

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

GIOVANA MAGALHÃES FERREIRA

Estabelecimento de *Calomys callosus* como modelo experimental animal para estudo de
malária gestacional

Uberlândia

2026

GIOVANA MAGALHÃES FERREIRA

Estabelecimento de *Calomys callosus* como modelo experimental animal para estudo de
malária gestacional

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito para aprovação na disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso 2

Orientador: Prof Dr. Matias Pablo Juan Sazbó

Coorientador: Prof Dr. Murilo Vieira da Silva

Uberlândia

2026

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F383
2026 Ferreira, Giovana Magalhães, 2003-
Estabelecimento de Calomys callosus como modelo
experimental animal para estudo de malária gestacional [recurso
eletrônico] / Giovana Magalhães Ferreira. - 2026.

Orientador: Matias Pablo Juan Szabó.

Coorientador: Murilo Vieira da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Uberlândia, Graduação em Medicina Veterinária.

Modo de acesso: Internet.

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Veterinária. I. Szabó, Matias Pablo Juan ,1964-, (Orient.). II.
Silva, Murilo Vieira da,1988-, (Coorient.). III. Universidade Federal
de Uberlândia. Graduação em Medicina Veterinária. IV. Título.

CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

GIOVANA MAGALHÃES FERREIRA

Estabelecimento de *Calomys callosus* como modelo experimental animal para estudo de
malária gestacional

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito para aprovação na disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso 2

Uberlândia, 20 de Março de 2026

Banca Examinadora:

Matias Pablo Juan Szabó – Doutor (UFU)

Murilo Vieira da Silva – Doutor (UFU)

Flávia Batista Ferreira – Doutora (UFU)

Isabela Lemos de Lima – Doutora (UFU)

Aos meus pais, que, sob o barulho de
engrenagens e máquinas de costura, me
proporcionaram a quietude de um espaço para
crescer e estudar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por Sua presença constante em minha vida, concedendo-me bênçãos e oportunidades que vão muito além do que eu poderia alcançar por meus próprios méritos.

Aos meus pais, Geisa e Mário, que nunca mediram esforços para me apoiar academicamente e muito menos para me verem feliz. Meu coração transborda de gratidão em pensar que tenho o privilégio de ser filha de vocês, e meu maior desejo é poder retribuir ao menos um pouco de tudo o que fizeram por mim. Obrigada por, mesmo a 300 quilômetros de distância, me fazerem me sentir em casa apenas com uma ligação. Nossa família sempre foi minha maior fortaleza.

À Giulia, melhor amiga que tenho o privilégio de chamar de irmã. Agradeço por me aconselhar e orientar com sua experiência e sabedoria, e por ser minha fiel companheira de Uberlândia e de vida. Espero, ao menos um dia, ser um pouco da profissional que você é. Seu trabalho, realizado com tanto empenho, dedicação e honestidade, me inspira todos os dias.

Ao meu amor, Luiz Gustavo, por ter sido meu apoio nos dias mais difíceis e por caminhar comigo durante essa etapa tão importante, confiando em mim mais que eu mesma. Que essa conquista seja também o início de uma nova fase, na qual possamos seguir construindo, juntos, a vida que sonhamos. Obrigada por tudo o que você foi para mim quando eu mais precisei.

À minha avó Elza, minha madrinha Gisele, e meus primos Jorge Henrique e João Vicente, por sempre me receberem com muito amor e carinho em Ribeirão Preto.

Ao Dr. Murilo, por ter me dado a oportunidade de descobrir meu carinho pela ciência de animais de laboratório ainda durante a graduação e por todo o apoio e atenção oferecidos durante esses anos.

À toda equipe LABME, por tornarem meus dias mais leves com as conversas no laboratório e contribuírem com minha formação, em especial Sandra e Flávia, que me ensinaram tudo o que sei sobre manejo de animais de laboratório. Esse trabalho não seria possível sem vocês.

Aos órgãos de fomento UFU, Ministério Público, FAPEMIG, CAPES e CNPq pelos recursos financeiros necessários para a realização dos experimentos.

À todos os animais que viveram em prol deste trabalho, deixo meu respeito e minha gratidão, com o compromisso de honrar suas vidas por meio da ciência e do cuidado.

Por fim, ao meu maior amor de patas, Anita, por ter me mostrado que o amor mais

sincero não depende de palavras, amor esse que foi e ainda é meu maior motivo para escolher a medicina veterinária.

À todos, meu muito obrigada!

RESUMO

A malária gestacional é uma doença parasitária que representa importante problema de saúde pública, e quando presente na gestação pode estar associada a complicações maternas e fetais. O *Mus musculus* é amplamente utilizado como modelo experimental para o estudo da malária; contudo, apresenta limitações relacionadas a diferenças imunológicas e fisiopatológicas em comparação aos seres humanos, particularmente no que se refere às alterações placentárias. Essas limitações evidenciam a necessidade da investigação de modelos alternativos que possam reproduzir a interação materno-fetal observada na malária gestacional. Nesse contexto, o *Calomys callosus* tem sido descrito na literatura como um modelo experimental relevante para o estudo de infecções parasitárias, especialmente em investigações relacionadas à transmissão vertical e à resposta materno-fetal. Além disso, essa espécie apresenta características biológicas que podem favorecer a análise de alterações gestacionais, tornando-se uma alternativa potencialmente útil para complementar os modelos murinos tradicionais. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicabilidade de *C. callosus* como modelo experimental para a investigação da malária gestacional. Fêmeas gestantes de *C. callosus* foram infectadas experimentalmente com a dose de 10^7 hemácias parasitadas por *Plasmodium berghei* ANKA, sendo comparadas a fêmeas não infectadas. Foram avaliados parâmetros reprodutivos, incluindo número de filhotes e peso gestacional final, além do peso esplênico das fêmeas. Também foram realizadas análises macroscópicas dos fetos e placentas, bem como avaliação histológica de tecidos de filhotes, incluindo pulmão, fígado, baço e cérebro. Adicionalmente, foi realizada análise morfométrica da área dos septos alveolares pulmonares. Os resultados não evidenciaram alterações histológicas ou placentárias associadas à infecção nas condições experimentais analisadas. Da mesma forma, embora tenham sido observadas variações em alguns parâmetros reprodutivos, a maioria não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados. Ainda assim, os dados obtidos contribuem para a caracterização inicial da resposta materno-fetal à infecção por *Plasmodium* nesse modelo experimental, fornecendo subsídios para investigações futuras e para o aprimoramento de delineamentos experimentais voltados ao estudo da malária gestacional.

Palavras-chave: malária gestacional; *Calomys callosus*; *Plasmodium berghei*; modelo experimental; patogênese.

ABSTRACT

Gestational malaria is a parasitic disease that represents an important public health problem, and when present during pregnancy it may be associated with maternal and fetal complications. *Mus musculus* is widely used as an experimental model for the study of malaria; however, it presents limitations related to immunological and pathophysiological differences compared to humans, particularly regarding placental alterations. These limitations highlight the need to investigate alternative models that can reproduce the maternal-fetal interaction observed in gestational malaria. In this context, *Calomys callosus* has been described in the literature as a relevant experimental model for the study of parasitic infections, especially in investigations related to vertical transmission and maternal-fetal response. In addition, this species presents biological characteristics that may favor the analysis of gestational alterations, making it a potentially useful alternative to complement traditional murine models. Therefore, the present study aimed to evaluate the applicability of *C. callosus* as an experimental model for the investigation of gestational malaria. Pregnant *C. callosus* females were experimentally infected with a dose of 10^7 parasitized erythrocytes of *Plasmodium berghei* ANKA and compared to non-infected females. Reproductive parameters were evaluated, including number of offspring and final gestational weight, as well as splenic weight of the females. Macroscopic analyses of fetuses and placentas were also performed, as well as histological evaluation of offspring tissues, including lung, liver, spleen, and brain. Additionally, morphometric analysis of the area of pulmonary alveolar septa was performed. The results did not show histological or placental alterations associated with infection under the experimental conditions analyzed. Likewise, although variations were observed in some reproductive parameters, most did not present statistically significant differences between the evaluated groups. Even so, the data obtained contribute to the initial characterization of the maternal-fetal response to *Plasmodium* infection in this experimental model, providing support for future investigations and for the improvement of experimental designs aimed at the study of gestational malaria.

Keywords: gestational malaria; *Calomys callosus*; *Plasmodium berghei*; experimental model; pathogenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Ciclo de desenvolvimento contínuo do <i>Plasmodium</i>	15
Figura 2 - Esquema metodológico do experimento 1.....	26
Figura 3 - Esquema metodológico do experimento 2.....	28
Figura 4 - Impacto da infecção por <i>Plasmodium</i> no sucesso gestacional e número de filhotes	31
Figura 5 - Avaliação histopatológica do fígado	32
Figura 6 - Avaliação histopatológica do pulmão.....	32
Figura 7 - Gráfico de mensuração de área de septos pulmonares	33
Figura 8 - Avaliação histopatológica do baço	34
Figura 9 - Avaliação histopatológica do cérebro.....	35
Figura 10 - Parâmetros reprodutivos individuais de fêmeas de <i>C. callosus</i> nos grupos controle e infectado.....	37
Figura 12 - Comparação do peso fetal e esplênico no 19º dia de gestação entre fêmeas dos grupos controle e infectado.....	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Ciclo biológico do Parasito.....	14
2.2 <i>Plasmodium vivax</i> e <i>Plasmodium falciparum</i>	15
2.3 Patogenia da Malária Gestacional.....	16
2.4 Diagnóstico	17
2.5 Sintomas	18
2.6 Prevenção e controle.....	19
2.7 <i>C. callosus</i> como modelo experimental para malária gestacional	21
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Animais utilizados	24
4.2 Condições de alojamento e manutenção dos animais.....	24
4.3 Cepa do parasito.....	25
4.4 Condição Experimental 1	25
4.5 Condição Experimental 2	27
4.6 Eutanásia e Coleta de órgãos	28
4.7 Coloração histológica.....	28
4.8 Análise estatística	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1 Resultados da primeira etapa experimental	30
5.2 Resultados da segunda etapa experimental.....	36
6 CONCLUSÃO.....	40
7 ORÇAMENTO.....	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

A malária é uma doença de caráter infectoparasitária que se faz presente em regiões tropicais e subtropicais, transmitida pela picada de mosquitos pertencentes ao gênero *Anopheles* (Fiocruz, 2023). Os protozoários causadores de malária em humanos se classificam em cinco espécies, sendo o *Plasmodium vivax* e o *Plasmodium falciparum* os mais relevantes, este último responsável por mais casos de malária gestacional (Arora et al., 2023; Bauserman et al., 2019; Poespoprodjo et al., 2023).

A apresentação da doença ocorre de duas formas, não grave e grave (Bauserman et al., 2019; Fried; Duffy, 2017). A primeira variação se caracteriza por apresentar sintomas inespecíficos, como cefaleia, náuseas, vômitos, calafrios e a “febre terçã” sinal clínico característico (Brasil, 2021; Gaw et al., 2019). Já a forma grave pode ter como manifestações clínicas a cianose, convulsão e dor abdominal intensa causada, por exemplo, pela ruptura de baço (Brasil, 2023). A evolução da doença e o quadro clínico da malária dependem de fatores como parasitemia e nível de imunidade adquirida do indivíduo, sendo gestantes e crianças os grupos afetados mais gravemente (Brasil, 2023; Umbers; Aitken; Rogerson, 2011).

Quando presente na gestação, a malária pode desencadear anemia independentemente da presença de sintomas, bem como sequestro maciço de parasitos na placenta, o que pode, por sua vez, levar a condições como aborto espontâneo, restrição do crescimento fetal, natimortos, prematuridade e baixo peso no nascimento (Bauserman et al., 2019;).

A malária não pode ser diagnosticada apenas por meio de sinais clínicos, sendo indispensável a utilização de exames laboratoriais para confirmação diagnóstica (Brasil, 2023; Yin et al., 2022). No Brasil, o teste padrão ouro para diagnóstico de malária é o esfregaço de gota espessa (Brasil, 2023). No entanto, testes rápidos, teste de PCR (Reação da cadeia em Polimerase) e esfregaço com gota delgada de sangue também são utilizados de acordo com a finalidade do procedimento e disponibilidade de recursos (Brasil, 2021; Brasil, 2023).

Essa doença, apesar de antiga, é muito relevante em ambos os contextos internacional e nacional (Varo; Chaccour; Bassat, 2020). A malária é endêmica em cerca de 100 países, sendo 21 deles na região das Américas (ONU, 2026.). Estima-se que mundialmente 247 milhões de pessoas sejam infectadas, enquanto cerca de 600 mil pessoas morrem por ano, sendo a maioria crianças (WHO, 2015).

O Brasil ainda contribui com cerca de 42% dos casos de malária reportados no conjunto de América latina e Caribe (Ferreira; Castro, 2016). A maior parte dos casos, cerca de 99.5%, foram registrados em regiões de bioma amazônico, onde a doença perdura endêmica (Recht *et al.*, 2017). Dado o fato de que a malária representa uma ameaça à saúde pública, há uma gama de estudos referentes ao patógeno causador desta doença (Varo; Chaccour; Bassat, 2021). No entanto, considerando sua complexa natureza, buscar um modelo experimental para estudá-la é um desafio, como no que tange à busca por um modelo preciso que simule indivíduos assintomáticos (Savi, 2022).

Atualmente, existe uma densa bibliografia a respeito de estudos com a malária, a maioria deles realizado com o camundongo (*Mus musculus*) como modelo experimental (Doritchamou *et al.*, 2017; Georgiadou *et al.*, 2022). Entretanto, esse modelo apresenta algumas limitações, como por exemplo a diferença da resposta e dinâmica imunológica quando comparado com humanos e os danos teciduais da placenta que levam ao comprometimento fetal na infecção pela malária (Chua *et al.*, 2021; Hoo; Nakimuli; Vento-Tormo, 2020).

Diante do exposto, existe um incentivo crescente para desenvolver e validar modelos experimentais alternativos, como *Calomys callosus*, que podem oferecer uma representação mais fiel da patogênese da malária gestacional. Apesar desse modelo animal se mostrar eficaz em estudos de doenças infecciosas (Rosa *et al.*, 2022), ainda não há relatos do uso desse animal como modelo para malária. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo testar o uso de *Calomys callosus* como modelo experimental para estudo da malária, por meio da infecção hematogênica por *Plasmodium berghei* ANKA, uma cepa amplamente reconhecida e utilizada em modelos experimentais para investigação da patogênese da infecção e de suas complicações (Niikura *et al.*, 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo biológico do Parasito

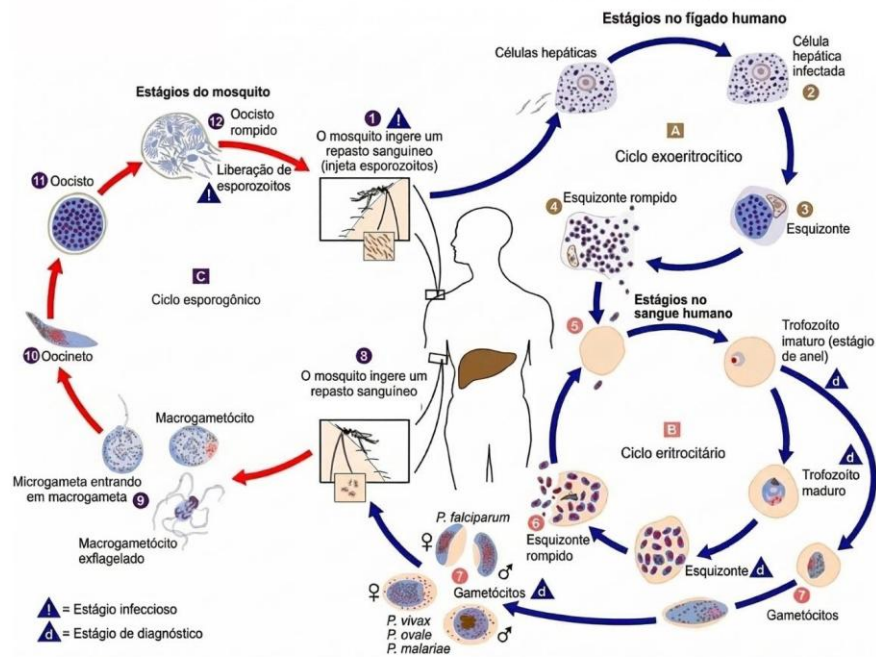
A transmissão da malária ocorre quando as fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* se alimentam do sangue do hospedeiro (Brasil, 2025; Meibalan; Marti, 2017), inoculando os parasitos (esporozoítos) na corrente sanguínea (Brasil, 2025; Meibalan; Marti, 2017).

Quando no fígado, transportados por via hematógica, *P. falciparum* e *P. vivax* se desenvolvem por cerca de uma semana, sendo que este último pode se desenvolver em uma forma latente (hipnozoítos), o que explica os possíveis casos de recaída da malária cerca de seis meses depois do primeiro contato com o parasito (Brasil, 2021). A partir de então, a infecção continua quando os esporozoítos invadem os hepatócitos (Brasil, 2021; Fikadu; Ashenafi, 2023). Nessas células, multiplicam-se e originam milhares de novos parasitos, chamados então de merozoítos, que rompem a membrana dos hepatócitos e então invadem a série vermelha do sangue (Brasil, 2021; Fikadu; Ashenafi, 2023). Essa fase é chamada de esquizonia sanguínea, marcada pelo início da sintomatologia da doença (Brasil, 2021; Fikadu; Ashenafi, 2023).

Na fase sanguínea do ciclo do *Plasmodium*, os merozoítos formados lisam as hemácias e invadem outras, completando o chamado ciclo eritrocítico, que se repete em aproximadamente 48 horas para *P. falciparum* e *P. vivax* (Brasil, 2021). Durante esta fase, o merozoíto é uma forma uninucleada, vacuolada e apresenta uma morfologia em anel (Brasil, 2021). Uma vez dentro dos glóbulos vermelhos, os merozoítos se diferenciam em trofozoítos, que representam a fase de crescimento do parasita (Brasil, 2020; Fikadu; Ashenafi, 2023).

À medida que os trofozoítos se desenvolvem, seus núcleos iniciam o processo de divisão, caracterizando o estágio de esquizonte em desenvolvimento (Fikadu; Ashenafi, 2023; Garcia, 2010). Os esquizontes maduros contêm múltiplos merozoítos, que são liberados na corrente sanguínea quando os esquizontes se rompem (Fikadu; Ashenafi, 2023). Alguns desses merozoítos são eliminados pelo sistema imunológico do hospedeiro, enquanto outros invadem novos glóbulos vermelhos, perpetuando assim o ciclo eritrocítico (Garcia, 2010). O ciclo de vida do parasito, incluindo as diferentes fases de desenvolvimento no hospedeiro vertebrado e no vetor, está ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Ciclo de desenvolvimento contínuo do *Plasmodium*



Esquema representativo do ciclo biológico do *Plasmodium* spp. O ciclo compreende a fase assexuada no hospedeiro vertebrado, dividida em ciclo exoeritrocítico (hepático) e ciclo eritrocítico (sanguíneo), e a fase sexuada no hospedeiro invertebrado (ciclo esporogônico). Estão indicados os estágios infectantes (triângulos azuis) e os estágios passíveis de diagnóstico (letras "d" azuis), destacando-se a formação de trofozoítos, esquizontes, gametócitos e o desenvolvimento de oocistos no mosquito vetor.

Fonte: Adaptado de CDC (2026).

2.2 *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*

No Brasil, até meados de 1998, os casos de malária eram causados em igual proporção pelo *P. vivax* e *P. falciparum* (Dayananda; Achur; Gowda, 2018; Reyes-Sandoval, 2021). Na atualidade, entretanto, assim como na maioria dos países do continente americano, o *P. vivax* se faz responsável pela maioria das notificações da doença no Brasil (Recht *et al.*, 2017). Contudo, infecções causadas por *P. falciparum* são mais letais (Ashley; White, 2014).

Razões pelas quais o *P. vivax* se mostra desafiador ao controle são a capacidade de crescimento mais rápida no vetor e a presença de hipnozoítos, que são formas latentes do parasita que se depositam no fígado e suas menores densidades parasitárias, que tornam a infecção possivelmente despercebida pelo hospedeiro (Reyes-Sandoval, 2021).

Além disso, o *P. vivax* apresenta preferência por eritrócitos jovens (reticulócitos) e utiliza predominantemente o antígeno de Duffy como receptor para a invasão das hemácias, embora essa interação não seja exclusiva (Veiga *et al.*, 2023). Essas particularidades biológicas limitam a expansão do parasita na corrente sanguínea, o que contribui para níveis de parasitemia

geralmente mais baixos quando comparados aos observados nas infecções por *P. falciparum* (Mueller; Zimmerman; Reeder, 2007).

Em contrapartida, o *P. falciparum* é responsável por causar anemia severa, a maior causa de hospitalização da malária (Patel; Dunican; Cunningham, 2020). Ainda, o parasito é responsável pela maioria dos casos do curso grave da doença, bem como de malária gestacional (Patel; Dunican; Cunningham, 2020). Esse elevado potencial patogênico está relacionado à capacidade do *P. falciparum* de modificar a superfície dos eritrócitos infectados, gerando um fenótipo adesivo que permite o sequestro do parasita fora da circulação periférica por quase metade do ciclo de vida assexuado, um mecanismo único entre os parasitas humanos da malária (Craig *et al.*, 2012). A citoaderência dos eritrócitos parasitados pode ocorrer em endotélio vascular, plaquetas ou eritrócitos não infectados, favorecendo a obstrução microvascular e a disfunção tecidual (Dvorin; Goldberg, 2022; Milner, 2018).

Esse estado citoaderente é mediado principalmente pela proteína de membrana do eritrócito 1 do *P. falciparum* (PfEMP1), codificada pelos genes da família *var* (Hviid; Jensen; Deitsch, 2024). A expressão destes genes é regulada por diversos mecanismos, incluindo pressão seletiva do sistema imune do hospedeiro e controle epigenético, ocorrendo em todas as formas de infecção, inclusive nos quadros assintomáticos e não complicados (Hviid; Jensen; Deitsch, 2024; Milner, 2018; Smith *et al.*, 2013).

2.3 Patogenia da Malária Gestacional

A infecção por *Plasmodium* durante a gestação se faz responsável por cerca de 10 mil óbitos maternos, um número não estimado de casos de aborto e ainda cerca de 20 mil óbitos de crianças de até 1 ano, devido ao baixo peso ao nascer (Chagas, Eda Cristina *et al.*, 2009; Schantz-Dunn; Nour, 2009).

Mulheres grávidas são mais vulneráveis à malária, pois a gestação altera parâmetros de imunidade, o que não só aumenta a probabilidade de infecção malárica, mas também o risco de evolução da doença para sua forma complicada e o risco de morte em 3 vezes mais (Desai *et al.*, 2007).

A placenta é considerada um local propício para a multiplicação dos parasitos, o que aumenta a probabilidade de multiplicação do parasita e exacerbação de sintomas das gestantes infectadas (Schantz-Dunn; Nour, 2009). Durante a infecção por malária na gestação, os eritrócitos infectados por *Plasmodium falciparum* na placenta apresentam propriedades biológicas distintas daquelas observadas em eritrócitos parasitados provenientes de indivíduos

não gestantes (Rogerson *et al.*, 2007). Nessas células, o padrão de adesão é modificado, com reconhecimento preferencial de receptores de glicosaminoglicanos encontrados especificamente no ambiente placentário (Hviid; Jensen; Deitsch, 2024).

A patogênese da malária na interface materno-fetal ainda não é completamente compreendida, tornando crucial o aprofundamento de investigações que elucidam a interação entre as respostas imunes pró e anti-inflamatórias (Rasmussen; Arguin; Jamieson, 2023). Sabe-se, no entanto, que a patogenia da malária gestacional está fortemente associada a uma resposta imunológica alterada durante a gravidez e ao sequestro dos parasitas no espaço intervilositário da placenta (Bauserman *et al.*, 2019; Rasmussen; Arguin; Jamieson, 2023). Esse processo é mediado pela proteína VAR2CSA do *P. falciparum*, que se liga ao sulfato de condroitina A, expresso nos trofoblastos placentários, dificultando a eliminação dos parasitas (Rasmussen; Arguin; Jamieson, 2023). Como consequência, podem ocorrer desfechos adversos, como anemia, pré-eclâmpsia e aumento do risco de malária grave.

A imunidade materna é mais comprometida em primeiras e segundas gestações, enquanto fatores como desnutrição e infecção pelo HIV também aumentam a suscetibilidade à infecção e suas complicações (Bauserman *et al.*, 2019). Portanto, o entendimento dos mecanismos imunológicos subjacentes à malária gestacional permanece essencial para o desenvolvimento de intervenções mais eficazes.

2.4 Diagnóstico

No Brasil, um dos métodos diagnósticos de malária é a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), uma técnica molecular que permite a amplificação *in vitro* de fragmentos específicos do DNA do parasita, caso este esteja presente no organismo (Brasil, 2024; Haanshuus *et al.*, 2019). A partir de uma quantidade mínima de DNA do *Plasmodium* ou de RNA previamente convertido em cDNA, essa metodologia amplifica o material genético do patógeno, viabilizando sua detecção por meio de uma curva (Echeverry *et al.*, 2016; Fiocruz, 2024). Embora a PCR seja uma ótima ferramenta diagnóstica, seu custo elevado e a necessidade de mão de obra especializada a restringe a laboratórios de referência (Brasil, 2023). Além disso, esta técnica é somente indicada para casos de pesquisa, já que é de caráter qualitativo e não permite a definição do estágio em que o parasita se encontra no hospedeiro (Fiocruz, 2023).

Diante disso, o método da gota espessa, considerado padrão ouro pela Organização Mundial da Saúde (OMS), por ser igualmente simples e eficaz, é tido como o método padrão de diagnóstico de malária no Brasil (Brasil, 2023; Santos-Ciminera *et al.*, 2007). O teste consiste

na visualização do parasito sob microscopia óptica, após coloração com os corantes Azul de Metileno e Giemsa. Alguns benefícios deste método são a possibilidade de determinação de densidade parasitária e a diferenciação dos estádios de desenvolvimento do *Plasmodium* (Brasil, 2023; Santos-Ciminera et al., 2007).

Já os testes rápidos são utilizados em áreas sem acesso a microscopia e em situações em que não é possível garantir um diagnóstico em menos de 24 horas por outros métodos (Brasil, 2023). Esses testes são baseados em anticorpos monoclonais que se ligam aos antígenos do parasita, se presente, gerando uma reação cromatográfica (Brasil, 2023). Eles apresentam alta sensibilidade para *P. falciparum* e *P. vivax*, sendo eficazes em parasitemias superiores a 100 parasitas/μl. (Brasil, 2023). No entanto, esses testes não permitem a avaliação da densidade parasitária, não detectam outros hemoparasitas e podem gerar resultados falso-positivos após o tratamento, o que limita seu uso para o controle de cura (Brasil, 2023; Santos-Ciminera et al., 2007).

Existe ainda a técnica de esfregaço com gota delgada de sangue, que apesar de possuir baixa sensibilidade, permite a diferenciação específica dos parasitos a partir da análise de sua morfologia e das alterações provocadas no eritrócito infectado (Brasil, 2023; Santos-Ciminera et al., 2007).

2.5 Sintomas

O período de incubação da malária varia de acordo com a espécie do parasita. Para o *P. falciparum*, de 8 a 12 dias, já *P. vivax*, 13 a 17 dias (Milner, 2018). Os sinais e sintomas causados pelo *Plasmodium* não são distintivos, apresentando semelhanças com os de diversas outras doenças febris agudas, como dengue, chikungunya, zika, febre amarela, leptospirose, febre tifoide, infecção urinária, gripe, entre outras (Li et al., 2025; Milner, 2018). A falta de especificidade desses sinais desafia o diagnóstico clínico da malária (Li et al., 2025; Brasil, 2024). A crise aguda da malária consiste em sintomas como cefaleia, mal-estar, êmeses, febre, cansaço e dores no corpo. (Brasil, 2024; Fiocruz, 2024). Contudo, a febre terçã, clássico sinal clínico da doença, pode não ser observada (Brasil, 2024).

Em sua forma grave, crises convulsivas, hemorragias, dispneia, prostração e alteração da consciência são os principais sinais clínicos (Brasil, 2024). Como alterações laboratoriais, hipoglicemia, insuficiência renal, acidose metabólica e hiperlactatemia podem ser observados (Brasil, 2024; Milner, 2018). Determinados grupos populacionais, entretanto, apresentam maior

vulnerabilidade ao desenvolvimento dessas formas graves da doença, entre eles as mulheres durante o período gestacional (Brasil, 2024).

A gestação está associada a um aumento da suscetibilidade à infecção malárica, e mulheres grávidas acometidas pela doença apresentam maior risco de evoluir a gestação com desfechos maternos desfavoráveis, como o desenvolvimento de formas graves da malária (Rasmussen; Arguin; Jamieson, 2023). Ainda que a ocorrência de quadros graves seja mais frequentemente atribuída ao *Plasmodium falciparum*, infecções causadas por outras espécies do parasito também podem resultar em formas graves da doença durante a gravidez (Patel; Dunican; Cunningham, 2020; Rasmussen; Arguin; Jamieson, 2023).

Entre os desfechos adversos mais comuns destaca-se a anemia materna, resultado da diminuição da eritropoiese, destruição dos eritrócitos parasitados e hemólise de hemácias não infectadas, condição essa que tende a agravar o risco de complicações tanto para a gestante quanto para o conceito. Ademais, a malária placentária, caracterizada pela presença do parasito ou de hemozoína no tecido placentário, tem sido associada ao desenvolvimento de pré-eclâmpsia (Felician *et al.*, 2022). Ainda, as consequências da malária gestacional para a mãe incluem também hipoglicemia e até mesmo a morte (Desai *et al.*, 2007).

No que diz respeito ao feto, as complicações variam conforme o estágio da gestação em que ocorre a infecção (Desai *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2025; Schantz-Dunn; Nour, 2009). Entre as possíveis complicações fetais estão o aborto espontâneo, o parto prematuro, a restrição do crescimento intrauterino e o baixo peso ao nascer (Li *et al.*, 2025; Schantz-Dunn; Nour, 2009). Este último é especialmente significativo, pois é um dos principais fatores de risco para mortalidade perinatal, neonatal e infantil, além de provocar alterações no crescimento e no desenvolvimento cognitivo da criança (Li *et al.*, 2025; Schantz-Dunn; Nour, 2009).

2.6 Prevenção e controle

No Brasil, o controle da malária começou no século XX no estado de São Paulo por Carlos Chagas, responsável pela implementação da primeira campanha antimalária (Ferreira; Castro, 2016; Melo *et al.*, 2020). Para isso, coletas de mosquitos dentro de casas em áreas de construção eram realizadas, além de fumigação interna com enxofre e instalação de telas nas janelas (Ferreira; Castro, 2016). Cerca de 1 mês após essas medidas, o número registrado de casos de malária, além de diminuir drasticamente, cessou em novos casos após 3 meses (Ferreira; Castro, 2016; Griffing *et al.*, 2015).

Já em meados de 1940, cerca de dois terços dos então 40 milhões de brasileiros viviam em áreas endêmicas de malária, com 80.000 mortes anualmente devido à doença (Ferreira; Castro, 2016; Griffing *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2020). Com o estabelecimento do Serviço Nacional de Malária e a pulverização em larga escala de casas com dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), em 1957 a estimativa foi de que apenas 250 mil casos de malária ocorreram em 62 milhões de brasileiros (Laporta *et al.*, 2022).

Em 1965, estratégias do Programa Global de Erradicação da malária da OMS foram adotadas, como a ampliação da pulverização com DDT em áreas endêmicas, bem como detecção de casos seguido com o tratamento por cloroquina (Ferreira; Castro, 2016; Laporta *et al.*, 2022).

Posteriormente, à medida em que a composição demográfica da Amazônia começou a mudar, devido os esforços geopolíticos para integrar a área com o restante do país, a taxa de casos de malária se elevou na região (Ferreira; Castro, 2016; Lopes, 2025). Tal cenário geopolítico teve como base principalmente as ondas de migrantes das regiões Sul, Nordeste e Sudeste (livres de malária), bem como a implementação de atividades como mineração e extração de madeira na região (Griffing *et al.*, 2015; Lopes, 2025). Como resultado, mesmo abrigando apenas 4% dos habitantes do Brasil, foram diagnosticadas cerca de 50 mil infecções na região (Ferreira; Castro, 2016; Laporta *et al.*, 2022).

Já no começo da década de 80, graças ao extremo aumento de inflação, todos os indicadores sociais do país deterioraram, inclusive aqueles relacionados à saúde e saneamento básicos (Ferreira; Castro, 2016; Lopes, 2025). Esse cenário, por sua vez, teve como consequência mais de meio milhão de casos notificados.

Posteriormente, em 1989, o Ministério de Saúde do Brasil implantou o Programa de Controle de Malária na Bacia Amazônica, a fim de prevenir a transmissão da doença para áreas não endêmicas, bem como diminuir sua reincidência em áreas mais afetadas (Lopes, 2025). Para isso, foram ampliados os chamados postos de diagnóstico e tratamento de malária (Laporta *et al.*, 2022; Oliveira-Ferreira *et al.*, 2010). O resultado foi a queda de 60% da incidência geral da doença, progresso esse que foi perdido cerca de 10 anos depois (Ferreira; Castro, 2016). Tal situação, por sua vez, à criação do Plano de Intensificação das Atividades de Controle da Malária, que contava com medidas de controle específicas para cada cenário epidemiológico da região (Ferreira; Castro, 2016; Melo *et al.*, 2020).

Em 2003, o Ministério da Saúde implementou o Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária, permitindo que cada município adotasse estratégias específicas de controle (Ferreira; Castro, 2016; Melo *et al.*, 2020; Oliveira-Ferreira *et al.*, 2010). Como

resultado dessas iniciativas, a bacia amazônica, que atualmente conta com cerca de 27 milhões de habitantes, alcançou uma redução significativa na incidência da doença (Griffing *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2020). Em 2014, foram notificados mais de 140.000 casos de malária na região, o que representou a menor incidência da doença em 35 anos (Griffing *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2020).

No final de 2015 o Brasil recebeu uma premiação pela OPAS, com o prêmio Campeões contra a malária nas américas (Lopes, 2025; Oliveira-Ferreira *et al.*, 2010). Neste mesmo mês, o Ministério da saúde criou outro plano de eliminação da doença, que faz parte dos objetivos de desenvolvimento sustentável das nações unidas, visto que mesmo com a melhora no controle, o Brasil ainda contribui com cerca de 42% dos casos de malária reportados no conjunto de América latina e Caribe (Ferreira; Castro, 2016).

2.7 *C. callosus* como modelo experimental para malária gestacional

Ao longo da história, devido a dificuldades éticas e práticas do trabalho com infecções humanas por malária, a investigação sobre o parasita da doença e sua biologia foi facilitada por modelos animais, que continuam sendo utilizados para a compreensão da patogênese do *Plasmodium* (Simwela; Waters, 2022).

Os modelos experimentais mais reconhecido para o estudo da malária gestacional envolve camundongos C57BL/6 infectados com *P. berghei* NK65 ou *P. berghei* ANKA (Niikura *et al.*, 2021; Pattaradilokrat *et al.*, 2022). Contudo, há controvérsias sobre a adequação dos modelos animais para o estudo da malária grave, uma vez que muitos camundongos não apresentam uma infecção crônica natural, exceto com *P. chabaudi*, e alguns sistemas hospedeiro/parasita conseguem desenvolver quase total imunidade após uma única infecção (Craig *et al.*, 2012). Por essa razão, a pesquisa sobre os efeitos da malária em múltiplas gestações torna-se impraticável em muitos roedores, com exceção do *P. berghei*, um dos modelos utilizados para o estudo da malária placentária em roedores.

Calomys callosus são roedores provenientes da família *Cricetidae*, nativos da América do Sul e que, em tamanho, são similares aos camundongos (Rosa *et al.*, 2022). Desde 1967, quando começaram a ser criados com este propósito, esses animais possuem características como fácil manejo e boa reprodutibilidade (Pattaradilokrat *et al.*, 2022). Ainda, *C. callosus* têm sua anatomia e comportamento bem reconhecidos (Pattaradilokrat *et al.*, 2022; Rosa *et al.*, 2022).

Esse modelo experimental, hodiernamente, é muito utilizado em estudos de doenças infecciosas, como Toxoplasmose, Leishmaniose, Chagas e Esquistossomose (Ferro *et al.*, 2002). Apesar de seu grande potencial para estudo de doenças infecciosas, esses roedores ainda são subutilizados na pesquisa (Rosa *et al.*, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar *C. cétoallosus* como novo modelo experimental animal para estudar mecanismos da patogênese da malária gestacional.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os desfechos gestacionais em fêmeas de *C. callosus* infectadas com *Plasmodium berghei* ANKA a partir do 14º dia de gestação, por meio do acompanhamento até o parto;
- Comparar o número de filhotes nascidos de fêmeas infectadas e não infectadas.
- Investigar a possível ocorrência de infecção transplacentária em filhotes provenientes de fêmeas infectadas durante a gestação;
- Analisar alterações histopatológicas no cérebro, pulmão, fígado e baço de filhotes oriundos de fêmeas infectadas ou não, após seis semanas de vida;
- Investigar possíveis alterações morfológicas fetais decorrentes da infecção materna durante o período gestacional;
- Analisar as alterações histopatológicas placentárias associadas à infecção no terço final da gestação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais utilizados

Fêmeas de camundongos C57BL/6 com idade entre 6-8 semanas foram utilizadas para a manutenção e obtenção de hemácias infectadas com o parasito foco do estudo. Para a realização dos experimentos de gestação, foram utilizadas fêmeas de *Calomys callosus* com idade entre 8–12 semanas, as quais constituíram o grupo experimental. Machos da mesma espécie e idade foram empregados exclusivamente para o acasalamento, não sendo incluídos nas análises experimentais. Ambas as espécies foram mantidas em salas específicas para cada espécie nas instalações da Rede de Biotérios de Roedores da Universidade Federal de Uberlândia (REBIR - UFU).

A realização do estudo com uso de modelos animais ocorreu sob aprovação prévia pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA/UFU), conforme registro protocolar nº 23117.074819/2023-04. As etapas experimentais foram conduzidas respeitando os princípios de ética em experimentação animal e as normas técnicas e recomendações institucionais estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), assegurando a adoção de práticas compatíveis com o bem-estar dos animais envolvidos.

4.2 Condições de alojamento e manutenção dos animais

Os animais utilizados neste estudo, pertencentes às espécies *Calomys callosus* e *Mus musculus* (linhagem C57BL/6), foram mantidos em microisoladores ventilados adequados à espécie, instalados em racks com sistema de ventilação individual. Cada unidade possuía fluxo de entrada e exaustão de ar equipado com filtros HEPA, garantindo o isolamento dos animais em relação ao macroambiente.

As condições ambientais da sala foram devidamente controladas, com temperatura mantida em $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $55\% \pm 5\%$ e ciclo de luz e escuridão de 12 horas cada. Os microisoladores continham maravalha de *Pinus elliottii* previamente autoclavada como material de cama, sendo a manutenção e limpeza dos alojamentos realizadas semanalmente.

A alimentação consistiu em ração autoclavada e água previamente filtrada e autoclavada, ambas disponibilizadas continuamente (*ad libitum*).

Durante todo o período experimental, foi implementado um programa sistemático de enriquecimento ambiental em todos os alojamentos. Essa prática é reconhecida como uma estratégia essencial para a promoção do bem-estar de animais de laboratório, sendo particularmente relevante para o modelo experimental *C. callosus*. A adoção de tais protocolos contribui para a preservação da saúde física e comportamental dos espécimes, atendendo rigorosamente aos princípios éticos da experimentação animal.

4.3 Cepa do parasito

Os animais do presente estudo foram infectados com a cepa de *P. berghei* ANKA (PbANKAGFP+). A cepa do parasito, mantida em nitrogênio líquido, foi descongelada e posteriormente aplicada nos camundongos C57BL/6 até que se desenvolveu em forma de anel (trofozoítos) nas hemácias. A partir de então, o sangue foi coletado do plexo orbital dos camundongos, as hemácias parasitadas foram contadas sob microscopia e a alíquota contendo 1×10^7 hemácias infectadas foi congelada para posterior infecção dos *Calomys* via intraperitoneal.

4.4 Condição Experimental 1

Para a condução dos experimentos, fêmeas de *C. callosus* com idade entre 8 e 12 semanas foram colocadas para acasalamento com machos férteis da mesma espécie, na proporção de 1:1. Após 24 horas, procedeu-se à verificação da presença de tampão vaginal, estrutura formada após a cópula e utilizada como indicador de fecundação, sendo este momento considerado como o primeiro dia de gestação (DG1).

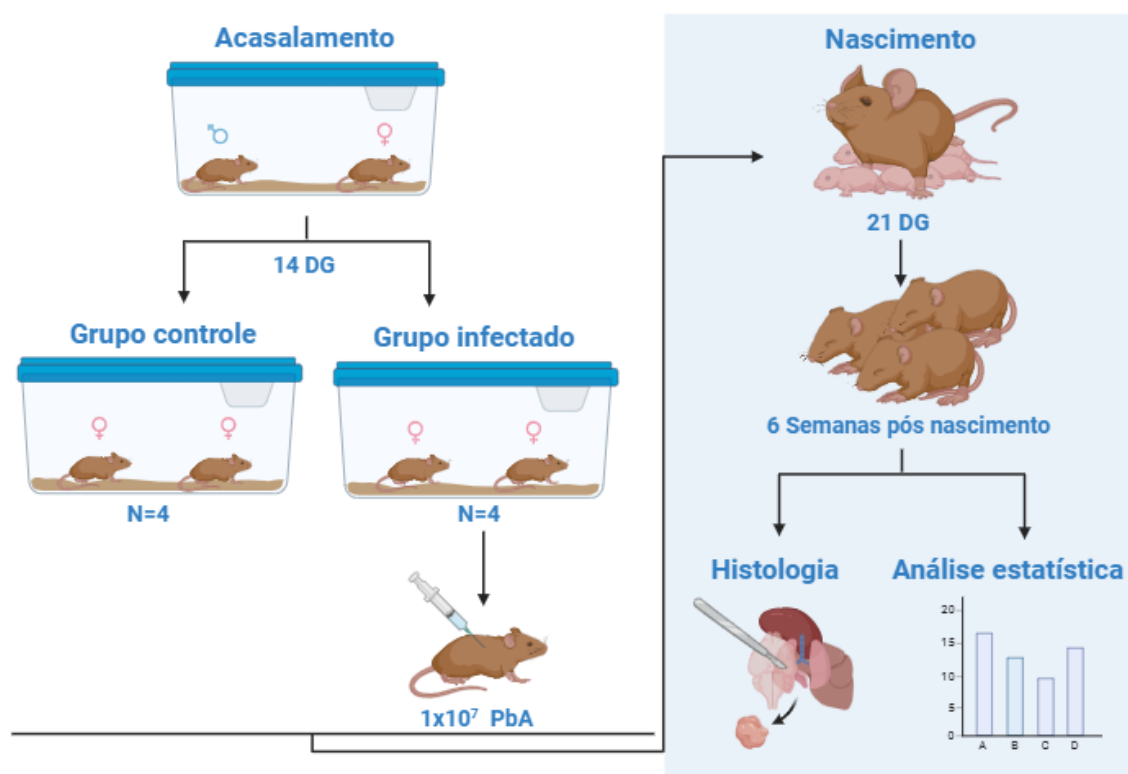
Decorridos 14 dias da identificação do tampão vaginal (DG14), as fêmeas gestantes foram distribuídas em dois grupos experimentais, infectado e não infectado ($n = 4$ por grupo). O grupo infectado recebeu inóculo contendo 1×10^7 hemácias parasitadas por *Plasmodium berghei* ANKA. A infecção foi realizada no terço final da gestação uma vez que esse período corresponde a uma fase crítica do desenvolvimento fetal, caracterizada por intenso crescimento e maturação tecidual. Em humanos, a infecção por *Plasmodium* durante a gestação está frequentemente associada a desfechos adversos, como restrição de crescimento intrauterino e baixo peso ao nascer, especialmente quando ocorre em fases

mais avançadas da gestação, nas quais há maior demanda metabólica e desenvolvimento fetal acelerado. Dessa forma, a escolha desse período buscou aproximar o modelo experimental das condições fisiopatológicas observadas na malária gestacional humana, favorecendo a detecção de possíveis impactos da infecção materna sobre o desenvolvimento da prole.

As fêmeas foram acompanhadas e avaliadas até o momento do parto, correspondendo a um período total de sete dias de infecção.

Ao nascimento, foi realizado o registro do número de filhotes por ninhada, os quais foram mantidos para posterior avaliação da possível ocorrência de infecção transplacentária. Após completarem seis semanas de vida, os filhotes foram submetidos à eutanásia, seguida da coleta de fragmentos de fígado, pulmão, baço e cérebro, que foram processados para análise histopatológica por meio de coloração com hematoxilina e eosina (H&E). O delineamento experimental adotado nesta etapa do estudo está representado esquematicamente na Figura 2.

Figura 2 - Esquema metodológico do experimento 1



Delineamento experimental do estudo de malária gestacional em *Calomys callosus*. Fêmeas foram acasaladas na proporção de 1:1 com machos férteis, sendo o dia de identificação do tampão vaginal considerado o primeiro dia de gestação (DG1). No décimo quarto dia gestacional (DG14), as fêmeas foram distribuídas em grupos experimentalmente infectado e controle ($n = 4$ por grupo). O grupo infectado recebeu inóculo contendo 1×10^7 hemácias parasitadas por *Plasmodium berghei* ANKA. Após o nascimento, foi realizado o registro do número de filhotes por ninhada. Os filhotes foram mantidos até seis semanas de vida, quando foram submetidos à eutanásia para coleta de fígado, pulmão, baço e cérebro, destinados à análise histopatológica.

Fonte: Autoria própria (2026).

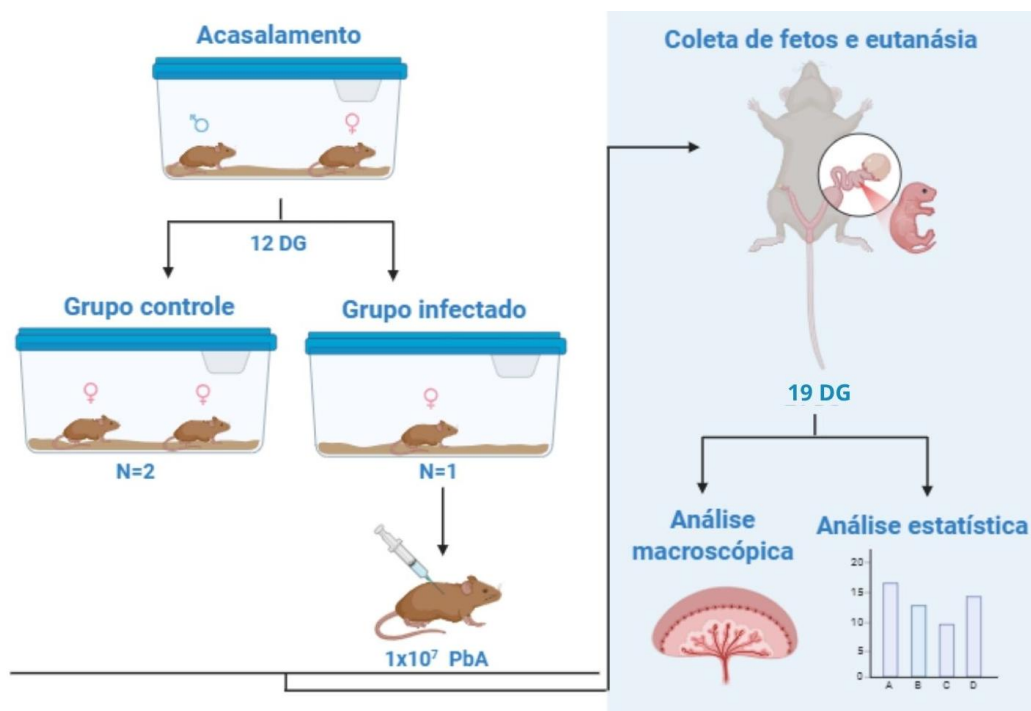
4.5 Condição Experimental 2

Em um segundo momento, em experimento subsequente, foi adotado um novo delineamento experimental com o objetivo de investigar possíveis alterações fetais ainda durante a vida intrauterina. Essa abordagem foi proposta considerando a possibilidade de que alterações decorrentes da infecção materna pudessem ser transitórias ou sofrer compensação após o nascimento, o que poderia dificultar sua detecção em análises realizadas em estágios mais tardios do desenvolvimento, como observado no primeiro delineamento experimental.

Para isso, fêmeas de *C. callosus* foram acasaladas com machos férteis da mesma espécie, na proporção de 1:1. Após 24 horas, a presença de tampão vaginal foi verificada, sendo este considerado como o dia 1 de gestação (DG1).

No décimo segundo dia de gestação (DG12), as fêmeas do grupo experimental foram então infectadas por via intraperitoneal com 1×10^7 hemácias parasitadas, enquanto a fêmea do grupo controle permaneceu não infectada. Já no décimo nono dia de gestação (DG19), correspondente ao sétimo dia pós-infecção, como padronizado no primeiro delineamento experimental, as fêmeas foram submetidas à eutanásia. Os úteros foram dissecados para contagem dos fetos e avaliação macroscópica. Adicionalmente, as placentas foram coletadas para análise morfológica, visando identificar possíveis alterações estruturais associadas à infecção materna no terço final da gestação.

Esse delineamento experimental permitiu a avaliação de possíveis efeitos agudos da infecção materna sobre parâmetros fetais e placentários, contrastando com o primeiro experimento, no qual foram investigados potenciais efeitos tardios após o nascimento. A Figura 3 apresenta um esquema do delineamento experimental adotado nesta etapa do estudo.

Figura 3 - Esquema metodológico do experimento 2

Delineamento experimental do segundo protocolo do estudo para avaliação fetal durante a gestação em *Calomys callosus*. Fêmeas foram acasaladas com machos férteis na proporção de 1:1, sendo o dia de identificação do tampão vaginal considerado o primeiro dia de gestação (DG1). No décimo segundo dia gestacional (DG12), as fêmeas do grupo experimental foram infectadas por via intraperitoneal com 1×10^7 hemácias parasitadas por *Plasmodium berghei* ANKA, enquanto as fêmeas do grupo controle permaneceram não infectadas. No décimo nono dia de gestação (DG19), correspondente ao sétimo dia pós-infecção, as fêmeas foram submetidas à eutanásia para dissecação uterina, contagem dos fetos e avaliação macroscópica. As placentas foram coletadas para análise morfológica.

Fonte: Autoria própria (2026).

4.6 Eutanásia e Coleta de órgãos

Os procedimentos de eutanásia foram realizados nas dependências do REBIR-UFU. Os animais foram então anestesiados com uma associação na mesma seringa de Cetamina e Xilazina na proporção de 2:1 pela via intraperitoneal. Após a indução anestésica, os animais foram eutanasiados com a técnica de deslocamento cervical. Posteriormente à eutanásia, fragmentos de cérebro, fígado, baço e pulmão foram coletados, pesados e posteriormente fixados em formol a 10% e incluídos em parafina para análise histológica.

4.7 Coloração histológica

Os fragmentos teciduais coletados foram inicialmente fixados em solução de formalina tamponada a 10% por 24 horas. Após a fixação, os tecidos foram submetidos ao processamento

histológico convencional, incluindo desidratação em séries crescentes de álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Os blocos de parafina obtidos foram então submetidos ao corte em micrótomo, produzindo secções histológicas de 4 µm de espessura.

Cortes histológicos de baço, fígado, pulmão e cérebro de 4 µm de espessura foram realizados e corados com hematoxilina e eosina (H&E) para a avaliação morfológica dos tecidos e detecção de áreas de necrose. Os cortes histológicos foram desparafinados em xilol por 45 minutos, hidratados em álcoois de concentrações decrescentes e lavados em água corrente e água destilada antes das colorações. As lâminas com os cortes foram imersas em hematoxilina de Harris por 1 minuto e 30 segundos, lavadas em água corrente por 10 minutos e em água destilada por 5 minutos. Posteriormente, foram imersas em eosina-floxina por 1 minuto e 30 segundos e rapidamente lavadas em água corrente. Para a montagem das lâminas, estas foram desidratadas em álcoois de concentrações crescentes por um minuto cada, seguidas de imersão em xilol por 30 minutos. As lâminas foram montadas utilizando lamínula e goma de Damar e os cortes examinados em microscópio de luz.

4.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software GraphPad Prism versão 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). A normalidade das distribuições foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis numéricas com distribuição normal, utilizou-se o teste t de Student não pareado, enquanto para os dados não paramétricos utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Já as variáveis categóricas foram analisadas por meio de tabelas de contingência utilizando o Teste Exato de Fisher. Em todas as análises, adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

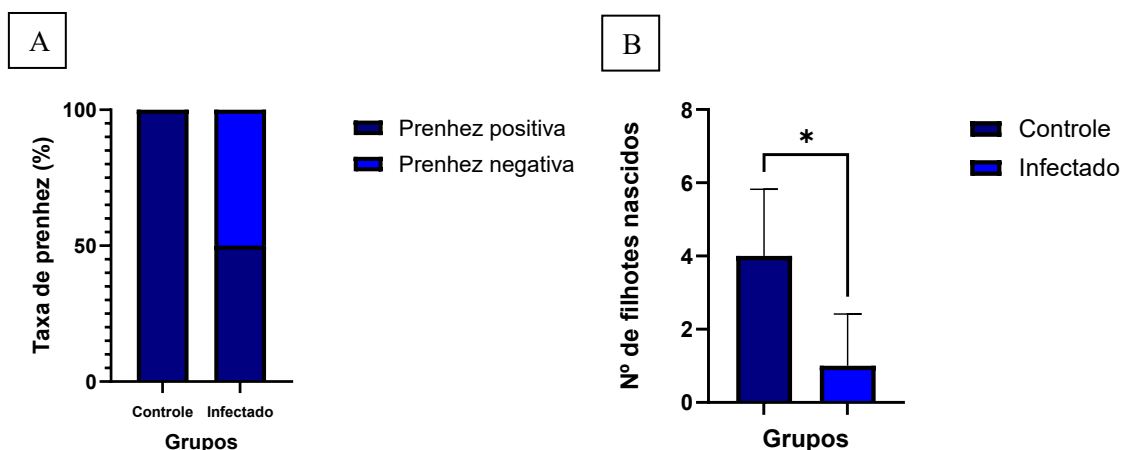
O presente estudo foi conduzido com número amostral reduzido, o que se deve, em parte, às particularidades do modelo experimental empregado, no que se refere à taxa de acasalamento. A utilização de *Calomys callosus* para investigação da malária gestacional ainda não se encontra descrita na literatura, o que confere a este trabalho caráter inovador e exploratório. Além disso, aspectos técnicos inerentes ao manejo da espécie, como a dificuldade na identificação do tampão vaginal para determinação precisa do início da gestação, impactou diretamente o número final de animais avaliados.

5.1 Resultados da primeira etapa experimental

A análise dos desfechos reprodutivos revelou que a infecção por *Plasmodium* comprometeu o sucesso gestacional em diferentes níveis, conforme detalhado na Figura 4. Observou-se que a malária reduziu a taxa de prenhez positiva em 50% (Figura 4A); contudo, devido ao tamanho amostral limitado ($n=4$), essa variação não atingiu significância estatística pelo teste de Fisher. Paralelamente, entre as fêmeas que mantiveram a gestação, houve uma redução estatisticamente significativa no número de filhotes nascidos vivos em comparação ao grupo controle ($p = 0,0408$; Figura 4B).

Esses achados corroboram os estudos de Neres e colaboradores (2008), que associaram a malária gestacional em camundongos tanto à ocorrência de perdas reprodutivas quanto à redução da viabilidade da prole. Tais resultados reforçam que o parasitismo por *Plasmodium* interfere diretamente no desenvolvimento fetal e na manutenção da gravidez, evidenciando efeitos biológicos deletérios no que tange à parâmetros reprodutivos, ainda que a confirmação estatística da taxa de prenhez demande grupos amostrais mais robustos.

Figura 4 - Impacto da infecção por *Plasmodium* no sucesso gestacional e número de filhotes

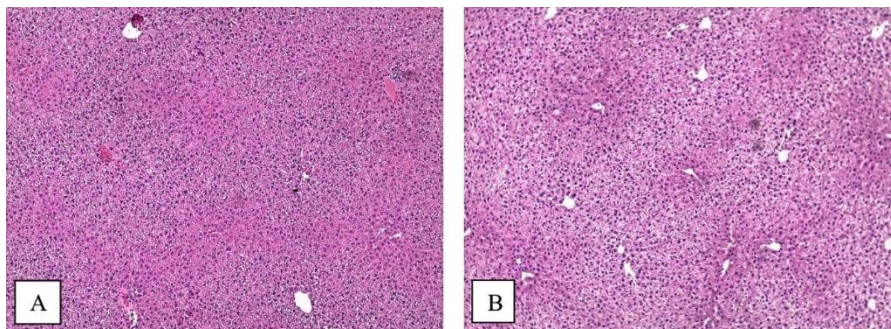


Em (A), observa-se a taxa de prenhez (%) nos grupos controle e infectado ($n=4/\text{grupo}$), com desfechos de prenhez positiva (azul escuro) e negativa (azul claro). Em (B), número médio de filhotes nascidos por fêmea. As barras representam a média aritmética e as barras de erro indicam o erro padrão da média (SEM). Em azul escuro, está representado o grupo controle e em azul claro, o grupo infectado. O asterisco (*) indica diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$). As comparações foram realizadas utilizando o Teste Exato de Fisher (taxa de prenhez) e o Teste t de Student não pareado (número de filhotes), após confirmação de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

Fonte: Autoria própria (2026).

No quesito histopatológico, a análise do fígado dos filhotes oriundos de fêmeas infectadas não evidenciou diferenças morfológicas quando comparada ao grupo controle. Em ambos os grupos (Figura 5), observou-se preservação da arquitetura hepática, com cordões de hepatócitos organizados, espaços sinusoides bem definidos e ausência de sinais de inflamação, necrose, congestão vascular ou hemorragia. Também não foram identificados depósitos de pigmento malárico (hemozoína) ou outras alterações compatíveis com lesão hepática. Esses achados contrastam com descrições da literatura em infecções por *Plasmodium*, nas quais são frequentemente relatadas alterações histopatológicas hepáticas, como hepatócitos congestos e tumefeitos, hiperplasia de células de Kupffer, deposição de pigmento malárico, infiltração de células mononucleares e micro-oclusões por hemácias parasitadas (Viriyavejakul; Khachonsaksumet; Punsawad, 2014; White *et al.*, 2014). Nesse contexto, a ausência dessas alterações nos filhotes avaliados no presente estudo pode indicar que, nas condições experimentais analisadas, não houve evidência de comprometimento hepático decorrente da infecção materna.

Figura 5 - Avaliação histopatológica do fígado

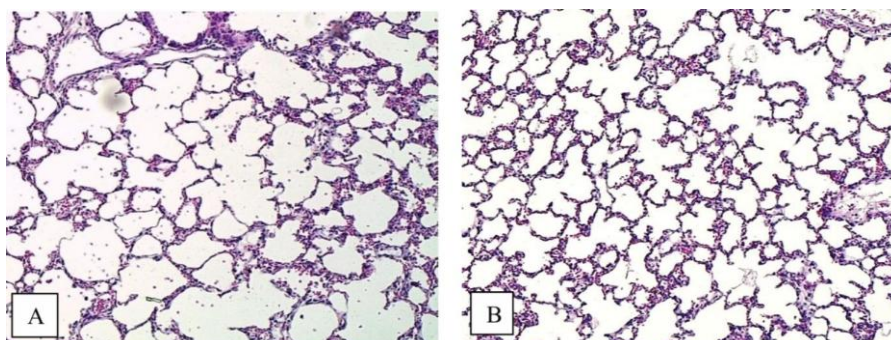


Micrografias representativas de cortes histológicos de fígado de filhotes provenientes de fêmeas controle (A) e infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (B), evidenciando preservação da arquitetura hepática, sem alterações morfológicas significativas entre os grupos. Coloração por Hematoxilina e Eosina (H&E), aumento de 400x.

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

O tecido pulmonar dos filhotes provenientes das fêmeas do grupo controle e infectado não apresentou alterações histopatológicas (Figura 6) nas condições experimentais avaliadas. Observou-se preservação da arquitetura pulmonar, com septos alveolares bem definidos e espaços alveolares preservados, sem sinais de edema pulmonar, hemorragia, infiltração leucocitária ou dano ao epitélio alveolar. No entanto, Wu e colaboradores (2023) descrevem alterações pulmonares importantes durante a infecção ativa por *Plasmodium berghei* em modelos experimentais, incluindo edema pulmonar, lesão do epitélio alveolar, extravasamento de células sanguíneas para os alvéolos e infiltrado inflamatório intenso. Nesse cenário, a não observação dessas alterações nos animais avaliados no presente estudo indica que, nas condições experimentais empregadas, o tecido pulmonar manteve sua integridade morfológica, sem evidências de comprometimento estrutural detectável.

Figura 6 - Avaliação histopatológica do pulmão



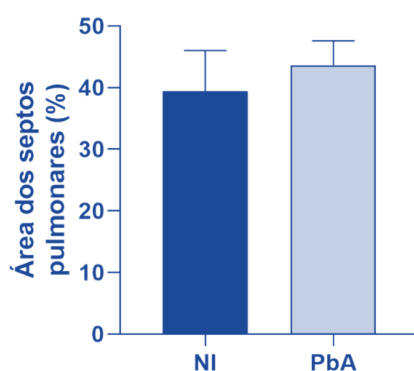
Micrografias representativas de cortes histológicos de pulmão de filhotes provenientes de fêmeas controle (A) e infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (B), evidenciando preservação da arquitetura pulmonar, sem alterações morfológicas significativas entre os grupos. Coloração por Hematoxilina e Eosina (H&E), aumento de 400x.

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Ainda sobre parâmetros, pulmonares, como demonstra a Figura 7, a análise quantitativa da área dos septos alveolares não revelou diferenças significativas entre os filhotes provenientes de fêmeas não infectadas (NI) e aquelas infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (PbA). Os valores observados indicam preservação da arquitetura pulmonar, sem evidências de espessamento septal ou alterações estruturais associadas a processo inflamatório ou lesão tecidual nos animais avaliados. Estes achados se apresentam contrastantes com a literatura, que aponta septos alveolares mais espessos como resultado da infecção por *Plasmodium* em camundongos (Wu *et al.*, 2023).

Desta forma, a falta de espessamento septal observada nos animais infectados neste estudo indica que, nas condições experimentais empregadas, o tecido pulmonar manteve sua integridade morfológica.

Figura 7 - Gráfico de mensuração de área de septos pulmonares



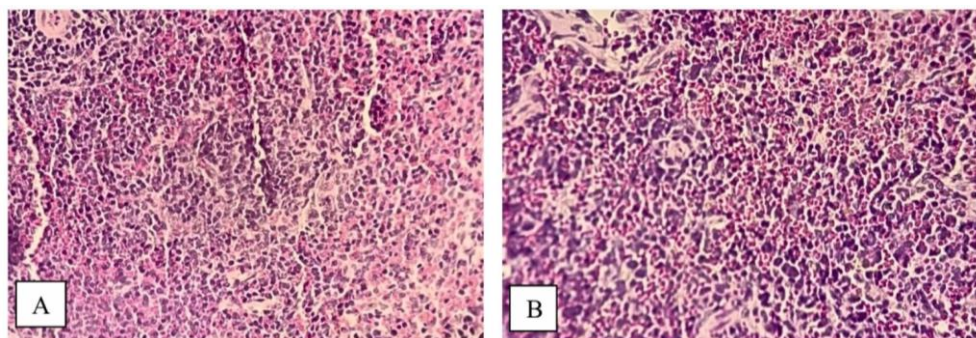
Análise quantitativa da área dos septos alveolares no pulmão de filhotes provenientes de fêmeas não infectadas (NI) e infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (PbA). A barra em azul escuro representa o grupo NI, enquanto a barra em azul claro representa o grupo PbA. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados.

Fonte: Autoria própria (2025).

A análise histopatológica do baço (Figura 8) não evidenciou alterações morfológicas relevantes entre os grupos controle e infectado nas condições experimentais avaliadas. Observou-se preservação da arquitetura esplênica, com adequada distinção entre polpa branca e polpa vermelha, sem sinais de desorganização estrutural. Não foram identificadas áreas de necrose, hemorragia, congestão vascular expressiva ou infiltrado inflamatório significativo associado à infecção. Contudo, Mubarak e colaboradores (2016), e Ha e equipe (2016) apontam que infecções por *Plasmodium* estão associadas a alterações esplênicas, incluindo evidências de esplenomegalia e modificações estruturais do órgão, como alterações na cápsula esplênica e na organização do parênquima. Portanto, a ausência dessas alterações nos animais analisados

sugere que, nas condições experimentais empregadas, o tecido avaliado não apresentou evidências histológicas de dano ou comprometimento estrutural.

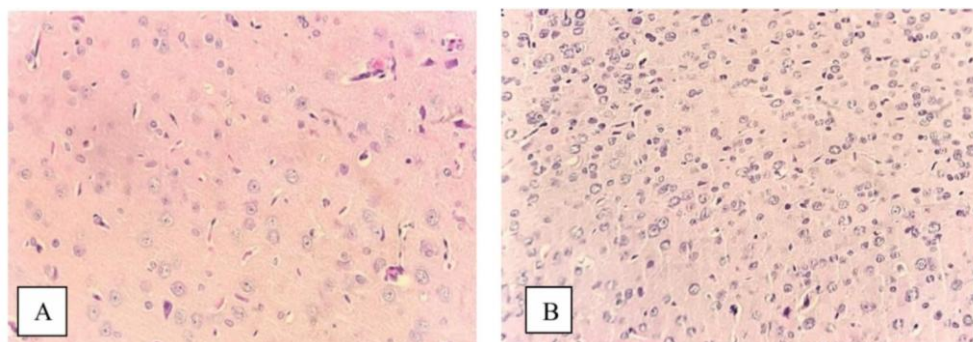
Figura 8 - Avaliação histopatológica do baço



Micrografias representativas de cortes histológicos de baço de filhotes provenientes de fêmeas controle (A) e infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (B), evidenciando preservação da arquitetura esplênica, com adequada distinção entre polpa branca e polpa vermelha, sem alterações morfológicas significativas entre os grupos. Coloração por Hematoxilina e Eosina (H&E), aumento de 400x. Fonte: Dados da pesquisa (2025).

A análise histopatológica do tecido cerebral (Figura 9) não evidenciou alterações morfológicas relevantes entre os grupos controle e infectado nas condições experimentais avaliadas. Observou-se preservação da arquitetura encefálica, com organização tecidual compatível com a morfologia esperada para a espécie. Não foram identificados sinais de edema, congestão vascular significativa, hemorragias, necrose, infiltrado inflamatório ou áreas de desorganização neuronal associadas à infecção. Em contrapartida, no que diz respeito à literatura, modelos experimentais de malária cerebral por *Plasmodium berghei* ANKA frequentemente descrevem alterações como acúmulo de hemácias parasitadas na microvasculatura cerebral, obstrução capilar, infiltração de células mononucleares e hemorragias no parênquima encefálico (Ding et al., 2016; Strangward et al., 2017). No entanto, tais achados são geralmente observados em animais diretamente infectados durante o curso ativo da doença.

Figura 9 - Avaliação histopatológica do cérebro



Micrografias representativas de cortes histológicos de cérebro de filhotes provenientes de fêmeas controle (A) e infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA (B), evidenciando preservação da arquitetura encefálica, sem alterações morfológicas significativas entre os grupos. Não foram observados sinais de edema, hemorragias, necrose, congestão vascular ou infiltrado inflamatório no parênquima cerebral. Coloração por Hematoxilina e Eosina (H&E), aumento de 400x. Fonte Dados da pesquisa (2025).

Em suma, no conjunto das análises histopatológicas de fígado, pulmão, baço e cérebro realizadas não foram observadas alterações morfológicas relevantes nos tecidos avaliados, com preservação da arquitetura e ausência de sinais evidentes de inflamação, necrose, congestão vascular ou outras lesões associadas à infecção. Entretanto, é importante considerar que as análises foram realizadas em filhotes provenientes de fêmeas infectadas, avaliados apenas após seis semanas de vida. Dessa forma, eventuais alterações teciduais transitórias decorrentes da infecção materna durante a gestação podem ter ocorrido em fases mais precoces do desenvolvimento e não estarem mais presentes no momento da avaliação. Além disso, mecanismos de adaptação, maturação tecidual ou recuperação pós-natal podem ter contribuído para a preservação da morfologia observada, o que também pode estar relacionado à ausência de infecção transplacentária detectável ou à inexistência de efeitos tardios da exposição intrauterina ao parasito sobre os tecidos da prole.

Assim, embora os achados indiquem ausência de lesões estruturais evidentes neste momento da vida, não se pode descartar completamente a ocorrência de efeitos mais sutis ou transitórios decorrentes da infecção materna, o que reforça a importância de investigações futuras que avaliem diferentes estágios do desenvolvimento, bem como abordagens complementares capazes de detectar alterações funcionais ou moleculares que não são evidentes na análise histológica convencional.

5.2 Resultados da segunda etapa experimental

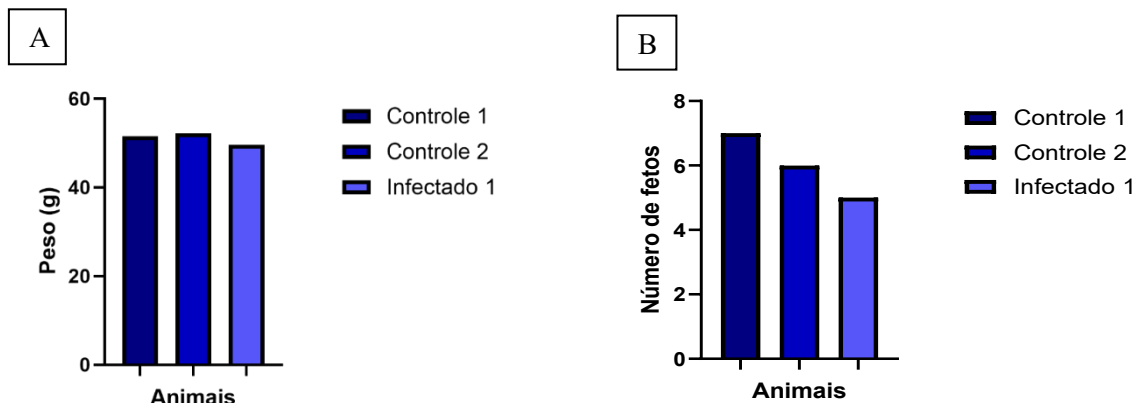
Foram avaliados, de forma conjunta, o peso gestacional final das fêmeas e o número de fetos por ninhada nos grupos controle e infectado, cujos resultados estão apresentados na Figura 10. Em relação ao peso gestacional final, os valores observados indicam semelhança entre os grupos avaliados, não sendo evidenciada alteração aparente associada à infecção nas condições experimentais analisadas. Esses achados sugerem que, neste delineamento, a infecção não promoveu impacto expressivo sobre o peso materno ao final da gestação.

Esse resultado difere parcialmente do descrito por Andrew e colaboradores (2022), que relataram redução do peso fetal em descendentes de fêmeas infectadas por *Plasmodium*. Uma possível explicação para essa divergência pode estar relacionada às diferenças no desenho experimental entre os estudos. Enquanto Andrew e colaboradores avaliaram parâmetros dos fetos provenientes de gestações infectadas, no presente trabalho a análise de peso corporal foi realizada nas próprias fêmeas prenhes. Além disso, os fetos foram coletados no 19º dia de gestação, considerando que a gestação de *Calomys callosus* tem duração aproximada de 21 dias, o que pode ter limitado a detecção de possíveis diferenças no peso fetal.

No que se refere ao número de fetos por fêmea, os dados indicam uma variação entre os grupos avaliados, sugerindo uma possível diferença no desempenho reprodutivo. No entanto, o número amostral reduzido não permitiu a realização de análises estatísticas robustas, podendo também ter limitado a detecção de uma diferença mais expressiva entre os grupos. Em contraste, Neres e colaboradores (2008) relatam que a malária durante a gestação compromete significativamente o sucesso reprodutivo, sendo descritos casos de abortos e menor natalidade. Nesse contexto, as variações observadas no presente estudo podem indicar uma tendência de alteração reprodutiva, ainda que não conclusiva nas condições avaliadas.

Dessa forma, os achados obtidos fornecem uma análise inicial do impacto da infecção sobre parâmetros maternos e reprodutivos no modelo experimental, destacando que o tamanho amostral reduzido, característico de um estudo piloto, pode ter influenciado a magnitude e a detecção das diferenças observadas. Ainda assim, os resultados apontam para possíveis tendências biológicas relevantes, reforçando a viabilidade do modelo e a importância de sua continuidade em estudos futuros com maior número amostral.

Figura 10 - Parâmetros reprodutivos individuais de fêmeas de *C. callosus* nos grupos controle e infectado



Em (A), peso gestacional final das fêmeas (g) e, em (B), número de fetos por fêmea ao término do período gestacional. Cada barra representa um animal individualizado: azul escuro (Controle 1), azul (Controle 2) e azul claro (Infectado 1). Devido ao tamanho amostral reduzido ($n=2$ para o grupo controle e $n=1$ para o grupo infectado), os dados são apresentados de forma estritamente descritiva, impossibilitando a análise estatística comparativa.

Fonte: Autoria própria (2026).

Estudos experimentais de malária gestacional também descrevem alterações macroscópicas no desenvolvimento fetal. Em modelos animais, fetos provenientes de mães não infectadas geralmente apresentam coloração rosada, pele translúcida com vasos sanguíneos visíveis e placentas bem vascularizadas. Em contraste, fetos de mães infectadas podem apresentar coloração mais pálida, menor preenchimento vascular e placentas com menor conteúdo sanguíneo, além de redução do tamanho corporal, como elucidado por (Boareto *et al.*, 2019; Neres *et al.*, 2008). De maneira semelhante, na avaliação macroscópica realizada no presente estudo, como mostra a Figura 11, no 19º dia de gestação, observou-se que os fetos provenientes das fêmeas do grupo controle apresentavam morfologia compatível com a idade gestacional, com conformação corporal bem definida e coloração relativamente homogênea entre os filhotes da mesma fêmea.

Já os fetos provenientes da fêmea infectada apresentaram, de modo geral, coloração mais pálida e aspecto menos homogêneo quando comparados aos controles. Além disso, visualmente foi possível notar uma diferença no volume corporal médio desses fetos em relação aos grupos controle. Em relação às placentas, não foram observadas diferenças macroscópicas evidentes entre os grupos avaliados.

Embora essas observações sejam baseadas apenas em avaliação macroscópica e não tenham sido acompanhadas por mensurações morfométricas, os achados sugerem possíveis alterações no desenvolvimento fetal associadas à infecção materna, em concordância com descrições previamente relatadas na literatura.

Figura 11 - Aspecto macroscópico de fetos no 19º dia de gestação provenientes de fêmeas infectadas e não infectadas por *Plasmodium berghei* ANKA



(A) Fetos e respectivas placentas provenientes da fêmea Controle 1 no 19º dia de gestação (DG19); (B) fetos e placentas da fêmea Controle 2 no DG19; (C) fetos e placentas provenientes da fêmea Infectada 1 por *Plasmodium berghei* ANKA no DG19.

Fonte: Autoria própria (2025).

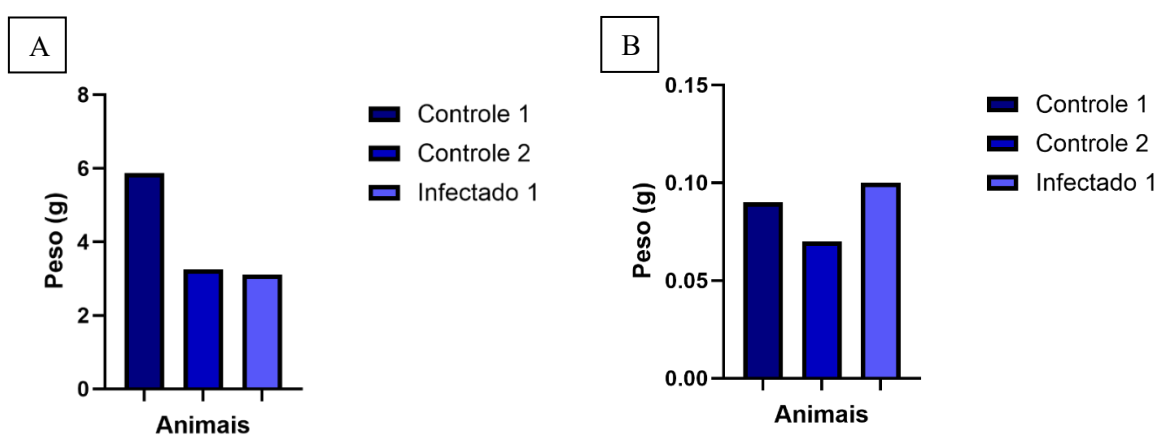
Foram avaliados, de forma conjunta, o peso fetal e o peso esplênico das fêmeas nos grupos controle e infectado, cujos resultados estão apresentados na Figura 12. Em relação ao peso fetal, observa-se uma expressiva amplitude de variação intragrupo nos animais do grupo controle. O valor registrado na fêmea infectada posiciona-se próximo ao limite inferior dessa faixa de variação, e a sobreposição dos resultados sugere que esse achado acompanha a variação fisiológica da espécie neste delineamento, não evidenciando uma redução de massa fetal estritamente associada ao quadro infeccioso. Em contraste, estudos experimentais de malária gestacional descrevem redução do peso fetal associada à infecção materna, como relatado por Boareto *et al.* (2019). Essa divergência pode estar relacionada a diferenças no delineamento experimental, incluindo momento da infecção, carga parasitária e condições experimentais, fatores que podem influenciar de maneira distinta o desenvolvimento fetal.

No que se refere ao peso esplênico, a análise do perfil gráfico demonstra que o valor registrado na fêmea infectada se posiciona discretamente acima do limite superior da variação estabelecida pelos animais controle. Esse comportamento qualitativo aponta para um leve aumento nominal da massa do órgão, o que pode sugerir uma possível resposta esplênica (esplenomegalia) frente à infecção por *Plasmodium* no presente delineamento. Esse achado está em consonância com observações descritas na literatura, nas quais a infecção está associada à ativação policlonal do sistema imunológico e ao aumento do tamanho do baço (Boareto *et al.*, 2019; Neres *et al.*, 2008). Em modelos experimentais com fêmeas gestantes infectadas por *Plasmodium berghei*, foi relatado aumento expressivo do peso esplênico em comparação aos

animais controle, interpretado como reflexo da ativação imunológica materna frente à infecção (Boareto *et al.*, 2019; Neres *et al.*, 2008).

Dessa forma, enquanto os dados de peso fetal se mantêm dentro da variabilidade fisiológica observada para o modelo, o discreto aumento do peso esplênico pode refletir uma resposta imunológica inicial à infecção. Considerando o número amostral reduzido, essas observações devem ser interpretadas de forma descritiva; ainda assim, apontam para tendências biológicas coerentes com a literatura.

Figura 11 - Comparação do peso fetal e esplênico no 19º dia de gestação entre fêmeas dos grupos controle e infectado



Peso fetal total (g) em (A) e peso esplênico total (g) em (B) obtidos no 19º dia de gestação em fêmeas pertencentes aos grupos Controle e Infectado. Cada barra representa um animal. As barras em azul escuro correspondem ao animal Controle 1, as barras em azul correspondem ao animal Controle 2 e a barra em azul claro corresponde ao animal infectado 1. Os dados são apresentados de forma estritamente descritiva devido ao tamanho amostral reduzido ($n = 2$ para o grupo controle e $n = 1$ para o grupo infectado), impossibilitando a análise estatística comparativa.

Fonte: Autoria própria (2026).

6 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos da infecção por *Plasmodium berghei* ANKA durante a gestação em *Calomys callosus*, investigando parâmetros reprodutivos, desenvolvimento fetal e alterações histológicas. De modo geral, não foram observadas alterações histopatológicas na progênie, e as variações nos parâmetros reprodutivos entre os grupos, em sua maioria, não apresentaram relevância estatística.

Entretanto, a interpretação desses resultados é limitada pelo reduzido tamanho amostral (N), o que pode ter comprometido a detecção de diferenças significativas. Ainda assim, os dados contribuem para a caracterização inicial da resposta materno-fetal nesse modelo, indicando ausência de alterações marcantes nas condições avaliadas.

Dessa forma, o estudo fornece subsídios para investigações futuras, que devem incluir maior N amostral e diferentes momentos de infecção, a fim de melhor elucidar os efeitos da infecção durante a gestação.

7 ORÇAMENTO

Para execução desta pesquisa, foram utilizados recursos financeiros e consumíveis financiados pelo Conselho nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Edital número 149660/2024-3. Ainda, o estudo usufruiu da infraestrutura do Laboratório de Biotecnologia em Modelos Experimentais (LABME) e da Rede de Biotérios de Roedores da Universidade Federal de Uberlândia (REBIR - UFU).

REFERÊNCIAS

- ANDREW, A. K.; COOPER, C. A.; MOORE, J. M. A novel murine model of post-implantation malaria-induced preterm birth. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. e0256060, 2022. ISSN: 1932-6203. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256060>.
- ARORA, G. *et al.* Malaria: influence of Anopheles mosquito saliva on *Plasmodium* infection. **Trends in Immunology**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 256–265, 2023. ISSN: 14714906. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2023.02.005>.
- ASHLEY, E. A.; WHITE, N. J. The duration of *Plasmodium falciparum* infections. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 500, 2014. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-500>.
- BAUSERMAN, M. *et al.* An overview of malaria in pregnancy. **Seminars in Perinatology**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 282–290, 2019 a. ISSN: 01460005. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2019.03.018>.
- BOARETO, A. C. *et al.* Maternal and fetal outcome of pregnancy in Swiss mice infected with *Plasmodium berghei* ANKAGFP. **Reproductive Toxicology**, [s. l.], v. 89, p. 107–114, 2019. ISSN: 08906238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.07.011>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia prático de tratamento da malária no Brasil**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: [guia_tratamento_malaria_2nov21_isbn_site.pdf](#). Acesso em: 24 mar. 2026.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Tipos de diagnósticos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023. Portal Gov.br. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/tipos-de-diagnosticos#:~:text=no%20eritr%C3%B3cito%20infectado.-,Gota%20espessa,custo%20e%20de%20f%C3%A1cil%20realiza%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 05 set. 2024.
- CHUA, C. L. L. *et al.* Malaria in Pregnancy: From Placental Infection to Its Abnormal Development and Damage. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 12, 2021. ISSN: 1664-302X. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.777343>.
- COSTA, F. T. *et al.* On cytoadhesion of *Plasmodium vivax*: raison d'être? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 106, n. suppl 1, p. 79–84, 2011. ISSN: 0074-0276. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000900010>.
- CRAIG, A. G. *et al.* The Role of Animal Models for Research on Severe Malaria. **PLoS Pathogens**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. e1002401, 2012. ISSN: 1553-7374. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002401>.
- DAYANANDA, K.; ACHUR, R.; GOWDA, Dc. Epidemiology, drug resistance, and pathophysiology of *Plasmodium vivax* malaria. **Journal of Vector Borne Diseases**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 1, 2018. ISSN: 0972-9062. DOI: <https://doi.org/10.4103/0972-9062.234620>.

DESAI, M. *et al.* Epidemiology and burden of malaria in pregnancy. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 93–104, 2007. ISSN: 14733099. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70021-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70021-X).

DING, Y. *et al.* Establishment of a murine model of cerebral malaria in KunMing mice infected with *Plasmodium berghei* ANKA. **Parasitology**, [s. l.], v. 143, n. 12, p. 1672–1680, 2016. ISSN: 0031-1820. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182016001475>.

DORITCHAMOU, J. *et al.* Malaria in pregnancy: the relevance of animal models for vaccine development. **Lab Animal**, [s. l.], v. 46, n. 10, p. 388–398, 2017. ISSN: 0093-7355. DOI: <https://doi.org/10.1038/labani.1349>.

DVORIN, Jeffrey D.; GOLDBERG, Daniel E. *Plasmodium* egress across the parasite life cycle. **Annual Review of Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 67–90, 2022.

ECHEVERRY, D. F. *et al.* Human malaria diagnosis using a single-step direct-PCR based on the *Plasmodium* cytochrome oxidase III gene. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 128, 2016. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1185-x>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Malaria**. Atlanta: CDC, 2026. Portal CDC. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>. Acesso em: 23 mar. 2026.

CHAGAS, Eda Cristina da Silva *et al.* Malária durante a gravidez: efeito sobre o curso da gestação na região amazônica. **Rev Panam Salud Publica**, [s. l.], 2009.

EKREGBESI, P. *et al.* Multi-system dysregulation in placental malaria contributes to adverse perinatal outcomes in mice. **Infection and Immunity**, [s. l.], v. 93, n. 7, 2025. ISSN: 0019-9567. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00021-25>.

FELICIAN, E. K. *et al.* Placental Parasitic Infections and Pregnancy Outcomes Among Women Delivering at a Tertiary Hospital in Northern Tanzania. **East African Health Research Journal**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 141–146, 2022. ISSN: 25205277. DOI: <https://doi.org/10.24248/eahrj.v6i2.695>.

FERREIRA, Joseli Oliveira . *et al.* Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 115, 2010. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-115>.

FERREIRA, M. U.; CASTRO, M. C. Challenges for malaria elimination in Brazil. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 284, 2016. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1335-1>.

FERRO, E. A. V. *et al.* Effect of *Toxoplasma gondii* Infection Kinetics on Trophoblast Cell Population in *Calomys callosus* , a Model of Congenital Toxoplasmosis. **Infection and Immunity**, [s. l.], v. 70, n. 12, p. 7089–7094, 2002. ISSN: 0019-9567. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.70.12.7089-7094.2002>.

FIKADU, M.; ASHENAFI, E. Malaria: An Overview. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. Volume 16, p. 3339–3347, 2023. ISSN: 1178-6973. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S405668>.

FRIED, M.; DUFFY, P. E. Malaria during Pregnancy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. a025551, 2017. ISSN: 2157-1422. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025551>.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Como é feito o diagnóstico da malária?** Rio de Janeiro: Fiocruz, 2023. Portal Fiocruz. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/como-e-feito-o-diagnostico-da-malaria>. Acesso em: 05 set. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Malária**. Rio de Janeiro: Fiocruz, [2025]. Portal Fiocruz. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/doenca/malaria>. Acesso em: 05 set. 2024.

GARCIA, L. S. Malaria. **Clinics in Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 93–129, 2010. ISSN: 02722712. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2009.10.001>.

GAW, S. L. *et al.* Differential Activation of Fetal Hofbauer Cells in Primigravidas Is Associated with Decreased Birth Weight in Symptomatic Placental Malaria. **Malaria Research and Treatment**, [s. l.], v. 2019, p. 1–10, 2019. ISSN: 2090-8075. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/1378174>.

GEORGIADOU, A. *et al.* Comparative transcriptomic analysis reveals translationally relevant processes in mouse models of malaria. **eLife**, [s. l.], v. 11, 2022. ISSN: 2050-084X. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.70763>.

GRIFFING, S. M. *et al.* A historical perspective on malaria control in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 110, n. 6, p. 701–718, 2015. ISSN: 0074-0276. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760150041>.

HA, Y. R. *et al.* SPECT/CT analysis of splenic function in genistein-treated malaria-infected mice. **Experimental Parasitology**, [s. l.], v. 170, p. 10–15, 2016. ISSN: 00144894. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.08.008>.

HVIID, Lars; JENSEN, Anja R.; DEITSCH, Kirk W. PfEMP1 and var genes: still of key importance in *Plasmodium falciparum* malaria pathogenesis and immunity. In: **ADVANCES IN PARASITOLOGY**. [S.l.]: Academic Press, 2024. p. 53–103.

HOO, R.; NAKIMULI, A.; VENTO-TORMO, R. Innate Immune Mechanisms to Protect Against Infection at the Human Decidual-Placental Interface. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 11, 2020. ISSN: 1664-3224. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02070>.

LAPORTA, G. Z. *et al.* Reaching the malaria elimination goal in Brazil: a spatial analysis and time-series study. **Infectious Diseases of Poverty**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 39, 2022. ISSN: 2049-9957. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40249-022-00945-5>.

LI, Qilong *et al.* Malaria: past, present, and future. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 10, n. 1, p. 188, 2025.

LOPES, Lucas Casagrande Passoni. Malaria mortality in Brazil: an age-period cohort study. **Malaria Journal**, v. 24, n. 1, p. 135, 2025.

MEIBALAN, E.; MARTI, M. Biology of Malaria Transmission. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. a025452, 2017. ISSN: 2157-1422. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025452>.

MELO, J. O. *et al.* Evaluation of the malaria elimination policy in Brazil: a systematic review and epidemiological analysis study. **Tropical Biomedicine**, v. 37, n. 2, p. 513–535, 2020.

MILNER, D. A. Malaria Pathogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. a025569, 2018. ISSN: 2157-1422. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025569>.

MUBARAKI, M. A. *et al.* Beneficial effect of *Punica granatum* peel extract on murine malaria-induced spleen injury. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 221, 2016. ISSN: 1472-6882. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1207-9>.

MUELLER, I.; ZIMMERMAN, P. A.; REEDER, J. C. *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* – the ‘bashful’ malaria parasites. **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 278–283, 2007. ISSN: 14714922. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.04.009>.

NERES, R. *et al.* Pregnancy Outcome and Placenta Pathology in *Plasmodium berghei* ANKA Infected Mice Reproduce the Pathogenesis of Severe Malaria in Pregnant Women. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. e1608, 2008 c. ISSN: 1932-6203. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001608>.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL (ONU Brasil). **OPAS pede que países intensifiquem combate à malária nas Américas**. Brasília: ONU Brasil, 2026. Portal ONU Brasil. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/179223-opas-pede-que-pa%C3%ADses-intensifiquem-combate-%C3%A0-mal%C3%A1ria-nas-am%C3%A9ricas>. Acesso em: 24 mar. 2026.

PATEL, H.; DUNICAN, C.; CUNNINGTON, A. J. Predictors of outcome in childhood *Plasmodium falciparum* malaria. **Virulence**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 199–221, 2020. ISSN: 2150-5594. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1726570>.

PATTARADILOKRAT, S. *et al.* The origins, isolation, and biological characterization of rodent malaria parasites. **Parasitology International**, [s. l.], v. 91, p. 102636, 2022. ISSN: 13835769. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2022.102636>.

POESPOPRODJO, J. R. *et al.* Malaria. **The Lancet**, [s. l.], v. 402, n. 10419, p. 2328–2345, 2023. ISSN: 01406736. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01249-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01249-7).

RASMUSSEN, S. A.; ARGUIN, P. M.; JAMIESON, D. J. Malaria and Pregnancy. **Obstetrics & Gynecology**, [s. l.], v. 142, n. 6, p. 1303–1309, 2023. ISSN: 0029-7844. DOI: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000005409>.

RECHT, J. *et al.* Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: current challenges in malaria control and elimination. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 273, 2017. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1925-6>.

REYES-SANDOVAL, A. *Plasmodium vivax* pre-erythrocytic vaccines. **Parasitology International**, [s. l.], v. 84, p. 102411, 2021. ISSN: 13835769. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102411>.

ROGERSON, S. J. *et al.* Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 105–117, 2007. ISSN: 14733099. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70022-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70022-1).

ROSA, R. B. *et al.* *Calomys callosus*: An Experimental Animal Model Applied to Parasitic Diseases Investigations of Public Health Concern. **Pathogens**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 369, 2022. ISSN: 2076-0817. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11030369>.

SANTOS-CIMINERA, P. D. *et al.* Malaria Diagnosis and Hospitalization Trends, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 1597–1600, 2007. ISSN: 1080-6040. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1310.070052>.

SAVI, M. K. An Overview of Malaria Transmission Mechanisms, Control, and Modeling. **Medical Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 3, 2022. ISSN: 2076-3271. DOI: <https://doi.org/10.3390/medsci11010003>.

SCHANTZ-DUNN, J.; NOUR, N. M. Malaria and pregnancy: a global health perspective. **Reviews in obstetrics & gynecology**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 186–192, 2009. ISSN: 1941-2797.

SIMWELA, N. V.; WATERS, A. P. Current status of experimental models for the study of malaria. **Parasitology**, [s. l.], v. 149, n. 6, p. 729–750, 2022. ISSN: 0031-1820. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182021002134>.

SMITH, J. D. *et al.* Malaria's deadly grip: cytoadhesion of *Plasmodium falciparum* -infected erythrocytes. **Cellular Microbiology**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 1976–1983, 2013. ISSN: 14625814. DOI: <https://doi.org/10.1111/cmi.12183>.

STRANGWARD, P. *et al.* A quantitative brain map of experimental cerebral malaria pathology. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. e1006267, 2017. ISSN: 1553-7374. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006267>.

UMBERS, A. J.; AITKEN, E. H.; ROGERSON, S. J. Malaria in pregnancy: small babies, big problem. **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 168–175, 2011. ISSN: 14714922. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2011.01.007>.

VARO, R.; CHACCOUR, C.; BASSAT, Q. Update on malaria. **Medicina Clínica**, [s. l.], v. 155, n. 9, p. 395–402, 2020. ISSN: 00257753. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.05.010>.

VEIGA, Gisele Tatiane Soares da *et al.* *Plasmodium vivax* vaccine: what is the best way to go? **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2023.

VIRIYAVEJAKUL, P.; KHACHONSAKSUMET, V.; PUNSAWAD, C. Liver changes in severe *Plasmodium falciparum* malaria: histopathology, apoptosis and nuclear factor kappa B expression. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 106, 2014. ISSN: 1475-2875. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-106>.

WHITE, N. J. *et al.* Malaria. **The Lancet**, [s. l.], v. 383, n. 9918, p. 723–735, 2014. ISSN: 01406736. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60024-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60024-0).

WU, X. *et al.* Different TLR signaling pathways drive pathology in experimental cerebral malaria vs. malaria-driven liver and lung pathology. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 113, n. 5, p. 471–488, 2023. ISSN: 1938-3673. DOI: <https://doi.org/10.1093/jleuko/qiad021>.

YIN, J. *et al.* Laboratory diagnosis for malaria in the elimination phase in China: efforts and challenges. **Frontiers of Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 10–16, 2022. ISSN: 2095-0217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11684-021-0889-7>.