

Validade interna de ensaios terapêuticos em malária: análise de estudos de avaliação da emergência de resistência *in vivo* do *Plasmodium vivax* a doses padronizadas de primaquina

Internal validity of clinical trials for *Plasmodium vivax* malaria treatment

Elisabeth Carmen Duarte^{1,2}, Lorrin Pang³ e Cor Jesus Fernandes Fontes^{2,4}

Resumo Resistência parasitária pode ser definida como a habilidade da cepa parasitária de sobreviver e/ou multiplicar, a despeito da administração e absorção da medicação dada em doses iguais ou superiores àquelas usualmente recomendadas, porém dentro do limite de tolerância dos indivíduos. Assim sendo, o desenho de estudo ideal para monitorizar a emergência da resistência parasitária aos antimaláricos deveria utilizar controles históricos ou alguma informação prévia (baseline) válida. Além disso, é fundamental que se tenha algum tipo de controle sobre os demais determinantes de falha terapêutica, não diretamente relacionados ao fenômeno biológico da resistência do parasita, os quais poderiam variar através do tempo e teriam potencial de distorcer a interpretação dos resultados de estudos dessa natureza. No presente artigo são feitas considerações sobre a validade interna de estudos que objetivam avaliar a emergência da resistência *in vivo* do *Plasmodium vivax* a doses padronizadas de primaquina usadas rotineiramente pelos serviços de saúde. Poucos foram os estudos que atentaram para a necessidade de controlar os determinantes externos da falha terapêutica, ou que se preocuparam em comparar os resultados encontrados com as taxas de cura historicamente observadas em uma dada região geográfica. Assim, recomenda-se que maior ênfase seja dada à validade interna (e limitações) das conclusões de estudos dessa natureza.

Palavras-chaves: *Plasmodium vivax*. Primaquina. Resistência *in vivo*. Validade interna.

Abstract Parasite resistance can be defined as the ability of a parasite strain to survive and/or to multiply despite the administration and absorption of a drug given in doses equal or higher than those usually recommended, but within the limits of tolerance of the patients. Therefore, the ideal study design to be used to monitor emergence of parasite resistance would use historical controls or any valid baseline data. Moreover, it is desirable to have some control of remaining determinants of therapeutic failure, not related to biological parasite resistance, which could vary over time and would have potential to distort the analysis for detecting emergence of parasite resistance. Here we comment on the internal validity of studies, which aim to assess the *in vivo* *Plasmodium vivax* emergence of resistance to standard doses of primaquine used routinely by health services. Few studies have paid attention to the need to control for other determinant factors of therapeutic failures or made any attempt to compare current findings with cure failure rates of historical controls from a given geographical area. Therefore, attention to the internal validity (and limitations) of study conclusions in these types of study is strongly advised.

Key-words: *Plasmodium vivax*. Primaquine. *In vivo* resistance. Internal validity.

O julgamento de qualquer estudo epidemiológico deve ser feito sob pelo menos três pontos de vista: o da precisão (ausência de erro aleatório), o da validade externa (capacidade de generalização dos resultados encontrados) e o da validade interna. Em especial, a

validade interna diz respeito à ausência de vícios e de fatores de confusão como explicação para os resultados encontrados. Os ensaios terapêuticos de malária não são exceção. Nos últimos anos, registra-se na literatura médica um número cada vez maior de relatos e ensaios

1. Fundação Nacional de Saúde de Cuiabá, MT. 2. Núcleo de Estudos de Doenças Infecciosas e Tropicais de Mato Grosso, Cuiabá, MT. 3. Department of Health, Maui Hawaii. 4. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT.

Endereço para correspondência: Dra. Elisabeth Carmen Duarte. R. Juscelino Reiners 5, Edifício Petrópolis, Bloco A/504, Jardim Petrópolis, 78070-730 Cuiabá, MT, Brasil.

Tel: 55 65 621-1406

e-mail: eduarte@terra.com.br

Recebido para publicação em 26/11/01

Aceito em 2/5/2003

terapêuticos, versando sobre a possível emergência da resistência *in vivo* do *Plasmodium vivax* a doses padronizadas de primaquina, usadas rotineiramente pelos serviços de saúde^{1 7 8 10 13}. Gostaríamos de comentar, em particular, a respeito da validade interna desses tipos de estudos. Apesar deste documento não pretender cobrir todos os aspectos possíveis do tema, considerações relevantes sobre a metodologia são levantadas, fazendo com que os princípios aqui discutidos sejam aplicáveis mais amplamente em estudos de avaliação da terapêutica da malária.

A observação do (*re*) aparecimento de parasitemia por *P. vivax* após 28 dias de um tratamento radical (em geral supervisionado e em área sem transmissão) desta espécie parasitária é, por muitas vezes, diretamente atribuída à emergência de resistência parasitária à primaquina, mesmo em ensaios sem grupo controle e na impossibilidade de realização de testes *in vitro*. No entanto, esta interpretação despreza a multicausalidade da *falha terapêutica*, a qual já tem sido extensivamente discutida e enfatizada em relação a outros agravos relacionados à saúde humana.

A resistência parasitária é definida como a *habilidade da cepa do parasita de sobreviver e/ou multiplicar-se, a despeito da administração e absorção da droga, dada em doses iguais ou maiores que aquelas normalmente recomendadas, mas dentro dos limites de tolerância dos indivíduos*¹². Em outras palavras, observa-se um deslocamento, para a direita, da curva que descreve a relação entre concentração da droga *versus* efeito parasiticida¹¹. Segundo Collins & Jeffery, em 1996, a história mostra que dosagens efetivas de antimaláricos varia enormemente de acordo com as cepas de plasmódio presentes em diferentes áreas geográficas. Isto implica que existe (ou pode existir) certo nível basal hipotético de tolerância à droga, que não deve ser considerado como emergência de resistência, em

estudos dessa natureza³. Esses autores também afirmam que cepas resistentes são aquelas para as quais a dosagem efetiva de uma dada droga foi aumentada substancialmente em comparação à dose previamente efetiva para esta mesma cepa e área geográfica. Conclui-se então, que a melhor evidência da emergência de resistência parasitária seria a observação de uma tendência histórica em direção a maiores proporções de falhas terapêuticas a uma determinada dose de uma droga específica ao longo do tempo, em uma área geográfica determinada. Esta abordagem naturalmente assume que todos os demais determinantes de falha terapêutica (que não a emergência de resistência parasitária verdadeira ou biológica) sejam mantidos constantes durante o período do estudo. Assim, duas conseqüências diretas são derivadas destes pressupostos. Primeiro, que os desenhos de estudos para monitorar a emergência de resistência parasitária nesse contexto sejam ensaios clínicos com controles históricos ou dados fidedignos de *baseline*, a fim de que as observações de tendências históricas, dentro de uma mesma área geográfica, sejam possíveis. O uso de tais medidas também ajudaria a controlar o efeito de outros - conhecidos e não conhecidos-determinantes de falha terapêutica, que se mantêm constantes durante o período, na população e área estudadas. Segundo, é desejável que haja certo *controle* dos demais determinantes que poderiam estar associados à falha terapêutica, porém não diretamente relacionados à emergência da resistência verdadeira ou biológica do parasita e que poderiam variar ao longo do tempo^{3 11}. Para ajustar esses fatores parece óbvio que o simples uso de controles históricos não seria suficiente. Análises multivariadas poderiam auxiliar na identificação de tais determinantes para a identificação de falha terapêutica. Os fatores que poderiam potencialmente distorcer a análise para detecção da emergência da resistência parasitária às drogas são aqueles relacionados ao hospedeiro, ao parasita e à qualidade e dosagem dos antimaláricos.

FATORES RELACIONADOS AO HOSPEDEIRO

Inclui absorção do medicamento, aderência ao tratamento, reinfeção e imunidade. São, obviamente, requisitos mínimos indispensáveis para estudos de avaliação da emergência de resistência parasitária *in vivo*, o acompanhamento de indicadores clínicos de má absorção, tais como a ocorrência de diarreias e vômitos, e existência de outros distúrbios gastro-intestinais; o controle da aderência terapêutica, através da administração de doses supervisionadas; e a minimização ou eliminação do risco de reinfeção, através da restrição do acompanhamento de pacientes em áreas livres de transmissão. No entanto, menos óbvia, é a importante influência dos níveis de

imunidade nesse contexto. Tem sido observado que a imunidade naturalmente adquirida em malária contribui para uma negatização mais rápida da parasitemia⁵. A relação entre essa imunidade e a recaída do *P. vivax*, ainda não foi bem estudada. No entanto, podemos especular que a tendência histórica de aumento da proporção de indivíduos não imunes em uma população poderia mostrar um aumento correspondente em falhas terapêuticas, e gerar uma interpretação errônea da emergência de resistência parasitária. Tais mudanças no grau de imunidade de uma população poderiam ser devidas à imigração de indivíduos não imunes ou perda de imunidade daqueles previamente imunes.

FATORES RELACIONADOS AO PARASITA

De maneira semelhante, a introdução em uma dada área de cepas do parasita com níveis basais de tolerância a drogas maiores que o da cepa local, ou a introdução

de cepas que apresentem naturalmente recaídas mais precoces do que a cepa local pode ser erroneamente interpretado como emergência de resistência parasitária.

FATORES RELACIONADOS À INTERVENÇÃO PROPRIAMENTE DITA (O TRATAMENTO)

A deterioração da qualidade das drogas, ou o uso de drogas impuras pode criar a ilusão da emergência de resistência parasitária. De fato, Petralanda, em 1995, descreve grande variabilidade na qualidade das drogas utilizadas para tratar malária por *P. vivax* na região Amazônica⁹. Além disso, o uso de doses padronizadas de primaquina (15mg/dia, durante 14 dias, com dose total de 210mg para todos os pacientes com 14 anos de idade ou mais) desconsiderando o peso dos pacientes, pode determinar, sistematicamente, tratamentos com doses subterapêuticas deste antimalárico, se consideradas como ideais as doses por quilo de peso preconizadas, ou seja, 0,25-0,3mg/kg durante 14 dias²⁶. Apenas pessoas com 60kg ou menos receberiam dosagem adequada (ou superiores às adequadas) de primaquina. Tal discrepância entre essas duas abordagens na determinação da posologia da primaquina é particularmente importante no Brasil, onde a malária afeta, mais freqüentemente, trabalhadores braçais do sexo masculino.

Foi conduzido um estudo em Cuiabá, MT, para avaliar a falha terapêutica da malária por *P. vivax* ao tratamento padrão de cloroquina (15g) com primaquina (210mg), com administração de doses supervisionadas dos medicamentos e acompanhamento dos pacientes em área livre de transmissão⁴. Apenas 36% dos pacientes apresentavam peso igual ou inferior a 60kg. Em análise multivariada, a dose por quilo de peso efetivamente recebida deste antimalárico foi identificada como fortemente associada ao risco de falha terapêutica. Desta forma, o encontro de aumento de ocorrência de recaídas após dose padronizada de primaquina pode ser devida a uma mudança na distribuição do peso médio de uma dada população de pacientes. Variações na média de peso de pacientes

com malária poderiam facilmente ocorrer se os padrões de transmissão se deslocassem de principalmente intradomiciliares (onde todos os membros da família estariam expostos) para extradomiciliares, como ocorre no Brasil, onde homens trabalhadores (com maior peso) seriam os mais afetados. Por outro lado, se o padrão de peso da população afetada é basicamente constante ao longo dos anos, a esperada proporção de falhas terapêuticas atribuídas à subdosagem seria também constante, minimizando a distorção deste efeito de confusão na avaliação da emergência de resistência parasitária.

Diante da observação de falhas terapêuticas após um tratamento radical do *P. vivax*, existe uma tendência imediatista de se concluir pela emergência de resistência do parasita ao esquema utilizado. O ajuste e discussão dos fatores determinantes de falhas terapêuticas acima discutidas têm sido raramente abordados na literatura. Ainda mais rara tem sido a tentativa de comparar os achados atuais com as taxas históricas de cura em uma dada área geográfica. Isto pode ser devido à ausência de dados históricos sistematicamente coletados, incluindo a distribuição dos fatores de risco para falhas terapêuticas.

Essas considerações são apresentadas sem a intenção de desvalorizar ensaios terapêuticos de malária conduzidos sem grupos controles ou dados históricos, uma vez que seus resultados são essenciais para estabelecer os atuais níveis basais de resposta terapêutica, que permitirão análise de tendências futuras em áreas específicas, e a emergência de resistência parasitária. Entretanto, atenção para a validade interna (e limitações) das conclusões originadas desses tipos de estudo é fortemente recomendada e necessária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arias AE, Corredor A. Low response of Colombian strains of *Plasmodium vivax* to antimalarial therapy. *Tropical Medicine and Parasitology* 40:21-23, 1989.
2. Benenson AS. Control of communicable disease in man 16th ed, Pan American Health Organization, Washington, 1995.
3. Collins WE, Jeffery GM. Primaquine resistance in *Plasmodium vivax*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 55:243-249, 1996.
4. Duarte EC, Pang LW, Corrêa Ribeiro L, Fontes CJF. Association of subtherapeutic dosages of a standard drug regimen with failures in preventing relapses of *vivax* malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 65: 471-476, 2001.
5. Durlacher RR, Cerutti-Junior C, Alencar FEC, Ogando SLA, Arruk VG, Ávila SLM, Duarte EC, Pang LW, Ferreira AW. Avaliação da resposta imune humoral em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* submetidos à terapêutica com quinina e mefloquina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32:195-197, 1999.
6. Fundação Nacional de Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias. Aspectos clínicos, vigilância epidemiológica e medidas de controle. FUNASA-MS, Ministério da Saúde, Brasília, 1999.
7. Na DJ, Han JD, Cha DY, Song IK, Choi HW, Chung EA, Park CW, Choi JS. Imported tertian malaria resistant to primaquine. *Korean Journal of Internal Medicine* 14:86-89, 1999.
8. Nayar JK, Baker ARH, Knight JW, Sullivan JS, Morris CL, Richardson BB, Galland GG, Collins WE. Studies on a

- primaquine-tolerant strain of *Plasmodium vivax* from Brazil in *Aotus* and *Saimiri* monkeys. *Journal of Parasitology* 83:739-745, 1997.
9. Petralanda I. Quality of antimalarial drugs and resistance to *Plasmodium vivax* in Amazonian region. *The Lancet* 345:1433, 1995.
 10. Tan-ariya P, Na-Bangchang K, Tin T, Limpaibul L, Brockelman CR, Karbwang J. Clinical response and susceptibility in vitro of *Plasmodium vivax* to standard regimen of chloroquine in Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89:426-429, 1995.
 11. White NJ. Why is it that antimalarial drug treatments do not always work? *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 92:449-458, 1998.
 12. World Health Organization. Resistance of malaria parasites to drugs. *World Health Organ Tech Rep Ser* 529, 1965.
 13. Yi KJ, Chung MH, Kim HS, Kim CS, Pai SH. A relapsed case of imported tertian malaria after a standard course of hydroxychloroquine and primaquine therapy. *Korean Journal of Parasitology* 36:143-146, 1998.