of renal dysfunction appeared to be associated with the degree of infection, since the majority of patients (65%) with SUN above 35mg/dL had parasitemia above 20 parasites per field, the diagnostic capacity of SUN (AUC ROC 0.88 (95% CI 0.80-0.96)) showed similarity to BUN (AUC ROC 0.92 (95% CI 0.86-0.99)) and creatinine (AUC ROC 0.96 (95% CI, 89%) and allowed to identify 58% of the patients without renal injury, 29% of the patients presenting with AKI, LRA2 and AKI3 and 13% with criteria for the classification of acute renal disease (ARD) not allocated in stages 1, 2 and 3 (KDIGO). **Conclusion:** In this study SUN was shown to be an efficient and simple method, which can be applied at the bedside, allowing monitoring of renal function in patients with malaria especially in areas with limited diagnostic resources.

Keywords: malaria, acute renal injury, salivary urea nitrogen (SUN), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, reagent tape method.

# 1. INTRODUÇÃO

A malária é conhecida desde a era pré-cristã, mencionada pela primeira vez por Hipócrates que a descreveu pelas suas características e ocorrência sazonal como uma febre paroxística de padrão intermitente, posteriormente passou a ser conhecida também como malária febril, paludismo, febre intermitente, febre terçã benigna, febre terçã maligna, febre quartã e febre de agitação ou mistura e até o século XVIII não eram conhecidas como era sua forma de transmissão e sua etiologia, sendo sua causa atribuída ao "miasma" (emanações de pântanos). Os termos malária ``mal arie'' em italiano, e paludismo "Pallus", que significa água estagnada em francês surgem no século XIX, para designar a doença e esses termos são usados até hoje<sup>1</sup>.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a malária afeta 500 milhões de pessoas por ano, ainda continua endêmica em 107 países e territórios em todo o mundo, matando entre dois a três milhões de pessoas por ano, especialmente em países tropicais e subtropicais que se encontram ao sul do deserto do Saara, Sudeste da Ásia, da América Latina e do Caribe, com mais particularidade para aqueles países que se encontram na região da bacia do Amazonas, onde é muito favorável a prevalência do plasmódio devido a existência de características ambientais específicas que favorecem a reprodução natural dos vetores da doença<sup>2</sup>.

A malária é uma enfermidade sistêmica não contagiosa que apresenta manifestações episódicas, de evolução aguda e crônica, é uma doença infecciosa causada por um protozoário de escala zoológica classificado no reino filo Protozoa, classe Plasmodiidae da família Sporozoa, gênero *Plasmodium*. Até momento já foram descritas quatro espécies de *Plasmodium* causadores da malária: *Plasmodium vivax*; *Plasmodium malariae*; *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium ovale*, o último é de transmissão autóctone e restrito a algumas regiões da África<sup>3,4</sup> e hoje é conhecido uma nova espécie *P. knowlesi* reconhecido como a quinta espécie que pode causar a malária humana<sup>7</sup>.

A doença em humanos é adquirida através da picada do mosquito fêmea Anopheles que é um vector artrópode, apenas elas necessitam se alimentar de sangue como nutrientes para o desenvolvimento e maturação dos ovos. Charles Louis Alphonse Laveran na Argélia no final do século XIX (1881), descobriu a presença do parasita da malária no sangue humano e a chamou originalmente por *Oscillaria malariae*<sup>8,9</sup>.

O médico britânico Ronald Ross que trabalhando na Índia, em 1897 elucidou o modo de transmissão das formas parasitárias da malária em mosquitos, abrindo esclarecimentos definitivos do agente causador da malária na história da protozoologia<sup>7</sup>.

Grassi, Bignami e Bastianelli demonstraram entre 1898 a 1899, que o ciclo sexual do plasmódio em *Anopheles* consistia de três formas e assim demonstraram este grupo de mosquitos eram importantes na epidemiologia da malária. No início do século XX (1937), James Tate que trabalhou com esporozoítos de *Plasmodium gallinaceum* e mostrou como ele invade as células sanguíneas pela picada dos mosquitos e não entram diretamente nos eritrócitos, mas introduz o chamado de ciclo pré-eritrocitário em tecidos curtos, Garnham em 1948, descobriu que os estágios pré-eritrocitários de plasmódios humanos passam pelos hepatócitos<sup>7,10</sup>.

Cerca de 90% de todas as mortes por malária no mundo de hoje ocorrem na África ao sul do Saara, e a maioria dessas infecções no continente Africano são causadas por *Plasmodium falciparum*, considerado o parasita mais perigoso dentre as quatro espécies dos parasitas da malária humana, além disso a região possui o vetor mais eficaz, o mosquito mais difundido na África é o *Anopheles gambiae*, é também o mais difícil de controlar. A estimativa é que um milhão de pessoas na África morrem por malária a cada ano e a maioria deles são crianças menores de 5 anos de idade<sup>7</sup>. O número de casos notificados pela OMS aumentou e acreditasse que ainda assim pode ser subestimado, já que atualmente, centenas de milhões de pessoas vivem em áreas endêmicas de malária, sendo estimado um total de 500 milhões de casos, dos quais 250 milhões são causados pelo *P. falciparum*, e a mortalidade estimada no mundo é de cerca de 2,5 milhões, cerca de um milhão dos casos ocorre na África tropical<sup>5,9</sup>.

Angola está situada na costa ocidental da África Austral, a sul do Equador, entre os paralelos 4° 22' e 18° 02', está limitado a norte pela República do Congo Brazaville e República Democrática do Congo, a leste pela Zâmbia, a sul pela Namíbia e a oeste pelo Oceano Atlântico, abrangendo ainda a Província de Cabinda, situado a norte, entre o Congo-Brazaville e a República Democrática do Congo, é o sexto maior país de África, contendo uma área de cerca de 1.246.700 km<sup>2</sup>, 1.650 km de costa e uma fronteira terrestre de 4.837 km, <sup>11,12,13</sup>.

Em 2014 estimou-se que a população de Angola eram em cerca 24.056.072 habitantes, sendo composto por 95,6% de pessoas de raça negra, cerca de 2% mestiço (miscigenação entre europeus e africanos), 1,4% Chineses e 1% Europeus<sup>11,12,13,14</sup>.

O quadro epidemiológico desse país é caracterizado por doenças transmissíveis e parasitárias com destaque para as grandes endemias, como malária, VIH/SIDA e tuberculose e as doenças tropicais negligenciadas, como tripanossomose humana Africana, filaríoses e geo-helmintoses<sup>13,14</sup>.

Apresentam-se também com destaque as doenças imunopreveníveis, como o sarampo, as doenças respiratórias agudas e as doenças diarreicas agudas, a desnutrição é também um importante problema de saúde, relacionado a questões de segurança alimentar e ao impacto das doenças transmissíveis, mas as doenças crônicas não transmissíveis hoje começam também a surgir como uma importante preocupação no perfil nosológico do país, a par dos traumatismos ligados a acidentes de viação<sup>11</sup>.

A malária é um problema de saúde pública em Angola e ainda é a primeira causa de mortalidade, morbidade e de absentismo laboral e escolar, tendo como principais vítimas mulheres grávidas e crianças menores de cinco anos, representando cerca de 35% da demanda por atendimentos de saúde, 20% dos internamentos hospitalares, 40% das mortes perinatais e 25% da mortalidade materna<sup>11,13</sup>. A lesão renal aguda (LRA) é considerada um preditor independente de morte em crianças e adultos acometidos pelo *Plasmodium falciparum*, cuja taxa de letalidade em adultos é 75%<sup>5,13,14</sup>.

A incidência de LRA em pacientes com malária grave varia entre os estudos, chegando próximo a 40% em adultos e 10% em crianças com menos de cinco anos<sup>10</sup>. Tanto fatores pré-renais (hipovolemia) e fatores intrínsecos podem contribuir para as lesões renais em dois terços dos adultos levando a anúria ou oligúria<sup>10,12</sup>.

Em 2010 foram diagnosticados aproximadamente 3,7 milhões de casos de malária em Angola e em 2016, o surto de malária provocou 850 mortos em Luanda, só nos primeiros três meses do ano, quando o total de casos notificados passou de 400.000<sup>12,13</sup>. Dentre as quatro espécies de *Plasmodium* que causam a doença, são encontradas naquela região o *P. falciparum* que tem sido o mais predominante, responsável por 92% de todos os casos e 6% dos casos ocorrem por *P. vivax*<sup>11,14</sup>.

A maior incidência de casos de malária é observada principalmente durante a estação chuvosa, com um o maior pico entre janeiro e maio<sup>11,12</sup>. Por esses fatores, a malária é uma enfermidade endêmica nesse país, com impactos negativos sobre a saúde da população e também sobre o desenvolvimento social e econômico<sup>13</sup>.

A falta de saneamento e o número ainda insuficiente de serviços de saúde, tem trazido consequências graves na saúde da população devido no que concerne aos casos de malária, e o diagnóstico tem sido um outro problema a exemplo disso é que em 2011 foram registrado mais de 3,5 milhões de casos suspeitos de malária e apenas 45% foram confirmados por diagnóstico laboratorial positivo, outros 55% foram diagnosticados apenas por sinais e sintomas e receberam o tratamento, com uma taxa de mortalidade nesse ano de 7.000 mortes e aproximadamente 4.000 (57%) eram crianças menores de cinco anos<sup>11,15</sup>.

O Programa Nacional Controle da Malária (PNCM), entre 2002 e 2004 realizou estudos de eficácia terapêutica relativos à cloroquina, amodiaquina, sulfadoxina pirimetamina e as combinações com base na artemisinina respectivamente, amodiaquina e artemisinina, e lumefantrina e artemether, e com isso adotou em 2010 a orientação da OMS para o uso de antimaláricos em combinação com artemisinina<sup>5,11</sup>.

Estudos que visam fazer a compreensão dos mecanismos subjacentes imunopatológicos de LRA em pacientes com malária grave pode revelar alternativas, orientações e novas opções de tratamento para evitar esta complicação comum e que aumenta muito o risco de vida dos pacientes<sup>17,18</sup>.

Dentre os fatores intrínsecos, o sequestro do parasita e ativação do sistema imune podem ocorrer na LRA em pacientes com malária grave, por isso um diagnóstico precoce e um tratamento com antimaláricos à base de artemisinina poderiam eliminar rapidamente parasitas anel-encenado e impediria o seu sequestro microvascular em órgãos vitais, incluindo o rim<sup>17,19</sup>.

A LRA é uma das várias condições que afetam a estrutura e as funções dos rins, por se tratar de uma diminuição abrupta da função renal que inclui a falência renal aguda, mas não está limitada a ela, e engloba várias etiologias incluindo doenças renais específicas (como nefrite intersticial aguda, doenças renais glomerulares e vasculíticas agudas); condições não específicas (como isquemia, lesão tóxica); bem como patologia extrarenal (por exemplo, azotemia pre-renal e nefropatia obstrutiva pós-renal aguda) e que mais de uma dessas condições pode coexistir no mesmo paciente e o mais importante, a evidência epidemiológica suporta a noção de que mesmo a LRA leve reversível tem consequências clínicas importantes, incluindo um risco aumentado de morte<sup>19,20</sup>.

Vários marcadores de lesão renal têm sido estudados em pacientes com malária, como é o caso do aumento nas concentrações plasmáticas de proteínas 2 ricas em histidina de *Plasmodium falciparum* (P2RHPf) que permite estimar a massa total do *P. falciparum* no organismo, incluindo a biomassa

sequestrada que faz com que haja obstrução do fluxo microcirculatório em órgãos vitais também tem sido estudado como um fator que favorece o comprometimento do rim durante a infecção por malária<sup>21</sup>.

Há também a hipótese de que a necrose tubular aguda (NTA) poderia ser causada pelo sequestro do parasita observado nas células vermelhas parasitadas do sangue e pelo acúmulo de células mononucleares em ambos os capilares glomerulares e peritubulares, entretanto, a contribuição relativa de cada um destes mecanismos na fisiopatogenia da LRA não pode ser avaliada a partir de estudos *post-mortem*.<sup>21,22,23</sup>

Os níveis de expressão sistêmica do receptor de tipo uroquinase ativador de plasminogênio (RuAP) de superfície celular, tem sido proposto como um marcador da ativação imunitária através da modulação de adesão de células mononucleares e de sua migração, expressa em vários tipos de células incluindo linfócitos, monócitos ativados, macrófagos, neutrófilos, células endoteliais vasculares, e podócitos renais<sup>24,25</sup>. A lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (LAGN ou NGAL) que é secretado predominantemente em células tubulares renais danificadas antes da ativação de neutrófilos, tem sido um marcador precoce de dano de células tubulares renais e é mais confiável que a creatinina, uma vez que é menos dependente de fatores pré-renais e em regiões endêmicas, a NGAL urinária mostrou aumentar com o aumento da gravidade da LRA na malária grave<sup>18,19,26,27</sup>.

Em países em desenvolvimento a LRA na maioria das vezes é uma doença dos jovens, sua etiologia é majoritariamente dependente da localização geográfica e pode ser secundária a infecções como é o caso da malária, da leptospirose e dengue, mas também pode ocorrer por envenenamento (cobras ou artrópodes), como pode também pode estar sujeita a variações sazonais<sup>28,29,30,31</sup>.

Nos países desenvolvidos, a predominância é maior em pacientes idosos, que na maioria dos casos são tratados em centros médicos grandes e especializadas e mais de 20% dos casos LRA recebem assistência em ambiente de terapia intensiva<sup>32</sup>. A lesão renal aguda (LRA) independentemente de sua origem etiológica, pode ser causada por diferentes mecanismos e apresenta grande incidência com uma elevada taxa de morbidade e mortalidade de pacientes em todo mundo<sup>29</sup>.

Apesar do progresso tecnológico e científico no domínio dos métodos de diagnóstico de lesão renal aguda (LRA), sua incidência continua apresentando dados elevados, particularmente em países em desenvolvimento onde há pouca ou nenhuma infraestrutura, sua etiologia difere entre países desenvolvidos e países em desenvolvimento<sup>33,34</sup>.

Nos países em desenvolvimento, outras causas importantes de LRA também incluem a desidratação, choque, nefrotoxicidade por medicamentos e nefropatias obstrutivas e todos esses efeitos fisiopatológicos podem estar presentes nas infecções por malária, suas complicações e ou tratamento, resultando em altas taxas de mortalidade de pacientes afetados. Além desse fato, há supostamente um grande número de casos de LRA decorrentes de malária, que podem ser tratadas com sucesso se a lesão renal for detectada logo após o diagnóstico de malária<sup>23,44,33,34</sup>. Isso faz com que haja uma necessidade de uma ferramenta que permitam a avaliação da função renal logo após o diagnóstico de infecção por malária, que possa ser aplicada de forma simples, seja barata e que não necessite de métodos laboratoriais para o resultado<sup>32</sup>.

A função renal pode ser avaliada por vários métodos, tais como a quantificação de depuração de inulina (considerado como o método de referência de capacidades de depuração do rim), mas também pelo cálculo do clearance de creatinina com amostras de sangue e urina de 24 horas. Pode ser avaliada ainda por estimativas baseadas na creatinina sérica associados com os dados antropométricos e demográficas (tais como a idade, sexo, raça). Exemplos bem estabelecidos de avaliação de função renal estimada, validados amplamente na doença renal crônica, são as equações de estimativa de clearance de creatinina (Crockcroft-Gault) e da filtração glomerular (MDDR (Modificação da Dieta na Doença Renal) e CKD-EPI)<sup>35,36,37,38,40</sup>.

No entanto, todos esses métodos de diagnóstico de lesão renal exigem uma mínima estrutura laboratorial e coleta de sangue<sup>34,39</sup>. Atualmente, a avaliação de lesão renal aguda é amplamente feita a partir da creatinina sérica e do volume urinário e tem sido usado na classificação descrita pelo KDIGO e AKIN. Este método permite a estratificação da LRA e está associada a um maior risco de início de diálise, maior tempo de hospitalização e maior mortalidade<sup>20,41</sup>. Apesar de limitações no uso da ureia sérica como marcador de função renal na LRA, dada a interferência da dieta, presença de sangue no trato digestivo e catabolismo proteico, seu uso pode ser importante no contexto de simplicidade diagnóstica. A ureia está presente em vários fluidos corporais e em secreções exócrinas, tais como saliva, lágrimas e suor<sup>33,34</sup>, e há um crescente interesse no uso destas mensurações em fluidos corporais para testes rápidos e simples de diagnóstico de múltiplas patologias. Os níveis de nitrogênio urêmico salivar pela fita (SUN) e níveis de nitrogênio urêmico sérico (BUN) tem sido correlacionado em indivíduos saudáveis e em pacientes com doença renal crônica (DRC) em estágio 1 a 5 D e mostraram um alto coeficiente de correlação entre 0,86 e 0,98. Análises da curva de características operacionais (ROC) revelam um bom desempenho diagnóstico como refletido por uma área sob a curva ROC entre 0,85 e 0,90<sup>33,34,42,43,44</sup>.

Recentemente, o teste de nitrogênio urêmico salivar (SUN) foi usado em um estudo transversal piloto para o diagnóstico de LRA e os resultados demonstraram alta sensibilidade (0,91) e valor preditivo negativo (0,97), esses resultados permitiram diagnosticar LRA do estágio 3 (AKIN 3) que é considerado o grau mais severo da doença, quando o paciente precisa ser encaminhado para o tratamento imediato<sup>35</sup>. Além desse fato, a fita oferece vantagens por sua natureza não invasiva e por não precisar ser feito em laboratório clínico e nem necessitar de pessoal treinado para a realização do teste<sup>33,34</sup>.

As desvantagens deste instrumento consistem principalmente no microbioma da cavidade oral que podem interferir nos resultados, já que alguns micro-organismos da flora oral produzem uréase, que cliva a ureia e falsamente reduz o nitrogênio urêmico salivar (SUN) o que pode induzir a resultados falsos negativos, atrasando o tratamento. O resultado da fita é obtido pelas alterações de pH, depois da aplicação da saliva sobre o *test-pad*, esse fator também pode ser uma desvantagem devido as alterações do pH durante o dia ou mesmo após diálise, estes podem ser considerados possíveis fatores de confusão para os resultados<sup>45,46</sup>.

No entanto, é possível que esta ferramenta, usados em conjunto com a história médica, sinais e sintomas clínicos, possa ser útil para o diagnóstico da LRA particularmente em situações de triagem durante grandes catástrofes e acompanhamento de pacientes cujo o foco médico é uma infecção como a malária, especialmente em situações de limitações de infraestrutura para diagnóstico com os métodos tradicionais, e em especial em condições onde o diagnóstico rápido pode eventualmente desencadear medidas clínicas que possam reverter o curso da LRA para fases mais graves e irreversíveis<sup>33,34,47</sup>.

O presente estudo foi projetado para avaliar a eficiência e a eficácia diagnóstica da fita reagente de nitrogênio urêmico salivar em diagnosticar lesão renal aguda em pacientes com malária, desenhado de forma longitudinal desde a triagem inicial dos pacientes até a resposta ao início do tratamento durante sua manutenção em serviço especializado para casos de malária em Luanda, Angola, onde a malária representa a maior causa de morbidade e mortalidade e essa ferramenta seria muito útil e valiosa.

## 1.2 MALÁRIA

### 1.2.1 Epidemiologia da Malária no mundo

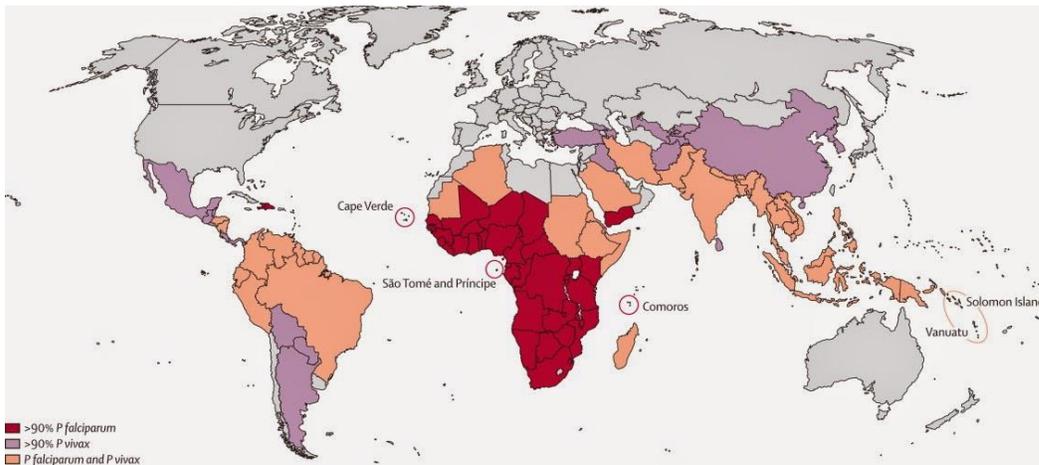
Os parasitas causadores de malária pertencem ao filo Apicomplexa, família Plasmodiidae e ao gênero *Plasmodium*. Atualmente são conhecidas cerca de 150 espécies causadoras de malária em diferentes hospedeiros vertebrados. Destas, apenas quatro espécies parasitam o homem: *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *malariae* e *ovale*. Este último ocorre apenas em regiões restritas do continente africano<sup>48,49</sup>.

Depois dos êxitos alcançados na luta contra essa endemia na década de 60, o problema voltou a agravar-se em muitos países a partir de 1970, em 1998 mais de dois bilhões de pessoas viviam em áreas onde há risco de infecção e 300 a 500 milhões foram parasitados em 1997. A malária continua sendo uma das mais importantes doenças parasitárias, não obstante as medidas de controle e os medicamentos modernos tenham reduzido sua extensão geográfica<sup>49</sup>. Estima-se que o número de óbitos causados anualmente pela malária esteja entre 1,5 e 2,7 milhões<sup>49,50</sup>.

A malária ainda representa um importante problema de saúde pública em mais de 90 países no mundo e cerca de 2400 milhões de habitantes correm o risco de ficar doentes por malária já que vivem nessas regiões endêmicas (cerca de 40% da população mundial), estimando-se cerca de 300-500 milhões de casos clínicos ao ano, 90% dos quais ocorrem na África Subsaariana, com taxas anuais de mortalidade que vão até 2,7 milhões de mortes, com a grande maioria de casos fatais, observada entre crianças de pouca idade na África, particularmente em áreas rurais distantes com acesso limitado ou nenhum acesso à assistência médica,<sup>5,11,49</sup>.

Em países considerados endêmicos por ocorrerem altos índices de transmissão de malária, os mais susceptíveis são as crianças e adolescentes, por isso considerados como as principais fontes de infecção para o mosquito vetor (a fêmea do mosquito *Anopheles*), em laboratório normalmente apresentam níveis de gametócitos circulantes no sangue superiores aos que são observados em indivíduos adultos que já desenvolveram uma certa imunidade ao parasita da malária, os aspectos relacionados com o comportamento de populações residentes em áreas de alta endemicidade também tem um papel relevante na determinação da dinâmica de transmissão, visto que o saneamento básico do meio e os focos de água parada favorecem a reprodução do mosquito <sup>11,49,50</sup>.

## FIGURA 1 – DISTRIBUIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA MALÁRIA NO MUNDO



(CDC-USA, 2008).

### 1.2.2 Diagnóstico da malária

O diagnóstico da malária consiste na identificação do *Plasmodium* e envolve aspectos biológicos, tecnológicos e epidemiológicos para detectar a sua presença durante o tempo de incubação no sangue.<sup>45</sup> O método de diagnóstico de rotina nos estabelecimentos de saúde em muitos lugares do mundo é a microscopia óptica que consiste na visualização microscópica direta do *Plasmodium* em amostras de sangue coletadas em lâminas de vidro e preparada em forma de gota espessa ou esfregaço, cujos resultados são obtidos em 30 minutos após a coleta da amostra, que depois de seca, é corada pelo método de Giemsa ou Walker. Porém o método exige um profissional treinado e experiente especialmente na leitura para o reconhecimento da espécie<sup>1,41,52</sup>. Além do baixo custo, ambas possibilitam quantificar a intensidade do parasitismo, mediante a determinação da parasitemia por volume ( $\mu\text{l}$  ou  $\text{mm}^3$ ) de sangue. Na prática, o método da gota espessa é o mais utilizado, uma vez que a concentração do sangue por campo microscópico favorece o encontro do parasito<sup>1,52,67</sup>.

#### 1.2.2.1 Técnica para o preparo, processamento e leitura da gota espessa

A melhor preparação para o diagnóstico de malária é obtida com amostra de sangue colhida diretamente por punção digital ou venosa sem anticoagulante. Após a coleta, a lâmina deve ser mantida em temperatura ambiente para secagem da gota de sangue para tanto, pode-se também utilizar estufa de 37°C ou lâmpada de 25-40 watts sob placa de vidro<sup>1,67</sup>.

Na prática, a secagem pode ser verificada pelo desaparecimento do brilho da amostra úmida. O sangue colhido com anticoagulante não é indicado para o preparo da gota espessa, por não apresentar boa fixação na lâmina, podendo desprender-se no ato da coloração ou durante a lavagem. Em caso de sangue com anticoagulante, a lâmina deve ser submetida à secagem durante um tempo maior, antes da coloração. O tempo decorrido entre a coleta do sangue e a coloração da amostra não deve ultrapassar três dias, sob o risco de ter sua qualidade prejudicada, haja vista que após esse período a desesmo globinização é dificultada<sup>52,67</sup>.

A primeira fase é a coleta de sangue que deve ser feita da seguinte forma: separar duas lâminas limpas, deixando-as em superfície plana e horizontal; preencher os dados do paciente e do examinador, requeridos no formulário; colocar uma das lâminas sobre a superfície plana e manuseá-la pelas extremidades, evitando tocar as superfícies, de preferência, a lâmina deve estar com etiqueta auto-adesiva para o registro da identificação; a opção alternativa é usar lâmina com extremidade esmerilhada, onde a identificação é feita com lápis; calçar luvas de látex descartáveis; limpar vigorosamente a pele do local de punção (parte lateral do segundo ou terceiro dedo da mão, lóbulo da orelha ou, em lactentes, o dedo grande do pé ou calcanhar) com gaze ou algodão embebido em álcool a 70%; posteriormente, enxugar com gaze ou algodão secos; retirar o estilete (lanceta) do envoltório estéril, segurando-o firmemente, segurar o dedo a ser puncionado entre o polegar e o indicador da mão do operador e puncionar o local de maneira firme e leve; remover a primeira gota de sangue com gaze ou algodão secos; comprimir o dedo suavemente (como em ordenha) para obter outra gota de sangue esférica sobre a pele seca. Cuidar para não tocar o ponto de saída do sangue; segurar a lâmina firmemente pelas bordas da extremidade onde se encontra a etiqueta de identificação, aproximar a lâmina ao dedo do paciente (pela face onde consta a identificação) até tocar o alto da gota de sangue (evitando o contato com a pele). Se a quantidade de sangue for insuficiente, pode-se colocar outra gota ao lado da primeira<sup>1,52,67</sup>.

A segunda fase é o preparo de lâminas para o exame da gota espessa que deve ser da seguinte forma: colocar a lâmina, com a face para cima, na superfície de trabalho. Com o canto e os primeiros 5 mm da borda maior da segunda lâmina, espalhar o sangue formando um retângulo de tamanho e espessura adequados: aproximadamente 1,2 cm<sup>2</sup>, limpar o local puncionado com gaze ou algodão embebido em álcool a 70% e, se necessário, pressioná-lo; secar a lâmina (em temperatura ambiente, ar morno, caixa com lâmpada ou estufa), cuidando para que o sangue não se fixe por calor excessivo; Para iniciar a pré-coloração, esperar até que o sangue esteja totalmente seco. Caso contrário, pode haver perda total de material<sup>1,67</sup>.

A terceira fase é a obtenção de resultado satisfatório na pesquisa de plasmódio pelo exame da gota espessa, onde alguns aspectos devem ser enfatizados quando da confecção da lâmina: o sangue deve estar distribuído o mais homogêneo possível, para que os elementos sanguíneos e os parasitos se disponham de maneira uniforme em toda a amostra; uma gota espessa adequada deve ter de 1 cm<sup>2</sup> a 1,5 cm<sup>2</sup> de superfície, o que aproximadamente equivale a 500 a 800 campos microscópicos, quando se trabalha com aumento de 700 a 800 vezes. Nesse caso, é encontrada uma média de 10 a 20 leucócitos por campo<sup>52,67</sup>.

Vantagens: por concentrar maior quantidade de sangue desmembrado numa área relativamente pequena, a gota espessa aumenta a probabilidade de se encontrar parasitos, o que a torna o método de eleição para o diagnóstico de malária (e de outros hemoparasitos); por ser desmembrada, o processo de coloração é mais rápido, permitindo o processamento de grande número de amostras; a distribuição dos parasitos e leucócitos se dá ao acaso em toda a amostra. Portanto, pode-se avaliar a parasitemia contando-se o número de parasitos em relação a um determinado número de leucócitos<sup>1,67</sup>.

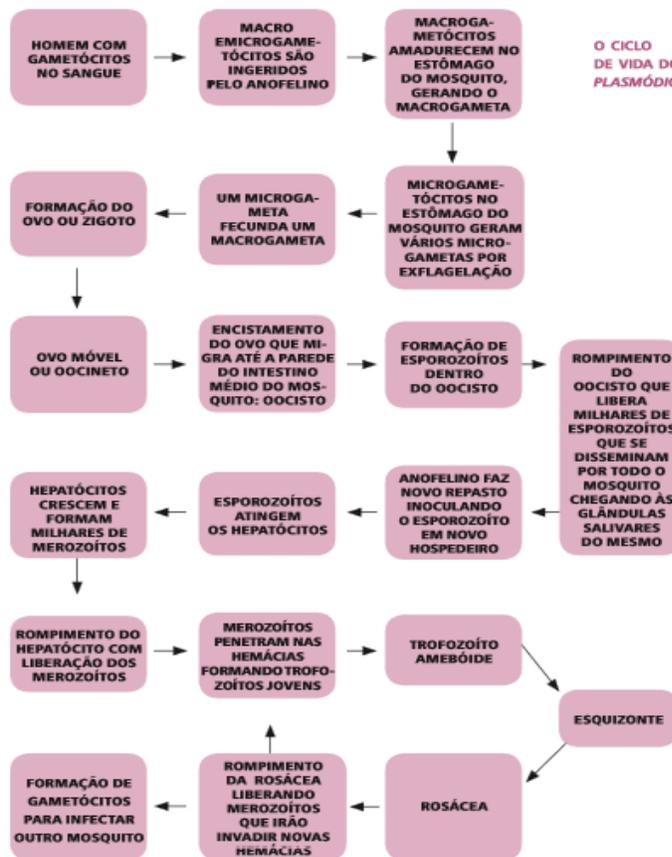
Desvantagens: requer experiência para a identificação de espécies, uma vez que a morfologia do parasito altera-se durante o processo de desmembramento; requer processamento parcial ou total relativamente rápido depois de colhida a amostra, para evitar a fixação de hemoglobina, a supercoloração e a descoloração<sup>67</sup>.

Existem diferentes técnicas para o diagnóstico da malária podendo ser de forma direta e indireta, as técnicas diretas são os exames parasitológicos que evidenciam o parasita ou hemácias parasitadas, em destaque nessa forma de diagnóstico a gota espessa, esfregaço e a microscopia convencional, o primeiro método é o melhor para a detecção da parasitemia a leitura é mais rápida, mas o diagnóstico da espécie é muito mais complicada; o segundo permite a identificação isolada de cada espécie, a terceira permite a identificação da espécie de *Plasmodium* presente na infecção e uma estimativa da densidade parasitária. As técnicas indiretas envolvem aspectos ligados à imunologia (detecção de antígenos plasmodial ou de anticorpos) e à biologia molecular (sondas genômicas)<sup>53</sup>. A realização da hematoscopia é feita com o sangue que pode ser colhido em qualquer veia periférica, não sendo obrigatório na colheita por punção de polpa digital. Existem outros métodos além da hematoscopia que vem sendo desenvolvidos para diagnosticar a malária, entre eles estão a reação de polimerização em cadeia (PCR) como método de detecção de DNA de *Plasmodium* circulante. Contudo, devido ao elevado custo dessa técnica, não é utilizada como rotina para diagnóstico, permanecendo restrita a centros de pesquisa<sup>54</sup>.

### 1.2.3 Características clínico-patológicas da malária

A reprodução sexuada (esporogônica) do parasito da malária ocorre no estômago do mosquito, após a diferenciação dos gametócitos em gametas e a sua fusão, com formação do ovo (zigoto). Este se transforma em uma forma móvel (oocineto) que migra até a parede do intestino médio do inseto, formando o oocisto, no interior do qual se desenvolverão os esporozoítos. O tempo requerido para que se complete o ciclo esporogônico nos insetos varia com a espécie de Plasmodium e com a temperatura, situando-se geralmente em torno de 10 a 12 dias. Os esporozoítos produzidos nos oocistos são liberados na hemolinfa do inseto e migram até as glândulas salivares, de onde são transferidos para o sangue do hospedeiro humano durante o repasto sanguíneo<sup>1,5,7,67</sup>.

**FIGURA 2 – CICLO DE VIDA DO PLASMÓDIO**



(BRASIL, 2005)

A malária afeta um grande número de órgãos e sistemas comprometendo as funções do organismo, devido ao desenvolvimento do parasita no fígado durante seu período de maturação e sua atividade biológica nas células do sangue durante o período de infecção e as principais alterações clínico-patológicas presentes na malária grave estão detalhadas a seguir e abrangem:

**Acometimento do sistema nervoso central (SNC):** a malária cerebral tem ocorrência e frequência variável, atinge entre 0,01% a 16% dos pacientes<sup>55</sup>, sua patogênese é muito complexa e ainda não é completamente elucidada, atualmente duas grandes teorias que tentam explicar a sua ocorrência: a primeira é a teoria mecânica que sugere que o sequestro de hemácias e a consequente obstrução do fluxo cerebral e hipóxia estariam diretamente relacionada com o acometimento cerebral na malária grave e a segunda é a teoria da inflamação que explica a malária cerebral pela intensa resposta imunológica caracterizada pela liberação de citocinas do tipo Th1<sup>57</sup>.

**Anemia grave:** é uma manifestação muito frequente e precoce da malária, onde há a múltiplos fatores envolvidos que incluem destruição ou sequestro dos eritrócitos, alteração da eritropoiese e perda sanguínea decorrente de eventual coagulopatia, é definida como hematócrito menor que 15% ou concentração de hemoglobina inferior a 5g/dl<sup>22,56</sup>.

O alvo principal do *Plasmodium* na espécie humana são os eritrócitos, O *P. vivax* prefere os eritrócitos mais jovens, em especial os reticulócitos, já o *P. falciparum* possui uma moderada predileção por estas células e apresenta uma boa capacidade de infectar hemácias mais velhas. Existe modelos matemáticos que sugerem que a morte prematura de reticulócitos infectados devido à infecção pelo *P. vivax* ao causar a redução no fornecimento de glóbulos vermelhos maduros pode ser suficiente para levar a quadros de anemia extrema por período de vários meses, essa anemia malárica geralmente é normocítica e normocrômica, mas no entanto devido às altas frequências de hemoglobinopatias e deficiência de ferro em países endêmicos ela pode ser microcítica e hipocrômica. Vários estudos demonstram que a anemia é multifatorial, sustentando-se um forte argumento de que a destruição de eritrócitos e eritropoiese ineficaz contribuem fundamentalmente na sua etiologia<sup>21,56,57</sup>.

**Lesão renal:** nas infecções causadas pelo *P. falciparum* as alterações tubulares são mais proeminentes do que as glomerulares e variam desde um acometimento de pequena parte ou mesmo até uma necrose tubular aguda<sup>58</sup>. O principal fator fisiopatogênico da LRA é o efeito das hemácias infectadas na microcirculação, em associação com os eventos hemodinâmicos, imunológicos, elevação sérica de ureia e creatinina, as alterações metabólicas, eventos como o fenômeno da citoaderência, eventos embólicos na microcirculação, diminuição da deformabilidade das hemácias e outros, culminam na redução do fluxo sanguíneo sistêmico e consequente isquemia renal<sup>16,17,54</sup>.

O componente hemodinâmico responsável pelo acometimento renal não é limitado apenas aos eventos microembólicos, envolve ainda a ativação endotelial que é mediada por liberação de citocinas vasoativas, quadros de hipovolemia e redução da viscosidade sanguínea, o que é normalmente observado em quadros de sepse<sup>13,48</sup>. Os mediadores inflamatórios liberados pela resposta imunológica induzem a vasoconstrição e a liberação de catecolaminas que aumentam ainda mais o efeito vasoconstritor. Conseqüentemente o dano renal está ligado à toxicidade direta das catecolaminas sobre o parênquima renal, assim como às implicações hemodinâmicas que culminam em isquemia como mencionado acima. Outros mecanismos como a deposição de imunocomplexos e a glomerulopatia imunomediada também contribuem para a lesão renal fazendo com que a LRA seja uma complicação frequente da malária por *P. falciparum* em crianças e adultos não imunes<sup>16,54,57</sup>. Detalhes do acometimento renal da malária são descritos de forma detalhada mais adiante.

**Disfunção pulmonar:** o aumento da frequência respiratória é o primeiro sinal de disfunção pulmonar, que normalmente precede as alterações radiográficas, se apresentando de forma mais grave como síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), caracterizado por lesão endotelial difusa e aumento da permeabilidade capilar que é manifesta em poucos dias no curso da doença, podendo evoluir para edema pulmonar após o início do tratamento, em muitos casos essa condição está associado ao excesso de líquidos, havendo necessidade de se avalia criteriosamente a terapia de reposição hídrica<sup>54,56</sup>.

**Hipotensão e choque:** o choque em pacientes com infecção pelo *Plasmodium* é definido como síndrome da malária álgida, em que pode haver associação com a insuficiência renal aguda, falência miocárdica, edema agudo do pulmão e sangramentos profusos causados por coagulação intravascular disseminada ou rotura de hematoma subcapsular esplênico, é mais uma complicação que ocorre raramente e é desencadeada por inúmeros mecanismos incluindo infecção bacteriana concomitante, desidratação e deficiência de glicocorticoides decorrente da insuficiência supra-renal aguda<sup>57,59</sup>.

**Coagulação intravascular disseminada:** a infecção pelo *P. falciparum* está geralmente associada com um estado pro-coagulante caracterizado por trombocitopenia e ativação da cascata de coagulação e sistema fibrinolítico, no entanto a ocorrência de eventos hemorrágicos é incomum<sup>54</sup>.

**Hipoglicemia:** a hipoglicemia é comum em pacientes com malária grave, e pode levar a convulsões e coma, sua fisiopatologia em adultos está normalmente associada à hiperinsulinemia que pode ser resultante da estimulação de células pancreáticas ou fatores derivados do *Plasmodium*, de difícil detecção já que tem manifestações semelhantes as outras alterações presentes na malária grave, como

ansiedade, dispneia, taquicardia, sudorese, coma e convulsões generalizadas<sup>56,59</sup>. Em alguns pacientes, a deterioração do estado de consciência pode ser o único sinal<sup>59</sup>.

**Acidose metabólica:** a acidose metabólica na malária está relacionada ao aumento do metabolismo anaeróbico da glicose e pode ocorrer quadros de hipóxia tecidual devido ao quadro anêmico por elevação da atividade muscular durante as convulsões, aumento da demanda nutricional pelos eritrócitos parasitados, inibição da oxidação da glicose na mitocôndria dos eritrócitos parasitados que é causada pela deficiência de tiamina, febre, aumento das citocinas, além da diminuição da depuração do lactato pelo fígado devido a redução do fluxo sanguíneo hepático<sup>54,59</sup>, esta combinação dos fatores leva à mudança do metabolismo aeróbico que é comum nas condições fisiológicas, para o anaeróbico que causa um aumento do lactato, em contrapartida, a hipovolemia que é considerada como mecanismo adjuvante na fisiopatologia da acidose metabólica, não contribui para o aumento do lactato sérico<sup>59</sup>.

**Disfunção hepática:** o envolvimento hepático na malária grave é um evento comum, é manifestando principalmente por icterícia à custa de bilirrubina direta, pela hepatomegalia e a elevação discreta nos nível sérico das aminotransferases, em alguns casos pode induzir a alterações na função do órgão, com a redução na síntese dos fatores de coagulação, dificuldade no metabolismo de alguns antimaláricos e alterações na gliconeogênese que contribui para a ocorrência da hipoglicemia e acidose láctica, chegando eventualmente à insuficiência hepática aguda<sup>17,54,59</sup>.

#### 1.2.4 Tratamento da malária

A melhor maneira de tratar a malária consiste em evitar a doença impedindo a picada de mosquitos. Alguns fármacos podem ser utilizados de modo profilático na prevenção da malária, enquanto outros destinam-se a tratar os ataques agudos<sup>60</sup>. O tratamento adequado e oportuno da malária é hoje o principal alicerce para o controle da doença. Antes do surgimento da resistência do *P. falciparum* a cloroquina, esta droga era utilizada para as quatro espécies de plasmódios que parasitavam o homem. Hoje, além da cloroquina, o *P. falciparum* apresenta resistência a diversos outros antimaláricos, tornando o seu tratamento um dilema para o médico e um desafio para as autoridades de saúde responsáveis pelo controle da malária<sup>1</sup>.

Dessa forma, o tratamento da malária baseia-se na administração oral da combinação de derivados da artemisinina, artemeter), em caso de malária severa deverá ser administrado quinino por via intravenosa associados a medidas gerais de suporte<sup>61</sup>.

## 1.3 O RIM

Os rins são um par de órgãos, castanho-avermelhados, localizados no plano retroperitoneal, sobre a parede posterior do abdômen, desde a 12ª vértebra torácica à 3ª vértebra lombar no adulto. Os rins estão situados à direita e à esquerda da coluna vertebral, tendo o direito uma posição inferior em relação ao esquerdo, em virtude da presença do fígado à direita<sup>61</sup>.

O órgão tem a forma de um grão de feijão, apresentando duas faces, anterior e posterior, e duas margens, medial e lateral. Suas duas extremidades, superior e inferior, são denominadas pólos e sobre o pólo superior situa-se a glândula suprarrenal, pertencente ao sistema endócrino<sup>61,62</sup>. O rim adulto com cerca de 12 cm de comprimento, com 6 cm de largura, e 2,5 cm de espessura, pesando de 120 a 170g. A função básica dos rins é limpar o plasma sanguíneo de substâncias indesejáveis ao organismo, como as proteínas finais do metabolismo da uréia, creatinina, ácido úrico e uratos, através da filtração<sup>61,63</sup>.

Além da função de filtração do plasma, ainda é responsável pela regulação do equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico, regulação da pressão arterial, produção de eritropoetina, síntese de vitamina D e secreção de prostaglandinas. Os rins secretam quase toda a eritropoetina da circulação e esta por sua vez estimula a produção de hemácias pela medula óssea.<sup>61,63,64</sup>

### 1.3.1 Doença renal na malária

O *Plasmodium falciparum* é o agente causal da malária terça maligna e que coloca em risco a vida do paciente pelo acometimento agudo e grave em múltiplos órgãos e sistemas<sup>65</sup>. A malária é a primeira infecção parasitária, na qual foi claramente demonstrável uma associação com a síndrome nefrótica nas áreas tropicais<sup>28,54,67</sup>. A glomerulopatia por *Plasmodium falciparum* é reversível e as lesões renais normalmente regridem num espaço de 2 a 6 semanas após a erradicação da infecção em pacientes que respondem favoravelmente ao tratamento anti-malárico e à reposição correta dos fluidos<sup>66,67</sup>.

O envolvimento renal do doente com malária é um achado frequente nos doentes com malária grave, ou seja, nos que demonstram elevado grau de parasitemia, sendo também um indicador sensível de prognóstico nas formas graves, essencialmente alterações renais agudas (necrose tubular aguda e glomerulonefrite aguda) e alterações crônicas (síndrome nefrótica com evolução para insuficiência renal crônica). Conforme exposto anteriormente, a LRA por *Plasmodium falciparum*, pode ocorrer através de dois mecanismos possíveis, que podem estar presentes em simultâneo: glomerulonefrite aguda e necrose tubular aguda<sup>66,67,68</sup>.

### 1.3.2 Lesão renal aguda na malária

A incidência de LRA nos doentes com malária por *Plasmodium falciparum* é de 1 a 4%, mas pode atingir os 60% nos casos de malária complicada<sup>69,70</sup>.

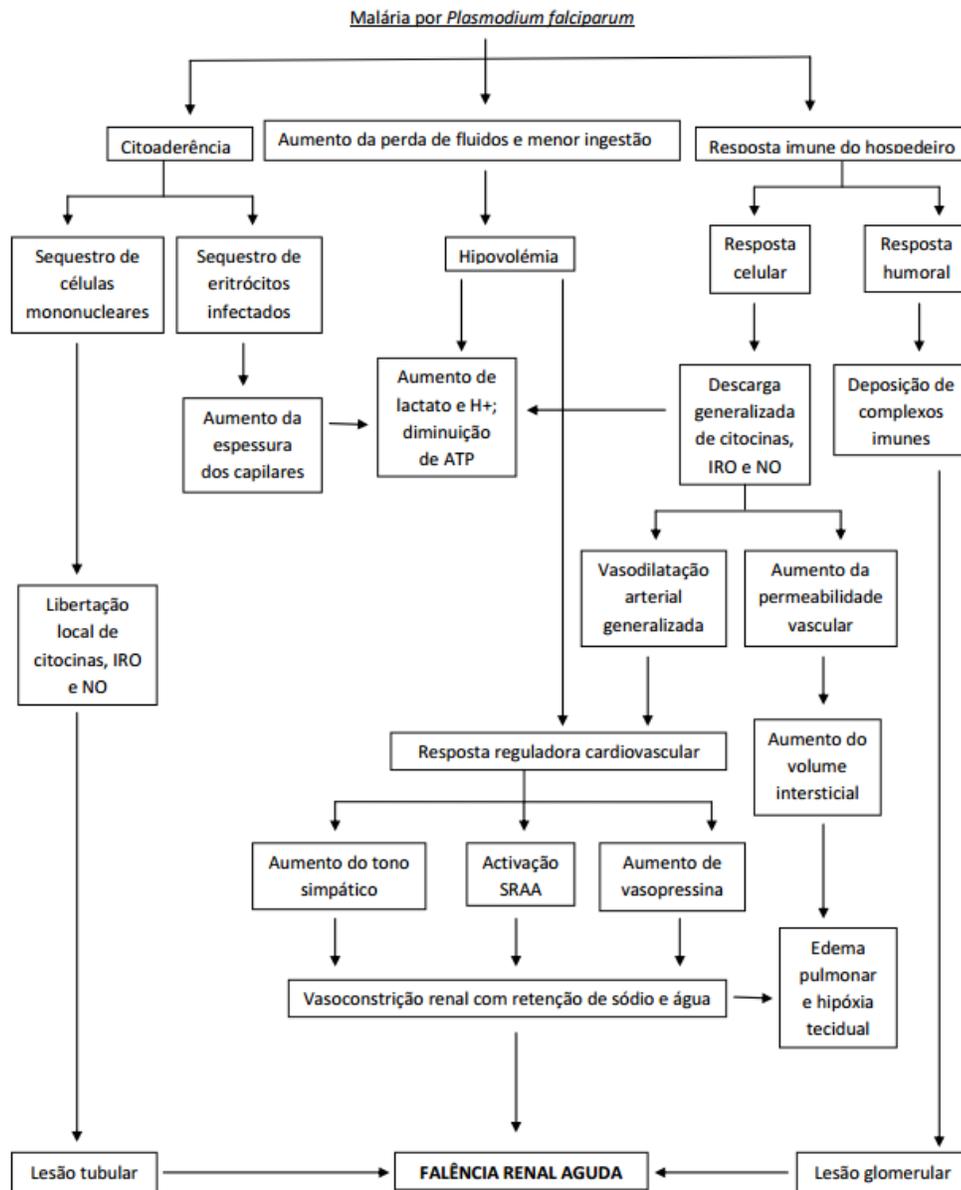
A lesão renal aguda na malária ocorre essencialmente na infecção pelo *Plasmodium falciparum*, o único que tem a capacidade de invadir eritrócitos em vários estágios de maturação, provocando elevada parasitemia e conseqüentemente maior probabilidade de doença severa. A doença ocorre principalmente em adolescentes e adultos<sup>69,72</sup>.

Na malária vários fatores foram implicados na patogênese da LRA, incluindo mediadores químicos, libertação de catecolaminas, citoaderência dos eritrócitos parasitados e alterações hemorrágicas associadas, hiperbilirrubinemia e hiperpirexia severa<sup>69,70</sup>.

A LRA provocada por *Plasmodium falciparum* pode não ser causada diretamente pelo próprio agente, mas sim resultado de uma interação complexa entre fatores mecânicos, imunológicos e humorais (**Figura 2**)<sup>71</sup>. Em crianças, cerca de 33% dos casos de LRA são provocados pelo *Plasmodium vivax*, porém o mecanismo pelo qual se desenvolve a lesão renal é semelhante ao descrito para o *Plasmodium Falciparum*<sup>72</sup>.

O prognóstico da LRA por *Plasmodium vivax* é geralmente favorável. O quinino era o antipalúdico de eleição na malária grave associada à insuficiência renal aguda, pela sua rapidez de ação e pela multiresistência do *Plasmodium falciparum* à maioria dos restantes antipalúdicos. Atualmente existem formulações mais eficazes, nomeadamente, artesunato, artemeter e mefloquina<sup>5</sup>.

**FIGURA 3 - PATOGÊNESE DA NEFROPATIA POR MALÁRIA POR *P. FALCIPARUM*.**

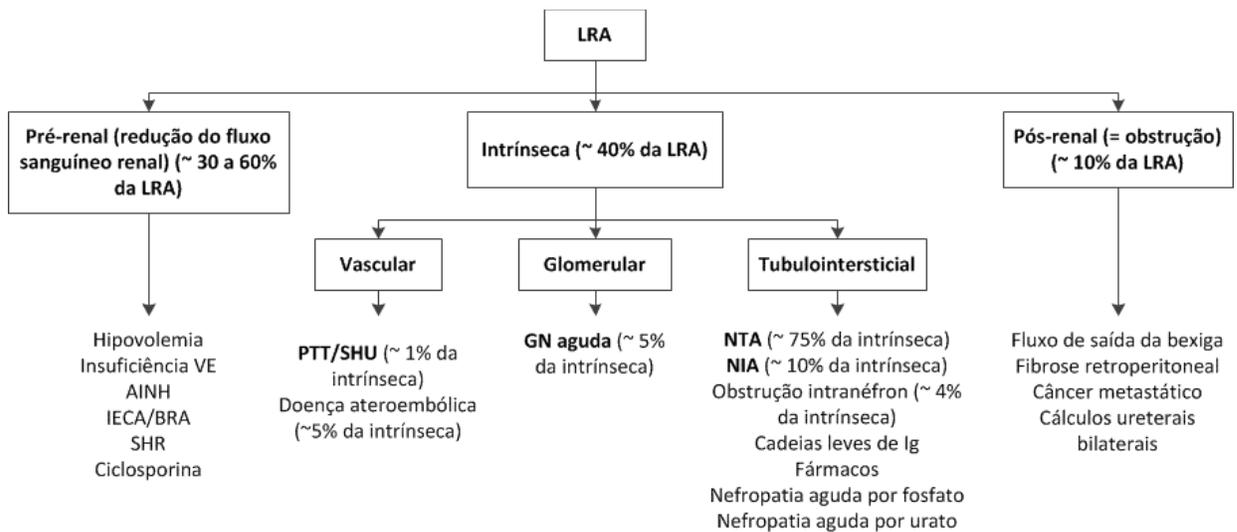


(ELSHEIKHA *et al.*, 2007)

### 1.3.3 Classificação da LRA

Existem na literatura mais de 30 definições de LRA e a utilização de diferentes definições dificulta a comparação de estudos, a análise da evolução destes pacientes, bem como, a comparação de diferentes estratégias terapêuticas e de tratamentos dialíticos<sup>73</sup>. Algumas dessas classificações são direcionadas a alterações fisiopatológicas da lesão renal, como na figura abaixo.

**FIGURA 4 - CLASSIFICAÇÃO FISIOPATOLÓGICA DA LESÃO RENAL AGUDA (LRA).**



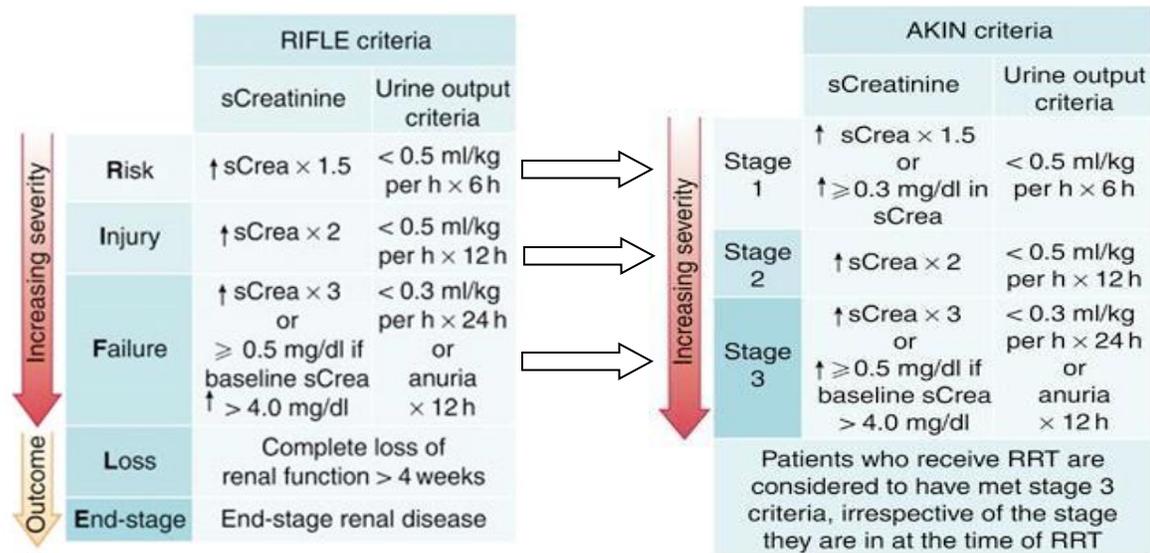
(SANDERS e AGARWAL, 2010)

Recentemente, uma rede internacional de especialistas propôs uma nova definição e classificação de LRA, a fim de revisar e uniformizar este conceito para efeitos de estudos clínicos e principalmente, prevenir e facilitar o diagnóstico desta síndrome, na tentativa de diminuir a alta morbidade e mortalidade ainda encontrada nos dias atuais<sup>73,74</sup>.

O KDIGO endossou os critérios de RIFLE e AKIN com uma pequena modificação para incluir pequenas mudanças no valores de creatinina sérica com ou sem o conhecimento da creatinina basal do paciente ( $\geq 0.3\text{mg/dl}$  ou  $\geq 26.5\text{mmol/l}$ ) quando ocorrem dentro de um período de 48 horas<sup>20</sup>.

Mesmo uma pequena redução aguda na função renal tem um prognóstico adverso. A detecção precoce e o tratamento da LRA podem melhorar os resultados. Foram propostas e validadas duas definições semelhantes baseadas na creatinina sérica (SCr) e na produção de urina, embora haja necessidade de uma única definição para a prática, pesquisa e saúde pública<sup>20</sup>, os critérios para o diagnóstico de LRA e o estadiamento da gravidade da LRA foram inicialmente representado usando como base os critérios das figuras abaixo (**Figura 5 e Tabela 1**)<sup>2,20,74</sup>.

**FIGURA 5. CRITÉRIOS DE LRA (RIFLE E AKIN)**



(SINGBARTL e KELLUM, 2012 modificado)

**TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DE LRA DE ACORDO COM A KDIGO**

Stage	Serum creatinine	Urine output
1	1.5-1.9 × baseline or ≥ 0.3 mg/dl (≥ 26.5 mmol/l) increase	< 0.5 ml/kg/h for 6-12 h
2	2.0-2.9 × baseline	< 0.5 ml/kg/h for > 12 h
3	3.0 × baseline, or increase in serum creatinine ≥ 4.0 mg/dl (≥ 353.6 mmol/l), or initiation of RRT, or decrease in eGFR < 35 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> for patients < 18 years	< 0.3 ml/kg/h for ≥ 24 h or anuria for ≥ 12 h

KDIGO: Kidney disease: Improving global outcomes; RRT: Renal replacement therapy; eGFR: Estimated glomerular filtration rate

(KDIGO, 2012)

### 1.3.4 Uso da uréia na avaliação da função renal

A níveis séricos de uréia tem sido um indicador não muito preciso de possíveis alterações da função renal. Os valores de referência para uréia sérica variam de 10 a 45 mg/dL e os valores podem ser diferentes conforme o sexo, idade e tem ligeiras variações dependendo do laboratório e técnica utilizada.<sup>75</sup>. Esse metabolito é útil para a avaliação do equilíbrio entre a produção do catabolismo protéico e a capacidade renal de eliminação desses produtos<sup>77</sup>.

Os valores estarão aumentados pela presença de disfunção renal, conteúdo proteico da dieta, nutrição parenteral, estado de hidratação do paciente, insuficiência cardíaca congestiva, uso de alguns medicamentos (tetraciclinas), perda muscular e presença de sangramento no trato gastrointestinal<sup>76</sup> e vão estar reduzidos em casos de gravidez (segundo trimestre), diminuição do consumo de proteínas, uso de reposição de fluidos intravenosa, insuficiência hepática severa, infância, desnutrição, distúrbios disabsortivos, na síndrome da secreção inapropriada de hormônio antidiurético (SIADH), certos medicamentos como hormônios anabolizantes, estreptomicina e cloranfenicol<sup>77</sup>. Por esses motivos, há uma limitada aplicação da uréia como marcador de função renal atualmente, interesse neste composto foi retomados com os estudos de nitrogênio ureico salivar, revisados na secção adiante.

### **1.3.5 Nitrogênio Urêico Salivar (SUN)**

Uma característica importante da ureia, bem como do nitrogênio urêico, é o fato de que ele pode ser encontrado em muitos outros fluidos, como lágrimas, sangue, saliva e líquido cefalorraquidiano<sup>78,79</sup>. O nitrogênio urêico salivar (SUN) foi descrito pela primeira vez por Wright em 1841, por um relato do caso de um paciente que desenvolveu um tumor uterino, conseqüentemente ascite e um declínio na produção de urina, Wright acreditava que, uma vez que o paciente não conseguisse eliminar a ureia através da urina, seu organismo desenvolveria mecanismos compensatórios para eliminar a ureia através da saliva evitando as manifestações neurológicas do acúmulo desses produtos de excreção<sup>79</sup>.

A ureia atinge a saliva por difusão e, associada ao bicarbonato, é responsável pela capacidade tampão desse fluido. Desde 1840, muitos estudos foram realizados com o objetivo de comprovar a capacidade diagnóstica do SUN para estimar a função renal<sup>79,80</sup>. Em 1922, Hench e colaboradores descreveram uma relação positiva entre níveis de ureia na saliva e no sangue, especialmente em pacientes com acúmulo de ureia na circulação<sup>79</sup>. A determinação da ureia para este estudo foi realizada pelo método da urease<sup>79</sup>. A estimulação salivar foi proposta como tratamento para a retenção de ureia quando os pacientes apresentavam baixa produção de urina e não conseguiam eliminar o nitrogênio urêico pela urina. Mais tarde, em 1923, Hench propôs um índice salivar de nitrogênio urêico e o paralelismo contínuo dos valores SUN e BUN<sup>80,81</sup>.

O índice de ureia salivar era definido como o número de mililitros (mL) de solução de cloreto de mercúrio a 5% utilizada para cada 100 mL de saliva, aumentado diretamente com o grau de retenção de ureia indicado por BUN. O índice SUN apresentou uma sensibilidade de 91% para a detecção da retenção de ureia. Ele concluiu que o índice SUN poderia ser um substituto para a determinação BUN<sup>34</sup>.

Barnett et al., em 1929, estudaram a influência da estimulação da saliva nos resultados do SUN. Neste estudo as amostras foram coletadas com e sem estimulação, saliva total e saliva parótida foram utilizadas para realizar as medições<sup>81,82</sup>. A estimulação foi realizada utilizando soluções de ácido tartárico (0,05 a 0,5%). O SUN medido em saliva não estimulada apresentou melhor concordância com BUN quando medido em amostras de saliva total e saliva de parótida<sup>81</sup>. Mais tarde, foram realizados estudos para analisar o SUN em glândulas salivares específicas, como a parótida<sup>82,83</sup>. As concentrações médias de ureia parotídea variaram de 73 a 95% dos níveis séricos<sup>83</sup>.

Forland et al., em 1964, propuseram que o SUN medido na saliva coletada das glândulas parótidas poderia ser usado para monitorar pacientes em hemodiálise. O coeficiente de correlação dos valores médios de BUN e SUN monitorados durante a hemodiálise foi de 0,99, apesar das rápidas mudanças nos níveis BUN e SUN durante o tratamento<sup>82,83</sup>.

O primeiro estudo usando um método de fita reagente para medir o SUN foi feito por Akai e seus colaboradores, em 1983, quando uma fita foi criada para avaliar os níveis de nitrogênio urêico na saliva. A tira de teste contendo uréase (uréase-bromocresol-verde) e um espectrômetro de reflectância automática foram utilizados para conduzir estas análises. Uma relação saliva/soro de aproximadamente 1,03 foi encontrada com este método<sup>84,85,86</sup>. Alguns anos depois, em 1987, Sein e colaboradores publicaram outro estudo onde coeficientes de correlação significantes entre SUN e BUN em saliva total não estimulada foram encontrados em 56 sujeitos saudáveis e 50 pacientes submetidos a hemodiálise, respectivamente<sup>84</sup>.

Outro estudo realizado encontrou uma correlação significativa entre SUN e BUN ( $r = 0,91$ ,  $p < 0,001$ ) em 78 indivíduos saudáveis e 154 DRC pacientes. O SUN teve uma sensibilidade e especificidade de 100% em ambos os grupos neste estudo. Foi utilizado um ensaio colorimétrico enzimático sérico (cor de ureia 2R, Laboratório de Wiener, Argentina) para as medidas do SUN<sup>34</sup>. Até esta data, todos os métodos estudados para avaliar o SUN eram dependentes do laboratório<sup>34,36,39,90,91,92</sup>.

Em 2007, um método de fita reagente foi desenvolvido pela *Integrated Biomedical Technology*, IN, EUA, que permite a avaliação de SUN, sem dispositivos adicionais, à beira do leito. Para o emprego deste método, 50  $\mu$ L de saliva líquida são transferidos para a almofada de teste da fita colorimétrica de SUN (*Integrated Biomedical Technology, IN*)<sup>33,34,36,47,87</sup>.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Até o presente momento embora a malária seja a maior causa de mortalidade em Angola, não há estudos que avaliem a lesão renal aguda como uma das complicações mais graves em pacientes com malária, muito menos verificam se os desfechos dos pacientes estão associados a essa complicação. Estudos que avaliem outras formas de realizar o diagnóstico de LRA secundárias a malária usando ferramentas de fácil uso, baratas e eficientes para tal ainda não foram realizados.

Diagnóstico de LRA é largamente dependente de estimativas do laboratório da função renal (pelo exame de estimativa de creatinina), que exige custo econômicos altos em termos infraestrutura, equipamento, de reagentes, pessoal treinando e outras condições hospitalares. A fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) é uma nova ferramenta que já foi utilizada para diagnóstico de LRA e DRC e teve resultados muito efetivos na estimativa da função renal quando um serviço de laboratório está indisponível e poderá ser aplicada com muita utilidade para o diagnóstico da LRA que é uma complicação muito comum em pacientes com malária em Angola.

### **3 OBJETIVO GERAL**

Investigar a eficiência e a eficácia da utilidade da fita de nitrogênio a ureia salivar (SUN) no diagnóstico de lesão renal aguda na malária em Angola.

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a eficiência e a eficácia da fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) no diagnóstico de lesão renal aguda decorrente de malária independentemente do grau de infecção.
- Averiguar a relação de dispersão dos resultados da fita de nitrogênio de ureia salivar sobre os resultados de nitrogênio de ureia sanguínea.
- Correlacionar o paralelismo de desempenho diagnóstico de lesão renal aguda pela fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) e o pelo exame laboratorial de nitrogênio da ureia sanguínea (BUN) e creatinina no sangue através da curva ROC.
- Verificar a capacidade diagnóstica de SUN em diferentes períodos pela sensibilidade e especificidade e identificar fatores que podem causar alterações no diagnóstico pela fita.
- Relacionar os resultados obtidos pela fita SUN e por BUN com a classificação de LRA de acordo com o KDIGO com base aos resultados observados pela variação da creatinina sérica.
- Identificar se há uma relação entre os resultados da fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) e os desfechos como continuação do internamento, alta, transferências de serviços e óbitos.

## 4 METODOLOGIA

**Desenho do projeto de pesquisa:** O estudo foi conduzido como um estudo longitudinal, prospectivo e observacional. Os pacientes foram diagnosticados com LRA (conforme os critérios LRA-KDIGO-critérios de creatinina) após o diagnóstico e internação por malária com acompanhamento e monitorados através de medições de nitrogênio urêmico salivar com a fita (SUN), medições de nitrogênio urêmico sérico (BUN) e de creatinina através de exames de sangue por um período máximo de até 4 dias.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética de pesquisas envolvendo seres humanos do Instituto Superior de Ciências de Saúde da Universidade Agostinho Neto (nº664/GD/ISCISA/UAN/2015) aceite e autorizado pela direção do Hospital Josina Machel (Maria Pia) em Luanda através do ofício nº23/DPC/HJM/2016.

**Critério de Inclusão:** todos os pacientes que foram diagnosticados com malária e possuíam idades entre 11 a 50 anos de idade, internados no hospital Josina Machel (Maria Pia), em Luanda, Angola entre 02 de Março e 10 de Maio de 2016, independentemente do sexo, raça, ocupação, proveniência, com ou sem suspeitas de alguma disfunção renal aguda, mostrado por alteração na creatinina e nitrogênio urêmico sérico foram analisados. Depois de uma primeira avaliação da histórico médico os pacientes foram convidados e concordaram em participar do estudo, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. A partir desse momento foi feito o acompanhamento dos pacientes com malária, durante a internação e tratamento antimalárico.

**Critérios de Exclusão:** pacientes com história de doença renal crônica, pacientes com malária e complicações cerebrais, pacientes hipertensos, diabéticos, rim policístico, com HIV, doenças diarreicas, e outros pacientes que tinham história de insuficiência renal antes do internamento, pacientes impossibilitados de fornecer saliva e ou amostra sanguínea e pacientes sem responsável com capacidade de dar o seu consentimento foram excluídos.

**Medições:** Em simultâneo com medições de nitrogênio urêmico sanguíneo e creatinina, foi avaliada o nitrogênio urêmico salivar (SUN – Figura 5) através de fita reagente em um intervalo máximo de 1 horas entre coleta de saliva e sangue.

**Coleta de saliva:** Para a aplicação da fita (SUN) em pacientes, foi solicitado ao paciente 1 a 2 ml de saliva não estimulada, após a abster-se de comer e beber durante pelo menos 15 minutos.

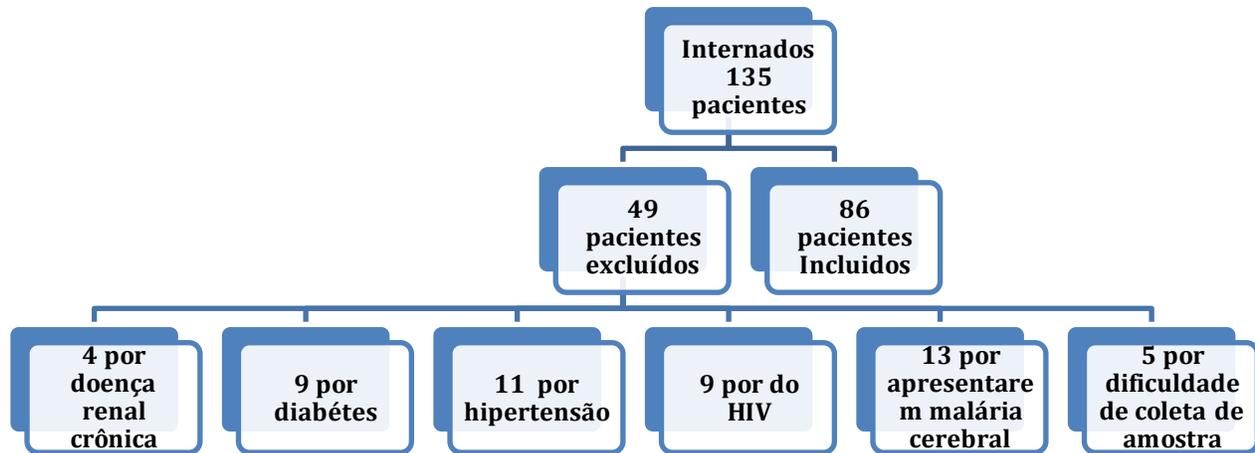
A saliva foi coletada em um copo de plástico e deixada para separar-se em duas fases (uma fase líquida e outra espumoso) durante um período de 1-3 minutos. Da parte líquida foi coletada cerca de 50 µl de saliva líquido através de pipetas de Pasteur de plástico de 10 ml e foi transferido para as duas *test pad* da fita de teste do SUN, para o primeiro bloco de fundo, em seguida, para a fita reagente (*Integrated Biomedical Technology, IN, USA*)<sup>33</sup> (**Figura 5**). Após 1 minuto a cor da almofada do teste foi comparado visualmente a 6 blocos de cores padronizadas que indica semi-quantitativamente a concentração de nitrogênio de ureia salivar (SUN) 5-14, 15-24, 25-34, 35-54, 55-74, e >75 mg /dL<sup>33,34</sup>. Também foi testada a capacidade tampão de pH da saliva, isso permitiu verificar se o bloco de fundo poderia mostrar cor que não é causada pela uréase. O nível de nitrogênio de ureia da saliva equivalente a partir desta cor de fundo foi usado para subtrair a leitura do nível de cor almofada do reagente. Este processo foi executado uma vez por dia, ao mesmo tempo, durante um período máximo de 4 dias. O projeto foi desenvolvido por um grupo de estudantes de análises clínicas e saúde pública do Instituto Superior de Ciências de Saúde da Universidade Agostinho Neto de Angola, treinados para a atividade.

#### FIGURA 6: FRASCO DE FITA SUN



**Coleta de amostras sanguíneas:** ao mesmo tempo, que se realizava a coleta de saliva eram coletadas também amostras de sangue para análises do nitrogênio urêmico e creatinina pelo método padronizado pelo laboratório interno do hospital que foi utilizado para determinar a sua correlação com o nitrogênio urêmico salivar. As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa nas veia mediana, cefálica, acessória ou basílica com seringas e agulhas de 3 a 5 ml após se cumprir todos os princípios de biossegurança, em seguida o sangue transferido para tubos de bioquímica de 5ml com gel separador ou ativador de coagulação e posteriormente essas colocadas em suportes de transporte e levados para a sala de processamento do laboratório do Banco de Urgência ou do laboratório central de consultas externas do hospital Josina Machel onde após centrifugação para obtenção do soro que servia para as dosagens bioquímicas em aparelhos automatizados do tipo (vital scientific flexor E180 e o Flexor E450).

**FIGURA 7: FLUXOGRAMA DE PACIENTES INTERNADOS POR MALÁRIA**



#### **ANÁLISE ESTATÍSTICA E FLUXO DE DADOS:**

**Banco de dados:** Os dados inicialmente foram processados de forma individual para cada paciente através de uma documento criado Microsoft Excel 2015 pelo investigador principal e foram sendo complementados e atualizados a cada dia até ao final do período de recrutamento. Todos os dados foram armazenados como um conjunto de dados únicos e limitado em conformidade com informações de cada paciente segundo a idade, raça, ocupação, proveniência, resultados de nitrogênio de ureia salivar, nitrogênio de ureia sanguíneas e creatinina sérica. Todos os dados foram codificados com um identificador único e anônimo para cada paciente inscrito para a manutenção do sigilo dos pacientes e só os investigadores do estudo tiveram acesso a esses dados e com eles puderam realizara todas as análises quantitativas incluindo a conversão dos valores de ureia em nitrogênio de ureia sanguínea (BUN) com base o que foi descrito pela Sociedade Brasileira de Nefrologia, que define que a conversão de ureia por nitrogênio de ureia sanguínea (BUN) é de 43/20<sup>89</sup>. Após o período de recrutamento, os dados foram importados para programas como o SPSS 20, EPIDAT 3.0 e Sigmaplot para análise estatística.

### **Análise estatística:**

Os dados paramétricos são apresentados como média e intervalo interquartil (IQR), os resultados SUN e BUN foram testado empregando a análise de variância com uma correção de Bonferroni *post hoc* para testes múltiplos.

As diferenças entre BUN e SUN (transformadas numa variável contínua escolhendo o ponto médio para cada intervalo) foram apresentadas como gráfico de barras de erro (com IC 95%) em dias diferentes e representadas como um gráfico de Bland-Altman modificado utilizando BUN como padrão-ouro<sup>90,91</sup>.

A concordância entre SUN e BUN durante todo o período também foi testada pelo desenvolvimento de modelos de efeitos mistos lineares, que pressupõe interceptações aleatórias diferentes para cada sujeito e inclinações aleatórias para cada período diário, levando em conta as variações entre os dias em que as medições foram feitas<sup>47</sup>.

O desempenho diagnóstico de SUN e BUN para discriminar a sensibilidade e especificidade foram calculadas pelo índice de Youden, respectivamente, para avaliar o desempenho de diagnóstico e os limiares ideais para melhor performance diagnóstica da fita na área sob a curva ROC em cada um dos 4 dias de observação foram feitas em R 3.2.1 (codinome '*World-Famous Astronaut*', Fundação R para Computação Estatística, Viena, Áustria), usando as ferramentas *plyr*, *sandwich*, *nlme*, *multcomp*, *pROC* e *ggplot2*<sup>47,92</sup>.

A diferença média entre níveis de nitrogênio de ureia sanguínea (BUN) e o ponto médio das faixas de nitrogênio de ureia salivar (SUN) foram calculada durante os dias de acompanhamento para todos os pacientes do estudo. Para ser capaz de avaliar a melhora ou piora da função renal em pacientes com LRA ao longo dos dias o resultado da fita (SUN) deveriam manter-se próximos o resultado do exame de sangue (BUN) e correspondentes aos resultados de creatinina, portanto, a diferença média entre eles deveria manter um paralelismo.

A classificação de LRA foi feita verificando a variação diária de creatinina e apresentando a média de creatinina obtida, desde que a variação fosse significativo conforme os valores descritos descrito pela KDIGO (aumento > 0.3mg/dL), que é a medida mais atual e permite a detecção de alterações na taxa de filtração glomerular (TFG) mesmo quando não se tem a creatinina basal do paciente. Embora isso, o uso de modelos de predição baseados em creatinina sérica para LRA tem limitações, já que levam em conta aumentos substanciais da creatinina sérica que podem ser observados em 48 a 72 horas após a lesão inicial.

## 5 RESULTADOS

TABELA 2. DADOS SÓCIO DEMOGRÁFICOS

<b>Idades/Sexo</b>	<b>Masculino(n)</b>	<b>Feminino(n)</b>	<b>Subtotal(n)</b>	<b>%</b>
<b>11-15</b>	22	6	28	32,6
<b>16-20</b>	19	8	27	31,4
<b>21-25</b>	7	4	11	12,8
<b>26-30</b>	3	4	7	8,1
<b>31-35</b>	3	0	3	3,5
<b>36-40</b>	3	0	3	3,5
<b>41-45</b>	2	2	4	4,6
<b>46-50</b>	2	1	3	3,5
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>25</b>	<b>86</b>	<b>100</b>
<b>Ocupação</b>			<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Estudante</b>			55	64,0
<b>Conta própria</b>			16	18,6
<b>Desempregado</b>			11	12,8
<b>Outros</b>			4	4,6
<b>Total</b>			<b>86</b>	<b>100</b>
<b>Proveniência</b>			<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Luanda</b>			37	43,0
<b>Viana</b>			15	17,4
<b>Cazenga</b>			12	14,0
<b>Kilamba Kiaxi</b>			10	11,6
<b>Cacuaco</b>			7	8,1
<b>Belas</b>			5	5,9
<b>Total</b>			<b>86</b>	<b>100</b>

Os resultados demonstram uma maioria de pacientes 64,0% (55/86) adolescentes e adultos jovens com idades entre 11 a 15 e 16 a 20 anos de idade, e cerca de 21% (18/86) com idades entre 21 a 25 e 25 a 30, constituída predominantemente por pacientes do sexo masculino em relação ao sexo feminino 71% (61/25), estudantes 64,0% (55/86), e pessoas que trabalhavam por conta própria 18,6(16/86), oriundo principalmente do município de Luanda 43,0% (37/86), do Cazenga com 17,4% (15/86) e Kilamba Kiaxi com 14,0% (12/86) e todos os pacientes participantes do estudo de raça negra.

**TABELA 3. DADOS DE PARASITEMIA EM RELAÇÃO AOS RESULTADOS SUN**

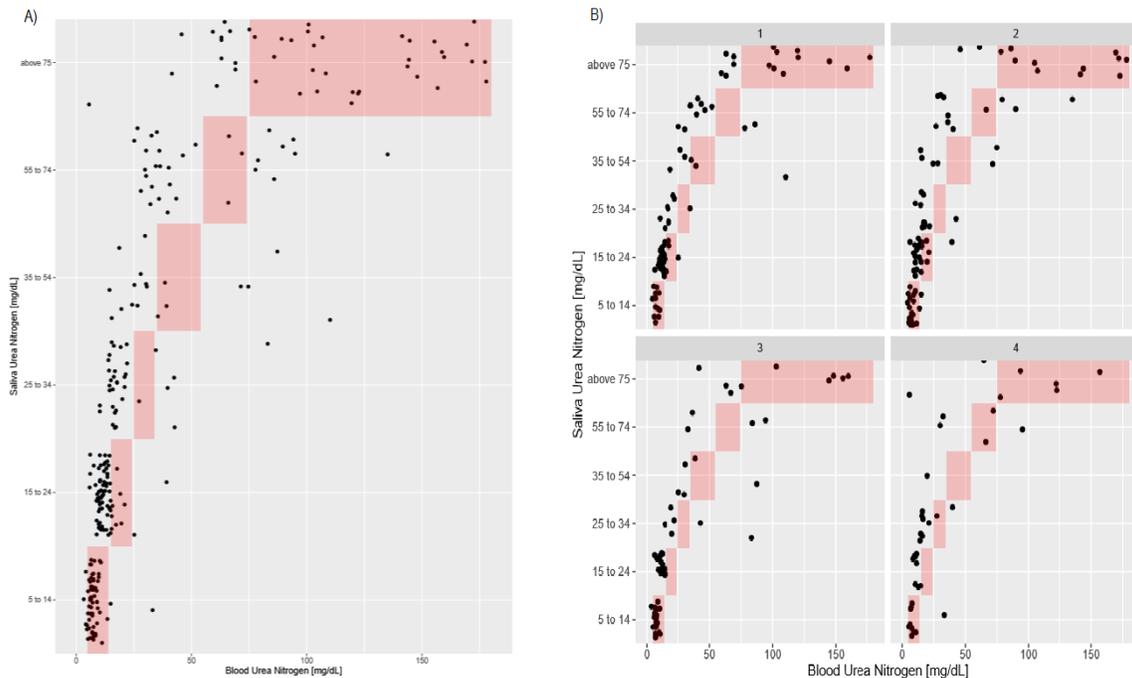
Teste SUN		Parasitemia/100 campos equivalente a 0,2µl de sangue(P/C)					
Nº teste (mg/dL)	Cores do teste	n	Negativo n(%)	Baixa(≤1) n(%)	Moderada(≤20) n(%)	Alta(≤200) n(%)	Hiper(+200) n(%)
1 (5-14)		29	11(37.9)	1(3.5)	6(20.6)	10(34.5)	1(3.5)
2 (15-24)		18	5(27.8)	1(5.5)	5(27.8)	7(38.9)	-
3 (25-34)		9	4(44.5)	2(22.2)	1(11.1)	2(22.2)	-
4 (35-54)		8	2(25.0)	-	2(25.0)	4(50.0)	-
5 (55-74)		7	-	-	5(71.4)	2(28.6)	-
6 (>75)		15	3(20.0)	-	4(26.7)	8(53.3)	-
<b>Total</b>		<b>86</b>	<b>25(29.1)</b>	<b>4(4.7)</b>	<b>23(26.7)</b>	<b>33(38.4)</b>	<b>1(1.1)</b>

Embora todos os pacientes terem sido diagnosticado e internado por malária, ao realizarmos o exame de gota espessa para visualização do parasita no sangue, verificamos que 25/86 (29,1%) do total pacientes estudados já não apresentavam parasitas no sangue e ao correlacionar esses pacientes com os grupos de escala SUN, verificamos que a maioria desse pacientes que apresentaram parasitemia ausente eram pacientes que apresentaram SUN#3, SUN#1 e SUN#2 em 44,5% (4/9), 37,9% (11/29), 27,8% (5/18) e respectivamente.

A baixa parasitemia (até 1 parasita em 100 campos na leitura das lamina de gota espessa) encontrada em 4/86 (4,7%) da população, foi maior em pacientes com resultados SUN#3 encontrado em cerca de 22,2% (2/9) dos pacientes. A parasitemia moderada (até 20 parasitas em 100 campos) encontrada em 23/86 (26,7%) dos pacientes estudados, foi maior em pacientes com resultados SUN#5, SUN#6 e SUN#4, em porcentagem de 71,4% (5/7), 26% (4/15) e 25% (2/8) respectivamente.

A alta parasitemia encontrada em 33/86(38,4%) dos pacientes, foi maior no grupo de pacientes que apresentaram resultados SUN#6, SUN#4 e SUN#5 em cerca de 53% (8/18), 50% (4/8) e 28,6% (2/7), respectivamente. A hiperparasitemia foi observada em apenas 1/86 (1,1%) pacientes com resultados SUN #1. Os pacientes com resultados SUN#1 foram o único grupo de pacientes que se apresentou distribuídos em todos os graus de parasitemia.

**FIGURA 8. DISPERSÃO DE RESULTADOS SUN SOBRE BUN**

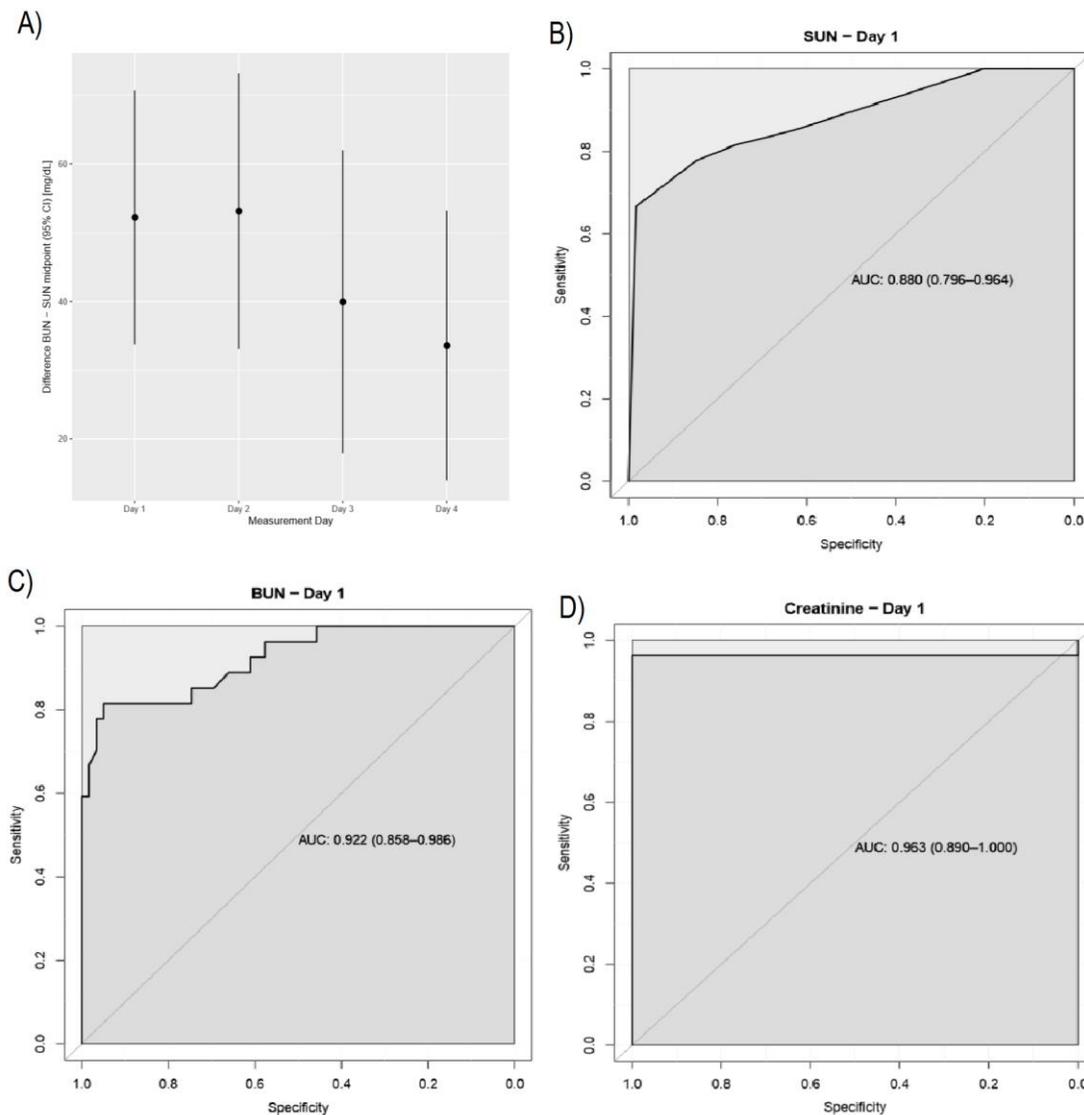


Resultados obtidos com o uso da fita SUN (eixo Y) dispersos sobre os resultados de nitrogênio de ureia sanguíneas dos mesmos pacientes (eixo X) em todos os dias de acompanhamento (figura A) e os mesmos resultados separados por dia de acompanhamento os 4 dias (figura B).

Os valores de ureia foram convertidos em valores de nitrogênio de ureia sérica (BUN) e ao serem plotados os valores de nitrogênio de ureia salivar (SUN) de todos os dias de acompanhamento dos pacientes sobre os valores de BUN, verificou-se que houve uma dispersão desses valores de SUN sobre os valores de BUN e essa dispersão aumenta à medida que os valores das escalas de almofada SUN aumentam e as maiores dispersões ocorreram nas almofadas SUN #3, #4 e #5 e se mostrou menor nas escalas de almofadas SUN #1, #2 e #6 (Figura 8.A).

Os valores SUN sobre BUN foram separados por dias de acompanhamento para verificar se essa dispersão de SUN sobre BUN era a mesma desde o primeiro ao quarto dia de acompanhamento e percebeu-se que a dispersão dos valores SUN sobre os valores de BUN é menor no primeiro dia e tem um aumento gradual a cada dia de acompanhamento, embora o número de pacientes reduzisse devido os desfechos, ainda assim a dispersão dos valores SUN sobre os valores de BUN dos pacientes que se mantiveram em internados pareceu aumentar (Figura 8.B), e manteve o mesmo padrão que ocorreu quando todos os dias foram estudados ao mesmo tempo (Figura 8.A).

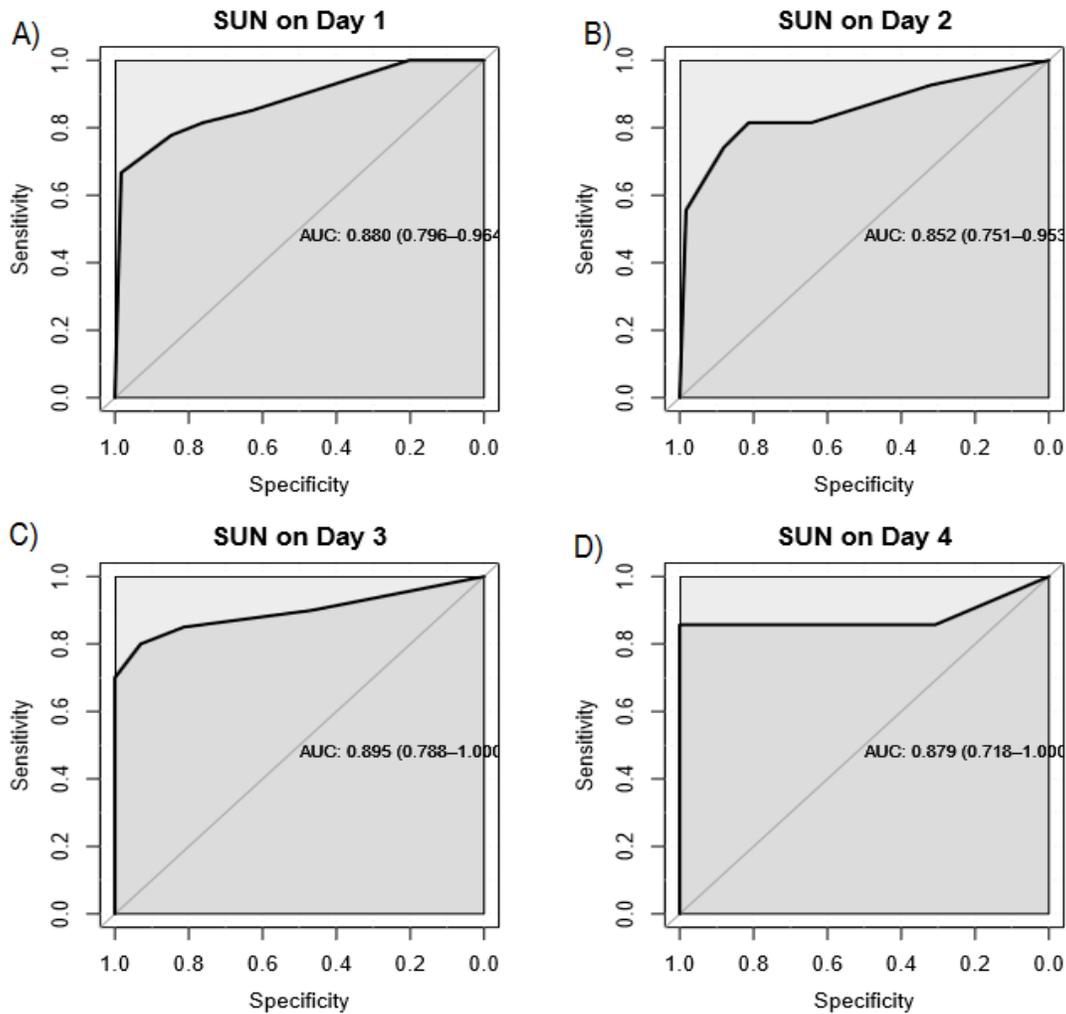
**FIGURA 9. DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DE SUN, BUN E Creatinina sérica**



Resultados variação dos valores SUN e sua estimativa em função aos valores médios de BUN (eixo Y) em cada dia de acompanhamento (eixo X) durante todo o período de estudo (figura A), comparação da capacidade diagnostica dos testes SUN/BUN/SCr através da sensibilidade (eixo Y) e especificidade (eixo X) na curva ROC para SUN (figura B), BUN (figura C) e Creatinina (figura D) no 1 dia de acompanhamento.

Se evidenciam as diferenças entre médias de BUN e SUN (como variável numérica) a cada dia de acompanhamento com pequenas variações (delta  $\Delta$ ) demonstrado que SUN variou proporcionalmente a BUN podendo ser utilizada como ferramenta para monitoramento da filtração renal ao longo do tempo (variando de 35 (dia 4) a 55 (dia 2)) (Figura 9.A), a capacidade diagnóstica de SUN mostrou similaridade com os exames de BUN e creatinina, no teste de sensibilidade e especificidade usando apenas os valores do 1º dia de acompanhamento (Figura 9.B,C e D) o teste SUN que apresentou sob a curva de área de funcionamento do receptor de 0,88( IC 95% 0,80-0,96), BUN de 0,92 (IC 95% 0,86-0,99) e creatinina de 0,96( IC 95% 0,89-1,0).

**FIGURA 10. CAPACIDADE DIAGNÓSTICA DE SUN (PELA CURVA ROC) PARA CADA UM DOS DIAS DE OBSERVAÇÃO**



Resultados teste de validade SUN através da sensibilidade (eixo Y) e especificidade (eixo X) definidas pela curva do receptor operador(ROC) durante o 1º dia (figura A), 2º dia (figura B), 3º dia (figura C) e 4º dia de acompanhamento (figuras D) são demonstrados através da curva ROC.

E quando a capacidade diagnóstica de SUN foi verificada nos diferentes dias de acompanhamento através pela curva(ROC) embora dispersão dos resultados e a subestimativa observada (figura 6 e 7), a curva sob a área de funcionamento do receptor no 1º dia foi de 0,88(IC 95% 0,80-0,96), reduziu um pouco no 2º dia de para de 0,85(IC 95% 0,75-0,95), mas voltou a aumentar no 3º e 4º dia para 0,89(IC 95% 0,79-1,00) e 0,89(IC 95% 0,72-1,00) respectivamente, mesmo ocorrendo reduções graduais no número de pacientes acompanhados devido os vários desfecho hospitalares (Figura 10. A, B, C e D), a sensibilidade para teste SUN no estudo foi de 0,67 e a especificidade de 0,98.

**TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DE SUN POR GRAU DE ESTADIAMENTO DA LRA**

Teste SUN		Idades/Sexo n	BUN(mg/dL)			SCr	LRA [n(Média( $\bar{x}$ )SCr)mg/dL]				DRA
Nº teste (mg/dL)	Coras do teste		Média(MF) $\bar{x}(n)$	Média ( $\bar{x}$ )	1º- 3º Quartil	Média (x)	SLR SCr	LRA1 SCr	LRA2 SCr	LRA3 SCr	SCr
1 (5-14)		29	24.0(17/12)	9.2	7.7-10.3	1.0	20(0.8)	9(1.2)	-	-	-
2 (15-24)		18	20.1(14/4)	13.7	11.4-14.3	1.1	14(0.8)	4(1.4)	-	-	-
3 (25-34)		9	16.7(8/1)	32.2	18.8-49.4	2.3	8(0.9)	-	-	1(3.8)	-
4 (35-54)		8	16.6(5/3)	41.2	26.7-59.7	1.6	5(0.7)	3(1.3)	-	-	-
5 (55-74)		7	24.7(7/0)	49.4	31.5-68.8	5.4	3(0.9)	2(1.6)	1(2.1)	1(3.2)	-
6 (>75)		15	22.1(10/5)	136.5	87.5-174.5	8.2	-	2(1.7)	-	2(3.2)	11(9.9)
<b>Total</b>		<b>86</b>	<b>20.7(61/25)</b>	<b>47.1</b>	<b>12.6-71.2</b>	<b>3.2</b>	<b>50(0.8)</b>	<b>20(1.4)</b>	<b>1(2.1)</b>	<b>4(3.4)</b>	<b>11(9.9)</b>

Os resultados SUN/BUN/SCr foram apresentados para demonstrar a sua correção quando os valores de creatinina sérica foram usados para classificar os pacientes segundo o grau de lesão renal com base as regras descritas no KDIGO quando não se tem a creatinina basal dos pacientes e se usa informações baseadas na idade, no gênero e na raça dos pacientes e se verificou que dos 29 pacientes que apresentavam SUN #1, a maioria 69%(20/29) não apresentou lesão renal (SLR) e 31%(9/29) apresentou LRA1(lesão renal aguda estágio 1) apresentando a média de creatinina de 1,2mg/dL e de BUN 9,2mg/dL. Dentre os 18 pacientes que apresentaram resultados SUN#2, a maioria 78%(14/18) não apresentou lesão renal e 22%(4/18) apresentaram LRA1 com uma média de creatinina de 1,4mg/dL e de BUN de 13,7mg/dL. Pacientes com resultados SUN #3 foram 9, dos quais 89%(8/9) sem lesão renal e 11%(1/9) com LRA3 e média de creatinina de 3,8 e BUN de 32,2mg/dL.

O grupo que apresentou SUN #4 foi composto por 8 pacientes, deste 63% (5/8) sem lesão renal e 37% (3/8) apresentaram LRA1 com média de creatinina de 1,3mg/dL e de BUN de 41,2mg/dL. Resultados SUN #5 foram apresentados por 7 pacientes, 43% (3/7) sem lesão renal e 29%(2/7) com LRA1 e valor médio de creatinina de 1,6mg/dL, 14%(1/7) LRA2 com valor de creatinina de 2,1mg/dL e outros 14%(1/7) com LRA3 com valor de creatinina de 3,2mg/dL, o valor médio de BUN para todo o grupo foi de 49,4mg/dL. Resultados SUN #6 foi encontrado em 15 pacientes, destes 13%(2/15) LRA1 com média de creatinina de 1,7mg/dL, 13%(2/15) LRA3 por com média de creatinina de 3,2mg/dL e 74% (11/15) apresentarem média de creatinina de elevada demais 9,9mg/dL e não preenchiam critérios para classificação de KDIGO, mas sim de critérios de doença renal aguda (DRA), o valor médio de BUN nesse grupo de pacientes foi de 136,6mg/dL.

**TABELA 5. DISTRIBUIÇÃO DE SUN DE ACORDO COM OS DESFECHOS**

TESTE SUN			DESFECHOS				
Nº teste (mg/dL)	Cores do teste	n	Internação n(%)	Altas n(%)	Perdido n(%)	Transf. (HD) n(%)	Mortes n(%)
1 (5-14)		29	12(41.4)	16(55.2)	1(3.4)	-	-
2 (15-24)		18	10(55.6)	8(44.4)	-	-	-
3 (25-34)		9	4(44.5)	2(22.2)	1(11.1)	-	2(22.2)
4 (35-54)		8	4(50.0)	4(50.0)	-	-	-
5 (55-74)		7	4(57.1)	1(14.3)	-	-	2(28.6)
6 (>75)		15	7(46.6)	1(6.7)	-	3(20.0)	4(26.7)
<b>Total</b>		<b>86</b>	<b>41(47.7)</b>	<b>32(37.2)</b>	<b>2(2.3)</b>	<b>3(3.5)</b>	<b>8(9.3)</b>

A relação entre os resultados do teste SUN e desfechos foi verificada e constatou-se a maioria dos pacientes 48%(41/86) acompanhados mantivera-se internados por mais de 4 dias e esse desfecho apresentou distribuição uniforme (acima de 40%) em todos os pacientes grupos de pacientes independente do resultado SUN, mas dos 37% (32/86) que tiveram como desfecho alta hospitalar eram na maioria pacientes com resultados SUN #1, SUN#2, SUN#3 e SUN#4 em porcentagens de 55%(16/29), 44%(8/18), 22%(2/9) e 50%(4/8) respectivamente e os 2 pacientes que foram perdidos no estudo eram pacientes que apresentavam resultados SUN#1 e SUN#3, a probabilidade para esses dois casos é que ou tenha recebido alta ou tiveram como desfecho morte hospitalar e por isso questões administrativas seus processos poderia estar com os médicos ou outro profissional de saúde e por isso não conseguimos encontrar esses registros.

Todos os 8 pacientes que apresentaram desfecho de morte hospitalar, apresentaram resultados SUN#3, SUN#5 e SUN#6 em porcentagens de 22%(2/8), 29%(2/7) e 27%(4/15) respectivamente, ocorrendo uma transferência de 3 pacientes para os serviços de hemodiálise 20%(3/15) e destes todos apresentaram resultados SUN#6.

## 6 DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo desse tipo em Angola em geral, e em Luanda em particular, as informações obtidas nesse estudo são inestimáveis na demonstração de que a LRA é uma das complicações importantes em pacientes com malária e sua incidência é elevada, a fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) podem ser uma ferramenta importante para o diagnóstico de LRA nesses pacientes e podem servir como orientadores de gestão LRA em locais que tenham recursos limitados em todo o mundo.

Os estudo apresentou uma maioria dos pacientes com idades entre 11 a 30 anos, perfazendo um total de 85%(73/86) de toda a população estudada, maioritariamente crianças, adolescente e jovem que é uma característica da população Angolana (tabela 2) e esses dados corroboram com os dados obtidos no inquérito de indicadores de malária em Angola em 2011, que demonstrou que a população angolana é muito jovem, quase a metade (48 %) situa-se abaixo dos 15 anos de idade, com 21 % abaixo dos 5 anos de idade e pessoas com idade acima de 65 anos representam apenas 2 % do total da população, esses dados sócio demográficos são característico de países onde há um padrão de alta fecundidade e alta mortalidade. Houve também no estudo maior número de pacientes do sexo masculino do que sexo feminino aproximadamente 71%(61/25) de toda a população, embora os inquéritos dos indicadores da malária tenham afirmado que o país apresenta um número de mulheres ligeiramente superior ao de homens num percentual de 51 % para as mulheres e 49 % dos homens em Angola<sup>13</sup>. Uma possibilidade para esse número maior de pacientes do sexo masculino internados por malária é o fato de que a maioria das mulheres na sociedade Angolana é mais cautelosa para situações de doença e sempre procuram ajuda médica ou de outro profissional de saúde em tempo oportuno, já a maioria dos homens se auto medicam com mais frequência e só procuram ajuda em condições clínicas mais complicadas.

Houve no estudo maior predominância de estudantes 64%(55/86) e trabalhadores por conta própria 18%(166), a malária tem condicionado o aprendizado escolar e a renda familiar já que pessoas que trabalham por conta própria quando ficam doentes não tem como obter outra forma de se manter economicamente pois não existe em Angola programas como o bolsa família do governo Brasileiro que amenizam a condição de extrema miséria (tabela 2), isso foi reportado no inquérito de indicadores de malária em Angola em 2011, que afirmava que a malária por ser um problema de saúde pública e a primeira causa de doença e morte, tem um elevado efeito no absentismo laboral e escolar<sup>13</sup> e essa condição não só tem um impacto negativo sobre o processo saúde e doença nestas populações, como também sobre tem efeito no desenvolvimento social tornando-as mais pobres<sup>14</sup>.

O município de Luanda que é a região onde está localizada o hospital, apresentou o maior fluxo de pacientes 43%(37/86), embora houvesse fluxo de pacientes de outros municípios como Viana, Cazenga, Kilamba Kiayi, Cacuaco e Belas que se encontram a mais de 9 quilômetros de distância em relação ao hospital(tabela 2) e essas localidades apresentam condições de saneamento básica deficientes, assistência médica e medicamentosa nos centros de saúde é precárias e a maioria dos pacientes prefere percorrer mais distancias longas para obter assistência em um hospital terciário por falta de confiança nas unidades básicas de saúde dos seus município. O ultimo censo populacional de Angola estimou que cerca de um terço (6 milhões de habitantes) da população encontra-se concentrado em Luanda<sup>8</sup>, o inquérito sobre os indicadores de malária em Angola em 2011, explicam que na área urbana como é o caso da província de Luanda, a disponibilidade de saneamento básico atinge apenas 42% da população<sup>13</sup>.

Cerca de 29,1%(25/86) dos pacientes incluídos no estudo embora tendo sido diagnosticados com malária a quando a sua admissão, ao realizarmos o exame de gota espessa para as atividades do estudo, já não apresentavam o parasita no exame de sangue, podendo provavelmente estar associado ao fato de que na admissão hospitalar na maioria dos casos, é iniciado o tratamento médico e em alguns casos, muitos pacientes antes de recorrer ao hospital recorrem a automedicação, já que a compra da maiorias dos medicamentos nas farmácias não há a exigência de receita médica e nem há um controle rigoroso da venda de medicamentos, a toma de antipaludico por dois dias é o suficiente para a não observação do parasita no sangue de pacientes que apresentavam baixa parasitemia, dos 61(71%) pacientes que apresentaram gota espessa positiva, 4,7%(4/86) apresentaram baixa parasitemia, 26,7%(23/86) parasitemia moderada, 38,4%(33/86) alta parasitemia e apenas 1,1(1/86) apresentou-se hiperparasitemico(tabela 3) e percebeu-se que o quadro parasitêmico esteve associado a alterações na função renal, já que se constatou que pacientes com resultados SUN acima de 35mg/dL nas escalas #4(35-54), #5(54-74) e #6(<75) se encontravam maioritariamente distribuídos entre os grupos de pacientes com parasitemia moderada e alta. Esses resultados corroboram com os resultados de um estudo desenvolvido por Plewes e colaboradores em 2014, que verificaram em pacientes adultos com malária grave por *P.falciparum*, as concentrações plasmáticas de suPAR (medida indireta da ativação das células mononucleares) e PfHRP2 (medida da biomassa parasitária sequestrada) aumentaram com a gravidade da LRA (teste para tendência  $P < 0,0001$ ) e correlacionaram-se com outros marcadores de disfunção renal, e essas concentrações eram maiores nos pacientes que necessitaram mais tarde de terapia renal substitutiva ( $P < 0,0001$  e  $P = 0,0004$ , respectivamente), associados independentemente ao aumento da concentração de lipocalina e gelatinase e por isso concluíram que tanto a carga parasitária sequestrada como a ativação imune contribuem para a patogênese da LRA na malária grave por *P.falciparum*<sup>18</sup>.

Os resultados do teste SUN quando plotados sobre os valores BUN, verificou-se que a menor dispersão de SUN sobre BUN ocorria nas escalas da fita SUN #1(5-14), #2(15-24) e #6(<75), e essa dispersão era maior nas escalas SUN #3(25-34), #4(35-54), e #5(55-74) dando a percepção de que a medida que os valores de nitrogênio ureia salivar começam a atingir cifras acima de 25mg/dL, sua correlação com os valores de nitrogênio de ureia sanguínea diminuem e essa diferença reduz quando os valores de SUN são superiores a 75mg/dL(figura 8.A), essa dispersão na correlação SUN/BUN pode estar associada a alguns casos de resultados SUN falsos negativos e falsos positivos encontrados no estudo, um resultado semelhante foi observado por Calice-Silva e colaboradores em 2014, num estudo em pacientes com lesão renal aguda (LRA), em que ao comparar BUN em diferentes intervalos de SUN encontrou diferenças significativas entre os intervalos SUN em escalas inferiores e superiores (almofada de teste # 1 vs. # 5 e # 6) e observou uma ausência de diferenças significativas entre as concentrações de BUN e SUN a intervalos de SUN inferiores (almofadas de teste # 1 e # 2 vs. # 3 e # 4)<sup>34</sup>. Raimann e colaboradores em 2011, que afirmam que os níveis de BUN podem aumentar com a depleção de volume, dieta rica em proteínas, degradação muscular, durante terapias com esteroides, anfotericina B e tetraciclinas e níveis baixos de BUN podem ser observados em caso de doença hepática<sup>33</sup>, no caso dos pacientes do presente estudo a malária sempre acomete o fígado por ser o órgão onde o parasita se aloja nas suas fases de maturação e a disfunção hepática é uma das complicações mais comum.

Embora não se saiba de concreto o motivo, foi notório que o pH abaixo de 4 (pH ácido) afeta os resultados levando a resultados falsos negativos, mas a coloração da fita reagente de SUN também se baseia na mudança de pH, o que por si só pode interferir no resultado diretamente, ou talvez que o pH ácido cause uma leve desnaturação da enzima reduzindo sua eficiência, foram feitos 293 exames de SUN e destes 23 deram falsos negativos, mas essas condições foram minimamente melhorada com a hidratação do paciente com o consumo de pelo menos 500 mL de água 15 minutos antes da repetição do exame, alguns autores já haviam descrito que a flora bacteriana oral produtora de uréase pode dar origem a valores SUN falsamente baixos, isto, no entanto, não afeta o acordo em níveis mais elevados de SUN e a outra limitação é o ritmo circadiano que as glândulas salivares têm, potencialmente levando uma taxa de secreção diferente de algum composto de saliva de acordo com o tempo de medição em relação ao tempo do dia<sup>93,94,95</sup>.

Ao serem plotados os valores de SUN sobre os valores de BUN em dias de acompanhamento separados, observou-se que a dispersão dos valores SUN sobre os valores BUN era menor no 1º e 2º dia de acompanhamento e maior no 3º e 4º dia, além do fato de que depois do segundo dia começaram a

ocorrer vários desfechos, o tratamento medicamentoso, intervenções terapêuticas, condição clínica e outros fatores como estado nutricional e higiênico podiam estar associados a essa dispersão na correlação SUN sobre BUN, já que no estudo seguimos uma das recomendações de usar apenas saliva fresca e não estimulada para análise (figura 8. B), e isso nos levou a refletir sobre o que foi já havia sido referido Raimann e colaboradores em 2011, que o uso de SUN como indicador de BUN pode ser afetado pela presença de fatores orais locais, principalmente bactérias orais produtoras de uréase (principalmente estreptococos) e com base nesta observação, é razoável supor que os níveis de BUN aumentam ao longo do tempo a partir do intervalo normal até níveis patologicamente elevados o que resulta num sinal SUN positivo (isto é, uma leitura nas *teste pad* de SUN # 2 a # 6)<sup>33</sup>, e os resultados mais recentes de um outro estudo de Raimann e colaboradores em 2016, observou-se que estas diferenças não tem muito efeito na capacidade de precisão diagnóstica da fita SUN em valores elevados de ureia salivar (e consequentemente de BUN), mas sim em níveis inferiores sugerindo uma menor precisão quando os resultados de valores baixos de SUN são comparados aos de BUN e uma possível interpretação é que a fita SUN parece ser uma ferramenta útil para diagnosticar em níveis muito altos de nitrogênio salivar, mas não os níveis mais baixos<sup>47</sup>.

A correlação SUN e BUN foi avaliada e percebeu-se que SUN apresentava capacidade de detectar condições em que ocorreram alterações na função renal dos pacientes, já que evidenciou diferenças médias de BUN a cada dia de acompanhamento com pequenas variações e isso demonstrou que SUN variou proporcionalmente a BUN podendo ser utilizada como ferramenta para monitoramento da filtração renal ao longo dos tempos (figura 9.A), os resultados de SUN são em regra geral cerca de 20% menores em relação aos resultados de BUN, um estudo recente Raimann colaboradores em 2016, mostrou uma subestimativa consistente de BUN pelo SUN com variação de 17,2 (dia 4) para 25,7 (dia 2)<sup>47</sup> e num outro estudo mais antigo Raimann e colaboradores em 2011, as medições de SUN repetidas em 32 pacientes que eram submetidos a hemodiálise em 3 a 4 semanas, o fator de variação inter-observador foi de 4,9% no nível  $SUN > 50$  mg/dL e a reprodutibilidade dentro da mesma amostra foi avaliada em 119 medidas duplicadas, o que lhes levou a afirmar que o teste pode ser uma ferramenta útil para o auto-monitoramento em pacientes com insuficiência renal conhecida, como pacientes com transplante renal<sup>33</sup>.

A correlação SUN/BUN/SCr observada pela curva ROC, mostrou que essa relação é muito próxima já a curva sob a características do operador receptor para SUN foi de 0,88(IC 95% 0,80-0,96) para BUN foi 0,92 (IC 95% 0,86-0,99) e SCr foi de 0,96(IC 95% 0,89-1,000), demonstrando que os valores teste SUN podem ser equivalentes ao testes BUN e ao teste de creatinina que é considerado o exame de eleição para

o diagnóstico de LRA (figura 9. B, C e D), estes resultados se assemelharam aos obtidos por Raimann e colaboradores em um estudo sobre a concordância do desempenho entre SUN e BUN para diagnosticar a gravidade da LRA em pacientes com IRA nos Estados Unidos e no Brasil, que verificaram para SUN, uma área sob a curva de características do operador receptor de 0,85 (IC 95% 0,71-0,98), de 0,81 (IC 95% 0,63-0,98) para BUN e um valor preditivo da creatinina sérica de 0,90 (IC 95% 0,76-1,00) no dia de observação e concluíram que os valores de SUN reflete os valores de BUN especialmente em LRA grave<sup>47</sup>. Em outro estudo de Raimann e colaboradores em 2011, SUN e BUN foram significativamente correlacionados (RS= 0,63; p <0,01)<sup>33</sup> e no estudo de Calice-Silva e colaboradores em 2015<sup>4</sup>, houve corroboração na correlação entre SUN e BUN (Rs= 0,65; p <0,001) e a melhor correlação foi observada no estágio AKIN 1<sup>34</sup>. O estudo de Evans e mostrou que o BUN associou-se significativamente a SUN (aumento de 0,26 mg/dl de SUN por aumento de 225 mg/dl de BUN, p <0,01)<sup>88</sup>.

A capacidade diagnóstica de SUN foi avaliada através da curva ROC para verificar a sua diferença em dias de acompanhamento específicos e percebeu-se que embora apresentasse variações segundo a detenção de alterações da função renal (figura 9.A) se manteve em valores muito próximos, com apenas ligeiras variações no 1º, 2º, 3º e 4º dia (0,880; 0,852; 0,895 e 0,879, respectivamente com IC 95%) e esses valores são próximos a 0,9 que é considerado como valor de teste excelente (Figura 10.A,B,C e D), demonstrando que a fita SUN é uma ferramenta boa para avaliar LRA, e esses resultados apresentaram ligeira diferença com os resultados obtidos no estudo desenvolvido por Raimann e colaboradores em 2016, onde para SUN encontraram uma diminuição da área sob a curva do operador receptor de 0,85 (IC 95% 0,71-0,98) no dia 1 de observação para 0,63 (IC 95% 0,63-0,98) no dia 4 de observação<sup>47</sup>, já no estudo desenvolvido por Cálice-Silva e colaboradores em 2014, foram encontrados um total de 7 resultados falso-positivos (16%) e 1 falso negativo (2,3%), a sensibilidade foi 0,91 (IC 95%: 0,58-0,99) e especificidade de 0,79 (IC 95% 0,61-0,91) com um valor preditivo positivo de 0,59 e um valor preditivo negativo de 0,97 uma razão de verossimilhança positiva de 4,3 (IC 95% 2,16 - 8,5) e uma razão de verossimilhança negativa de 0,12 (IC 95%: 0,02-0,75)<sup>34</sup>. Raimann e colaboradores em 2011, afirmaram que com base nas características do teste (sensibilidade e especificidade), o ganho de verossimilhança (isto é, a diferença entre o pré-teste e a probabilidade pós-teste) é máxima em populações com uma probabilidade pré-teste de 20 a 35%. Por esta razão, o teste SUN é particularmente adequado em indivíduos com suspeita de doença renal, ou seja, em circunstâncias em que a prevalência da doença é moderada a alta (probabilidade pré-teste)<sup>33</sup>.

A correlação dos resultados de cada grupo de pacientes organizados em escala SUN foi relacionada aos resultados de BUN e creatinina dos mesmos pacientes e se apresentaram similares quando compêndios e gráficos, ou seja, verificou-se que a média dos valores de nitrogênio de ureia sanguínea apresentaram-se correspondentes as faixas de valores de nitrogênio de ureia salivar nas escalas SUN de #1 a #6 (5-14, 15-24, 35-54, 55-74, <75) e os valores médios de creatinina sérica (SCr) em cada grupo se apresentaram crescentes em relação as faixas da escala de SUN e BUN numa relação de 10/1, a exceção ocorreu no grupo SUN #4(35-54) em que o valor médio de creatinina nesse grupo foi menor que o valor médio de creatinina no grupo SUN #3 (tabela. 4).

A classificação dos pacientes por lesão renal aguda, segundo as regras descritas no KDIGO<sup>20</sup>, mostrou que dos 86 pacientes estudados, 50/86 (58%) não apresentaram nenhum tipo de disfunção renal aguda, 20/86(23%) apresentaram LRA1, 1/8(1%) LRA2, 4/84(5%) LRA3 e 11/86(13%) apresentaram critérios para classificação em DRA por não apresentarem resultados de creatinina acima de valores que são usados na classificação de LRA e dentre os pacientes que apresentaram algum tipo de lesão renal, o grupo de pacientes com LRA1 foi independentemente dos resultados SUN mas pacientes que se apresentavam LRA2 e LRA3 eram pacientes que apresentaram resultados médios de nitrogênio de ureia salivar acima 24mg/dL(tabela 4) e esses dados corroboram com os resultados obtidos por Raimann e colaboradores em 2016, onde era notável que SUN, BUN e creatinina foram substancialmente mais elevados para aqueles pacientes classificados como AKIN III em comparação com o menos grave AKIN estádios I e II<sup>47</sup> e nos levam a corroborar com Calice-Silva colaboradores em 2014, que verificaram que as correlações entre o teste SUN e o BUN diferiram por etiologia da LRA, mas que o estágio 2 de AKIN também estava associado a resultados ruins que com a repetição das análise combinando AKIN 2 + AKIN 3 para avaliar o desempenho diagnóstico de SUN e BUN neste grupo de pacientes, SUN discriminou AKIN 1 (n = 26) de AKIN 2 + 3 (n = 18) com uma curva ROC de 0,73 (95% IC 0,57 - 0,89), mesmo tendo perdido com 6 a 7 casos de AKIN 2 e 1 e tendo perdido 11 casos de AKIN 3<sup>34</sup>.

O desfecho dos pacientes também pareceu estar associado aos resultados da fita SUN, já que dos 41 pacientes que tiveram como desfecho alta hospitalar por melhora no quadro clínico a maioria apresentou a média de resultados nas escalas SUN abaixo de #3 (menores que 25mg/dL), constatou-se que todos os 8 pacientes que apresentaram desfecho de morte hospitalar estavam nos grupos de pacientes que média dos valores nas escalas SUN de #3 (superiores a 25mg/dL) e nos mesmos pacientes que foram classificados como LRA2, LRA3 e com critérios para DRA, a exceção para esses dois aspectos acima retratados ocorreu nos pacientes que apresentaram valores nas escala SUN #4(35 a 55mg/dL) onde a alta

hospitalar de foi em cerca de 50% desse grupo de paciente e não houve nenhum caso de morte hospitalar (tabela 5) e a razão desses resultados podem ser estar associado ao que foi constatado nos valores de médios de creatinina desse grupo de pacientes se mostrou um declínio (tabela 4), e constatou-se também que valores médios de nitrogênio de ureia salivar que se apresentaram pacientes do grupo SUN #6 ( $<75\text{mg/dL}$ ) estiveram associados a transferência de 3 pacientes para os serviços de hemodiálise do hospital Josina Machel, demonstrando os resultados da fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) esteve associado aos desfechos como continuação da internação, alta hospitalar, transferências para hemodiálise e morte hospitalar, estes resultados se parecem aos observados por Evans e colaboradores em 2016, que verificaram que o desfecho hospitalar foi em 702 pacientes e se determinou se a idade, o sexo, a presença de 247 diabéticos e os resultados do SUN como preditores de tempo de internação e morte hospitalar, e os resultados mostraram que um número de 248 dos 702 pacientes apresentaram SUN elevado  $>14\text{mg/dL}$  (SUN  $>test\text{-}pad >\#1$ ) e esse este foi o único fator preditor independente significativo de mortalidade por todas as causas<sup>88</sup>.

Embora SUN tenha se mostrado uma ferramenta eficiente no monitoramento da condição renal, ela não é o teste de eleição para diagnóstico de lesão renal aguda, é uma alternativa para condições em que o exame de creatinina não esteja disponível, Muntner e colaboradores afirmam que a ureia não é um indicador eficiente para o diagnóstico de LRA por não ser produzida constantemente durante o dia e a sua concentração sanguínea pode variar com a ingestão proteica, sangramento gastrointestinal e o uso de medicamentos, como corticosteroides, sua produção diminui na vigência na insuficiência hepática e desnutrição, é também parcialmente reabsorvida após o processo de filtração e conseqüentemente seu cálculo de depuração é subestima na TFG<sup>96</sup>, embora isso, até hoje é frequentemente utilizada na prática clínica por apresentar resultados eficientes que permitem verificar a capacidade de filtração glomerular e conforme foi descrito por Cardoso e colaboradores, os níveis de nitrogênio de ureia salivar (SUN) e níveis sanguíneos de ureia (BUN) estão altamente correlacionados tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes com doença renal crônica (DRC)<sup>97</sup>.

## 7 CONCLUSÃO

O estudo mostrou que independente das características sócio demográficas e antropométrica da população, a fita de nitrogênio de ureia salivar (SUN) apresenta-se eficiente no diagnóstico de lesão renal aguda decorrente de malária independente do grau de infecção (parasitemia) e pode ser uma ferramenta usada a beira do leito para avaliar e acompanhar variações da função renal neste grupo de pacientes. Por se tratar de um método barato e de fácil utilização e que apresenta resultados que podem ser comparados aos resultados de exame laboratorial de nitrogênio da ureia sanguínea (BUN) e creatinina no sérica, SUN poderia auxiliar no manejo desta complicação reduzindo de tempo de internação e taxa de mortalidade.

Apesar de SUN não ser um método de eleição para a classificação de condição de lesão renal aguda, em situações em que não estejam disponíveis condições para a realização da creatinina, aquela pode ser usada para diferenciar pacientes com condição renal mais graves de pacientes que não apresentam alteração da função renal e isso pode permitir mais atenção na assistência médica prestada aos pacientes, além de monitorar a LRA que podem levar a desfechos como morte hospitalar ou definir condições em que pacientes precisem assistência especializada.

Acreditamos, como já foi descrito por outros autores que fita SUN pode ser uma ferramenta útil na triagem em situações de grandes desastres, na observação longitudinal da resposta ao início do tratamento (por exemplo, reposição de fluídos na LRA responsiva ao volume) e avaliação longitudinal da função renal em circunstâncias que envolvem viagens substanciais até laboratórios clínicos, principalmente em países como Angola, onde os recursos públicos com equipamentos diagnósticos são muito baixos e o número de casos de pacientes com LRA secundária a malária possivelmente tem levado ao aumento no número de casos de pacientes com doença renal crônica, que vindo a crescer significativamente nos últimos anos.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo apresentou certas limitações por incluir crianças com idades acima de 10 anos e excluir adultos acima de 50 anos e vários aspectos estiveram relacionados a isso, o primeiro é porque o hospital onde foi realizado o estudo é um hospital de nível terciário que receberia apenas pacientes transferidos das unidades básicas de saúde (postos de saúde) ou de instituições de saúde de níveis secundários (centros de saúde), mas devido o descumprimento das políticas de saúde e da própria desorganização estrutural do sistema de saúde, os paciente recorrem diretamente para os hospitais de níveis terciário, rompendo toda a sequência de assistência em saúde que devia existir entre os diferentes níveis de assistência de saúde. A política do ministério da saúde é que todos os hospitais devem receber e atender os doentes que recorrem a essas unidade e após cuidados e é que podem transferir para o hospital de mais adequado, assim, seria característica do hospital Josina Machel atender apenas a pacientes adultos dos 15 aos 50 anos e os menores de 15 seria atendidos nos hospital pediátrico, mas como o fluxo de pacientes no hospital pediátrico é muito grande, o hospital Josina Machel assumiu o atendimento dos pacientes de acima de 10 anos de idade para reduzir o fluxo no hospital pediátrico, o outro fato é que a unidade hospitalar deve atender todos os pacientes sem exceção, por isso muitos pacientes com idades acima de 50 anos também recorrem ao hospital e na maioria das vezes são atendidos e internados, após se estabilizar a condição clinica algumas vezes são transferidos para o hospital geriátrico quando há vaga no hospital de referência e outras vezes acabam sendo mantidos no hospital Josina Machel até desfechos como alta ou morte.

A ideia inicial do estudo era incluir todos os pacientes com malária independente da idade, mas as explicações para a inclusão de pacientes de 11 anos a 50 é inicialmente pelo grupo de pacientes que o hospital atende, segundo pelo fato de que a malária é mais frequente em crianças, adolescentes e jovens e um pouco menos frequente entre que adultos e velhos<sup>8,43,98,99</sup>, além do fato de que essa população é constitui cerca de 70% da população Angolana<sup>98</sup>, terceiro foram excluídos no presente estudo pacientes todos os pacientes que tinham história de doenças crônicas como hipertensão e diabetes e outras descritas nos critérios de exclusão e a maioria dos pacientes internados no hospital por malária com idades acima de 50 anos apresentavam tais doenças algum dos critérios de exclusão, mas acreditamos que a validade externa do estudo seja prejudicada por isso, porque a eficiência da fita SUN na maioria dos estudos já realizados até ao momento, a média de idades dos pacientes estudados foram pessoas acima de 50, Raimann 2011 (60 anos)<sup>33</sup>, Calice-Silva e colaboradores 2014 (59.7 anos)<sup>34</sup>, Raimann e colaboradores em 2016, (61.8 anos)<sup>47</sup> e apenas Evans e colaboradores em 2016, que tiveram uma média de idades menor que 50 anos (41.7 anos)<sup>88</sup>.

Vários aspectos limitaram o estudo como o fato da coloração no *test pad* da fita de nitrogênio de ureia salivar(SUN) que talvez isso poderá ter induzido a pequenos erros na separação dos pacientes em diferentes grupos principalmente nos resultados SUN#3 e SUN#4, já que sabemos que existem algumas condições de higiene diária e ou fisiológica que pode afetar os resultados da fita.

O efeito do pH ácido ( $\geq 4$ ) que pode ter induzido os pesquisadores a obterem alguns resultados falsos negativos ou positivos.

A exclusão de pacientes com idades menores de 11 anos e maiores de 50, assim como o fato do estudo incluir crianças e adultos numa única amostra que ter alguma influência na validade externa do estudo.

O tempo de acompanhamento dos pacientes (4 dias) que não permitiu acompanhar a influência da LRA no desfecho de todos os pacientes e avaliar e acompanhar os pacientes que apresentaram valores de creatinina muito altos para confirmar se tratava-se apenas DRA ou acabaram desenvolvendo DRC.

O fato de ter sido usado no estudo os pontos médios das faixas (*test pad*) dos resultados SUN para a separar os grupos de pacientes e poder transformar essa variável em categoria numérica o que possibilitou as análises estatísticas, poderia contribuir para que um paciente com um resultado para um grupo esteja em outro pelo uso do valor médio.

## 9 REFERÊNCIAS

1. NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2010.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the treatment of malaria**. Geneva, 2006.
3. GARNHAM, P. C. C., DUGGAN, A. J. **Catalogue of Garnham Collection of Malaria parasites and Opher Haemosporidia**. William Clowes Ltd. London, 1986.
4. VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2006.
5. WHO: **Guidelines for the Treatment of Malaria**. Geneva: World Health Organization; 2010 [http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241547925/en/].
6. LEÃO, R. N. Q. **Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico**. Belém: CEJUP/UEPA/Instituto Evandro Chagas, 1997.
7. THE WORLD HEALTH REPORT 2002: **reducing risks, promoting healthy life**. Geneva, World Health Organization, 2002.
8. MINISTÉRIO DA SAÚDE DE ANGOLA/PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLO DA MALARIA. **Plano Estratégico Nacional 2011-2015 (Draft)**. Luanda, Angola, 2016.
9. REDINHA, J. **Etnias e culturas de Angola, Luanda**. Instituto de Investigação Científica de Angola, 1975.
10. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the Treatment of Malaria**. Second Edition. Geneva: WHO. 2010.
11. GRASSI B, BIGNAMI A, BASTIANELLI G. **Ulteriore ricerche sul ciclo dei parassiti malarici umani sul corpo del zanzarone**. *Atti Reale Accad Lincei*. 1899;8:21–28.
12. LAVERAN A. **Un nouveau parasite trouvé dans le sang de malades atteints de fièvre palustre. Origine parasitaire des accidents de l'impaludisme**. Bull Mém Soc Méd Hôpitaux Paris. 1881;17:158–164.
13. MINISTÉRIO DA SAÚDE DE ANGOLA. **Inquérito de Indicadores de Malária em Angola..** ICF International Calverton, Maryland, USA. 2011.

14. MINISTÉRIO DA SAÚDE DE ANGOLA. **Educação para Prevenção da Malária-Paludismo.** Manual do Ministério da Educação. ADPP, 2006.
15. DONDORP A, NOSTEN F, STEPNIEWSKA K, DAY NP, WHITE NJ. **South East Asian Quinine Artesunate Malaria Trial (SEAQUAMAT) group: Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria: a randomised trial.** *Lancet*, 2005, 366:717–725.
16. TRANG TT, PHU NH, VINH H, HIEN TT, CUONG BM, CHAU TT, MAI NT, WALLER DJ, WHITE NJ. **Acute renal failure in patients with severe falciparum malaria.** *Clin Infect Dis*, 1992, 15:874–880.
17. KATHERINE PLEWES, ANNICK A ROYAKKERS, JOSH HANSON<sup>1</sup>, MD MAHTAB UDDIN HASAN, SHAMSUL ALAM, ANIRUDDHA GHOSE, RICHARD J MAUDE, PAULINE M STASSEN, PRAKAYKAEW CHARUNWATTHANA, SUE J LEE<sup>1</sup>, GARETH DH TURNER, ARJEN M DONDORP, MARCUS J SCHULTZ. **Correlation of biomarkers for parasite burden and immune activation with acute kidney injury in severe falciparum malária.** *Malária Journal*, 2014, 13:91.
18. PLEWES K., ROYAKKERS A. A., HANSON J., HASAN M. M. U., ALAM S., GHOSE A., MAUDE R. J., STASSEN P. M., CHARUNWATTHANA P., LEE S. J., TURNER G. D., DONDORP A. M., SCHULTZ M. J. **Correlation of biomarkers for parasite burden and immune activation with acute kidney injury in severe falciparum malaria.** *Malaria Journal*. 13:91. 2014.
19. VAN WOLFSWINKE, M. E. KOOPMANS, LIESE, C. HESSELINK, D. A. HOORN, E. J. KOELEWIJN, R. VAN HELLEMOND, J. J. VAN GENDEREN, P. J. J. **Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) predicts the occurrence of malaria-induced acute kidney injury.** *Malar J* (2016) 15:464. DOI 10.1186/s12936-016-1516-y.
20. KDIGO. **Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury.** *Official Journal of the International Society of Nephrology*. Volume 2.2012.
21. HENDRIKSEN IC, MWANGA-AMUMPAIRE J, VON SEIDLEIN L, MTOVE G, WHITE LJ, OLAOSEBIKAN R, LEE SJ, TSHEFU AK, WOODROW C, AMOS B, KAREMA C, SAIWAEW S, MAITLAND K, GOMES E, PAN-NGUM W, GESASE S, SILAMUT K, REYBURN H, JOSEPH S, CHOTIVANICH K, FANELLO CI, DAY NP, WHITE NJ, DONDORP AM. **Diagnosing severe**

**falciparum malária in parasitaemic African children: a prospective evaluation of plasma PfHRP2 measurement.** *PLoS Med* 2012, 9: 1001297.

22. MUKHERJEE AP, WHITE JC, LAU KS. **Falciparum malária associated with jaundice, renal failure and anaemia.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1971, 65:808–814.
23. NGUANSANGIAM S, DAY NP, HIEN TT, MAI NT, CHAISRI U, RIGANTI M, DONDORP AM, LEE SJ, PHU NH, TURNER GD, WHITE NJ, FERGUSON DJ, PONGPONRATN E. **A quantitative ultrastructural study of renal pathology in fatal Plasmodium falciparum malária.** *Trop Med Int Health* 2007, 12:1037–1050.
24. SITPRIJA V, INDRAPRASIT S, POCHANUGOOL C, BENYAJATI C, PIYARATN P. **Renal failure in malária.** *Lancet* 1967, 1:185–188.
25. MUSTJOKI S, SIDENIUS N, VAHERI A. **Enhanced release of soluble urokinase receptor by endothelial cells in contact with peripheral blood cells.** *FEBS Lett* 2000, 486:237–242.
26. WAGNER SN, ATKINSON MJ, WAGNER C, HOFER H, SCHMITT M, WILHELM O. **Sites of urokinase-type plasminogen activator expression and distribution of its receptor in the normal human kidney.** *Histochem Cell Biol* 1996, 105:53–60.
27. HAASE M, DEVARAJAN P, HAASE-FIELITZ A, BELLOMO R, CRUZ DN, WAGENER G, KRAWCZESKI CD, KOYNER JL, MURRAY P, ZAPPITELLI M, GOLDSTEIN SL, MAKRIS K, RONCO C, MARTENSSON J, MARTLING CR, VENGE P, SIEW E, WARE LB, IKIZLER TA, MERTENS PR. **The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalinpositive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies.** *J Am Coll Cardiol* 2011, 57:1752–1761.
28. SINGER E, MARKO L, PARAGAS N, BARASCH J, DRAGUN D, MULLER DN, BUDDE K, SCHMIDT-OTT KM. **Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications.** *Acta Physiol (Oxf)* 2013, 207:663–672.
29. GREENBERG A. **Urinalysis.** Primer on Kidney Diseases, National Kidney Foundation, 5th Edition. 2009.

30. CERDÁ J, LAMEIRE N, EGGERS P, PANNU N, UCHINO S, WANG H, BAGGA A, LEVIN A. **Epidemiology of acute kidney injury.** *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 881–886.
31. LEWINGTON AJP, CERDÁ J, MEHTA R. **Raising awareness of acute kidney injury: a global perspective of a silent killer.** *Kidney International.* 2013
32. MEHTA RL, KELLUM JA, SHAH SV, MOLITORIS BA, RONCO C, WARNOCK DG, LEVIN A. **Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury.** *Crit Care* 2007; 11:R31.
33. RAIMANN JG., KIRISITS W., GEBETSROITHER E., CARTER M., CALLEGARI J., ROSALES L., LEVIN NW., KOTANKO P. **Saliva urea dipstick test: application in chronic kidney disease.** *Clinical Nephrology.* 2011; 76: 23-28.
34. CALICE-SILVA V, VIERA MA, RAIMANN J, CARTER M, CALLEGARI J, LEVIN NW, KOTANKO P, PECOITS-FILHO R. **Saliva urea nitrogen dipstick - a novel bedside diagnostic tool for acute kidney injury.** *Clinical Nephrology.* 2014 (in press).
35. COCKCROFT DW, GAULT MH. **Prediction of creatinine clearance from serum creatinine.** *Nephron* 16: 31-41, 1976.
36. LEVEY AS. **Measurement of renal function in chronic renal disease.** *Kidney Int.* 1990; 38-167.
37. KIRSZTAJN GM. **Assessment of glomerular filtration rate.** *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2007, 43.
38. STEVENS LA, CORESH J, GREENE T, LEVEY AS. **Assessing kidney function- measured and estimated glomerular filtration rate.** *N Engl J Med* 2006; 354:2473.
39. SHEMESH O, GOLBETZ H, KRISS JP, MYERS BD. **Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients.** *Kidney Int.* 1985; 28:830.
40. KIM KE, ONESTI G, RAMIREZ O, BREST AN, SWARTZ C. **Creatinine clearance in renal disease. A reappraisal.** *Br Med J.* 1969; 4:11.
41. SOARES, F. M. L. J; PASQUALOTTO, C. A; ROSA, D. D; LEITE, D. S. R. V. **Métodos Diagnósticos: Consulta Rápida.** *Artmed.* Porto Alegre. P 187. 2007.

42. AKAI T, NAKA K, YOSHIKAWA C, OKUDA K, OKAMOTO T, YAMAGAMI S, INOUE T, YAMAO Y, YAMADA S. **Salivary urea nitrogen as an index to renal function: a test-strip method.** *Clin Chem.* 1983; 29: 1825- 1827.
43. HENCH PS, ALDRICH M. **A salivary index to renal function.** *J Am Med Assoc.* 1923; 81: 1997-2003.
44. SEIN KT, ARUMAINAYAGAM G. **Correlation between serum urea and salivary urea.** *Clin Chem.* 1987; 33: 2303-2304.
45. BURNE AR, CHEN YM. **Bacterial ureases in infectious.** *Microbes and Infection.* 2000;2.
46. FERGUSON DB, FORT A, ELLIOT AL, POTTS AJ. **Circadian rhythms in human parotid saliva flow rate and composition.** *Archs oral Biol.* 1973; 18: 1155-1173.
47. RAIMANN J. G., CALICE-SILVA V. THIJSEN S. NERBASS F. B. VIEIRA M. A., DABEL P. EVANS R., CALLEGARI J., MARY C., LEVIN N W., WINCHESTER J. F. KOTANKO P., PECOITS-FILHO R. **Saliva Urea Nitrogen Continuously Reflects Blood Urea Nitrogen after Acute Kidney Injury Diagnosis and Management: Longitudinal Observational Data from a Collaborative, International, Prospective, Multicenter Study.** *S. Karge. Blood Purif* ;42:64–72 . DOI: 10.1159/000445041. 2016.
48. REY, L. **Bases da Parasitologia Médica.** 2ª Edição. Guanabara Koogan. P 112. 2002.
49. WORLD HEALTH ORGANIZATION (1992). **Global Malaria Control Strategy.** Ministerial Conference on Malaria, Amsterdam, 26-27 October 1992. Document CTDIMCMIIMI92.3.
50. LINDSAY, S.W. MARTENS W.J.M. **Malaria in the African highlands: past, present and future.** *Bulletin of the World Health Organization,* 1998, 76 (1): 33-45
51. SILVA, F. **Prevalência de Plasmodium em indivíduos assintomáticos Dadores do Centro Nacional de Sangue.** Tese. Departamento De Biologia. 2013. p. 4.
52. LECCA, R. C. **Infecção assintomática Subpatente de *P.Falciparum* no município de careiro área endêmica do Amazonas.** Tese. 2009.

53. MONTEIRO, M. F. A. D. **Efeito de factores do hospedeiro e parasitários na Susceptibilidade à malária e gravidade da doença.** Estudo de Alguns Polimorfismos Eritrocitários e das Espécies de Plasmodium. 2011. p. 33.
54. GOMES, A. P. *et al.* **Malária grave por Plasmodium falciparum.** *Revista Brasileira de Terapia Intensiva.* 2011.
55. BRAGA M.D.M.; Alcântara, GC; SILVA C.N.; NASCIMENTO, C.G.H. **Malária cerebral no Ceará: relato de caso.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004.
56. ELSHEIKHA, H.; SHEASHAA, H: **Epidemiology, pathophysiology, management and outcome of renal dysfunction associated with plasmodia infection.** *Parasitol Res* 2007; pp 1183-1190.
57. PIRES A, BORGES A, ADRAGÃO T, SILVA M, BORGES F: **Malária e Rim.** *Medicina Interna* 2001.
58. LACERDA, M.V.G.; MOURÃO, M.P.G.; SANTOS, P.J.T.; ALECRIM, M.G.C. **Malária algida: um diagnóstico sindrômico.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009
59. MUTIS, M.C.S., MARTINEZ-ESPINOSA F.E., ALBUQUERQUE, B.C. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 833-58.
60. AGUIAR, D. S. P. A. **Doença Renal na Malária.** Mestrado Integrado em Medicina. Faculdade de Medicina Universidade do Porto. Pp 7-19. 2010.
61. LACERDA, M.V.G.; MOURÃO, M.P.G.; SANTOS, P.J.T.; ALECRIM, M.G.C. **Malária algida: um diagnóstico sindrômico.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009.
62. RANG HP, DALE MM, RITTER JM. **Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs.** In: **Pharmacology.** 7<sup>th</sup>ed., Churchill Livingstone Edinburgh London, 2003.
63. ASHLEY E. *et al.* **Malaria.** *Travel Medicine and Infectious Disease* 2006; pp159-173.
64. SMELTZER *et al.* **Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica.** 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
65. DANGELO, F. **Anatomia Básica dos Sistemas Orgânicos: com a descrição dos ossos, juntas, músculos, vasos e nervos.** 2ª Edição. São Paulo. Editora Atheneu, 2002.

66. GUYTON, A. **Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 6 ed. 2006. p. 191.
67. BRASIL. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária**. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília-Brasil : Ministério da Saúde, 2005.
68. VENTURA, D. S. R. M; LIBONATI, R. F. M; SEQUEIRA, G. C; OHNISHI. D. O. D. D. S. **Malária falciparum com comprometimento renal (síndrome Nefrótica) – relato de caso**. PP 1-5.2013.
69. BULBOL, W.S., SILVA, F.B., SOUZA, J.J.S., GAZZANA, M.L. **Revisão/Atualização em Insuficiência Renal Aguda: Alterações renais em pacientes com malária por Plasmodium falciparum**. 2016.
70. ADIONILDE, A.D.S.P. **Doença Renal na Malária**, Faculdade de medicina Universidade do Porto. 2010. pp 7-19.
71. VERMEHREN, R.; CARDOSO, A.D; BULBOL, W.; FRANCO, M; COELHO, K.; LORENZI, F.; NUNES, V.; GONÇALVES, J. **Relato de Um Caso de Insuficiência Renal Aguda em Malária Causada Por Plasmodium Vivax**. 2005. p.94.
72. MEHTA K.S.; HALANKAR A.R.; MAKWANA P.D.; TORANE P.P.; SATIJA P.S.; SHAH V.B. **Severe Acute Renal Failure in Malaria**. *J Postgrad Med* 2001; pp 24-26.
73. SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Insuficiência Renal Aguda**. Diretrizes da AMB Sociedade Brasileira de Nefrologia. São Paulo.2007
74. SINGBARTL, K. AND KELLUM, J.A. **AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes**. *International Society of Nephrology*. *Kidney International* (2012) 81, 819–825.
75. SERPEJANTE, C. **Exame de ureia é feito para acompanhamento de doenças renais**. 2016.
76. VILELA, S. **Uréia e creatinina – Avaliando a função renal verificando valores normais no sangue**. 2014.
77. PÚBLIO, L.R.; PÚBLIO, T.R.; FARIA, R.N.; VIANA, T.C. **Perfil bioquímico e hematológico dos pacientes submetidos à hemodiálise em uma unidade de saúde de guanambi- ba**. 2015.

78. NAGLER, R.M., et al, **Saliva analysis in the clinical setting: revisiting an underused diagnostic tool.** *J Investig Med*, 2002. 50(3): p.214--25.
79. WRIGHT, S. **Case of ascites in which, during spontaneous ptialism that occurred after tapping, urea was detected in saliva.** *Lancet*, 1841.1:p.753--8.
80. AMERONGEN, A.V., **Saliva: Properties and Functions, in Salivary Diagnostics**, D.T. Wong, Editor. 2008, Wiley--Blackwell: New Dehli, India. p. 27--36.
81. BARNETT, G.D. AND R.G. BRAMKAMP, **Influence of rate of secretion on urea.** *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1929: p.118--120.
82. HUMPHREY, S.P. AND R.T. WILLIAMSON, A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*, 2001. 85(2): p.162--9.
83. FORLAND, M., I.L. SHANNON, AND F.H. KATZ, **Parotid--Fluid Urea Nitrogen for the Monitoring of Hemodialysis.** *N Engl J Med*, 1964. 271:p. 37--8.
84. AKAI, T., et al., **Salivary urea nitrogen as an index to renal function: a test--strip method.** *Clin Chem*, 1983.29(10): p.1825--7.
85. HENCH, P.S. and ALDRICH M. **Salivary Index to Renal Function.** *JAMA Intern Med*, 1923. 81: p. 1997--2003.
86. CHIAPPIN, S. et al., **Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation.** *Clin Chim Acta*, 2007.383(1--2):p.30--40.
87. CALICE-SILVA, V. **Salivary Urea Nitrogen Dipstick as a Diagnostic Tool for Acute Kidney Injury.** Teses de doutorado. Programa de pós-graduação em ciências de Saúde. Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. 2016.
88. EVANS R, R. CALICE-SILVA V. RAIMANN J. G. HEMMILA, U. CRAIK, A. MTEKATEKA M. HAMILTON F. KAWALE Z. DOBBIE, H. DREYER, G. LEVIN, N. KOTANKO, P. PECOITS-FILHO, R. **Diagnostic performance of a Saliva Urea Nitrogen Dipstick to detect Kidney Disease in Malawi.** *Kidney International Reports*. 2016. KIR-09-16-0130.R1.

89. SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Biomarcadores na Nefrologia**. São Paulo, SP. Cap.1.Biomarcadores de Função Renal na DRC. 2011.
90. ALTMAN DG, BLAND JM. **Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies**. *J R Stat Soc Series D* 1983; 32: 307–317.
91. KROUWER JS. **Why Bland-Altman plots should use X, not (Y+X)/2 when x is a reference method**. *Stat Med* 2008; 27: 778–780.
92. R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, R Foundation for Statistical Computing, 2010.
93. BURNE, R.A. AND Y.Y.CHEN. **Bacterial ureases in infectious diseases**. *Microbes Infect.* 2000.2(5): p.533---42.
94. DAWES, C. **Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition**. *J Physiol.*1972.220(3): p. 529---45.
95. FERGUSON, D.B. et al. **Circadian rhythms in human parotid saliva flow rate and composition**. *Arch Oral Biol.* 1973.18(9): p.1155---73.
96. MUNTNER P, HE J, ASTOR BC, FOLSOM AR, CORESH J. **Traditional and nontraditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study**. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Feb;16(2):529-38.
97. CARDOSO EM, ARREGGER AL, TUMILASCI OR, ELBERT A, CONTRERAS LN. **Assessment of salivary urea as a less invasive alternative to serum determinations**. *Scand J Clin Lab Invest.*; 69: 330-334. 2009.

## CONSENTIMENTO INFORMADO

---

Você está convidado a participar do estudo: nitrogênio da ureia salivar como um marcador para o diagnóstico e acompanhamento para **lesão renal aguda em pacientes com malária**.

Você foi selecionado por meio de um formulário de avaliação e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode retirar seu consentimento para participar. Sua recusa não terá nenhum comprometimento em seu relacionamento com o pesquisador ou instituição, ou pode permanecer após o tratamento com o assistente de equipe de acordo previamente planejada.

O objetivo deste estudo é identificar a eficiência da fita de nitrogênio da ureia salivar para diagnosticar alterações agudas na função renal em pacientes com malária e detectar melhora ou piora da função renal após o tratamento antimalárico, proposto ou de acordo com a evolução da doença.

Sua participação nesta pesquisa vai exigir uma amostra de saliva e sangue para análise de testes diários da função renal. A ureia, creatinina sérica e nitrogênio da ureia salivar serão obtidas entre 2 a 4 dias de acompanhamento.

Os riscos relacionados com a sua participação são a possibilidade de dor no momento da coleta de sangue e um hematoma na mesma área que vai desaparecer em alguns dias.

Os benefícios relacionados a participação é auxiliar a identificação do método de diagnóstico de lesão renal aguda, mais rápido e mais barato para o sistema de saúde.

As informações obtidas através deste estudo são confidenciais e garantem a confidencialidade da sua participação. Os dados não serão divulgados de formas que não permitam a sua identificação. Você receberá uma cópia deste termo, que afirma

número de telefone e endereço do investigador e pode tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Declaro que compreendo os objetivos, riscos e benefícios da minha participação nesta pesquisa e concordo em participar.

Nome do Paciente:

Nome do Investigador:

Assinatura do Paciente:

Assinatura do Investigador:

Local e Data:

Data:

---

Número de telefone para informações: (+244) 923-858734/993-858734

**FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE LRA  
DECORRENTE DE MALÁRIA**

<b>Data de Inclusão</b>	
<b>Número do Paciente:</b>	
<b>Idade:</b>	
<b>Gênero:</b>	Feminino( ) Masculino( )
<b>Raça:</b>	Negro ( ) Outra raça ( )
<b>Nacionalidade (Cidade/País):</b>	
<b>Profissão:</b>	
<b>Razão da admissão:</b>	
<b>Data de entrada admissão hospitalar:</b>	
<b>Creatinina sérica basal (mg/dL)</b>	
<b>Uréia sérica basal ou BUN (mg/dL)</b>	
<b>Creatinina sérica na admissão(mg/dL)</b>	
<b>Ureia sérica na admissão ou BUN (mg/dL)</b>	
<b>LRA</b>	( ) Sim ( ) Não
<b>Etiologia da LRA (primeiro):</b>	Pré-renal ( ) Pós-renal ( ) Renal ( )
<b>Classificação LRA na data de rastreio:</b>	I ( ) II ( ) III ( )
<b>Outros testes de diagnóstico de LRA:</b>	

<b>Data de coleta</b>	<b>Fita SUN (1)</b>	<b>Fita SUN (2)</b>	<b>BUN (mg/dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>	<b>AKIN</b>	<b>Investigador</b>
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						