

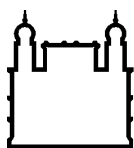
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE ATALAIA DO
NORTE, AMAZONAS, BRASIL.

MONICA PALMA CUERO

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2020



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

MONICA PALMA CUERO

Epidemiologia da Malária no Município de Atalaia do Norte, Amazonas, Brasil.

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.

Orientadora: Prof. Dra. Martha Cecilia Suárez-Mutis

RIO DE JANEIRO
Fevereiro de 2020

PALMA CUERO, MONICA.

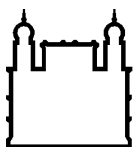
Epidemiologia da Malária no Município de Atalaia do Norte, Amazonas, Brasil. / MONICA PALMA CUERO. - Rio de Janeiro, 2020. 119 f.; il.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2020.

Orientadora: Martha Cecilia Suárez Mutis.

Bibliografia: f. 93-102

1. Malária. 2. Epidemiología. 3. Assintomáticos. 4. Amazônia. 5. Vale do Javari. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: MONICA PALMA CUERO

**EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE ATALAIA DO NORTE,
AMAZONAS, BRASIL.**

ORIENTADORA: Prof. Dra. Martha Cecilia Suárez-Mutis

Aprovada em: 19 / 02 / 2020

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Izabel Cristina dos Reis - Presidente (Instituto Oswaldo Cruz)

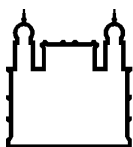
Prof. Dr. Paola Barbosa Marchesini (Ministério da Saúde)

Prof. Dr. Helena Keiko Toma (Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Prof. Dr. Anielle de Pina Costa (Instituto Nacional de Infectologia)

Prof. Dr. Samanta Cristina das Chagas Xavier (Instituto Oswaldo Cruz)

Rio de Janeiro, fevereiro 19 de 2020



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de tese de doutorado em Medicina Tropical de **Monica Palma Cuero**, sob orientação da Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis. Ao décimo nono dia do mês de fevereiro de dois mil e vinte, realizou-se às quatorze horas, no Auditório Maria Deane - Pavilhão Leonidas Deane, o exame da tese de doutorado intitulada: "**Epidemiologia da malária no município de Atalaia do norte, Amazonas, Brasil**" no programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Epidemiologia e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr^a. Izabel Cristina dos Reis - IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr^a. Paola Barbosa Marchesini - Ministério da Saúde, Dr^a. Helena Keiko Toma - UFRJ/RJ, Dr^a. Anielle de Pina Costa - INI/FIOCRUZ, Dr^a. Samanta Cristina das Chagas Xavier Azeredo - IOC/FIOCRUZ e como suplentes: Dr. Paulo Roberto de Abreu Bruno - ENSP/FIOCRUZ e Dr^a. Nildimar Honório Rocha - IOC/FIOCRUZ. Após arguir a candidata e considerando que a mesma demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela APROVAÇÃO da defesa da tese de doutorado. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutora em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, a Coordenadora do Programa, Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 19 de fevereiro de 2020.

Dr^a. Izabel Cristina dos Reis (Presidente da Banca): *Izabel Cristina dos Reis*

Dr^a. Paola Barbosa Marchesini (Membro da Banca): *Paola Marchesini*

Dr^a. Helena Keiko Toma (Membro da Banca): *Helena Keiko Toma*

Dr^a. Anielle de Pina Costa (Membro da Banca): *Anielle de Pina Costa*

Dr^a. Samanta Cristina das Chagas Xavier Azeredo (Membro da Banca): *Samanta C.O. X.A.*

Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis (Coordenadora do Programa): *Martha Cecilia Suárez Mutis*

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não seria possível sem o apoio e colaboração de várias pessoas a os quais gostaria de agradecer.

A minha orientadora Doutora Martha Cecilia Suarez Mutis pelo apoio incondicional, paciência e ensinamentos constantes.

À Fundação Oswaldo Cruz, por despertar em mim o orgulho de fazer parte desta Instituição.

À Secretaria de saúde do Município de Atalaia do Norte, em especial a Jucelia Graça, Secretária Municipal por seu apoio incondicional para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Ney José Batista dos Anjos, Gerente de Endemias do Município de Atalaia do Norte pelo apoio na organização de cada uma de nossas viagens.

Aos Microscopistas, João Hylton Almeida, Geovani Morais Serra e Crisvão Monteiro Gimaque, pelo apoio em cada uma de nossas viagens, sim vocês este trabalho não poderia ser feito.

Aos Agentes de endemias, Ranierick dos Santos Rios, Francisca da Silva Borges, Cristiano Honorio Gimaque, Sebastiao Guerreira Nunes, pelo carinho, apoio e entrega em cada uma de nossas viagens.

A Nonato Francisco da Silva Ribeiro, agente de endemias, e motorista de cada uma de nossas viagens pelo lindo Javari, obrigada.

As Lideranças indígenas, DSEI Vale do Javari e FUNAI que aceitaram o desenvolvimento de nossa pesquisa em seu território.

Ao povo Kanamari, por me permitir conhecer um pouco de sua cultura, por me abraçar os dias de permanência na comunidade e por ser parte desde trabalho, sem vocês isto não seria possível.

Às equipes do DSEI que acompanharam nossa pesquisa na comunidade.

À comunidade de Boa esperança, pessoas maravilhosas, obrigado pelo acolhimento a nossa pesquisa e a nós, foi grato conhecer vocês.

A Seu Antônio liderança da comunidade de Boa Esperança, por nos acolher em sua casa e por cada uma das histórias compartilhadas de sua vida na Amazônia.

A Myrna Barata, pelo apoio incondicional como amiga e profissional, você foi parte fundamental para o sucesso de nosso trabalho de campo. Obrigada.

A Verônica Marchon Silva e Andressa Fuzari, pelo acompanhamento no campo, ensinamentos diários e a companhia nesse trabalho amazônico.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, minha imensa gratidão por compartilhar suas experiências e seus conhecimentos em cada uma de suas áreas.

Às pesquisadoras, colegas e amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias o “Malária Team” Simone, Verônica, Paulo, Vivian, Amanda, Jéssica e Rafael, pelas risadas e bons momentos de convivência.

A Gloria Paredes, pelo apoio constante e acreditar sempre em que eu conseguiria.

A Pamela Mosquera, pelo apoio os dias difíceis no Rio, estar longe de casa é difícil, mas agradeço muito os momentos compartilhados com você.

A Josiane Muller por sempre me ajudar a resolver as dúvidas e sobre tudo por ser esse grande apoio em cada momento.

A minhas amigas Diana e Martha, obrigada por sempre dar-me esse apoio moral para não ficar atrás e continuar no caminho.

Gostaria de expressar toda minha gratidão a toda minha família, em especial, a minha mãe e meu pai por todo o amor, encorajamento e confiança que me ajudaram a alcançar este objetivo.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

Aos povos indígenas que lutam dia a dia com a indiferença do poder político.

“Procure ser uma pessoa de valor, em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso. O sucesso é consequência.”

Albert Einstein

ÍNDICE

RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
1. MARCO TEÓRICO	19
1.1. Malária: aspectos gerais	19
1.2. Malária no mundo.....	22
1.3. Malária nas Américas	24
1.4. Malária no Brasil.....	26
1.5. Vetores da Malária.....	29
1.6. Ciclo Biológico do <i>Plasmodium</i> spp.	30
1.7. Métodos de diagnóstico.....	32
1.8. Endemicidade da Transmissão Da Malária	36
1.9. Estratégia Técnica de Eliminação da malária 2016-2030.....	39
2. RACIONAL E JUSTIFICATIVA	41
3. OBJETIVO GERAL	44
3.1. Objetivos específicos	44
4. METODOLOGIA	45
4.1. Área de Estudo	45
4.2. Desenho Epidemiológico.....	48
a) Critérios de inclusão.....	51
b) Critérios de exclusão ou de perda após início do estudo.....	51
4.4. Diagnóstico da Malária.....	52
4.5. Definição de casos	56
4.6. Análise dos dados.....	56
4.7. Considerações Éticas	57
5. RESULTADOS	58
5.1. Estudo Retrospectivo.....	58
5.2. Estudo seccional	65
6. DISCUSSÃO	80
7. CONCLUSÕES	91
8. PERSPECTIVAS	92
9. REFERENCIAS	93
10. APÊNDICE	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da Incidência da malária em 2018.....	23
Figura 2. Distribuição de casos de malária confirmados por 1000 habitantes no ano de 2018.	24
Figura 3. Distribuição dos casos e óbitos por malária nas Américas, 2008-2018.	25
Figura 4. Série histórica de casos de Malaria no Brasil a partir de 1959- 2014... ..	27
Figura 5. Mapa do risco de transmissão da malária por municípios brasileiros no ano de 2017.	28
Figura 6. Ciclo do Parasito da malária.	31
Figura 7. Mapa de localização do município Atalaia do Norte no estado do Amazonas.....	46
Figura 8. Mapa das comunidades do Município de Atalaia do Norte.....	46
Figura 9. Fluxograma do estudo epidemiológico misto.	49
Figura 10. Distribuição anual dos casos de malária autóctones, importados e o IPA no município de Atalaia do Norte no período de 2003-2018.	58
Figura 11. Distribuição de casos em área urbana, indígena e rural no período de estudo.....	60
Figura 12. Distribuição do número de casos de malária por polos bases nos período de estudo. 2003-2012 e 2013-2018.	61
Figura 13. Curva endêmica de casos de malária no município de Atalaia do Norte 2003-2018.	62
Figura 14. Proporção de casos por espécie parasitaria e proporção <i>P. vivax</i>	63
Figura 15. Casos de malária e porcentagem de indivíduos por faixa etária no período de 2003 - 2018.....	64
Figura 16. Casos de malária e porcentagem de indivíduos por sexo no período de 2003 - 2018.....	64
Figura 17. Média da idade classificada por sexo dos indivíduos que participaram do estudo.....	65
Figura 18. Pirâmide populacional dos indivíduos do estudo por faixa etária e sexo.	67
Figura 19. Municípios de nascimento dos participantes do estudo por município.....	67
Figura 20. Média de episódios prévios de malária nos indivíduos segundo o gênero.....	69
Figura 21. Sintomas registrados nos pacientes sintomáticos.	75
Figura 22. Sintomas registrados nos pacientes oligossintomáticos.	75
Figura 23. Média de episódios prévios de pacientes assintomáticos segundo o gênero.....	77
Figura 24. Número de casos por espécie parasitaria segundo a ocupação dos participantes.....	78
Figura 25. Gel de agarose 2% com as amostras positivas para <i>P. vivax</i>	78
Figura 26. Gel de agarose 2% resultados positivos para <i>P. vivax</i>	79
Figura 27. Gel de agarose 2% resultados positivos para <i>P. vivax</i> e <i>P. falciparum</i>	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações demográficas dos participantes do estudo.....	66
Tabela 2. Número de participantes por localidade de nascimento.	68
Tabela 3. Correlação entre antecedentes de malária pregressa e aspectos demográficos dos participantes do estudo.	70
Tabela 4. Número de episódios prévios de malária por sexo.....	71
Tabela 5. Número de episódios prévios de malária por idade.	71
Tabela 6. Casos de malária diagnosticados por Microscopia e PCR e prevalência de malária nas localidades de coleta.	72
Tabela 7. Número de casos e prevalência de infecção Assintomática e sintomática pelo Plasmodium spp.	73
Tabela 8. Estado clínico dos pacientes segundo variáveis demográficas, malária pregressa e sazonalidade.....	74
Tabela 9. Informações demográficas dos pacientes assintomáticos.....	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estudos de infecção assintomática nas Américas no período 2002-2019.	21
Quadro 2. Objetivos, etapas e metas da Estratégia Técnica Mundial para a Malária 2016-2030.	39
Quadro 3. Parâmetros para a leitura da gota espessa.	52
Quadro 4. Iniciadores da primeira PCR para diagnóstico do <i>Plasmodium</i> spp. ...	54
Quadro 5. Mistura de reagentes da primeira PCR para diagnóstico do <i>Plasmodium</i> spp.....	54
Quadro 6. Perfil térmico da primeira reação de PCR para o diagnóstico do <i>Plasmodium</i>	54
Quadro 7. Iniciadores da segunda reação de PCR diagnóstica espécie-específica para <i>Plasmodium</i> spp.....	54
Quadro 8. Mistura de reagentes da segunda reação de PCR nested para diagnóstico espécie-específica.	55
Quadro 9. Perfil térmico da segunda reação de PCR para diagnóstico espécie-específica de <i>Plasmodium</i> spp.....	55

LISTA DE SIGLAS

FUNAI: Fundação Nacional do Índio.

DSEI: Distrito Sanitário Nacional Indígena.

SIVEP: Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica.

PGEM: Programa Global de Erradicação da Malária.

AACD: Aggressive active case detection (Detecção Ativa Agressiva de Casos).

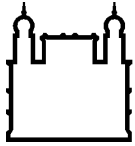
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

Monica Palma-Cuero

INTRODUÇÃO: A malária é uma doença complexa de elevada morbidade na região Amazônica brasileira. Nos últimos anos o número de casos vem aumentando na região e para estabelecer estratégias mais adequadas para controle é preciso conhecer a epidemiologia local em cada uma das áreas onde a malária está presente. Com isso, o objetivo desse estudo foi investigar a presença de casos de malária e/ou infecção assintomática por *Plasmodium* spp. nos habitantes do município de Atalaia do Norte estado do Amazonas e determinar os principais determinantes demográficos associados. **METODOLOGIA:** O estudo foi realizado no município de Atalaia do Norte e em duas comunidades rurais desse município situado no estado do Amazonas. Foi realizado um estudo epidemiológico misto composto por uma análise retrospectivo e um estudo seccional. Para o estudo retrospectivo foram analisados os casos positivos de malária por local provável de infecção obtidos do SIVEP-Malária, no período de 2003 até 2018 para o município. O estudo seccional foi realizado em duas comunidades rurais do município, durante dois períodos do tempo, um na estação seca e outro na estação das chuvas. No total participaram do inquérito 190 indivíduos. Cada indivíduo foi submetido a um questionário e coleta de sangue para a realização dos testes de gota espessa e PCR para a confirmação do diagnóstico de infecção plasmodial. **RESULTADOS:** Entre 2003-2018 foram confirmados 50.097 (IPA= 256,1 casos por mil habitantes) casos de malária no município de Atalaia do Norte com 60,7% ocorrendo em área indígena (n=29.867). Entre os casos confirmados 12,7% foram casos importados. Predominaram infecções em indivíduos do sexo masculino (n=55,1%) e em menores de 15 anos. (n=55,6%). O *P. vivax* foi a espécie parasitária mais prevalente sendo responsável do 72% dos casos notificados. O estudo seccional mostrou que dos indivíduos participantes, quatro (3,6%) indivíduos na estação seca e três (3,7%) na estação das chuvas foram positivos na gota espessa para infecção pelo *P. vivax*. Enquanto na PCR 19 (17,4%) foram identificados na estação seca e 21 (25,9%) na estação das chuvas. Foi identificada uma prevalência de infecção assintomática na estação seca de 19,2% e na estação das chuvas de 24,6%. Na área indígena 94% das infecções foram assintomáticas. **Conclusões:** Atalaia do norte é um município endêmico para malária com transmissão estável da doença durante todo o ano e com presença de portadores assintomáticos que podem atuar como reservatórios do *Plasmodium*. A maioria de casos ocorrem na área indígena sendo a população mais vulnerável devido as dificuldades de acesso à saúde nesta área do país. Ainda o controle e a eliminação da malária são um desafio para esta região que requer de intervenções imediatas para a eliminação da doença.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

MALARIA EPIDEMIOLOGY IN THE MUNICIPALITY OF ATALAIA DO NORTE, AMAZONAS, BRAZIL.

ABSTRACT

PHD THESIS IN (MEDICINA TROPICAL)

Monica Palma-Cuero

INTRODUCTION: Malaria is a complex disease with high morbidity in the Brazilian Amazon region. In recent years, the number of cases has increased in the region and to establish more adequate control strategies, it is necessary to know the local epidemiology in each of the areas where malaria is present. Thus, the objective of this study is to investigate the presence of malaria cases and asymptomatic infection with *Plasmodium* spp. in the Atalaia do Norte population, municipality of the Amazonas state, and determine the main associated demographic determinants. **METHODOLOGY:** The study was carried out in the Atalaia do Norte municipality and in two of the rural communities of this municipality located in the state of Amazonas. A mixed epidemiological study was carried out, composed by a retrospective analysis and a sectional study. For the retrospective study, positive cases of malaria by infection probable site obtained from SIVEP-Malaria, from 2003 to 2018 for the municipality, were analyzed. The sectional study was carried out in two municipality rural communities during two climate period: a dry season and a rainy season. In total, 190 individuals participated in the survey. Each individual was submitted to a questionnaire and blood collection for the performance of the thick smear and PCR test used for the confirmation diagnosis of plasmodium infection. **RESULTS:** Between 2003-2018, 50097 malaria cases were confirmed in the Atalaia do Norte municipality (IPA = 256.1 cases per thousand inhabitants) with 60.7% occurring in an indigenous area (n = 29,867). *P. vivax* was the most prevalent parasitic species, accounting for 72% of the reported cases (n=29867). Among the confirmed cases, 12.7% were imported cases. Infections predominated in males (n=55,1%) and in children under 15 years old (n=55,6%). *P. vivax* was the most prevalent parasitic species, accounting for 72% of the reported cases. The sectional study showed that of the participating individuals, four persons were positive with the thick smear for infection by *P. vivax* (3.6%) in the dry season and 3 persons (3.7%) in the rainy season. While with PCR, 19 persons were identified during the dry season (17.4%) and 21 during the rainy season (25.9%). A prevalence of asymptomatic infection in the dry season of 19.2% and in the rainy season of 24.6% was identified. In the indigenous area, 94% of infections were asymptomatic. **CONCLUSIONS:** Atalaia do Norte is a malaria-endemic municipality with stable disease transmission throughout the year and asymptomatic carriers who may act as *plasmodium* reservoirs. Most cases occur in the indigenous area, rectifying that it is a vulnerable population due to the health access difficulties in this zone of Brazil. Malaria control and elimination is still a challenge for this region and immediate interventions are needed to eliminate the disease.

INTRODUÇÃO

A malária continua sendo um problema de saúde pública relevante no planeta, afetando seriamente a saúde e a capacidade de trabalho de um grande número de pessoas, dada sua ampla distribuição geográfica e impacto socioeconômico (Rodríguez et al. 2011). Nas Américas 138 milhões de pessoas vivem em áreas de risco de transmissão da malária. Em 2018 foram confirmados 753.700 de casos e 338 óbitos de malária nas Américas e o Brasil contribui com 23% dos casos com a maioria ocorrendo na região Amazônica (WHO 2019a).

Na região Amazônica a malária não se apresenta com uma distribuição homogênea, ocorrendo em diferentes contextos epidemiológicos em função das diferentes formas do uso e ocupação do solo na região e das diversas modalidades de exploração econômica dos recursos naturais disponíveis (Tauil et al. 1985, Vinetz & Gilman 2002). Além disso, a malária tem especificidades de acordo com as condições ecológicas, sanitárias, sociais, políticas e culturais próprias de cada lugar (Suárez-Mutis & Coura 2007) .

Em maio de 2015 foi adotada a “Estratégia Técnica Mundial contra a malária 2016-2030”, visando reduzir as taxas de mortalidade e incidência de malária, evitar o restabelecimento da malária em países livres e eliminar em áreas em que a doença foi transmitida em 2015 (World Health Organization 2015). Os países Membros da Organização Mundial da Saúde (OMS) acordaram fortalecer os sistemas de saúde, abordar a crescente resistência aos antimaláricos e inseticidas e intensificar as intervenções nacionais, transfronteiriças e regionais para ampliar as intervenções de resposta à malária com o fim de oferecer proteção a todas as populações em risco (World Health Organization 2015a). Para estabelecer as estratégias mais adequadas para combater a doença é preciso conhecer a epidemiologia local em cada uma das áreas onde a malária está presente.

Na Amazônia brasileira apesar da malária ocorrer predominantemente em áreas rurais com enorme heterogeneidade, há presença de situações diferentes entre as quais existe a denominada malária de garimpos (Castellanos et al. 2016, Douine et al. 2016, 2019, Sanchez et al. 2017, da Cruz Franco et al. 2019), malária de populações indígenas (Marcano et al. 2004, Grenfell et al. 2008), malária urbana (Buitrago et al. 2013, Padilla et al. 2015, Chaparro et al. 2017), malária de fronteiras (Da Silva et al. 2010, da Cruz Franco et al. 2019) e malária nas zonas de conflito

(Casey & Kohut 2016, Ruckstuhl et al. 2017), que apresentam diferentes graus de endemidade e determinantes diferenciados. De fato, a malária é uma doença de populações empobrecidas que moram próximas a criadouros potenciais de *Anopheles* spp. e são desprovidos de recursos suficientes para ter moradias e saneamento básico adaptados, bem como escassos conhecimentos na forma de transmissão e prevenção da doença. Embora a maior carga da doença encontrasse nas populações socialmente mais vulneráveis há algumas exceções como os viajantes, excursionistas, militares, ecoturistas, exploradores e investigadores que se infectam ocasionalmente (Coura 2013).

No Brasil, um grupo de municípios apresenta oscilações dentro de níveis considerados críticos ou altamente críticos (IPA maiores de 50 por 1000 habitantes) como é o caso de Atalaia do Norte, 8º município no Amazonas com maior número de casos autóctones de malária em 2018 (Sivep-Malária). Apesar do município de Atalaia do Norte, sempre aparecer como uma das áreas mais críticas para malária no estado do Amazonas, existem pouquíssimos estudos que permitam ter clareza sobre o comportamento da malária nesta área. Por esse motivo esta tese de doutorado se propôs a fazer uma análise retrospectiva da malária nos últimos 16 anos no município de Atalaia do Norte e uma análise seccional da malária em duas comunidades situadas no Vale do Javari para investigar a ocorrência de casos sintomáticos e assintomáticos e os determinantes da doença, visando fornecer elementos para o programa de controle da malária na região.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Malária: aspectos gerais

A malária é uma doença parasitária febril aguda de elevada prevalência e morbidade, com grande impacto social principalmente nos países das regiões tropicais e subtropicais. É causada por protozoário do gênero *Plasmodium* e transmitida aos seus hospedeiros vertebrados pela picada de mosquito fêmea do gênero *Anopheles* (Brasil et al. 2017). Existem aproximadamente 156 espécies registradas mundialmente de protozoários do gênero *Plasmodium*. Entretanto cinco são causadoras de infecção em seres humanos, *Plasmodium falciparum* (Welch 1897), *Plasmodium vivax* (Grassi & Filetti 1890), *Plasmodium ovale* (Stephens 1922), *Plasmodium malariae* (Grassi & Filetti 1890) e *Plasmodium knowlesi* (Grassi & Filetti 1890). Este último acomete principalmente primatas não humanos no sudeste asiático, mas também pode infectar humanos em forma natural com manifestações, variando entre moderada e grave (Singh et al. 2004, Daneshvar et al. 2009). No estado do Rio de Janeiro foi detectado um surto em humanos de malária causada por *Plasmodium simium*, plasmódio com capacidade de infectar principalmente primatas não humanos (Brasil et al. 2017).

Tipicamente a malária se caracteriza pela presença de acessos febris com intervalos de 24, 48 ou 72 horas, de acordo com a espécie parasitária, precedidos de calafrios e após a febre apresenta intensa sudorese, fraqueza, cefaleia, mal-estar geral, astenia e adinamia. Em casos com baixa parasitemia ou em pacientes com imunidade, podem ocorrer formas leves ou infecção assintomática, frequentes em áreas de alto risco de transmissão (Gudo et al. 2013, Ranjha et al. 2019, Cucunubá et al. 2008, Vásquez-Jiménez et al. 2016, Carrasco-Escobar et al. 2017, Rovira-Vallbona et al. 2017, Sáenz et al. 2017). As recaídas são frequentes nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale* devido à presença de formas tissulares no fígado de indivíduos infectados. Pode haver recrudescência da infecção por falta o baixa adesão ao tratamento ou por resistência aos antimaláricos como ocorre no caso do *P. falciparum*. Também existem infecções crônicas por *P. falciparum* ou *P. vivax* em áreas de alta endemicidade (Suárez-Mutis et al. 2013, Ministério da Saúde 2019a).

A alta prevalência de infecções assintomáticas por *P. vivax* registrados no Brasil constitui um grande desafio para os programas de controle da malária locais,

pois mantêm a circulação do *Plasmodium* na região e conseqüentemente o surgimento de novos casos.

Os primeiros relatos da presença de infecção assintomática foram realizados por Robert Koch há mais de um século, depois de uma expedição às Índias Orientais Holandesas (Indonésia) e Nova Guiné Alemã (agora Papua Nova Guiné, ou PNG) (Stanisic et al. 2010). Segundo a literatura, a imunidade é adquirida após repetidas exposições a malária e varia dependendo da intensidade da transmissão (Greenwood 1987, Filipe et al. 2007). Em áreas de alta endemicidade onde as pessoas sofrem picadas infectadas frequentemente, a imunidade se apresenta progressivamente, com uma diminuição no número de episódios de doença a medida que aumenta a idade (Greenwood 1987, Filipe et al. 2007). Estudos também relatam que a maturidade do sistema imune tem um papel importante na proteção do indivíduo, pois crianças que moravam em áreas não endêmicas e foram para áreas endêmicas desenvolveram proteção frente a malária mais lentamente que os adultos que pertenciam à mesma área (Baird et al. 1991). Consistente com essa evidência, na literatura se tem relacionado o aumento da idade com a diminuição da densidade parasitária (Sama et al. 2006). Aparentemente existem dois estágios para o desenvolvimento da imunidade adquirida: a imunidade clínica e a imunidade antiparasitária. Parece que a imunidade clínica é a primeira a ser desenvolvida. Esta imunidade adquirida parece ser espécie-específica, estágio-específico e mais efetiva se ocorre uma nova reinfecção com genótipos homólogos àqueles já experimentados, sendo capaz de controlar a doença bem como a densidade parasitária (Baird et al. 1991, Ladeia-Andrade et al. 2009). A imunidade clínica desenvolve-se lentamente durante a infância e a adolescência. Também parece haver diferenças no desenvolvimento da imunidade segundo a espécie parasitária, sendo que na infecção pelo *P. vivax* essa imunidade se produz de forma mais rápida do que com o *P. falciparum* (Michon et al. 2007, Cheng et al. 2015). O estudo dos fatores condicionantes da infecção assintomática é de extrema importância, por um lado para definir os mecanismos desse fato, e por outro para a tomada de medidas adequadas de controle.

Atualmente com o Programa Nacional de Controle da Malária existe interesse em determinar o papel das infecções assintomáticas e a necessidade de

estratégias que permitam revelar a presença de portadores de *plasmodium* spp. como técnicas mais sensíveis de diagnóstico molecular.

Anteriormente acreditava-se que em áreas de baixa transmissão, a proporção de indivíduos assintomáticos era menor que em áreas de transmissão intensa. Mas estudos realizados na região da Amazônia do Brasil e do Peru confirmaram que a parasitemia assintomática também pode ocorrer na ausência de transmissão intensa (Alves et al. 2002, Marcano et al. 2004, Rodulfo et al. 2007, Suárez-Mutis et al. 2007, Cucunubá et al. 2008, da Silva-Nunes et al. 2008, Barbosa et al. 2014, Castellanos et al. 2016, Vásquez-Jiménez et al. 2016, Carrasco-Escobar et al. 2017, Rovira-Vallbona et al. 2017, Sáenz et al. 2017, Almeida et al. 2018, Mosnier et al. 2019). A maioria das infecções assintomáticas estão presentes em baixas densidades parasitárias, são capazes de infectar mosquitos que se tornam infectantes (Alves et al. 2005). A capacidade de transmissão da doença depende da presença de gametócitos do parasita na corrente sanguínea. Existem registros da presença desta forma parasitária em pacientes assintomáticos (Barbosa et al. 2014).

Portanto, a presença de assintomáticos de infecção plasmodial numa área pode influenciar a dinâmica da transmissão e sustentar a endemicidade da malária, comprometendo os esforços de eliminação que se vêm desenvolvendo. As infecções assintomáticas precisam ser monitoradas de perto e tratadas com medidas de controle adequadas nas regiões que buscam a eliminação da malária. O quadro 1 apresenta os principais estudos de infecção assintomática nas Américas.

Quadro 1. Estudos de infecção assintomática nas Américas no período 2002-2019.

G.E = Gota espessa, RDT = teste rápido; N = Total de pacientes; %Inf. Assintomática= infecção assintomática; PCR: Reação em cadeia da polimerase; qPCR: PCR em tempo real

Autores	Ano	Lugar	Tipo de Estudo	Provas diagnósticas				N	% Inf. Assintomática
				G.E	PCR	qPCR	Sorologia		
Alves et al 2002	1999-2002	Portochuelo, Brasil.	Seccionais	x	x			175	6 (14,2) G.E
		Ji-paraná, Brasil.		x				172	45 (31,7) PCR 29(16,9) G.E 83(64,8) PCR
Marcano et al 2004	-	Alto Orinoco, Venezuela	Seccionais	x				407	25/65 (38,5%)
		Mucajaí, Brasil.						101	2/42 (4,9%)
Ladeia-Andrade et al 2005	2003-2004	Rio Unini e Jaú, Rio Amazônia, Brasil.	Seccionais	x	x		x	540	45(31,3%) 36(25%)

Suárez-Mutis et al 2007	2002-2004	Rio Padauri, Amazonas, Brasil.	Seccionais	x	x		x	109	20,%
Rodolfo H et al 2007	2004	San Fernando de Atabapo y Santa Bárbara, Amazônia Venezuelana.	Seccionais	x	x			200	14/57 (24,6%)
Cucunubá et al 2008	2006	Tierralta, Córdoba Colômbia.	Seccionais	x	x			212	14,6%
Silva-Nunez et al 2008	2004-2005	Pedro Peixoto, Acre. Brasil.	Seccionais	x	x			509	31/50(62%)
Barbosa et al 2014	2010-2013	Remansinho, Amazônia – Brasil.	Coorte prospectivo	x		x		584	32,8%
Vázquez-Jiménes et al 2016	2011-2014	Tumaco, Buenaventura y Tierralta, Colômbia.	Seccionais	x		x		3059	192/214 (90%)
Douine et al 2016	2015	Guiana Francesa	Seccionais	x	x		x	421	94/421 (84%)
Carrasco-Escobar et al 2017	2012-2013	Cahuide y Lupuna, Loreto, Peru.	Seccionais	x		x	x	450	Presença de assintomáticos.
Robira-Valbona et al 2017	2013-2014	Cahuide y Lupuna, Loreto, Peru.	Longitudinal	x	x			1935	77,2%
Almeida et al 2018	2012-2013	Brasileirinho, Ipiranga y Puraquequara Manaus, Brasil.	Seccionais	x		x		4083	104/156 (67%)
Sáenz et al 2017		San Lorenzo, Esmeraldas, Equador.	Seccionais	x		x	x	649	98%
Mosnier et al 2019	2017	São Jorge – Oiapoque. Fronteira (Guiana-Brasil).	Seccionais		x		x	1501	74%
Moreno-Gutiérrez et al 2019	2015	Mazan, Loreto, Peru.	Seccionais	x		x		933	225/448(56,9%)

1.2. Malária no mundo

A malária continua sendo um grave problema de saúde pública mundial, com transmissão reportada nas regiões Africana, Sudeste Asiático, Mediterrâneo Oriental, Pacífico Ocidental, Américas e Europa (World Health Organization 2019a). Segundo a Organização Mundial da Saúde, aproximadamente 3,2 bilhões de pessoas em 91 países e territórios estão em risco de contrair a infecção por *Plasmodium* spp (World Health Organization 2019a).

No ano de 2018 foram contabilizados 405 mil óbitos e 228 milhões de casos

de malária no mundo com 93% dos casos ocorrendo na região Africana, seguidas pela região do Sudeste Asiático (3.4%) e pela região do Mediterrâneo Oriental (2.1%) (Figura 1). As crianças menores de cinco anos de idade são as mais afetadas, com 272 mil (67%) óbitos por malária registrados em 2018. Quase 85% das mortes por malária em 2018 foram concentradas em 20 países na região Africana e na Índia (World Health Organization 2019a).

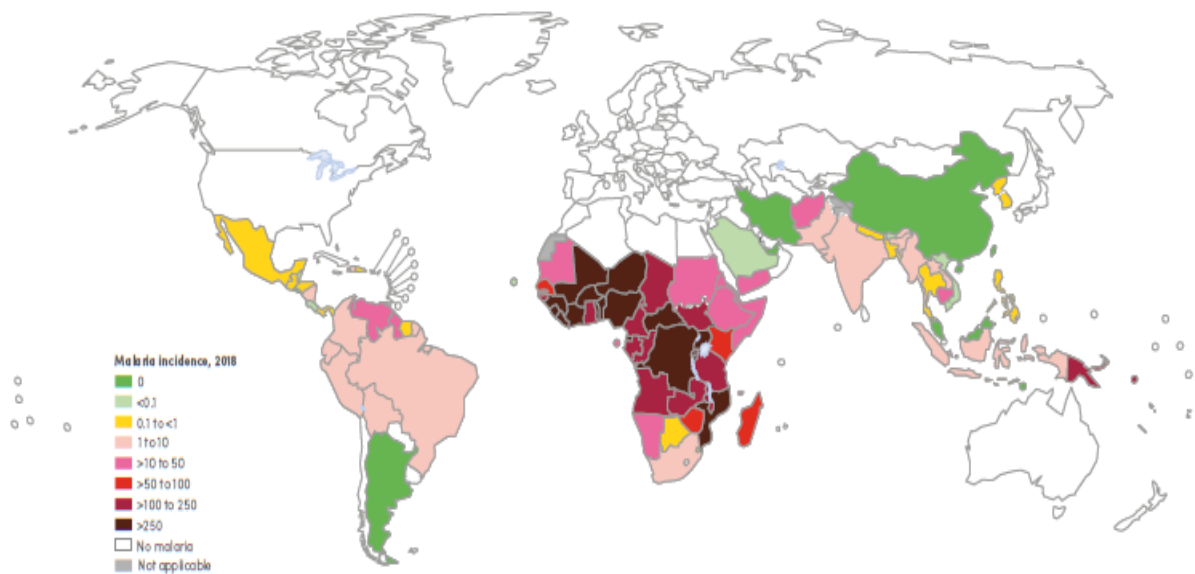


Figura 1. Distribuição da Incidência da malária em 2018.
Fonte: World Health Organization 2019a

Entre os anos de 2010 e 2018, a taxa de incidência da malária declinou em todo o mundo, passando de 71 a 57 casos por 1000 habitantes (World Health Organization 2019a). Todas as regiões da OMS, com exceção da região das Américas, registraram reduções na taxa de incidência da malária de 2018 em comparação com 2010. Neste mesmo ano apenas a região Africana e Sudeste Asiático mostraram redução no número de óbitos comparado com 2010 (World Health Organization 2019a).

O número de países em busca de eliminação de casos autóctones de malária vem se expandido gradativamente, com 48 países em 2018 registrando menos de 10.000 casos, em comparação com 46 países em 2017 e 40 países em 2010 (World Health Organization 2019a). Grande parte desta redução é atribuída ao diagnóstico e tratamento oportuno de casos e o uso de mosquiteiros

impregnados com inseticidas de longa duração. Apesar deste notável progresso, a malária ainda continua tendo um impacto devastador sobre a saúde e os meios de subsistência das pessoas (World Health Organization 2016).

1.3. Malária nas Américas

A Organização Mundial da Saúde estima que 138 milhões de pessoas vivam em áreas com condições ecológicas e socioeconômicas favorecedoras a diversos graus de transmissão da malária nas Américas. Atualmente a malária ocorre em 19 países: Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Haiti, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, República Dominicana e Venezuela (Figura 2) com aproximadamente 1 milhão de casos e 600 óbitos registrados no ano de 2018 (World Health Organization 2019a).

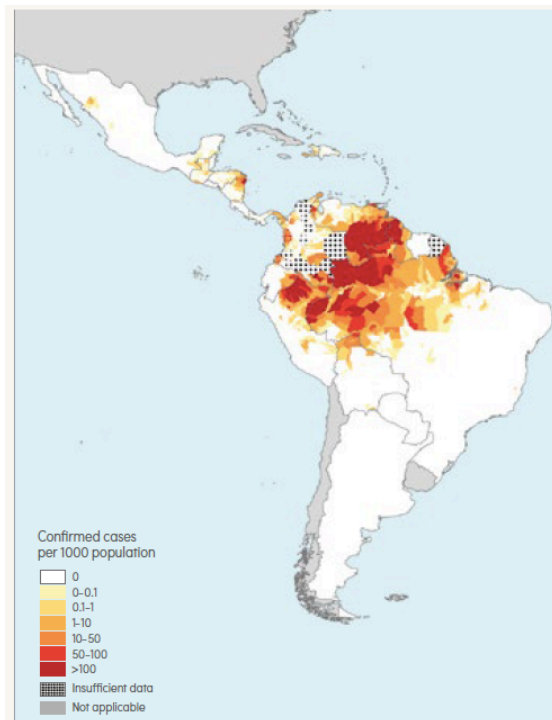


Figura 2. Distribuição de casos de malária confirmados por 1000 habitantes no ano de 2018.

Fonte (World Health Organization 2019a).

Durante quase uma década (2005-2014) a malária nas Américas apresentou um declínio sustentando no número de casos, no entanto desde 2015, o número de casos vêm aumentando na região em decorrência do aumento da transmissão nos últimos três anos na República Bolivariana da Venezuela e nas

áreas endêmicas de países como Brasil, Colômbia, Guiana, Nicarágua e Panamá, além disso, tem se apresentado surtos em países que estavam caminhando para a eliminação como Costa Rica, República Dominicana e Equador (Figura 3).

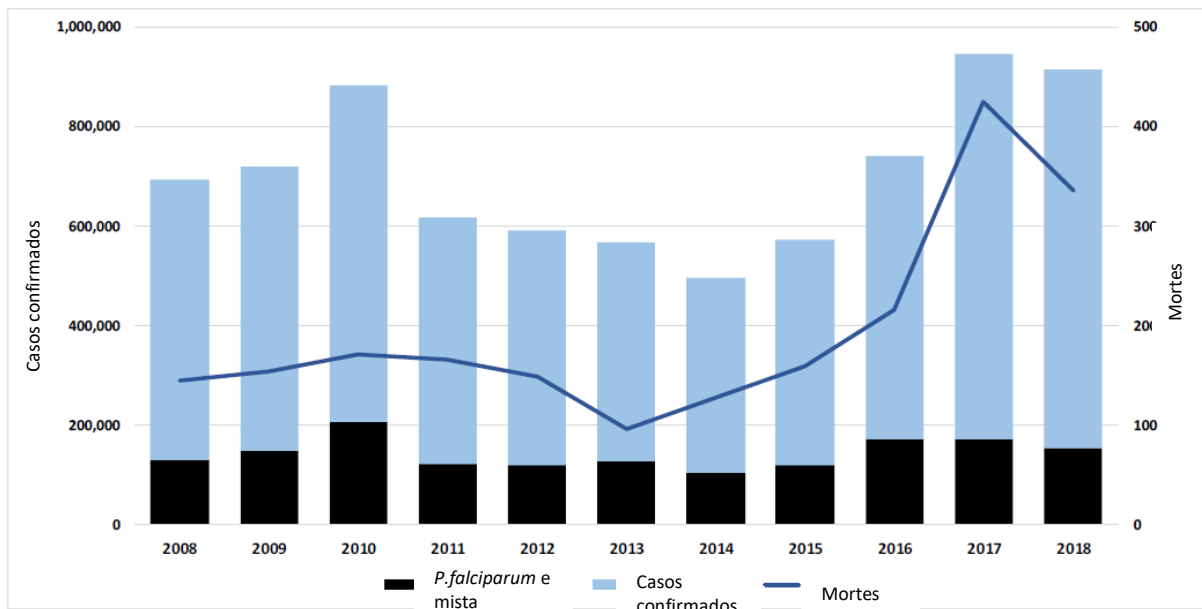


Figura 3. Distribuição dos casos e óbitos por malária nas Américas, 2008-2018.
Fonte (PAHO 2019)

Em 2018, Guatemala e Honduras registraram uma queda significativa nos casos de malária em comparação com o ano anterior; El Salvador não tem registro de casos autóctones em quase três anos, enquanto Paraguai e Argentina foram certificados pela Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde (OPAS / OMS) como países livres da malária em 2018 e 2019 (World Health Organization 2019a). A República Bolivariana da Venezuela, o Brasil, o Peru e a Colômbia juntos contabilizaram 80% dos casos notificados nas Américas em 2018. O aumento do número de casos nesses países ocorreu principalmente em áreas específicas onde as estratégias de prevenção e controle da doença não têm sido desenvolvidas adequadamente. Nessas áreas, a maioria dos afetados são populações indígenas, pessoas que vivem em situação de vulnerabilidade; e populações móveis como garimpeiros e migrantes (OPS/OMS 2018). Nesta região, os programas de controle da malária são baseados no diagnóstico oportuno e tratamento adequado dos casos de malária clínica, deixando como um desafio importante o controle das infecções assintomáticas (World Health Organization 2015a).

1.4. Malária no Brasil

Grandes epidemias de malária ocorridas no final do século XIX e durante o século XX têm permeado a história do Brasil. A colonização agrícola, a pecuária, os extrativismos vegetal e mineral e as atividades ligadas a economia urbana apresentam características que influenciam os níveis de incidência da malária, alterando a condição da exposição da população, habitat do vetor e seu comportamento (Confalonieri 2005).

No final do século XIX a malária estava presente em praticamente todo o território brasileiro com exceção de algumas áreas no sul do país. A primeira grande epidemia vivenciada na região Amazônica e planalto central ocorreu no final do século XIX durante o ciclo da borracha atraindo uma legião de nordestino para os seringais da Amazônia (Albuquerque & Suarez-Mutis 1998).

A partir da segunda metade dos anos 60, projetos do Governo Federal com oferta de oportunidade de trabalho, proporcionaram um processo muito rápido e desordenado de ocupação da região Amazônica. Nesse período foram abertas várias estradas, construídas usinas hidrelétricas, desenvolvidos projetos de colonização e reforma agrária e iniciada a exploração de garimpos. Na construção da estrada de ferro madeira-Mamoré iniciada em 1970, a malária afetou mais de 50% de trabalhadores caribenhos, bolivianos e brasileiros.

Outra grande epidemia foi registrada no início da Segunda Guerra Mundial quando os japoneses ocuparam os seringais da Ásia tropical. O Brasil como um dos países aliados recrutou nordestinos para trabalhar novamente na extração da borracha na Amazônia formando o “exército da borracha”. Como a maioria dessas pessoas recém chegadas eram susceptíveis a infecção por malária estima-se que morreram mais trabalhadores na região Amazônica que os combatentes do nazifascismo na Segunda Guerra Mundial (Coura 2013).

Um evento importante na história da malária no Brasil ocorreu ao final da década de 1930 e início de 1940 no Nordeste, quando navios franceses que faziam a rota postal França-Natal via Dakar, provavelmente trouxeram o principal transmissor da malária na África, o *Anopheles gambiae*. Considera-se que este foi um momento fundamental na institucionalização do combate à malária no país, originando pela primeira vez um serviço específico para o controle da doença denominado “Serviço de Malária do Nordeste” (Hochman et al. 2002).

Esta epidemia gerou um trabalho incrível de controle em todo o território nordestino onde juntaram-se ações do estado brasileiro e da fundação Rockefeller, presente no Brasil desde 1910. Foram eliminados todos os criadouros na região e controlada a grande epidemia da doença. Este importante acontecimento na luta antimalárica foi conhecido mundialmente (Marques 1987, Camargo 2003). Com a experiência brasileira da erradicação do *An. gambiae* assim como da descoberta das propriedades inseticidas residuais do DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) e da cloroquina como medicamento antimalárico, depois da Segunda Guerra Mundial, juntamente com medidas de saneamento ambiental, os sanitaristas do planeta embarcaram no sonho da erradicação da malária. A OMS criou então o “Programa Global de Erradicação da Malária” (PGEM), baseado em três princípios: combate ao mosquito vetor por meio do DDT, melhoria das condições sanitárias gerais e tratamento dos pacientes com a Cloroquina. O programa inicialmente funcionou muito bem, porém as ações não foram sustentáveis no tempo. No fim da década de 1960, foi registrado o menor número de casos de malária na história do Brasil. Nos anos seguintes, houve um incremento dos casos devido à colonização da região com as grandes migrações, a abertura de garimpos e diferentes atrativos econômicos dos governos da época (Figura 4) (Marques 1987, Camargo 2003).

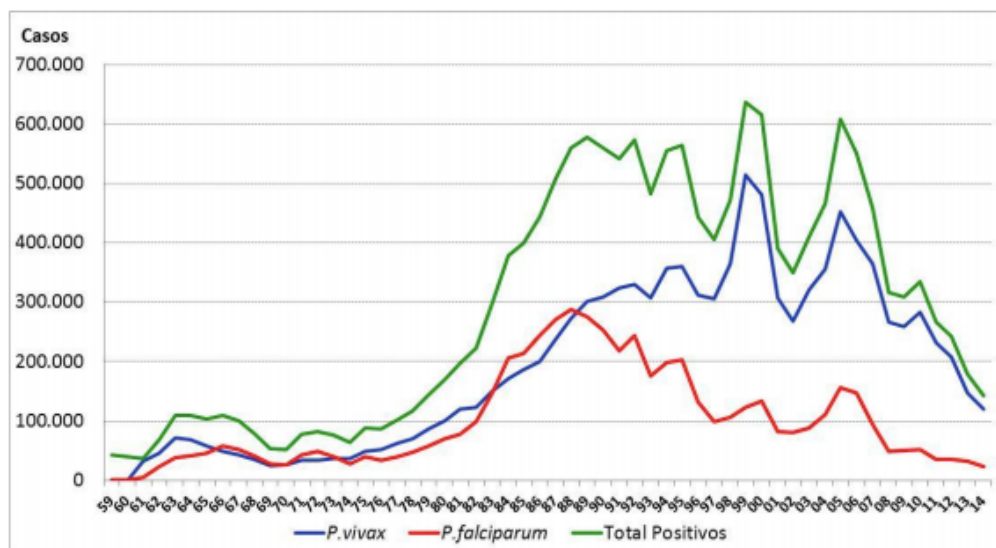


Figura 4. Série histórica de casos de Malaria no Brasil a partir de 1959- 2014. Fonte: (Faria et al. 2016)

Atualmente, a malária continua sendo um grave problema de saúde no país predominantemente na região Amazônica que concentra os estados de Acre,

Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (Ministério da Saúde 2019a) (Figura 5). A região extra-amazônica, apesar de não ser considerada uma área endêmica atualmente para malária, não pode ser negligenciada pela vigilância epidemiológica uma vez que apresenta letalidade mais elevada que na região Amazônica (Ministério da Saúde 2019a).

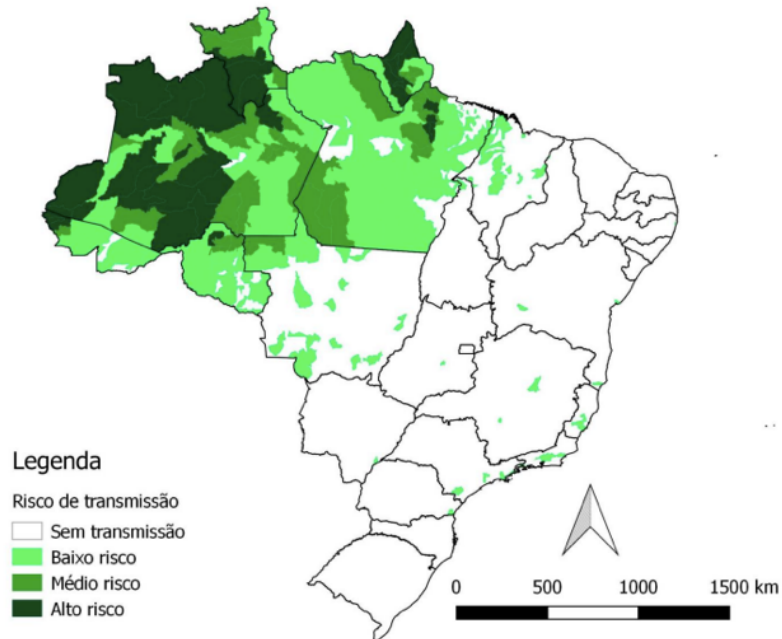


Figura 5. Mapa do risco de transmissão da malária por municípios brasileiros no ano de 2017.

Fonte:(Ministério da Saúde 2019b)

Segundo o Ministério da Saúde, em 2018 o Brasil registrou 194.271 casos de malária com 87.8% dos casos causado pelo *P. vivax* e 12.2% pelo *P. falciparum* (Ministério da Saúde do Brasil/SIVEP-Malaria 2019). Atualmente no país, a malária não apresenta elevado número de mortes, porém a morbidade é elevada. Os estados brasileiros que mais reportaram casos de malária autóctones foram Amazonas (38%), seguido pelo Pará (24%) e o Acre (13%) (Ministério da Saúde 2019).

Entre os 62 municípios pertencentes ao Amazonas, 17 concentraram 80% dos casos totais registrados no estado e dentre esses se encontra Atalaia do Norte, município altamente endêmico para malária com o registro de 2.162 casos positivos e uma Incidência Parasitaria Anual (IPA) de 111,2 casos por 1000 habitantes, sendo considerada como uma área de alto risco epidemiológico (Sivep-Malaria 2019). Deve-se levar em consideração a alta prevalência de casos

assintomáticos e sub-notificados que pode duplicar o número de casos na Amazônia.

1.5. Vetores da Malária

Os mosquitos vetores dos agentes etiológicos da malária são conhecidos popularmente como “muriçoca”, “mosquito prego”, “suvela”, “pernilongo” e “carapanã” (Consoli & de Oliveira 1994). Esses mosquitos pertencem a ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Anophelinae, tribo Anophelini e gênero *Anopheles*. O gênero *Anopheles* foi classificado dentro da família Culicidae em 1818 por Johann Wilhelm Meigen, um entomologista alemão famoso por seus estudos revolucionários de Diptera (Harbach 2013). Atualmente o gênero *Anopheles* inclui 465 espécies reconhecidas e classificadas em sete subgêneros: *Anopheles* (cosmopolita, 182 espécies), *Baimaia* (Oriental, 1 espécie), *Cellia* (Velho Mundo, 220 espécies), *Kerteszia* (Neotropical, 12 espécies), *Lophopodomyia* (Neotropical, 6 espécies), *Nyssorhynchus* (Neotropical, 39 espécies) e *Stethomyia* (Neotropical, 5 espécies) (Consoli & de Oliveira 1994, Harbach 2013). Porém as espécies incriminadas na transmissão da malária humana na América do sul pertencem aos subgêneros *Nyssorhynchus*, *Anopheles* e *Kerteszia* (Deane 1986, Forattini 2002; Marreli et al. 2005). No Brasil tem sido descritas 55 espécies de anofelinos com 33 delas ocorrendo na região Amazônica (Tadei et al. 1998, Rebêlo et al. 2007). Os principais vetores da malária na Amazônia são do gênero *Nyssorhynchus* a saber: *An. darlingi*, *An. albitarsis s.l.*, *An. deaneorum*, *An. braziliensis*, *An. nuneztovari*, *An. oswaldoi s.l.*, *An. triannulatus*, *An. strodei*, *An. evansae*, *An. galvaoi*; com poucas espécies do subgênero *Anopheles* (*An. mattogrossensis*, *An. peryassui*, *An. mediopunctatus s.l.*) os quais são considerados vetores de menor importância epidemiológica (Arruda et al. 1986, Deane 1989, Tadei et al. 1998, Póvoa et al. 2006).

Anopheles darlingi (*Nyssorhynchus darlingi*, Foster et al. 2017) é o principal mosquito vetor da malária na região Amazônica por sua característica antropofílica, por manter a transmissão mesmo em baixa densidade populacional e por ser altamente suscetível aos *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae* (Lourenço-de-Oliveira et al. 1989, Tadei & Dutary Thatcher 2000, Magris et al. 2007, Pina-Costa et al. 2014, Prussing et al. 2018). Essa espécie foi descrita pela primeira vez em

1926 por Root e recebeu o nome do Dr. Samuel Taylor Darling (1872-1925), um dos principais especialistas em doenças tropicais do início do século XX.

Anopheles darlingi tem uma ampla distribuição geográfica na América do Sul e Central (Hiwat & Bretas 2011). As formas imaturas (ovo, larvas e pupas) são encontradas colonizando os mais diversos ambientes como tanques de piscicultura, iguarapés, córregos, lagos, lagoas, bordas de rio entre outros (Rejmankova et al. 1999, Deane et al. 2002, Hiwat & Bretas 2011). Os adultos desta espécie picam durante toda a noite (Tadei et al. 1998, Tadei & Dutary Thatcher 2000), mas com picos nas primeiras horas da noite e no amanhecer (Tadei & Dutary Thatcher 2000).

1.6. Ciclo Biológico do *Plasmodium* spp.

O ciclo do parasito da malária humana se desenvolve em dois hospedeiros, um hospedeiro vertebrado, o homem, e um hospedeiro invertebrado o mosquito vetor do gênero *Anopheles* spp. (Figura 6).

No hospedeiro vertebrado o ciclo se divide em duas fases, a fase exo-eritrocitária ou esquizogonia tissular e a fase eritrocitária ou esquizogonia sanguínea. O ciclo **exo-eritrocítico** demora de sete até 30 dias e ocorre no fígado. Começa quando a fêmea do mosquito *Anopheles* spp. portadora de esporozoítas do *Plasmodium* spp. na glândula salivar inocula no momento da picada, o parasito na corrente sanguínea. Os esporozoítas, que são as formas infetantes do parasito, levam aproximadamente 30 minutos para chegar ao fígado e invadir os hepatócitos, dando origem a um ciclo de reprodução assexuada. Nas células do fígado, os esporozoítas se diferenciam em esquizontes tissulares que evoluem para estádios invasivos chamados merozoítas que entram na corrente sanguínea para infectar os eritrócitos. Tanto o *P. vivax* quanto o *P. ovale*, apresentam um estágio do parasito chamado hipnozoíta, que permanece em estado latente no fígado durante várias semanas, meses ou anos até acordar e causar as recaídas. Na corrente sanguínea, ocorre o ciclo **eritrocítico**, na qual os merozoítas invadem os eritrócitos; uma vez que os merozoítas entram no eritrócito formam uma célula uninucleada chamada trofozoíto imaturo que tem a forma de um anel. Posteriormente, evolui para esquizonte, merócitos ou rosáceas que rompem as células sanguíneas liberando novos merozoítas que vão invadir novas hemácias.

1.7. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico clássico da infecção plasmodial pode ser realizado por meio do exame microscópico do sangue em esfregaço espesso (gota espessa) ou delgado (distendido) (Brasil 2005). Nos últimos anos, os testes de diagnóstico rápido chegaram ao mercado, sendo usados em locais em que não é possível realizar o diagnóstico parasitológico clássico (World Health Organization 2019b). Outras técnicas mais modernas como o diagnóstico molecular são usadas em centros de referência (World Health Organization 2019b).

- **Gota Espessa.** A gota espessa de amostras de sangue coradas com corante de Giemsa, Wright ou Field continua sendo o método padrão para o diagnóstico da malária (Warhurst & Williams 1996, CDC 2018, World Health Organization 2019b). A amostra ideal para esta técnica é a coleta de uma gota de sangue do dedo ou do lóbulo da orelha, já que a densidade de parasitos que pode ser obtida é maior no sangue dessas áreas, ricas em capilares (Moody 2002). Esta técnica é altamente sensível e específica (Pereira de Sousa et al. 2013). Em condições ideais, um microscopista experiente pode encontrar o parasito quando somente tem de 20 a 30 plasmódios por microlitro de sangue (Pereira de Sousa et al. 2013). É uma técnica que permite quantificar o número de parasitos e identificar a espécie (Brasil 2005). No entanto, normalmente na rotina, durante o trabalho de campo com pessoas infectadas, nem sempre são possíveis as condições ideais sendo preciso que existam pelo menos 50 parasitos por microlitro de sangue para que a amostra seja definida como positiva (Milne et al. 1994).

Segundo o Ministério de Saúde do Brasil, entre as vantagens do uso da gota espessa para o diagnóstico da malária estão: a concentração de maior quantidade de sangue desmembrado numa área relativamente pequena, aumentando a probabilidade de encontrar parasitos, isso a torna o método de eleição para o diagnóstico de malária (e de outros hemoparasitos) e também por ser desmembrada, o processo de coloração é mais rápido, permitindo o processamento de grande número de amostras. A distribuição dos parasitos e leucócitos se dá ao acaso em toda a amostra. Portanto, pode-se avaliar a parasitemia contando-se o número de parasitos em relação a um determinado

número de leucócitos (Brasil 2005). A gota espessa apresenta também algumas desvantagens já que é preciso ter microscopistas com experiência para a identificação de espécies, uma vez que a morfologia do parasito se altera durante o processo de desmoglobinização. O processamento da gota espessa deve ser relativamente rápido depois de coletada a amostra, para evitar a fixação de hemoglobina, a super coloração e a descoloração (Brasil 2005, Harris et al. 2010).

- **Esfregaço delgado.** A técnica do esfregaço delgado possui baixa sensibilidade. Estima-se que a gota espessa é cerca de 30 vezes mais eficaz na detecção da infecção malárica (Ministério da Saúde 2019a). Porém, este método permite um melhor estudo da morfologia do parasito e das alterações características do eritrócito parasitado. Por ser uma técnica de fixação e não de desmoglobinização apresenta menor perda de parasitos do que a gota espessa. O esfregaço ocupa maior área na lâmina, porque tem menor quantidade de sangue espelhada em uma única camada, isso dificulta o encontro de hemácias parasitadas quando há baixa parasitemia. O esfregaço delgado não é uma técnica indicada para diagnóstico inicial de malária nas áreas endêmicas por sua baixa sensibilidade, porém pode ser usada em forma complementar à gota espessa para diferenciar facilmente as espécies parasitárias (Ministério da Saúde 2019a).

- **Ensaio de Diagnóstico Rápido Não-Microscópico.** A introdução de testes de diagnóstico rápido (RDTs, pelo seu nome em inglês) para a malária é de considerável interesse, já que esses testes usam métodos imunocromatográficos para detectar antígenos específicos de *Plasmodium* spp. em uma amostra de sangue capilar (World Health Organization 2019b). Os testes são realizados por indivíduos com um mínimo de treinamento, não necessitando de eletricidade nem de equipamentos. Os resultados demoram aproximadamente 15 minutos. Em comparação com a microscopia, as principais desvantagens dos RDTs disponíveis são falta de sensibilidade quando há baixos níveis de parasitemia, incapacidade de quantificar a densidade parasitária, incapacidade de diferenciar entre as espécies *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*, bem como entre as fases sexual e assexual do parasito (World Health Organization 2019b). Os resultados do teste são malária por *P. falciparum* ou malária não *P. falciparum*.

Os antígenos utilizados nos testes RDTs atualmente disponíveis são:

a) A proteína II rica em histidina (HRP-II) é uma proteína solúvel em água produzida por trofozoítos e gametócitos jovens (mas não maduros) de *P. falciparum*. Kits comerciais atualmente disponíveis detectam HRP-II só de *P. falciparum*.

b) Lactato desidrogenase específica do parasito (pLDH) é produzida por estádios assexuados e sexuais (gametócitos) do *Plasmodium* spp. Kits atualmente disponíveis detectam pLDH de todas as quatro espécies de *Plasmodium* que infectam humanos. Eles podem distinguir *P. falciparum* das espécies não-*falciparum*, mas não podem distinguir entre *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Também distinguem a pLDH humana da parasitária.

c) As aldolases são antígenos pan-maláricos encontrados em todas as espécies de *Plasmodium*. Elas são enzimas da via glicolítica do *Plasmodium*, que são liberadas no sangue de pacientes infectados. Estas enzimas estão localizadas no citoplasma dos parasitos (DiMaio et al. 2012, Dzakah et al. 2013). No mercado há um teste que possui a proteína 2 rica em histidina (HRP-2), específica para *P. falciparum* e a aldolase. Este teste é conhecido como BinaxNOW Malaria (Alere, Waltham, MA) e é o único teste aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) para diagnóstico in vitro da malária nos Estados Unidos. O teste apresenta sensibilidades para a detecção de *P. falciparum* e *P. vivax* de 100% e 81,6%, respectivamente, utilizando sangue venosa (Mathison & Pritt 2017).

No Brasil, o Ministério da Saúde preconiza o uso do teste SD-BIOLINE MALARIA AG Pf/PAN (Catálogo 05FK60) fabricado por Standard Diagnostics, Inc. Este é um teste combinado com a HRP-II de *P. falciparum* e pLDH (*P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale*), permitindo a diferenciação entre a infecção pelo *P. falciparum* e as outras espécies parasitárias. Este teste oferece sensibilidade para *P. falciparum* HRP-II de 100%, *P. falciparum* pLDH de 99,7% e *P. vivax* de 98,2%) (Ministério da Saúde 2015).

• **Técnicas de Diagnóstico Molecular.** Os métodos moleculares, essencialmente baseados na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), se tornaram uma ferramenta indispensável no diagnóstico de doenças infecciosas. A

PCR para diagnóstico de malária foi inicialmente descrita por Waters & McCutchan (1989). Esta técnica procura a amplificação de sequências específicas da região codificadora da subunidade menor de RNA ribossomal (18S rRNA) de plasmódio, utilizando sequências iniciadoras (primers), responsáveis por se anelar em regiões específicas do DNA, e da enzima DNA polimerase (Taq DNA polimerase), que realiza a síntese por meio de vários ciclos de temperaturas específicas para desnaturação e extensão do DNA, resultando na produção de milhares de cópias da sequência alvo (Snounou et al. 1993, Snounou 1996, Lorenz 2012). Atualmente existem novos alvos moleculares (Lucchi et al. 2013).

Apesar de novas possibilidades de diagnóstico molecular rápido para condições de campo como a LAMP (Amplificação Isotérmica Mediada por Loop), a PCR não pode se considerar ainda como uma técnica rápida para o diagnóstico inicial da malária. Seu valor reside na sua sensibilidade, tendo uma capacidade de detectar seis parasitos por microlitro (μ l) de sangue (Vasoo & Pritt 2013, Cook et al. 2015).

Os métodos baseados em PCR futuramente podem ser adotados como o novo padrão-ouro no diagnóstico da malária, especialmente em áreas com registro de baixa parasitemia. Embora seja considerada uma técnica sensível e específica para o diagnóstico do plasmódio, a técnica tem custo elevado e acessibilidade restritiva (Kasetsirikul et al. 2016). Essas técnicas consomem tempo, mão de obra e materiais. Além disso, vários relatos mostram que primers específicos de *P. knowlesi*, têm hibridização cruzada com iniciadores *P. vivax* (Singh et al. 2004, Bastien et al. 2008, Imwong et al. 2009, Tang et al. 2010).

Outras técnicas como PCR em tempo real quantitativa (qPCR) e ensaios de amplificação baseada em sequência de ácido nucleico (QT-NASBA) também podem ser utilizados para determinar a densidade do parasito. A vantagem do qPCR sobre outras técnicas moleculares é a quantificação de densidades parasitárias (Jeanne et al. 2010). Vários grupos de pesquisa têm utilizado esta técnica para a identificação das diferentes espécies de *Plasmodium* spp. que podem infectar humanos (Divis et al. 2010, Tang et al. 2010, Reller et al. 2013). Estes ensaios de PCR em tempo real têm a vantagem sobre os ensaios de PCR aninhada (nested-PCR) de serem mais rápidos e com menor risco de contaminação mas, precisam de reagentes e equipamentos mais caros, que são

os principais inconvenientes enfrentados para a introdução desses testes nos serviços de saúde (Mathison & Pritt 2017, van Eijk et al. 2019).

Além disso, novos métodos como a LAMP foram desenvolvidos para *P. vivax* (Vallejo et al. 2015), *P. falciparum* (Mohon et al. 2014) e *P. knowlesi* (Lau et al. 2011). A LAMP é um método molecular que também detecta genes do genoma do microrganismo com objetivo similar à PCR convencional, já que as duas amplificam o DNA. Ao contrário da PCR tradicional, a LAMP é realizada com equipamento menos sofisticado, como um banho Maria e uma lâmpada ultravioleta, e não requer um termociclador para a amplificação nem sistema de imagens de gel para a leitura dos resultados. A utilização de técnicas moleculares tem como vantagem detectar baixas densidades parasitárias e realizar a identificação ao nível da espécie.

- **Métodos para detecção de anticorpos.** Os métodos de detecção de anticorpos contra *Plasmodium* spp. são ferramentas que podem ser utilizadas em pesquisas epidemiológicas, avaliação de pacientes febris com viagens recentes para áreas endêmicas que apresentam repetidamente lâminas negativas, apoio ao diagnóstico de suspeita de síndrome de esplenomegalia tropical, triagem de doadores de sangue e avaliação de doadores em casos suspeitos associados à transfusão (Mathison & Pritt 2017). Os testes sorológicos geralmente não são recomendados para o diagnóstico de rotina da malária (Corrêa et al. 2018). A maioria dos testes disponíveis são ensaios de imunofluorescência ou imunoenaios enzimáticos e podem ser realizados no soro ou plasma derivados de amostras de sangue (Mathison & Pritt 2017).

1.8. Endemicidade da Transmissão Da Malária

Devido à diversidade epidemiológica da malária no mundo e a existência de fatores que influenciam o comportamento epidemiológico tem sido desenvolvidas várias medidas para avaliar a carga de malária segundo a estratificação epidemiológica de risco e a intensidade de transmissão.

Geralmente as áreas que apresentam o mesmo nível de endemicidade têm características semelhantes de distribuição da doença, o que orienta na projeção, implementação e monitoramento de atividades de controle e prevenção (Autino et

al. 2012). A endemicidade da malária é uma questão muito complexa, que é influenciada por fatores relacionados às interações homem-agente etiológico-mosquito vetor- ambiente. Entre esses fatores, devem ser verificados aqueles associados ao homem (tipo de atividade laboral desenvolvida, movimentos de migração e mobilidade populacional, guerras, idade, imunidade, estado de saúde entre outros), ao parasito (espécies, genótipos, duração do ciclo esporogônico, suscetibilidade a drogas), ao vetor (densidade, habitats larvários, padrão alimentar, longevidade, susceptibilidade a inseticidas) e ao ambiente (temperatura, precipitação, umidade, altitude, configuração da paisagem entre outros) (Autino et al. 2012).

Existem diferentes métodos para classificar a endemicidade da malária em uma população. Esses métodos incluem: proporção de indivíduos em uma população com aumento palpável do baço (taxa de esplenomegalia), número de picadas infecciosas por pessoa que mede a intensidade da transmissão (taxa de inoculação entomológica) e número de casos de malária confirmados microscopicamente detectados durante um ano por unidade de população (incidência parasitaria anual) (Hay et al. 2008).

Um dos métodos mais usados é o proposto por OMS em 1950 (WHO 1950) com base nas taxas de prevalência de esplenomegalia em crianças de 2 a 9 anos de idade. Quatro diferentes áreas de endemicidade podem ser distinguidas:

1. Áreas holo-endêmicas, onde a proporção de crianças com esplenomegalia é superior a 75%;
2. Áreas hiperendêmicas, onde a prevalência de esplenomegalia nessas crianças é entre 51 e 75%;
3. Áreas meso-endêmicas, com prevalência entre 11% e 50%;
4. Áreas hipoendêmicas, onde a prevalência é inferior a 11% (World Health Organization 2016).

A natureza clínica da malária depende fortemente do nível da imunidade protetora adquirida a qual é uma consequência do padrão da intensidade da transmissão da malária na área (Snow & Marsh 2002, Filipe et al. 2007, WHO 2015)(Snow & Marsh 2002, Filipe et al. 2007, WHO 2015a)..

Existem áreas onde a transmissão de malária é estável, onde as populações estão continuamente expostas a uma alta frequência de inoculação do parasito

pelo vetor (taxa de inoculação entomológica maior a 10 picadas infectivas por ano). A taxa de inoculação entomológica é definida como o número de picadas infectivas recebidas por uma pessoa em um ano (Filipe et al. 2007, Pothin et al. 2016). Isto ocorre principalmente em áreas de alta transmissão na África (Owusu-Agyei et al. 2001). Nessas áreas frequentemente a imunidade parcial à doença clínica é um risco que se reduz, com exceção das crianças pequenas menores de 2 anos, que desenvolvem altas densidades parasitárias que podem progredir rapidamente a uma malária grave e conseqüentemente a óbitos (Snow et al. 1999, Snow & Marsh 2002). Em contraste, nesses ambientes, adolescentes e adultos são parcialmente imunes e raramente sofrem de malária clínica, embora alguns deles tenham baixas densidades de parasitos no sangue (assintomáticos). A imunidade é modificada na gravidez, e é gradualmente perdida quando os indivíduos saem das áreas endêmicas por longos períodos, geralmente vários anos (Cot & Deloron 2003, Struik & Riley 2004, WHO 2015a).

Em áreas de transmissão instável da malária, a intensidade da transmissão flutua amplamente por estação, meses ou anos. O *P. vivax* é a espécie que mais predomina nestas regiões. A taxa de inoculação entomológica é geralmente menor que cinco picadas infectivas por ano, embora podem existir pequenos focos de maior transmissão. Nessas áreas a parasitemia assintomática também é comum (Arnot 1998, World Health Organization 2015b, White 2017). A transmissão geralmente baixa retarda a aquisição de imunidade, de modo que pessoas de todas as idades (adultos e crianças) sofrem de malária clínica, com um risco significativo de progressão para malária grave se não for tratada. Nestas áreas ocorrem epidemias quando a taxa de inoculação aumenta rapidamente devido a um aumento repentino na capacidade do vetor, sendo esta a habilidade de transmitir o parasito na população susceptível (Klempner et al. 2007). Nas epidemias, a malária grave é comum se o tratamento rápido e eficaz não estiver amplamente disponível. Viajantes não imunes em uma área endêmica de malária têm um risco particularmente alto de contrair malária grave se suas infecções não forem detectadas prontamente e tratadas de forma eficaz (WHO 2015).

Com referência à Incidência Parasitária Anual (IPA), que expressa o número de casos de malária por ano e local determinado numa população em risco, a medição exige que cada caso suspeito de malária seja diagnosticado através de um sistema abrangente de vigilância que compreende detecção passiva

de casos (exame de casos suspeitos, geralmente febris, apresentado em algum ponto de diagnóstico ou unidade de saúde), complementado por detecção ativa de casos procurados em visitas domiciliares em intervalos regulares) (Hay et al. 2008). No Brasil, durante a implementação do programa de controle da malária foi usada numa aldeia indígena Yanomami uma estratégia de detecção ativa agressiva de casos (AACD), em que todos os membros das comunidades eram testados e tratados para malária mês a mês. A estratégia foi efetiva, diminuindo em grande porcentagem a malária nesta população (Macauley 2005). O princípio da estratégia é identificar e tratar casos de infecção assintomática, que se não tratados podem ser fontes contínuas de infecção (Macauley 2005).

No Brasil, as áreas são estratificadas considerando os seguintes valores de IPA: alto (IPA ≥ 50 /1 mil hab) médio (IPA ≥ 10 e < 50), baixo (IPA > 1 e < 10) e sem risco de transmissão (IPA < 1) (Ministério da Saúde 2000).

1.9. Estratégia Técnica de Eliminação da malária 2016-2030

No ano 2013 na 66ª Assembleia Mundial da Saúde, os Estados Membros apoiaram a recomendação feita pelo Comitê Consultivo para a Política da Malária sobre a preparação de uma estratégia técnica global contra a malária (2016-2030) que visa fornecer uma estrutura para a formulação de programas que acelerem o progresso em direção à eliminação da malária, tendo como base as estratégias de programas nacionais e subnacionais. A estratégia tem definido o caminho para os países onde a malária é endêmica com foco no controle e a eliminação da doença nos próximos 15 anos. Os objetivos, etapas e metas da estratégia estão descritos no Quadro 2 (WHO 2015).

Quadro 2.Objetivos, etapas e metas da Estratégia Técnica Mundial para a Malária 2016-2030.

OBJETIVOS	ETAPAS		METAS
	2020	2025	2030
1. Reduzir as taxas de mortalidade por malária a nível mundial, em comparação com 2015	Pelo menos 40%	Pelo menos 75%	Pelo menos 90%

2.	Reduzir a incidência de casos de paludismo a nível mundial, em comparação com 2015	Pelo menos 40%	Pelo menos 75%	Pelo menos 90%
3.	Eliminar o paludismo nos países em que a doença foi transmitida em 2015	Pelo menos 10 países	Pelo menos 20 países	Pelo menos 35 países
4.	Evitar o restabelecimento do paludismo em todos os países que estão livres do paludismo	Restabelecimento evitado	Restabelecimento evitado	Restabelecimento evitado

Fonte: World Health Organization 2015

Esta estratégia se baseia em três pilares e dois elementos de apoio fundamentais para a eliminação da doença. Os pilares visam garantir o acesso universal à prevenção, diagnóstico e tratamento da malária; acelerar os esforços para a eliminação e obtenção do estado de país livre de malária; e transformar a vigilância da malária numa intervenção essencial. Os elementos de apoio visam “aproveitar a inovação e expandir a investigação” e “reforçar o ambiente favorável” (World Health Organization 2015a).

No Brasil o plano de eliminação da malária está focado na eliminação do *P. falciparum* inicialmente. A estratégia oferece orientação técnica necessária para que os municípios trabalhem as ações tendo como base as particularidades da epidemiologia local. Para cada uma das fases, o plano define estratégias diferenciadas para o diagnóstico, tratamento, controle vetorial, educação em saúde e mobilização social. A otimização da resposta a esta estratégia no país, depende da boa estruturação dos programas locais que devem estar formulados segundo a estratificação de riscos, fatores de risco relacionados ao hospedeiro humano, parasitos, vetores e meio ambiente (Ministério da Saúde 2016).

A eliminação da doença segue sendo um grande desafio para o país, mas para o enfrentamento desta realidade são fundamentais o fortalecimento do monitoramento epidemiológico, do controle vetorial, da vigilância de assintomáticos e do surgimento de resistências a medicamentos e a inseticidas.

2. RACIONAL E JUSTIFICATIVA

Entre o ano 2000 e 2015, a carga da malária no planeta apresentou uma grande redução como resultado do aumento do financiamento e compromisso político, implementação de novos tratamentos antimaláricos, melhoras no acesso ao diagnóstico, o uso de mosquiteiros tratados com inseticidas e borrifação residual intradomiciliar, entre outros (World Health Organization 2018). O Brasil no período de 2016-2017, apresentou um aumento do 48% nos casos registrados sendo o estado do Amazonas o mais afetado seguido pelos estados de Pará e o Acre, além da existência de áreas que apresentam focos de resistência com concentração de casos especialmente em populações difíceis de serem alcançadas pelos programas de controle (Chenet et al. 2017, OPAS 2018).

No país, existem áreas reconhecidas como mais vulneráveis como são as áreas de fronteiras internacionais devido as dificuldades na coordenação de ações de saúde, sendo que o limite internacional cria dificuldades jurídicas, políticas, técnicas e operacionais no controle de endemias, para o tratamento de doentes e para a oferta dos serviços de saúde. Esta situação pode se observar de forma mais crítica na região da fronteira internacional da região Amazônica dado que os elementos fundamentais para a vigilância em saúde, a informação e o acesso ao sistema de atenção, não atravessam o limite internacional; no entanto os agentes e vetores de doenças circulam livremente nessas áreas (Peiter 2005). Em áreas de fronteira da Amazônia, vários municípios são considerados de alto risco de transmissão para a malária, apesar da baixa densidade populacional da região, como por exemplo o município de Atalaia do Norte no Amazonas. No município o percentual de pessoas com infecções assintomáticas por *Plasmodium* spp. ainda é desconhecido sendo que estas têm um papel muito importante na transmissão do parasito, especialmente em áreas onde a transmissão é sazonal e não existe controle na migração de pessoas como é o caso do Vale do Javari.

Vários grupos de pesquisa na região amazônica têm demonstrado que as infecções assintomáticas causada pelo *Plasmodium* spp. são um importante impedimento no controle e eliminação da malária. Estudos realizados em diferentes áreas da Amazônia encontraram prevalências entre garimpeiros em Mato Grosso, em comunidades ribeirinhas em Rondônia (Fontes 2001, Alves et al. 2002) e por nosso grupo de pesquisa no médio rio Negro no estado de Amazonas

(Suárez-Mutis et al. 2004, Ladeia-Andrade 2005). Esses estudos têm mostrado a necessidade de avaliar a importância epidemiológica das infecções assintomáticas para a manutenção da transmissão do parasito em diferentes áreas endêmicas.

No continente americano as infecções assintomáticas têm, na maioria de vezes, densidades parasitárias muito baixas sendo difícil de serem detectadas pelos métodos de diagnóstico disponíveis nos serviços locais de saúde nas áreas endêmicas (gota espessa e testes de diagnóstico rápido -). Esse fato representa uma realidade em todo o mundo e um obstáculo importante para a eliminação de malária (Harris et al. 2010, Golassa et al. 2013). Quando a visão global é a eliminação da malária é preciso encontrar os portadores de parasitos por meio da detecção ativa de casos e o tratamento de todas as infecções, procurando com isto a interrupção da transmissão nas áreas endêmicas. A identificação e detecção de portadores de infecções sub-microscópicas tornou-se um novo desafio para os programas de controle e de eliminação da malária (Lindblade et al. 2013).

O tratamento de todas as infecções como parte das estratégias de vigilância de rotina poderia ter um grande potencial contribuindo significativamente para a redução da malária em regiões endêmicas. O perfil epidemiológico da malária nesta área de fronteira tem sido pouco investigado. O presente estudo pretende investigar a presença de casos de malária e/ou de infecção assintomática por *Plasmodium* spp. nas comunidades do Vale do Javari assim como determinar os principais fatores demográficos associados à transmissão do parasito na região.

Frente à epidemiologia da malária no município de Atalaia do Norte surgem as seguintes perguntas de pesquisa:

1. Existem portadores assintomáticos de *Plasmodium* spp. nessa área?
2. Qual é a proporção de infectados assintomáticos nessa área?
3. Quais são os determinantes da presença de infecção assintomática na área do rio Javari?

Assim sendo, as hipóteses deste estudo são:

Hipótese 1:

Ho. Nas comunidades do município de Atalaia do Norte não existem portadores de infecção assintomática que contribuem com a permanência da infecção na área.

H_A. Nas comunidades do município de Atalaia do Norte existem portadores de infecção assintomática que contribuem com a permanência da infecção na área

Hipótese 2:

H₀. As infecções assintomáticas não estão associadas com os antecedentes clínicos e parasitológicos dos moradores da área.

H₂. As infecções assintomáticas estão associadas com os antecedentes clínicos e parasitológicos dos moradores da área.

3. OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de casos de malária e/o infecção assintomática por *Plasmodium* spp. nos habitantes do município de Atalaia do Norte estado do Amazonas e determinar os principais determinantes demográficos associados.

3.1. Objetivos específicos

- Determinar e analisar o perfil epidemiológico da malária no tempo e no espaço no município de Atalaia do Norte;
- Estabelecer a prevalência da infecção assintomática por *Plasmodium* spp. nas comunidades indígena de São Luiz e ribeirinha de Boa Esperança no município de Atalaia do Norte sob risco contínuo de aquisição de malária;
- Investigar os antecedentes clínicos, epidemiológicos e parasitológicos de infecção por *Plasmodium* spp. entre os moradores da área de estudo;
- Identificar os determinantes demográficos que contribuem para a presença da infecção assintomática por *Plasmodium* spp.

4. METODOLOGIA

4.1. Área de Estudo

O estudo foi conduzido em duas escalas espaciais: município de Atalaia do Norte (municipal) e duas comunidades rurais (local).

Município de Atalaia do Norte. O estudo foi realizado no município de Atalaia do Norte (4°21'55.94"S; 70°11'32.99"O), localizado no sudoeste do estado do Amazonas na região do Alto Rio Solimões a uma distância de 1.138 km em linha reta da capital amazonense, Manaus. O município é acessível de Manaus somente por via fluvial e do município de Benjamin Constant por estrada e via fluvial. Faz fronteira ao norte e a oeste com o Peru; ao sul, com os municípios amazonenses de Guajará e Ipixuna e o estado do Acre; a leste, com o município de Benjamin Constant (Figura 7). A fronteira com o Peru é delimitada pelo rio Javari que tem uma extensão de 1.180 km.

O município tem uma área total de 76.435,093 km² com 94% do seu território coberto pela floresta amazônica e uma população de 15.153 habitantes (densidade populacional 0,20 habitantes/km²), vivendo em áreas urbanas (n= 6.893; 45,5%) e rurais (n=7.561; 54,5%) (IBGE 2019, PRODES 2019). Segundo o IBGE (2019), em 2019, estima-se uma população de 19.921 habitantes.

No município se encontra o Vale do Javari, uma das reservas indígenas mais extensas do Brasil, com uma área de 8.544,482 hectares de terra e banhada pelos rios Itacoaí, Ituí, Curuçá e Jaquirana. Os povos indígenas que habitam a Terra Indígena do Vale do Javari pertencem às etnias Marubo, Mayoruna, Kanamari, Matis, Kulina e os Korubo e estão distribuídos em 54 aldeias dispersas às margens dos rios, numa região inóspita e de difícil acesso (Figura 8). O meio de transporte é feito por via fluvial ou aérea através de pequenas pistas de pouso (Figuras 7 e 8)

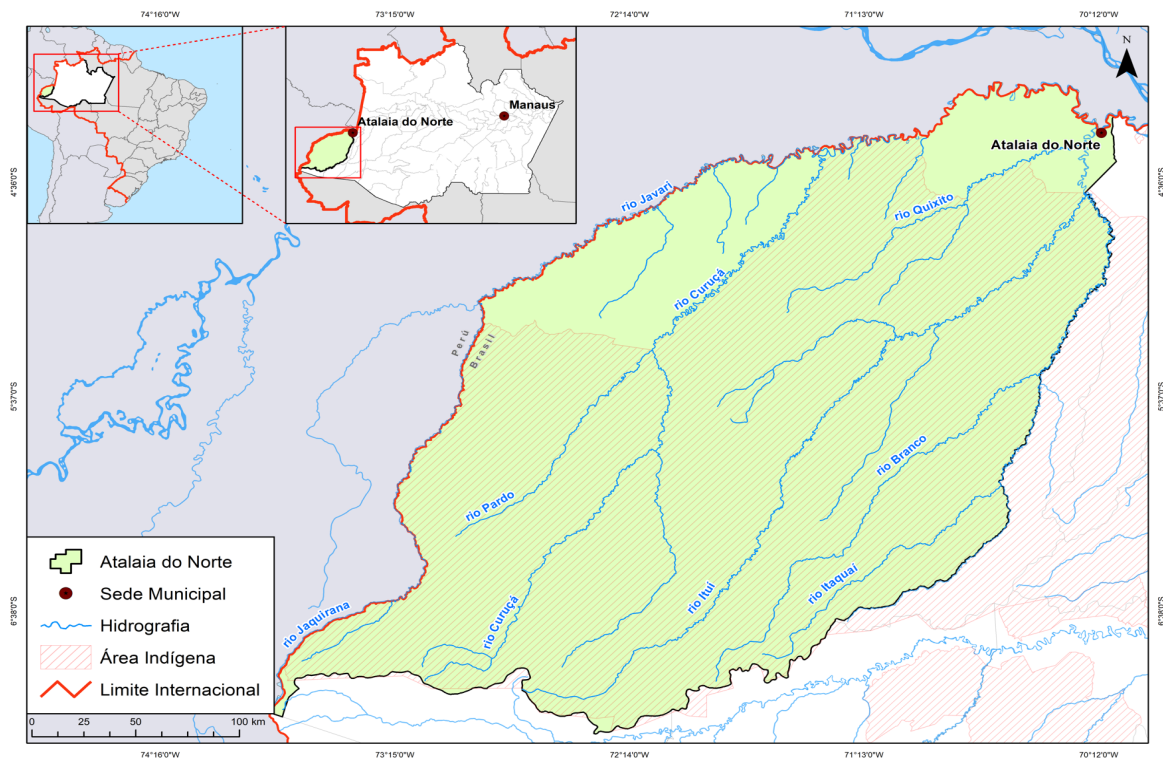


Figura 7. Mapa de localização do município Atalaia do Norte no estado do Amazonas

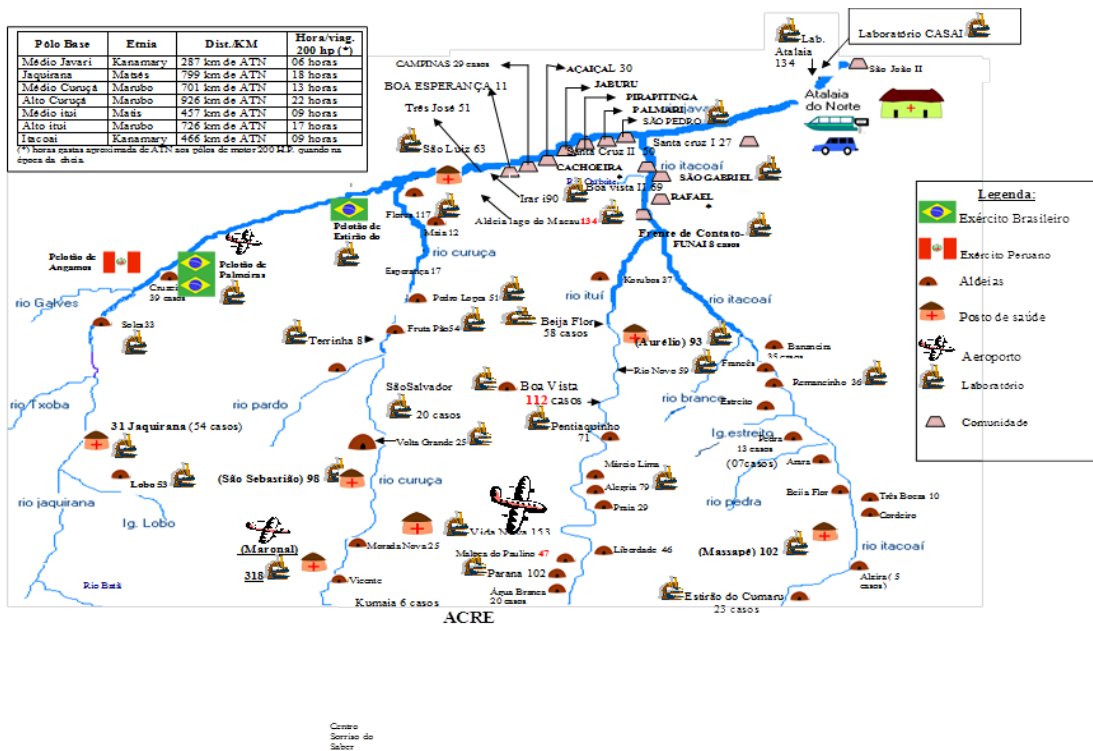


Figura 8. Mapa das comunidades do Município de Atalaia do Norte. Fonte: Endemias Atalaia do Norte. Secretaria municipal de saúde

O município não tem tratamento de esgoto e a captação da água provém do rio Javari. Todo o lixo é coletado em dias alternados, e eliminado num lote do município localizado na estrada BR-307 que vai para Benjamin Constant. Energia elétrica só é fornecida na zona urbana enquanto na zona rural, em algumas localidades há geradores de energia a gasolina. Cada localidade conta com um telefone fornecido pelo governo municipal que permite a comunicação entre as comunidades, a sede do município e outras cidades do país.

O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de Atalaia do Norte, um dos mais baixos do Brasil, é 0,450 (IBGE 2010). A economia do município é baseada na agricultura e na pesca de subsistência. O clima do município é caracterizado como tropical úmido com temperaturas variando entre 15°C e 40°C (IDAM 2019). Duas estações são bem marcadas na região, estação seca (Junho-Novembro) e estação chuvosa (Dezembro-Maio).

Comunidade indígena São Luiz e Comunidade ribeirinha Boa Esperança. Entre as comunidades do município Atalaia do Norte estão a aldeia São Luiz e a comunidade ribeirinha Boa esperança (Figura 7). A aldeia São Luiz localizada no Vale do Javari, dista aproximadamente 287 km da sede do município de Atalaia do Norte. A aldeia tem uma população de 196 habitantes distribuídas em 30 casas. Os Kanamari são os povos indígenas que habitam nesta aldeia. As casas são de madeira e teto de zinco sobre palafitas, a configuração da construção das casas na aldeia tem a forma de U entre o rio e a floresta. A maloca principal está do lado oposto do rio e no centro tem um espaço utilizado para recreação e convivência.

A aldeia possui um poço de água sem tratamento para o uso coletivo. Não existe serviço de abastecimento de água, esgoto e luz elétrica. A luz é proveniente de um gerador movido a gasolina. Por ser uma área indígena, nesta comunidade existe um Polo base do Distrito Sanitário Especial Indígena do Vale do Javari (DSEI) que conta com uma equipe multidisciplinar de saúde indígena, composta por enfermeiro, técnico de enfermagem, microscopista e agentes indígenas de saúde (AIS). O Polo presta o serviço de atenção primária em saúde na comunidade, tem farmácia, laboratório de microscopia, sala de atendimento, sala de armazenamento de vacinas com um freezer que é mantido ligado através de

placas solares, sala de rádio, alojamento para os profissionais, cozinha, banheiros e sala de espera.

A comunidade ribeirinha Boa esperança localizada a uma distância de aproximadamente 200 km da sede do município de Atalaia do Norte, tem uma população de 42 habitantes que residem em 8 casas. É uma comunidade localizada as margens do rio Javari. As casas são de madeira e cobertas com telhas de zinco, construídas sobre palafitas tendo em conta a elevação do rio no período das chuvas. A comunidade tem uma escola para crianças de nível fundamental, localizada no meio da comunidade. Não possui serviços de abastecimento de água, esgoto e luz elétrica, utilizando gerador movido a gasolina. A comunidade possui um posto de saúde onde é feito o diagnóstico de malária por gota espessa e tratamento adequado.

4.2. Desenho Epidemiológico

Trata de um desenho epidemiológico misto com um componente retrospectivo dos casos de malária no município de Atalaia do Norte de 2003 a 2018 e componente seccional realizado em duas comunidades rurais (aldeia indígena São Luiz e comunidade ribeirinha Boa Esperança) no período seco (agosto de 2018) e chuvoso (maio de 2019) (Figura 9).

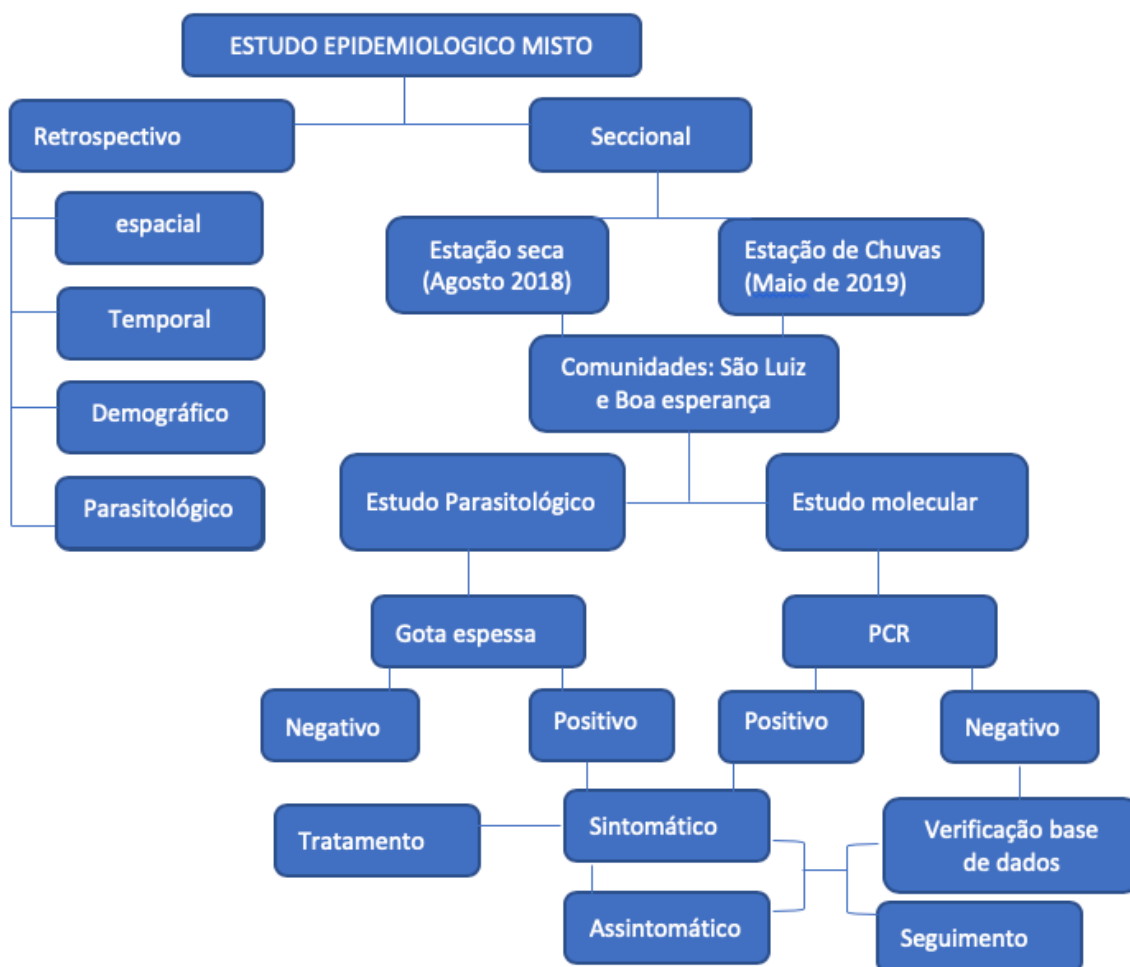


Figura 9. Fluxograma do estudo epidemiológico misto.

- **Componente Retrospectivo:**

Foi realizada uma análise retrospectiva da informação contida no SIVEP-Malária, fonte de dados do Ministério da Saúde, no período de 2003 a 2018 relativas ao município de Atalaia do Norte. Para essa análise foram usados todos os dados de todas as localidades do município. Foram filtrados todos os casos positivos por local provável de infecção para os diferentes grupos de variáveis como: **espaciais** (município, área urbana, área rural, área indígena e assentamentos), **temporais** (mês e ano), **demográficos** (sexo e faixa etária) e **parasitológicos** (espécies parasitárias).

Foi construída e analisada uma curva endêmica usando o número de casos para cada mês no período estudado. Esta curva foi realizada em duas etapas:

- a) Foram calculados as médias e os desvios padrão dos casos de cada mês durante os 16 anos do estudo. O limite superior foi calculado somando o desvio padrão com a média e o limite inferior foi calculado da diferença do

desvio padrão e a média de casos. Os meses, que excederam o limite superior da média, foram excluídos da análise inicial.

b) Na segunda etapa, os desvios médios e a média foram recalculados para cada mês após a exclusão dos meses epidêmicos, para construir a curva endêmica esperada para o município. Posteriormente, foram feitos gráficos com o número esperado e observado de casos. Os meses foram considerados epidêmicos quando excediam o limite superior esperado.

Para as análises da duração das epidemias foi considerada a classificação descrita por Braz et al. (2014) que as classifica como epidemias curtas (1 a 4 meses epidêmicos durante o ano); médias (5 a 8 meses) e longas (9 a 12 meses).

- **Estudo seccional**

Para os estudos seccionais foram selecionadas duas comunidades do município de Atalaia do Norte, a aldeia São Luiz da Terra indígena do Vale do Javari e a comunidade ribeirinha de Boa esperança (Figura 7). Os critérios adotados para a seleção dessas áreas foram a alta incidência de casos autóctones de malária e a facilidade de acesso a partir da sede do município. Foram realizados dois cortes seccionais em 2018 e 2019, uma durante a estação de menor pluviosidade (estação seca) em agosto de 2018 e outro na estação de maior pluviosidade (estação das chuvas) em maio de 2019.

Para o desenvolvimento do estudo foram realizadas visitas prévias as comunidades em conjunto com o gerente de endemias do município de Atalaia do Norte e as autoridades indígenas do Vale do Javari para apresentação da proposta do estudo. A sensibilização das pessoas para a participação no projeto foi realizada na casa de um dos líderes indígenas e na casa do líder comunitário de Boa Esperança. Todas as pessoas com mais de dois anos de idades foram convidadas a participar do estudo.

No total foram incluídas 190 pessoas nas duas localidades. Sendo 148 na aldeia São Luiz e 42 em Boa Esperança. Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido -TCLE (Apêndice 1 e Apêndice 2) e Termos de assentimento-TALE (Apêndice 3 e Apêndice 4) foram realizadas os seguintes procedimentos: a) entrevistas individuais usando um questionário com perguntas abertas e fechadas para obtenção de dados demográficos, comportamentais,

socioeconômicos, história pregressa da malária e sintomatologia atual (Apêndice 5); b) coleta de amostras sanguíneas para a realização de gota espessa por punção digital usando a técnica preconizada pelo Ministério da Saúde, também foram coletados 5 ml de sangue total em tubo BD Vacutainer® com EDTA (AB Medical, Inc®) para posterior extração de DNA e realização de diagnóstico molecular baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de infecções assintomáticas da malária. Todas as amostras foram devidamente etiquetadas e marcadas com um número cuja identificação somente foi conhecida pelo pesquisador principal e sua assistente. O material coletado, no campo foi mantido em uma geladeira com gelox, até chegar na cidade de Tabatinga onde foram armazenados a -20°C. Posteriormente o material foi devidamente transportado para o Instituto Leônidas e Maria Deane da Fiocruz em Manaus onde permaneceram armazenadas a -20°C. De Manaus, o material foi encaminhado ao Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz para realização dos testes moleculares.

Todos os participantes da pesquisa foram acompanhados durante 40 dias após a coleta das amostras pela equipe local com a finalidade de detectar episódios clínicos de malária.

4.3. Critérios para os indivíduos ingressarem na pesquisa

a) Critérios de inclusão

- Morar nas comunidades São Luiz e Boa Esperança por no mínimo 6 meses;
- Idade maior ou igual 2 anos para a coleta sanguínea;
- Aceitação do paciente em ser submetido a coleta de sangue através do TCLE ou TALE.
- Pacientes sem antecedentes de malária 30 dias antes das coletas das amostras de sangue

b) Critérios de exclusão ou de perda após início do estudo

- Recusa do indivíduo em participar do estudo;
- Morar nas comunidades São Luiz e Boa Esperança por período inferior a 6 meses;
- Estar ausente da comunidade durante o período de coleta;
- Ter apresentado malária 30 dias antes da coleta das amostras de sangue.

4.4. Diagnóstico da Malária

Diagnóstico Microscópico

O diagnóstico microscópico de malária para cada indivíduo participante do estudo foi realizado em lâminas com gotas espessas e coradas com Giemsa segundo a técnica de Walker (FUNASA 1995), por dois microscopistas experientes do município de Atalaia do Norte. O controle de qualidade foi realizado pelo microscopista coordenador (revisor) do município seguindo as normas do Programa estadual de controle de malária (Brasil 2005).

Foi realizada uma avaliação qualitativa da densidade parasitária tendo em conta os parâmetros padrão estabelecidos pelo Ministério da saúde (Brasil 2005) (Quadro 3).

Quadro 3. Parâmetros para a leitura da gota espessa.

Parasitas contados	Número de campos microscópicos	Cruzes
40 a 60	100	+/2
1	1	+
2-20	1	++
21-200	1	+++
+200	1	++++

Fonte: (Brasil 2005)

Os resultados possíveis foram: lâmina negativa, Trofozoítos de *P. falciparum* (F), Gametócitos de *P. falciparum* (Fg), Esquizontes de *P. falciparum* (Ez), Trofozoítos e gametócitos de *P. falciparum* (F+Fg), Trofozoítos de *P. vivax* (V), Gametócitos de *P. vivax* (Fv), Trofozoítos e gametócitos de *P. vivax* (V+Fv), malária mista (espécies) (F+V) e *P. malariae* (M).

Diagnóstico molecular

- **Extração do DNA Genômico Total**

Para realização dos testes moleculares foi usado 5ml de sangue total em tubo BD Vacutainer® com EDTA (AB Medical, Inc®). A extração de DNA foi realizada a partir de 200µl de sangue total de amostras coletadas dos indivíduos por meio da utilização do kit comercial kasvi (Kasvi, Mobius Life Science®),

segundo as indicações do fabricante. Primeiramente foram adicionados 25µl de proteinase K e 200µl da amostra biológica em um microtubo de centrifugação de 1,5 ml. Adicionaram-se 200µl de tampão de lise S e foi homogeneizado vigorosamente em vórtex por 20 segundos, esta etapa é muito importante para obter um alto rendimento de pureza de DNA. As etapas foram incubadas no banho Maria a 56°C por 15 minutos. O lisado deve tornar-se de uma cor marrom durante a incubação.

Foram adicionados 210 µl de etanol (96-100%) e homogeneizado no vórtex. Toda a mistura foi transferida para o tubo Spin S e foi centrifugada por um minuto a 11.000 x g. O tubo-filtro foi colocado sob um novo tubo de coleta e foram adicionados 500µl de tampão de lavagem SI. As amostras foram centrifugadas por um minuto a 11.000 x g e na sequência o tudo de coleta com o filtrado descartado. O tubo-filtro foi colocado sob um novo tubo de coleta e se adicionaram 600 µl de tampão de lavagem SII. Foi realizada uma nova centrifugação por um minuto a 11.000 x g, o filtrado foi descartado e foi realizada outra centrifugação por um minuto a 11.000 x g para terminar de remover o etanol residual. Finalmente o tubo-filtro foi colocado em um tubo de eluição S e foram adicionados 200 µl de tampão de eluição S previamente aquecido a 56°C. Se dispensou diretamente o tampão na membrana de sílica, incubou-se por um minuto a temperatura ambiente, foi realizada outra centrifugação por um minuto a 11.000 x g e obtido o DNA. O DNA extraído foi armazenado a -20°C no freezer do Laboratório de Doenças Parasitárias na Fiocruz do Rio de Janeiro.

- **PCR para Diagnóstico Molecular de *Plasmodium* sp.**

Os DNAs extraídos foram inicialmente submetidos à PCR para a confirmação do diagnóstico de infecção pelo *Plasmodium* spp. A técnica de PCR aninhada (nested-PCR) baseia-se no protocolo previamente descrito por Snounou com algumas modificações (Snounou et al. 1993, Snounou 1996). Foi realizado um primeiro ciclo de amplificação para a identificação de um fragmento gênero-específico (Quadro 4, 5 e 6), seguido de uma segunda amplificação de um fragmento espécie-específico (nested-PCR) (Quadro 7, 8 e 9). Não se realizou eletroforese entre a primeira e segunda PCR para evitar a contaminação.

Quadro 4. Iniciadores da primeira PCR para diagnóstico do *Plasmodium* spp.

Iniciadores Primeira Reação	
Iniciadores	Sequência
rPlu5	5' CTTGTTGTTGCCTTAAACTTC-3'
rPlu6	5' TTAAAATTGTTGCAGTTAAACG-3'

Quadro 5. Mistura de reagentes da primeira PCR para diagnóstico do *Plasmodium* spp.

Mix PCR Nested Diagnóstico-Primeira Reação		
Reagente	Concentração/25 µl	Volume(µl)
Tampão 10x (Invitrogen®)	1x	2,5 µl
MgCl ₂ 50 mM (Invitrogen®)	1,5 Mm	1,0 µl
dNTP 10 Mm	0,12 mM	1,5 µl
Iniciador Plu5 10 µM	5pmol	0,6 µl
Iniciador Plu6 10 µM	5pmol	0,6 µl
Taq (Invitrogen®) 5U/ul	0,5 U	0,1 µl
DNA	10-50ng	3 µl
H ₂ O		15,7 µl
Volume final		25 µl

Quadro 6. Perfil térmico da primeira reação de PCR para o diagnóstico do *Plasmodium* spp.

Perfil Térmico Primeira Reação <i>Plasmodium</i> sp			
	Temperatura	Tempo	Ciclo
Desnaturação inicial	95°C	5 min	1
Desnaturação	94°C	1 min	25
Anelamento	58°C	2 min	
Extensão	72°C	2 min	
Extensão final	72°C	5 min	1
	4°C		

Quadro 7. Iniciadores da segunda reação de PCR diagnóstica espécie-específica para *Plasmodium* spp.

Iniciadores Segunda Reação PCR Diagnóstica Espécie Específica	
Iniciadores	Sequência
<i>P. falciparum</i>	
rFAL1:	5' TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATATT-3'
rFAL2:	5' ACACAATG-AACTCAATCATGACTACCCGTC-3'
<i>P. vivax</i>	
rVIV1	5'-CGC TTC TAG CTT AAT CCA CAT AAC TGA TAC-3'
rVIV2	5' ACT TCC AAG CCG AAG CAA AGA AAG TCC TTA-3'

<i>P. malariae</i>	
rMAL1	5'-ATA ACA TAG TTG TAC GTT AAG AAT AAC CGC-3'
rMAL2	5' AAA ATT CCC ATG CAT AAA AAA TTA TAC AAA-3'

Quadro 8. Mistura de reagentes da segunda reação de PCR nested para diagnóstico espécie-específica.

Mix PCR Nested Diagnóstico espécie-específica		
Reagente	Concentração/25 µl	Volume(µl)
Tampão10x (Invitrogen®)	1x	2,5 µl
MgCl 250mM (Invitrogen®)	1,5 mM	1 µl
dNTP mix 10Mm	0,12 mM	1,5 µl
Iniciador Fal1 10mM	240 mM	0,6 µl
Iniciador Fal2 10mM	240 mM	0,6 µl
Taq (Invitrogen®) 5U/ml	0,5 U	0,1 µl
Produto da primeira PCR		1 µl
H2O		17,7µl

Quadro 9. Perfil térmico da segunda reação de PCR para diagnóstico espécie- específica de *Plasmodium spp.*

Perfil Térmico Segunda Reação espécie-específica			
	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	95°C	5 min	1
Desnaturação	94°C	1 min	} 30
Anelamento	65°C	2 min	
Extensão	72°C	2 min	
Extensão final	72°C	5 min	1
	4°C		

Todas as amostras positivas foram repetidas duas vezes para confirmação do resultado. Para a visualização das bandas foram pipetados 5 microlitros do material amplificado e 3 microlitros de tampão de amostra para a realização de eletroforeses em gel de agarose a 2%, e corrido em TBE 0,5X sob corrente de 90V, utilizando um marcador de peso molecular 100 pb (Invitrogen). Os produtos de PCR foram visualizados com brometo de etídio através de transiluminador UV. As imagens dos géis foram obtidas através do programa QuantityOne para confirmação da amplificação, o tamanho das bandas esperadas foi de 120 pb para o *P. vivax*, de 205 pb para o *P. falciparum* e de 144 pb para o *P. malariae*.

4.5. Definição de casos

Após do exame de gota espessa e/ou os resultados da PCR os indivíduos foram agrupados segundo a definição de casos, a saber:

- **Malária clínica.** Definida como toda pessoa com gota espessa positiva para qualquer uma das espécies do *Plasmodium* spp. com sintomatologia clínica associada à doença. Uma vez coletadas as informações e as amostras dos pacientes, os pacientes foram tratados usando os esquemas preconizados pelo Ministério de Saúde do Brasil segundo a espécie parasitaria. Indivíduos que se encontravam em período de incubação (determinado a posteriori), foram analisados como pacientes com malária clínica.

- **Infecção assintomática.** Em 2008 no Brasil se formou o grupo de “Consenso de Infecções Assintomáticas”. A definição de caso de “infecção assintomática” adotado por este grupo para fins de pesquisa é “Pessoa sem nenhum sintoma associado a malária 30 dias antes e até 40 dias depois da coleta de uma amostra com diagnóstico parasitológico positivo para o *Plasmodium* spp. sem ter sido tratada com medicamentos antimaláricos no período”. Esta definição é a utilizada por nosso grupo de pesquisa em este trabalho. O acompanhamento dos indivíduos assintomáticos era realizado através da base de dados do SIVEP-Malária e do livro de registro de casos positivos e tratamento de malária das comunidades de estudo.

- **Infecção Oligossintomática.** A infecção foi definida como todos os indivíduos positivos para qualquer uma das espécies do *Plasmodium* spp. na gota espessa e/ou PCR que informaram ter sintomas como moleza, astenia, adinamia e que não tenham referido sintomas clássicos de malária como febre, calafrio, diaforese 30 dias antes e 40 dias depois da coleta da amostra e que não tenham tomado medicamentos antimaláricos no mesmo período. Posteriormente, para facilitar as análises, esses indivíduos foram analisados junto com os indivíduos assintomáticos.

4.6. Análise dos dados

Para as análises estatísticas foi construída uma base de dados na versão 7.0 do programa Epi Info (CDC Atlanta, software de uso livre). Foram realizadas comparações entre a presença/ausência de indivíduos com malária clínica/infecção assintomática, visando encontrar possíveis associações com as

características dos indivíduos. As variáveis explicativas utilizadas foram: Idade, sexo, local provável de infecção, data da infecção, mobilidade, migração, localidade de residência, história pregressa de malária e sintomas. As variáveis respostas utilizadas foram: presença de indivíduos com malária, com infecção assintomática ou infecção oligossintomática pelo *Plasmodium spp.*

Foram realizadas análises uni e bivariadas. Foi usado o teste de χ^2 para determinar a presença de associações entre variáveis categóricas, quando necessário foi usado o teste exato de Fisher. Para as medidas contínuas foram usadas as medidas de tendência central e de dispersão e em caso necessário foi usado o teste t de Student para comparar as médias entre duas séries de dados ou Anova quando existiam mais de duas séries de dados. Foi considerado como estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$.

Mapas cartográficos de distribuição de malária por polos base foram construídos utilizando o software Arcgis 10.5.

4.7. Considerações Éticas

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP- IOC) sob o número de CAAE: 74999617.7.0000.5248 aprovado com o parecer número 2.806.941 do 8 de agosto de 2018 (Anexo 6). Por ter uma parte da pesquisa em área indígena, o projeto foi submetido também à CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa) sendo aprovado com o parecer 2.666.109 maio de 2018 (anexo 7).

Para a pesquisa foi elaborado um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para participantes maiores de 18 anos (Apêndice 1), e para os responsáveis legais de menores de 18 anos (Apêndice 2). Também foram elaborados termos de assentimento livre e esclarecido (TALE) segundo as faixas etárias seguindo as recomendações do Comitê de Ética em Pesquisa. No total foram elaborados dois termos de assentimento: Termo de assentimento de 8-12 anos (Apêndice 3), Termo de assentimento de 13-17 anos (Apêndice 4).

Antes de iniciar a aplicação do questionário o TCLE ou o TALE foi lido e uma vez esclarecidas todas as dúvidas dos entrevistados foi solicitada a assinatura ou impressão digital. Em caso de crianças, além do TALE, um responsável legal deveria assinar o TCLE autorizando a pesquisa.

5. RESULTADOS

5.1. Estudo Retrospectivo.

Entre os anos de 2003 a 2018 foram confirmados no município de Atalaia do Norte 50.097 casos de malária, com uma média anual de 3.131 ± 1.381 (mediana= 3.102) casos. Os anos com elevado número de casos notificados foram 2012 (n= 5.923; 11,8%), 2008 (n=4693; 9,3%), 2009 (n=4264; 8,5). Na distribuição dos casos de malária observa-se um aumento no número de casos entre 2005-2008 com ápice em 2008, seguida por uma redução em 2009-2011. No ano de 2012 observa-se um aumento no número de casos que não se mantem no ano seguinte, quando é registrado um declínio no número de casos, com destaque para o ano de 2017 com menos de 2000 casos notificados (Figura 10).

A média do IPA foi de $256,1 (\pm 119,7)$ casos por 1000 habitantes no período. Em 2004 o IPA foi de 57,2 por 1000 habitantes com um importante aumento entre 2005 -2008 e diminuição até o ano 2011 chegando a registros de 207 casos por 1000 habitantes. Em 2012 foi registrada um IPA de 413 casos por 1000 habitantes, com redução nos anos de 2013 - 2018 (IPA 125,1). Apesar da diminuição do IPA, o município permaneceu classificado como de alto risco epidemiológico durante todo o período do estudo (Figura 10).

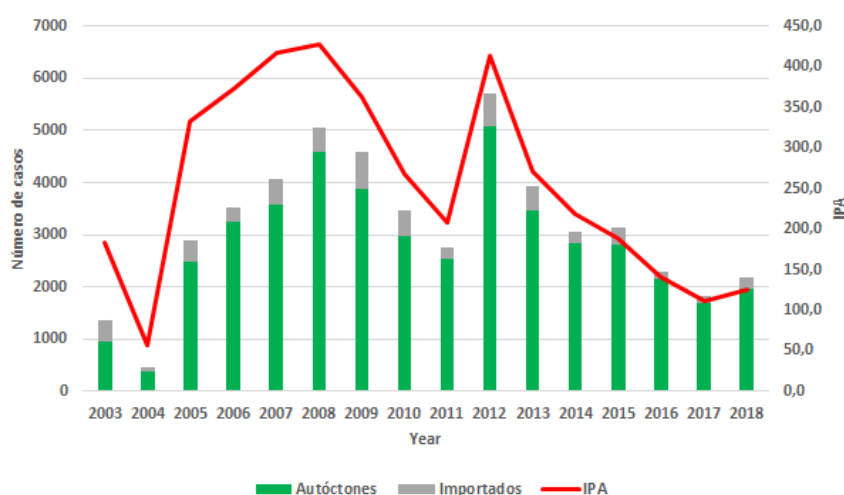


Figura 10. Distribuição anual dos casos de malária autóctones, importados e o IPA no município de Atalaia do Norte no período de 2003-2018. Fonte: Sivep-Malaria 2019.

Do total de casos notificados 44.581 (87.2%) foram casos autóctones e 6.514 (12,7%) foram casos importados de municípios brasileiros ou estrangeiros. Entre os casos importados, 93.3% tiveram como local provável de infecção outros estados brasileiros e o Peru, o país que mais importa casos para o município, e 6,6% (n=430 casos) foram procedentes de outros municípios do Amazonas. Entre 2003-2018 houve muita flutuação na proporção de casos autóctones e importados sendo que de 2003 a 2008 os casos autóctones foram 95,3% e entre 2009 até 2018 houve uma diminuição dos casos autóctones até 83,5% e aumento dos importados até 16,4% (Figura 10).

Quanto aos casos autóctones registrados no período de estudo, 1.535 (3%) casos ocorreram na área urbana e 43.046 (97%) casos na área rural sendo que desses, 29.867 (60,7%) foram na área indígena e 13.179 (35,3%) na área rural não indígena (Figura 11). No ano de 2004, 100% dos casos registrados no município foram da área rural (371/371), sendo esta área responsável, no período de estudo, por mais de 92% dos casos notificados anualmente no município (Figura 11).

Na área indígena, o maior número de casos foi registrado nos anos 2008 (n=3.523 casos), 2007 (n=2.924 casos) e 2012 (n= 2.800 casos). Entretanto, foi observado que em 2003 a área rural não indígena superou o número de notificações da área indígena com um registro de 698 (74.1%) e 229 (24.3%) casos respectivamente (Figura 11). A área rural indígena foi a responsável por 69% dos casos reportados no período de estudo, sendo que a média de casos da área rural foi de 824 ± 426 (mediana: 705) e da área indígena 1.866 ± 896 (mediana: 1.750); no entanto ao comparar essas medias não houve diferenças significativas ($p=0,24$).

Nos últimos anos (2013-2018), houve redução global dos casos de malária na área urbana e rural apesar das dificuldades do acesso e a amplitude geográfica que caracteriza este município para o controle da malária. O maior destaque ocorreu na área rural que apresentou uma redução de 32% em 2018 com 306 casos registrados, seguida pela área urbana com uma redução de 29.4% no mesmo ano, com 24 casos de malária registrados quando comparado com 2017 onde a área urbana registro (n=34) e a área rural (n=450). Porém, a malária em área indígena não teve êxito no controle, com um aumento de casos de 12% quando comparado com 2017.

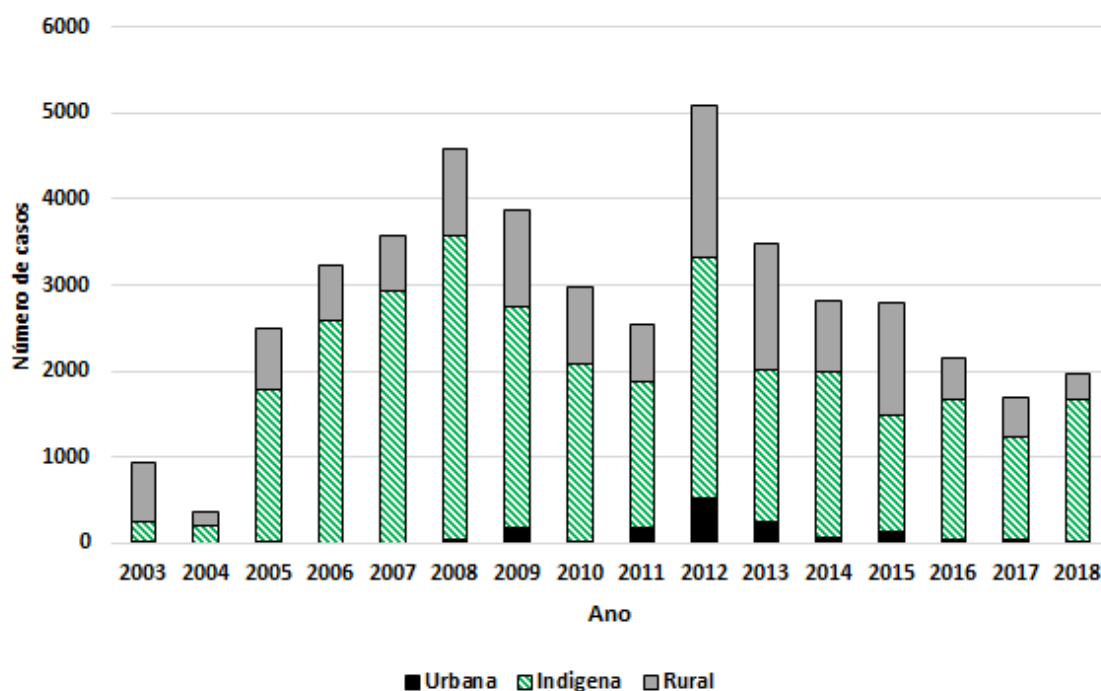


Figura 11. Distribuição de casos em área urbana, indígena e rural no período de estudo. Fonte: Sivep-Malaria 2019.

Os dados da malária na área indígena mostram dois comportamentos diferentes. O primeiro compreendeu o período de 2003 a 2012 quando foi registrado o maior número de casos na área (n=20.342 casos), caracterizando como período epidêmico. Nesse período, o polo-base que mais casos notificou foi o do Alto Ituí com 4.662 casos (22,9%) seguido pelo polo Meio Ituí com 3.495 casos (19,3%). O Polo Meio Curuçá foi o que menos casos registrou (n= 2.217 casos;10,8%). Já o segundo comportamento começou a partir de 2013 quando foram registrados 9.525 casos, caracterizado como período pós-epidêmico, sendo o Polo Itacoaí com 2.163 casos (22,7%), o que mais casos notificou, seguido do polo Meio Javari com 1.818 (19%). O polo base que registrou o menor número de casos neste período foi o Polo Alto Curuçá com 502 casos (5,2%) (Figura 12).

Comparando o número de casos registrados nos polos bases entre 2003-2012 (período epidêmico) e 2013-2018, observou-se que o número de casos nos anos de 2003-2012 foi maior (3.763 ± 2136 casos), em oposição aos casos registrados no período de 2013-2018 (1361 ± 537 casos), com redução estatisticamente significativa de 2.402 casos (IC 95%, 239 a 4565, $p= 0,03$). A análise do IPA comparando os dois períodos (2003-2012 e 2013-2018) mostrou que em todos os pólos-base se apresentou IPA maior de 100 casos por 1000 habitantes. Ao comparar a IPA de cada um dos polos-base do período epidêmico

(2003-2012) e pós-epidêmico (2013-2018) observou-se que o polo Alto Curuçá apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p=0,015$) igual ao polo Alto Ituí ($p=0,018$) entre os dois períodos (Figura 12).

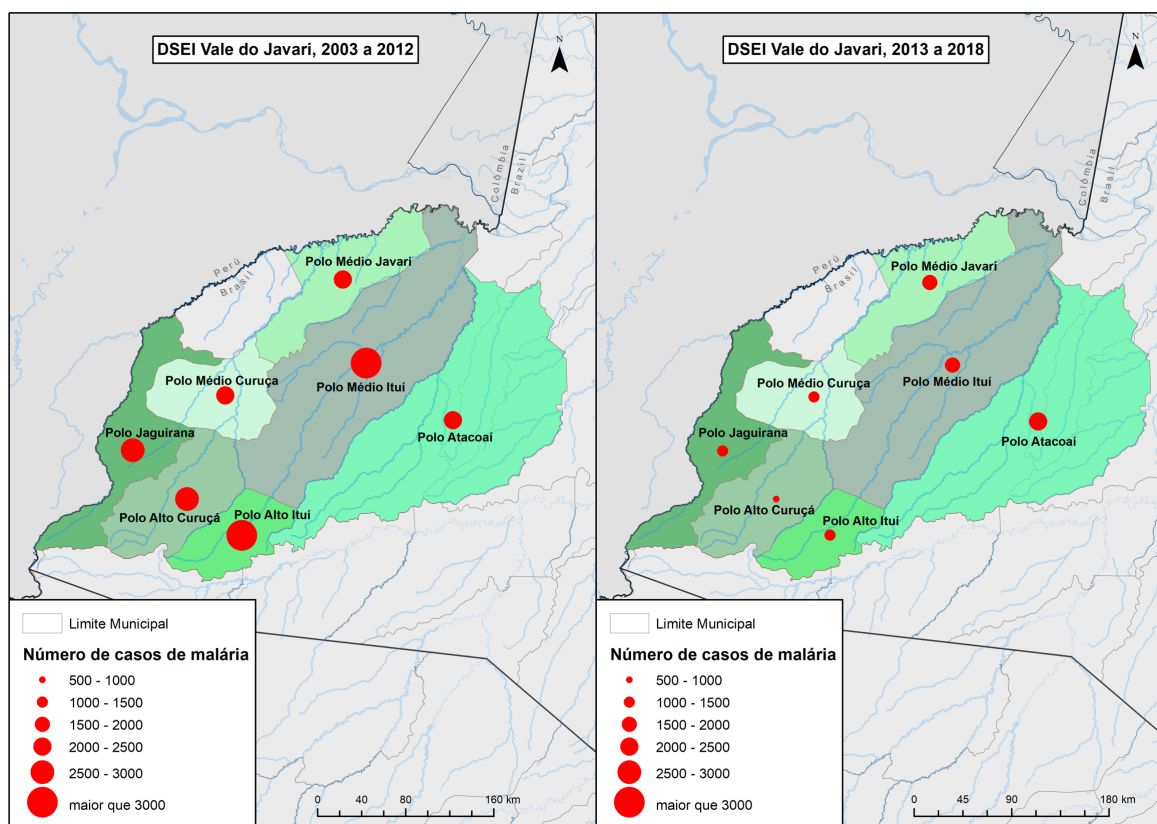


Figura 12. Distribuição do número de casos de malária por polos bases nos período de estudo. 2003-2012 e 2013-2018.

Fonte: Sivep-Malaria 2019. Elaboração: Rafael dos santos Pereira, 2019.

No município de Atalaia do Norte casos de malária são registrados em todos os meses do ano, com aumento no número de casos nos meses de dezembro a maio. Durante o período de estudo foram contabilizados 61 picos epidêmicos. No período de 2003-2012 foram registrados 45 picos epidêmicos, com 10 picos em 2012, ano epidêmico com aumento do número de casos além do esperado entre os meses de janeiro a agosto e de novembro a dezembro, com 7 picos em 2008 e 8 picos em 2003. No segundo período de 2013- 2018 foram registrados 16 picos epidêmicos, sendo três picos em 2014, seis em 2015 e um em janeiro de 2016.

As epidemias no período epidêmico e pós-epidêmico se caracterizaram por ser de curta duração com 1 a 4 meses epidêmicos durante o ano, com exceção para os anos de 2003 e 2012 (período epidêmico) com ocorrência de epidemias de longa duração com 9 a 12 meses epidêmicos. Não houve registro de surtos desde fevereiro de 2016 (Figura 13).

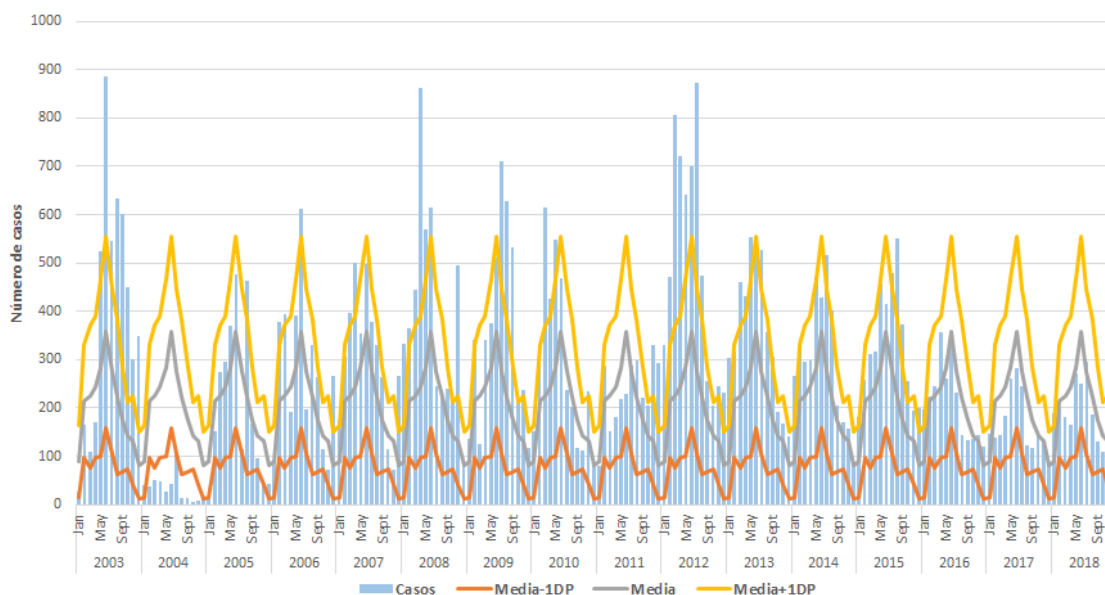


Figura 13. Curva endêmica de casos de malária no município de Atalaia do Norte 2003-2018.

Fonte: Sivep-Malaria 2019.

Quanto a espécie parasitária, durante o período de estudo, 72% (n=36.109) dos casos registrados no município de Atalaia do Norte foram pelo *P. vivax*, 25,8% (n=12.947) pelo *P. falciparum* e 1,7% (n=771) foram de infecção mista por *P. falciparum* e *P. vivax*. O *P. vivax* foi a espécie predominante durante todo o período, com destaque no ano 2012 (n=4.502; 78%). O *P. falciparum* apresentou menor prevalência no período estudado comparado ao *P. vivax*, e em 2004 se registrou o menor número de casos para esta espécie (n=100; 21%). Em 2006 o número de notificação de casos pelo *P. falciparum* e *P. vivax* foi similar, 1.701 (48,2%) e 1.749 (49,5%) respectivamente (Figura 14).

Em 2003 a razão *P. vivax*:*P.falciparum* foi de 2 casos de *P. vivax* para cada caso de *P.falciparum*. Já em 2008 a razão aumentou para 9,4 casos de *P. vivax* para cada caso de *P. falciparum*.

A média de número de casos de *P. falciparum* no período epidêmico foi de $984,2 \pm 512$ (mediana=1.106) e no período pós-epidêmico foi de $517,5 \pm 275$ (mediana= 572), não houve diferença estatisticamente significativas ($p=0,16$). A média de número de casos de *P. vivax* no período epidêmico foi de 2.348 ± 1238 (mediana= 2.239) e no período pós-epidêmico de 2.105 ± 496 (mediana= 2.024), não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,16$).

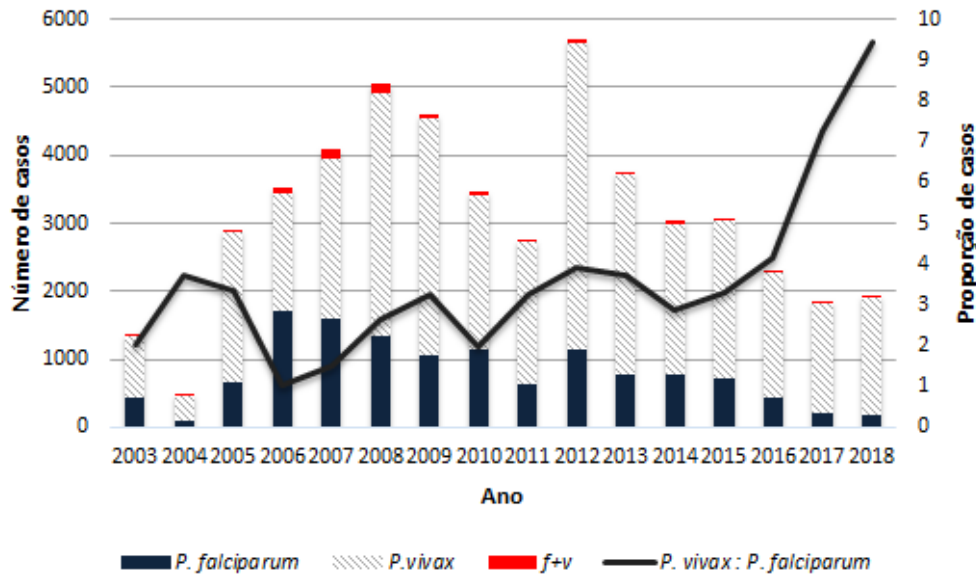


Figura 14. Proporção de casos por espécie parasitária e proporção *P. vivax*.

Quanto à faixa etária, a malária afetou principalmente menores de 15 anos ($n=55,6\%$), com destaque para as crianças menores de 5 anos de idade ($n=11.985$; $40,5\%$) (Figura 15). A média anual de indivíduos menores de 15 anos que adoeceram foi de $1.854 \pm 731,6$ (mediana= 1.916) e para maiores de 15 anos foi de 1.479 ± 744 (mediana: 1.489). Ao comparar as médias observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas ao longo do período estudado ($p=0,23$). Com relação ao sexo, os homens foram os que mais adoeceram neste período com $55,1\%$ ($n=29.148$) dos casos reportados enquanto as mulheres contribuíram com $44,9\%$ ($n=23.798$) dos casos (Figura 16). A média anual de homens com casos de malária no período epidêmico foi 1.808 ± 942 (mediana= 1.846) e no período pós-epidêmico foi de 1.844 ± 531 (mediana= 1.820), ao comparar as médias não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,16$). Com relação as mulheres no período epidêmico, a média anual de mulheres com malária foi de 1.483 ± 767 (mediana= 1.558) e no período pós-epidêmico foi de 1.495 ± 422 (mediana= 1.536), ao comparar as médias não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,16$).



Figura 15. Casos de malária e percentagem de indivíduos por faixa etária no período de 2003 - 2018.
 fonte: Sivep-Malaria 2019.

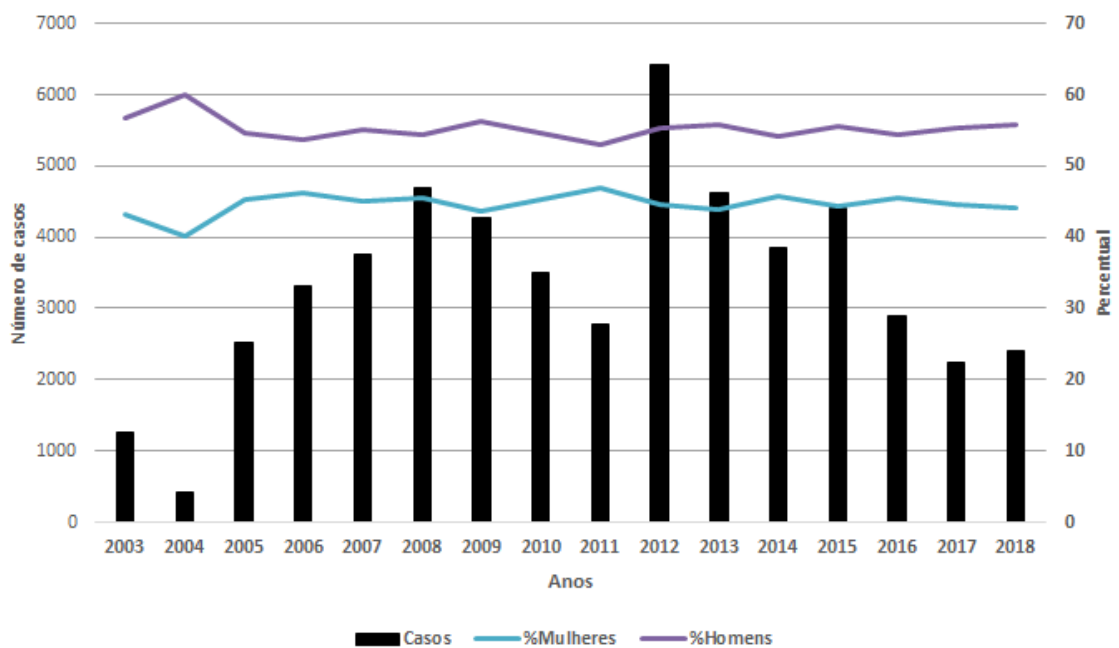


Figura 16. Casos de malária e percentagem de indivíduos por sexo no período de 2003 - 2018.
 fonte: Sivep-Malaria 2019.

5.2. Estudo seccional

Ao total foram incluídos 190 indivíduos moradores das comunidades de São Luiz (n=148; 77,8%) e Boa Esperança (n=42; 22,2%), sendo 100 (52,6%) do sexo feminino e 90 (47,4%) do sexo masculino. Dos 190 participantes, 109 (57,4%) foram recrutados no primeiro estudo seccional na estação da seca e 81 (42,6%) na estação das chuvas, sendo que 44 (23,2%) indivíduos participaram tanto do primeiro quanto do segundo grupo. Destes indivíduos a média de idade (\pm DP) dos participantes foi de $23,4 \pm 19,6$ (mediana=17), com uma variabilidade na idade de 2 a 79 anos. A média de idade das mulheres foi de $22,6 \pm 19,0$ (mediana=17) e dos homens de $24,2 \pm 20,4$ (mediana=18,5), não houve diferença estatisticamente significativas entre a idade média dos dois grupos ($p=0,5$) (Figura 17).

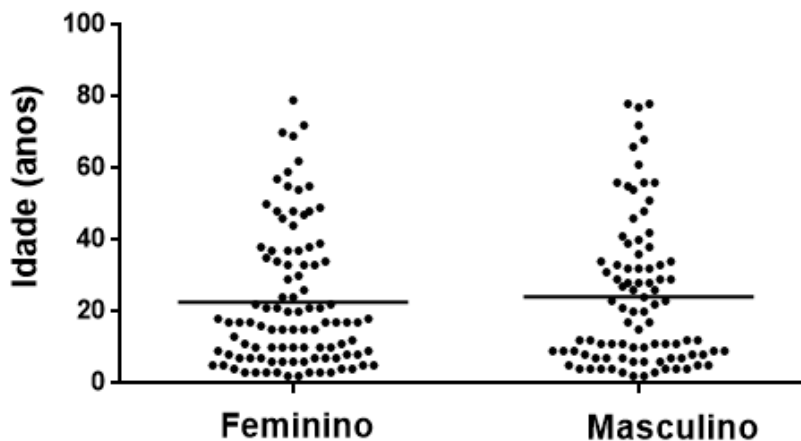


Figura 17. Média da idade classificada por sexo dos indivíduos que participaram do estudo.

Na tabela 1, pode se observar os principais dados demográficos desses indivíduos.

Tabela 1. Informações demográficas dos participantes do estudo.

Variável	Número	Percentual
Número de indivíduos	190	100%
Sexo (F/M)	100/90	52,6% / 47,4%
Média de idade	23,4	2-79 ¹
¹Faixas etárias		
2 a 10	72	37,9%
11 a 20	37	19,5%
21 -30	23	12,1%
31 a 40	24	12,6%
41 a 50	11	5,8%
51 a 60	12	6,3%
61 a 70	4	2,1%
71 a 80	7	3,7%
Localidade		
Boa Esperança	42	22,1%
São Luiz	148	77,9%
Ocupação		
Estudante	82	43,2%
Agricultura	65	34,2%
Menores*	21	11,0%
Domésticas	10	5,3%
Professores	4	2,1%
AISAN**	2	1,1%
Pescador	2	1,1%
Coordenador do Povo	1	
Kanamari		0,5%
FUNAI***- cacique	1	0,5%
Madeireiro	1	0,5%
Microscopista	1	0,5%

¹ idade mínima e máxima dos participantes

Menores*: crianças que não assistiam à escola

AISAN: Agentes Indígenas de Saneamento. *FUNAI: Fundação Nacional do Índio

¹Faixa etária.

Ao analisar os dados dos indivíduos participantes por faixa etária, 37,9%, (72/190) estavam na faixa entre 2-10 anos, seguido de 19,5% (37/190) na faixa entre 11- 20 anos. A faixa que menos esteve representada foi de 61 - 70 anos com 4 participantes (2,1%) seguida pela faixa de 71 - 80 anos com 7 participantes (3,7%) (Figura 18).

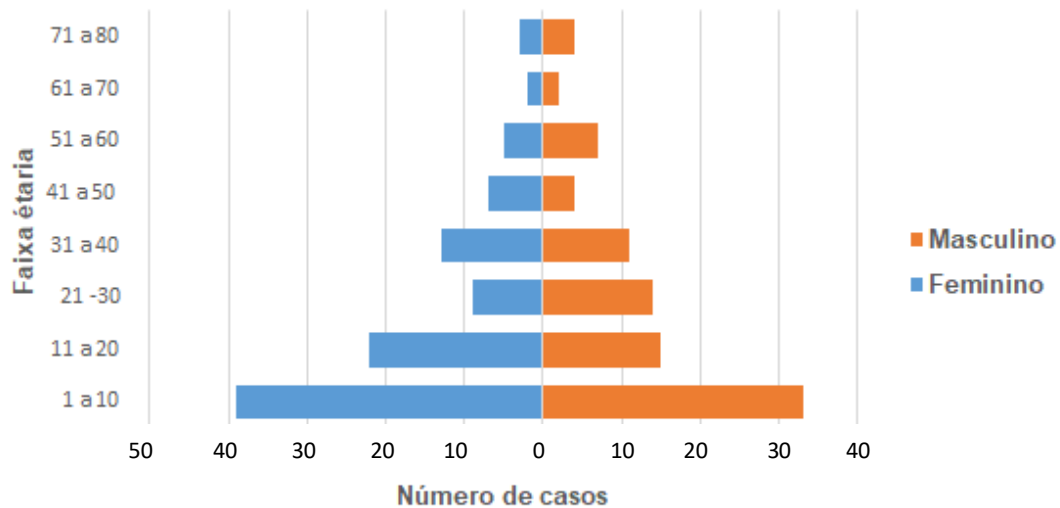


Figura 18. Pirâmide populacional dos indivíduos do estudo por faixa etária e sexo.

Quanto as principais ocupações, 43,2% (82/190) eram estudantes, 34,2% (65/190) exerciam atividades agrícolas de subsistência, 5,3% eram domésticas (10/190) e 2,1% eram professores (4/190) (Tabela 1).

Quanto ao município de nascimento, 87,9% (n= 167) são originários de Atalaia do Norte (AM), 6,8% (n=13) do município de Benjamin Constant (AM), 2,1%(n=4) do Peru e Tabatinga (AM) 2,1% (n=4) São Paulo de Olivença (AM) 1,1% (n=2) (Figura 19).

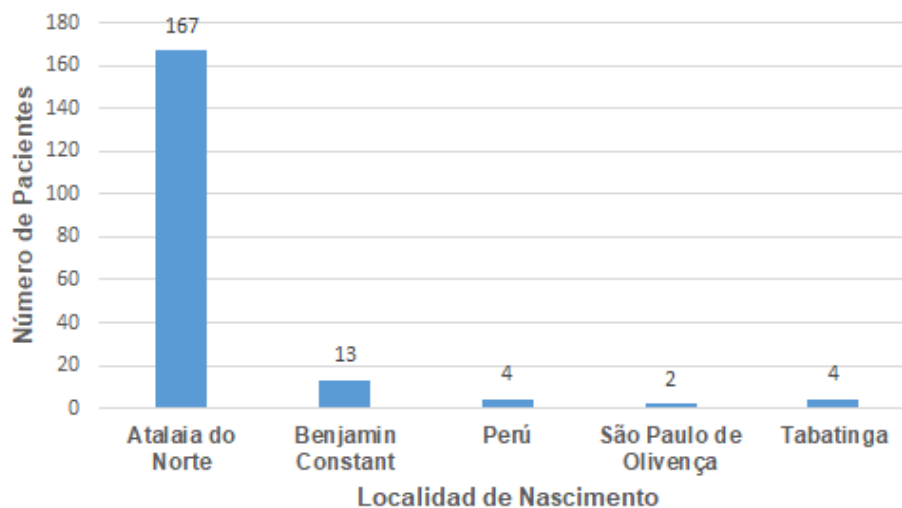


Figura 19. Municípios de nascimento dos participantes do estudo por município.

A tabela 2 apresenta discriminadamente as localidades de cada um dos municípios e as localidades do Peru onde nasceram as pessoas participantes da

pesquisa. A maioria dos participantes nasceram na aldeia São Luiz com 53% (n=123/190), na sede do município de Atalaia do Norte com 7,3% (n=17/190), no município de Benjamin Constant com 6,4% (n= 15/190) e a comunidade de Boa Esperança 5,6% (n=13/190).

Tabela 2. Número de participantes por localidade de nascimento.

Localidades	Número de Participantes	Percentual %
Área rural do município de Atalaia do Norte		
Aldeia São Luiz	98	51,6
Boa Esperança	11	5,8
Massapé	8	4,2
Irari	6	3,2
Rio Yuruá	6	3,1
Igarapé Irari	3	1,5
Lago Tambaqui	2	1,1
Rio Curuçá	2	1,1
Rio Pardo	2	1,1
Aldeia Bananeira	1	0,5
Aldeia Cedro	2	1,1
Barra Cãozinho	1	0,5
Comunidade de Caxias	1	0,5
Comunidade Soco	1	0,5
Igarapé Pedia	1	0,5
Lago Pelo Javari	1	0,5
Rio Itacoaí	1	0,5
Rio Itui	1	0,5
Terrinha	1	0,5
Tipisca no Rio Curuçá	1	0,5
Zacambu	1	0,5
Área urbana Município	16	8,4
Atalaia do Norte		
Área urbana Benjamin	13	6,8
Constant		
Área urbana Tabatinga	4	2,0
Área urbana São Paulo de	2	1,5
Olivença		
**Catamarca-Peru	1	0,5
**Macau-Peru	1	0,5
**Santa Rosa-Peru	1	0,5
**Pucalpa-Peru	1	0,5
Total	190	100

**localidade do Peru

Quanto a mobilidade, 74,7% (142/190) dos indivíduos participantes da pesquisa moravam há mais de cinco anos nas comunidades de Boa Esperança e São Luiz e 25,2% (48/190) tinha menos de cinco anos morando nas comunidades. Com relação a mobilidade dos participantes fora do estado do Amazonas, 97,3%

(185/190) não haviam viajado nunca para fora do Estado e só 2,6% (5/190) havia saído da região para o Peru, mas são as mesmas que tem como lugar de nascimento esse país.

5.2.1. Antecedentes de Malária

Dos 190 indivíduos, 88,9% (169/190) referiram ter tido malária pelo menos uma vez na vida, 10,5% (20/190) informaram não ter apresentado nunca a doença e uma pessoa (0,5%) não lembrava se teve malária no passado. Entre os indivíduos com histórico de malária prévia, a média de episódios anteriores foi de $3,08 \pm 3,2$ (mediana: 2), sendo que o número mínimo de infecções anteriores foi de um e o máximo de 20. Do total de indivíduos, 60,5% (115/190) informaram ter apresentado entre dois e sete episódios de malária, 21,1% (40/190) um episódio prévio, 11,1% (21/190) nunca tiveram malária e 7,3% (14/190) mais de sete episódios. Entre as mulheres, 87% (87/100) reportaram malária previamente, 12% (12/100) reportaram não ter apresentado malária prévia e uma (1%) não lembrava ter apresentado a doença. A média de episódios anteriores das mulheres foi de $2,4 \pm 2,5$ (mediana 2). Entre os homens 91,1% (82/90) reportaram ter tido malária antes do estudo e 8,9% (8/90) não apresentaram malária, sendo que a média de episódios prévios foi de $3,8 \pm 3,7$ (mediana 3) (Figura 20). Ao comparar as médias de episódios prévios foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0.004$).

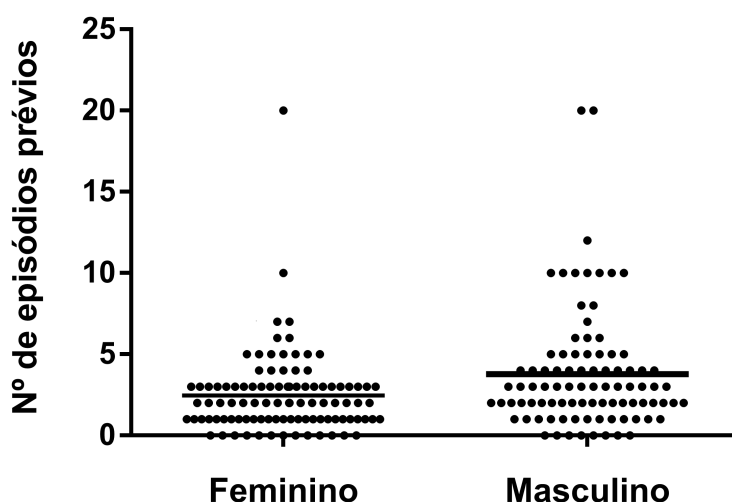


Figura 20. Média de episódios prévios de malária nos indivíduos segundo o gênero.

A tabela 3, mostra os fatores demográficos avaliados: faixa etária, localidade de residência e ocupação relacionados com antecedentes de malária. Foi observado que os indivíduos que apresentaram antecedentes de malária prévia estavam na faixa de 2 a 10 anos (n= 61 indivíduos) e a faixa que menos indivíduos apresentaram casos prévios de malária foram os de 61 a 70 (n= 4 indivíduos); um dos participantes não sabia se já tinha apresentado malária. Ao comparar as faixas etárias com os antecedentes de malária não se encontraram diferenças estatisticamente significativas.

Com relação às localidades de residência, 132 indivíduos da comunidade de São Luiz e 37 da comunidade de Boa Esperança relataram já ter tido malária uma vez na sua vida. Ao comparar as localidades de residência com antecedentes de malária não se encontraram diferenças estatisticamente significativas ($p=0,17$). Com relação à ocupação foi observado que os menores (crianças de 2-10 anos) foram os que apresentaram mais casos de malárias prévias, e ao comparar esta variável com os antecedentes de malária foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($(p=0,02)$)

Tabela 3. Correlação entre antecedentes de malária progressa e aspectos demográficos dos participantes do estudo.

	Antecedentes de malária prévia			Total n (%)	Valor de p
	Sim n (%)	Não n (%)	Não sabe n (%)		
Faixa etária					
2 a 10	61 (84,9)	10 (13,8)	1 (1,3)	72 (100)	1
11 a 20	31 (83,8)	6 (16,2)	0	37 (100)	0,77
21 a 30	22 (95,7)	1 (4,3)	0	23 (100)	0,21
31 a 40	22 (91,7)	2 (8,3)	0	24 (100)	0,47
41 a 50	11 (100)	0	0	11 (100)	0,18
51 a 60	11 (91,7)	1 (8,3)	0	12 (100)	0,58
61 a 70	4 (100)	0	0	4 (100)	0,42
71 a 80	7 (100)	0	0	7 (100)	0,29
Total	169	20	1	190 (100)	
Localidade de Residência					
São Luiz	132 (89,1)	0	16 (10,9)	148 (100)	0,17
Boa Esperança	37(88,1)	1 (2,4)	4 (9,5)	42 (100)	
Ocupação					
Estudante	73 (89)	1 (1,2)	8 (9,8)	82 (100)	
Agricultura	61 (93,8)	0	4 (6,2)	65 (100)	0,41
Menores	15(71,4)	0	6 (28,6)	21 (100)	0,02
Domestica	8 (80)	0	2(20)	10(100)	0,33
Professor	4 (100)	0	0	4(100)	0,51
AISAN	2 (100)	0	0	2 (100)	0,64

Pescador	2 (100)	0	0	2(100)	0,64
Coordenador Do Povo Kanamari	1(100)	0	0	1(100)	0,74
FUNAI Cacique	1(100)	0	0	1(100)	0,74
Madeireiro	1 (100)	0	0	1 (100)	0,74
Microscopista	1 (100)	0	0	1(100)	0,74

Ao comparar o número de episódios prévios de malária com o sexo se observou que os homens foram os que mais apresentaram episódios de malária; dos quais, 12 (13,3%) homens apresentaram mais de sete episódios de malária. Comparado com as mulheres, os homens tiveram uma chance 7,5 (IC95%: 1,6-34,7), vezes maior de ter tido mais de 7 episódios de malária, sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p=0,006$). Por outro lado, não foram encontradas diferenças entre os homens e mulheres que nunca tiveram malária (Tabela 4).

Tabela 4. Número de episódios prévios de malária por sexo.

Número de episódios prévios de malária	Sexo		Total	Valor de p
	Feminino	Masculino		
	n (%)	n (%)	n (%)	
Nunca	13 (13)	8 (9)	21 (11,1)	1
1 malária	27 (27)	13 (14,4)	40 (21,1)	0,77
2-7 malárias	58 (58)	57 (63,3)	115 (60,5)	0,33
> 7 malárias	2 (2)	12 (13,3)	14 (7,3)	0,006
Total	100	90	190 (100)	

Com relação a idade, foi observado que os indivíduos com 15 ou mais anos apresentaram maior número de episódios de malária, sendo que 6,8%, (13/106) apresentaram mais de sete episódios prévios de malária; ao comparar esse grupo etário com crianças menores de 15 anos foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,001$) (tabela 5).

Tabela 5. Número de episódios prévios de malária por idade.

Número de episódios prévios de malária.	Idade		Total	Valor de p
	≥ 15 anos	<15 anos		
	n (%)	n (%)	n (%)	
Nunca	8 (7,5)	13 (15,5)	21(11,1)	1
1 malária	20 (18,9)	20 (23,8)	40 (21,1)	0,42
2-7 malárias	65 (61,3)	50 (59,5)	115 (60,5)	0,15
> 7 malárias	13 (12,3)	1 (1,2)	14 (7,3)	0,001
Total	106	84	190 (100)	

5.2.2. Infecção por *Plasmodium* spp. e estado clínico

Durante a primeira coleta (estação seca) no mês de agosto de 2018 foram estudados 109 indivíduos, dos quais 4,6%, (5/109) foram positivos na gota espessa para *P. vivax* e 17,4%, (19/109) positivas para *P. vivax* na PCR no laboratório. Todos os indivíduos positivos na gota espessa também foram positivos na PCR. A prevalência de malária diagnosticada pela gota espessa na comunidade de Boa Esperança foi de zero e na comunidade de São Luiz foi de 6,4% enquanto que a prevalência da infecção malárica usando a PCR em Boa Esperança foi de zero e em São Luiz de 24,4%. Todas as infecções registradas nesta coleta foram causadas pelo *P. vivax* (Tabela 6). Na seguinte coleta, que ocorreu no mês de maio de 2019 na estação das chuvas, se coletaram 81 amostras de indivíduos participantes. Como resultado foram encontrados três pacientes 3/81 (3,7%) com malária durante o trabalho de campo com gota espessa positiva para *P. vivax* e 21/81 (25,9%) indivíduos foram positivos na PCR. A prevalência de malária diagnosticada pela gota espessa foi de zero na comunidade de Boa Esperança e 4,2% na comunidade de São Luiz enquanto que pela PCR a prevalência da infecção plasmodial na comunidade de Boa Esperança foi de 18,2% e em São Luiz 30% (tabela 6). Na estação seca, a PCR conseguiu detectar 3,8 vezes mais infecções que a gota espessa e durante a estação das chuvas, a PCR detectou 7,6 mais infecções que a gota espessa.

Tabela 6. Casos de malária diagnosticados por Microscopia e PCR e prevalência de malária nas localidades de coleta.

Localidade	Teste diagnóstico	n	n neg	<i>P.f</i>	<i>P.v</i>	Inf. Mis	Prevalencia %
Boa Esperança							
Estação seca	G.E.	31	31	0	0	0	0 (0)
	PCR	31	31	0	0	0	0 (0)
Estação das chuvas	G.E.	11	11	0	0	0	0 (0)
	PCR	11	9	1	1	0	2 (18,2%)
São Luiz							
Estação seca	G.E.	78	73	0	5	0	5 (6,4%)
	PCR	78	59	0	19	0	19 (24,4%)
Estação das chuvas	G.E.	70	67	0	3	0	3 (4,2%)
	PCR	70	49	0	21	0	21(30%)

n= número de indivíduos, n neg= número de indivíduos negativos no test. *P.f*= número de indivíduos positivos para infecção pelo *P. falciparum*, *P.v*= número de pacientes positivos para infecção pelo *P. vivax* e Inf. Mis= número de pacientes com infecções mistas (*P. vivax/P. falciparum*)

* Todos os indivíduos com gota espessa positiva foram positivos na PCR.

Na primeira coleta 10/109 (9,2%) pacientes não apresentaram sintomas 30 dias antes da coleta das amostras e continuaram sem apresentar sintomas 40 dias depois, 5/109 (4,5%) foram oligossintomáticos, 3/109 (2,8%) foram diagnosticados com malária durante o trabalho de campo com gota espessa positiva e 1/109 (0,9%) indivíduo foi diagnosticado com malária com gota espessa positiva na comunidade após a coleta das amostras, mostrando que se encontrava em período de incubação. Na segunda coleta 12/81 (14,8%) dos pacientes continuaram sem apresentar sintomas 40 dias depois da coleta das amostras, 8/81 (9,9%) foram oligossintomáticos, 2/81 (2,5%) foram sintomáticos durante a coleta de amostras e 1/81 (1,2%) nos seguintes dias foi diagnosticado como positivo pela gota espessa na comunidade com apresentação de sintomas (paciente em período de incubação). Na tabela 7 se descreve o número de casos e a prevalência de infecções assintomáticas e sintomáticas pelo *Plasmodium* spp. Dois indivíduos foram assintomáticos na estação seca e na estação das chuvas. Essas duas pessoas eram moradores da aldeia São Luiz, do sexo masculino e feminino e maiores de 15 anos.

Tabela 7. Número de casos e prevalência de infecção Assintomática e sintomática pelo *Plasmodium* spp.

Localidade		n	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>		Total prevalência (%)	
			S+	S-	S+	S-	S+	S-
Boa Esperança	Estação seca	31	0	0	0	0	0 (0)	0 (0)
	Estação das chuvas	11	0	1*	0	1	0 (0)	2(18,1%)
São Luiz	Estação seca	78	0	0	4**	15*	4 (5,1%)	15(19,2)
	Estação das chuvas	70	0	0	3**	18*	3 (4,2%)	18 (25,7%)

n= Número de pacientes, S+=Número de pacientes sintomáticos e S-= Número de pacientes assintomáticos

*Pacientes oligossintomáticos e assintomáticos foram analisados juntos

**Pacientes em período de incubação e sintomáticos foram catalogados como indivíduos com malária.

O estado clínico dos indivíduos com relação ao sexo, idade, localidade de residência, ocupação, antecedentes de malária e sazonalidade foram descritas na tabela 8. Todos os pacientes com malária foram crianças menores de 15 anos; ao relacionar a idade com o estado clínico dos pacientes foram encontradas

diferenças estatisticamente significativas ($p=0,0004$). A média de idade de pacientes com malária (indivíduos em período de incubação e sintomáticos) foi de $4,5 \pm 2,4$ (mediana 3) e de indivíduos com infecção assintomática (oligossintomáticos e assintomáticos) foi de $26,8 \pm 16,8$ (mediana 23). Ao comparar essas médias foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,0001$), ao igual que ao comparar o estado clínico com o fato de ser menores (ocupação) ($p=0,007$).

Tabela 8. Estado clínico dos pacientes segundo variáveis demográficas, malária progressa e sazonalidade.

Variáveis	Categorias	n	Sintomático n (%)	Assintomático n (%)	Total n (%)	Valor de p	
Sexo	Feminino	100	2 (5)	21(21)	23 (23)	0,21	
	Masculino	90	5 (5,6)	14 (15,5)	19 (21,1)		
Idade	≥ 15 anos	106	0	26 (24,5)	26 (24,5)	0,0004	
	<15 anos	84	7 (8,3)	9 (10,7)	16 (19)		
Localidade de Residência	Boa Esperança	42	0	2 (5)	2 (5)	1,00	
	São Luiz	148	7 (4,7)	33 (22,2)	40 (27)		
Ocupação	Estudante	82	3 (3,6)	13 (15,8)	16 (20)	1	
	Agricultura	65	0	18 (27,7)	18 (24,6)		0,09
Número de malárias prévias	Menores	21	4 (19)	0	4 (19)	0,007	
	Doméstica	10	0	3 (30)	3 (30)		1,00
	Madeireiro	4	0	1(25)	1(25)		1,00
	Nunca	21	2 (9,5)	2 (9,5)	4 (19)		1
Sazonalidade	1 malária	40	2 (5)	10 (25)	12 (30)	0,24	
	2-7 malárias	115	3 (2,6)	21 (18,2)	24(20,8)		0,13
	> 7 malárias	14	0	2(14,3)	2 (14,3)		
Sazonalidade	Estação seca	109	4 (3,6)	15 (13,7)	19 (17,4)	0,68	
	Estação das chuvas	81	3 (3,7)	20 (24,7)	23 (28,3)		

Entre os 190 indivíduos, 42 foram positivos para infecção causada pelo *Plasmodium* spp. Desses 42 indivíduos, 19 (17,4%) foram positivos na estação seca na aldeia São Luiz, 21 (%) foram positivos na estação chuvosa na aldeia São Luiz e 2 foram positivos na estação chuvosa na comunidade Boa Esperança. Na aldeia São Luiz, dois (4,7%) indivíduos, um homem e uma mulher, maiores de 15 anos, foram positivos tanto na primeira estação como na segunda, identificando-se as mesmas definições de casos tanto na estação seca como na estação das chuvas. Nesse caso não foi possível se ter certeza se era uma nova infecção ou a

mesma, precisamos de estudos de microssatélites ou sequenciamento para definir isto.

5.2.3. Quadro Clínico

Os sintomas mais comuns que apresentaram os sete pacientes sintomáticos foram: febre e dor de cabeça, sendo que a febre esteve presente em 6 dos 7 pacientes e a dor de cabeça em 4 de 7 (Figura 21).

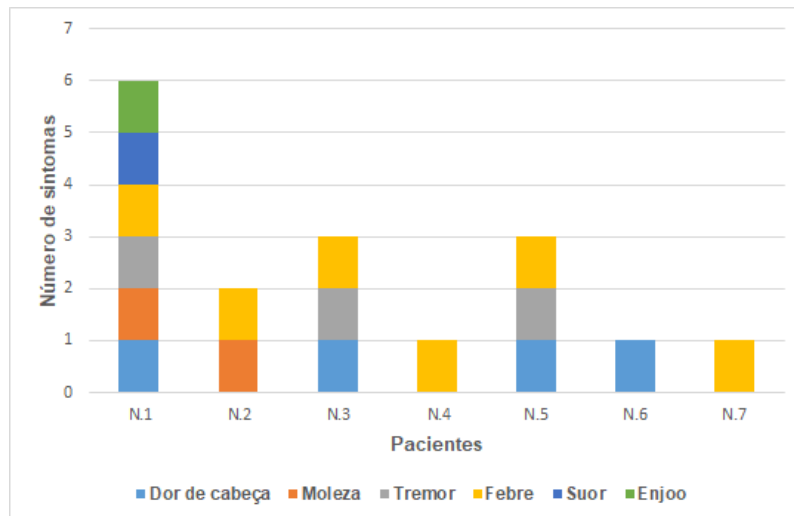


Figura 21. Sintomas registrados nos pacientes sintomáticos.
n: número de identificação do paciente

Entre os 13 indivíduos oligossintomáticos, o sintoma mais comum foi a dor de cabeça presente em 12 de 13 pacientes; não houve registros de pacientes com febre (Figura 22).

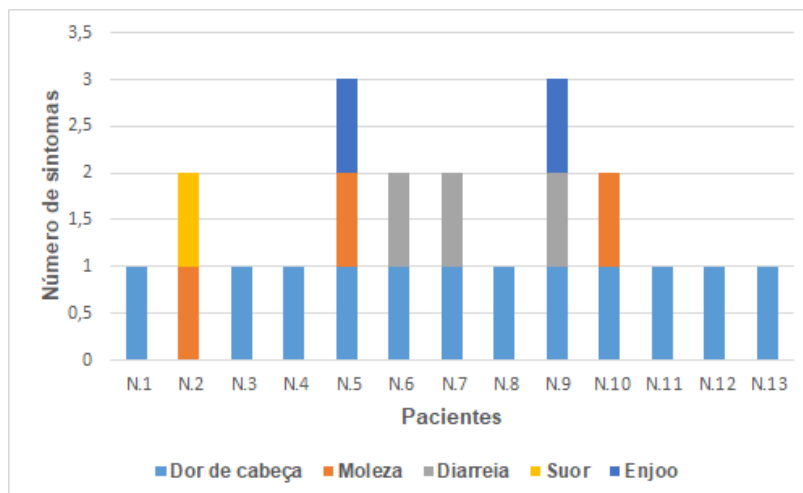


Figura 22. Sintomas registrados nos pacientes oligossintomáticos.
n: número de identificação do paciente

5.2.4. Infecção Assintomática

No total foram identificados 35/190 (18,4%) indivíduos assintomáticos, sendo que 15/35 (42,9%) foram identificados na estação seca e 20/35 (57,1%) na estação das chuvas. A média de idade dos pacientes assintomáticos foi de $26,8 \pm 16,8$ (mediana=23) com uma variabilidade na idade de 5 a 62 anos. A média de idade das mulheres foi de $25,8 \pm 17,1$ (mediana=21) e dos homens de $28,5 \pm 17,1$ (mediana=28); não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre estes dois grupos ($p=0,66$). Na tabela podem se observar os principais dados demográficos analisados dos pacientes assintomáticos (Tabela 9).

Tabela 9. Informações demográficas dos pacientes assintomáticos.

Variável	Número	Porcentagem
Número de pacientes assintomáticos	35	18,4%
Sexo (F/M)	21/14	60% / 30%
Média de idade	26,8	5-62
Faixas etárias		
1 a 10	7	20%
11 a 20	6	17,1%
21 -30	8	22,9%
31 a 40	8	22,9%
41 a 50	1	2,9%
51 a 60	3	8,5%
61 a 70	2	5,7%
Localidade		
Boa Esperança	2	5,8%
São Luiz	33	94,2%
Ocupação		
Agricultura	18	51,4%
Estudante	13	37,1%
Domésticas	3	8,6%
Madeireiro	1	2,9%

A média de idade das mulheres assintomáticas foi de $25,8 \pm 17,0$ (mediana=21) e dos homes $28,5 \pm 17,1$ (mediana=28) ao comparar as médias não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,44$). Dos assintomáticos 33/35 (94,2%) já tinham apresentado malária previamente, apenas 2/35 (5,8%) não tinham registros de malária pregressa. Entre os indivíduos com histórico de malária prévia, a média de episódios foi de $2,6 \pm 2,2$ (mediana=2) sendo que o número mínimo de infecções anteriores foi de um e máximo de 10. Duas (5,8%) pessoas relataram nunca ter tido malária, 10 (28,5%) tiveram uma malária pregressa, 21 (60%) relataram entre 2 -7 episódios prévios e 2 (5,7%) mais de sete malárias. Entre as mulheres 19/21 (90,5%) reportaram malária previamente, 2/21

(9,5%) reportaram não ter apresentado casos de malária prévia. A média de episódios anteriores das mulheres foi de $2 \pm 1,5$ (mediana=2). Entre os homens 14/14 (100%) reportaram ter tido malária antes do estudo, a média de episódios prévios foi de $3,7 \pm 2,9$ (mediana=2,5). Estas diferenças foram estatisticamente significativas ($p=0.03$) (Figura 23).

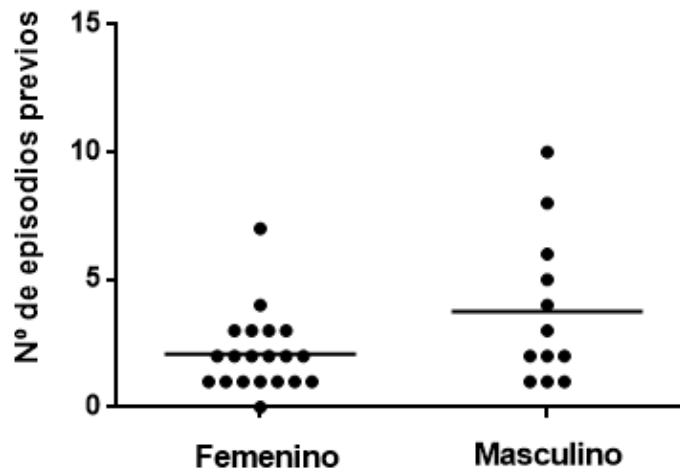


Figura 23. Média de episódios prévios de pacientes assintomáticos segundo o gênero.

5.2.5. Parasitemia

Dos 190 pacientes participantes do estudo 42 (22,1%) apresentaram infecção pelo *Plasmodium* spp. Sendo que 41/42 foram pela espécie *P. vivax* (97,6%) e 1/42 por *P. falciparum* (2,3%). Nos pacientes infetados pelo *P. vivax* 22/41 (53,6%) foram do sexo feminino e 19/41 (46,3%) do masculino; a infecção por *P. falciparum* foi registrada em uma mulher. Entre os pacientes com infecção causada pelo *P. vivax* 25/41 (60,9%) foram ≥ 15 anos e 16/41 (39,1%) foram menores de 15 anos. A infecção por *P. falciparum* foi registrada em um indivíduo (2,3%, 1/42) com 15 ou mais anos.

Com relação a ocupação dos indivíduos infetados por *P. vivax* foi observado que 17/41 (41,4%) se dedicavam à agricultura e 16/41 (39%) eram estudantes. O indivíduo positivo para a espécie *P. falciparum* tinha como ocupação a agricultura (Figura 24).

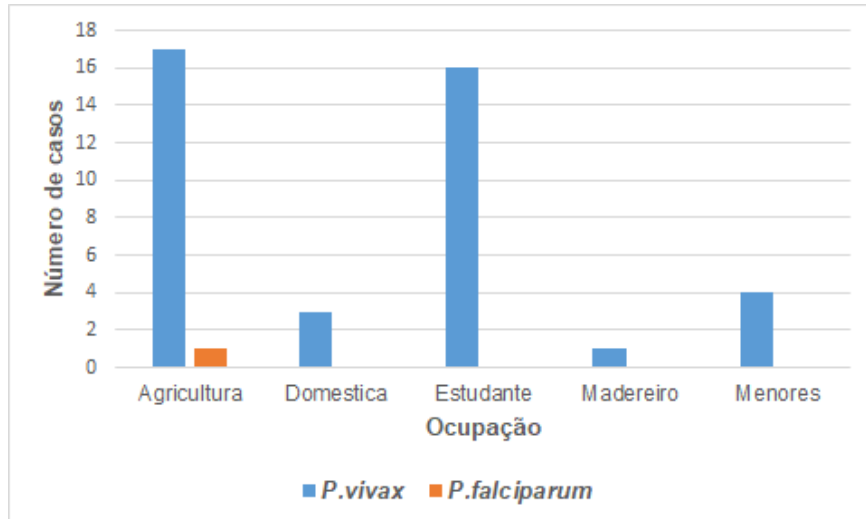


Figura 24. Número de casos por espécie parasitaria segundo a ocupação dos participantes.

Entre os casos causados pelo *P. vivax* 39/41 (95,1%) foram registrados em pacientes da comunidade de São Luiz e um (2,4%) na comunidade de Boa Esperança. O caso de *P. falciparum* foi registrado na comunidade de Boa Esperança.

Nas figuras 25, 26 e 27 se pode observar os resultados da PCR dos pacientes positivos para *P. vivax* e na figura 20 o resultado para a o paciente positivo para *P. falciparum*.

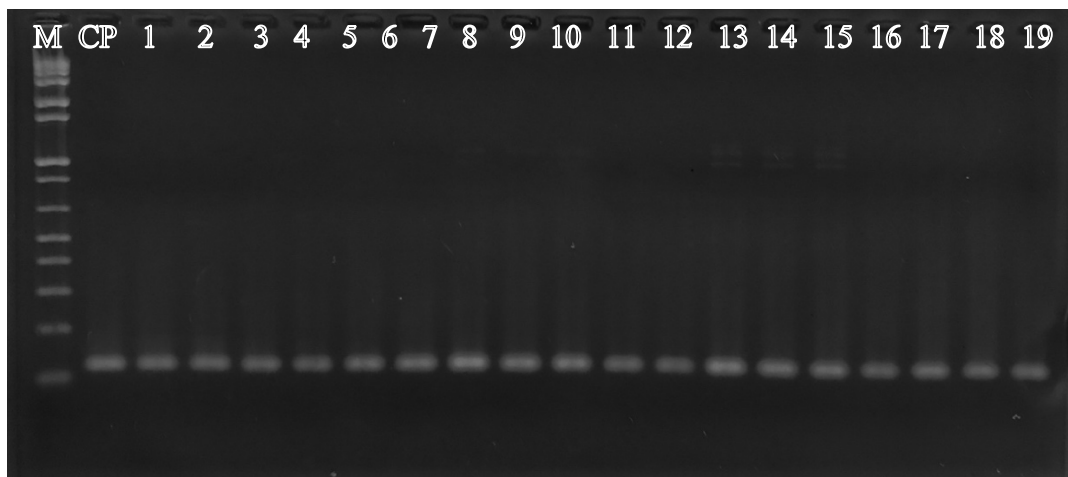


Figura 25. Gel de agarose 2% com as amostras positivas para *P. vivax*. M: marcador, CP: controle positivo *P. vivax*, Números: amostras.



Figura 26. Gel de agarose 2% resultados positivos para *P. vivax*.
 M: marcador, Números: amostras

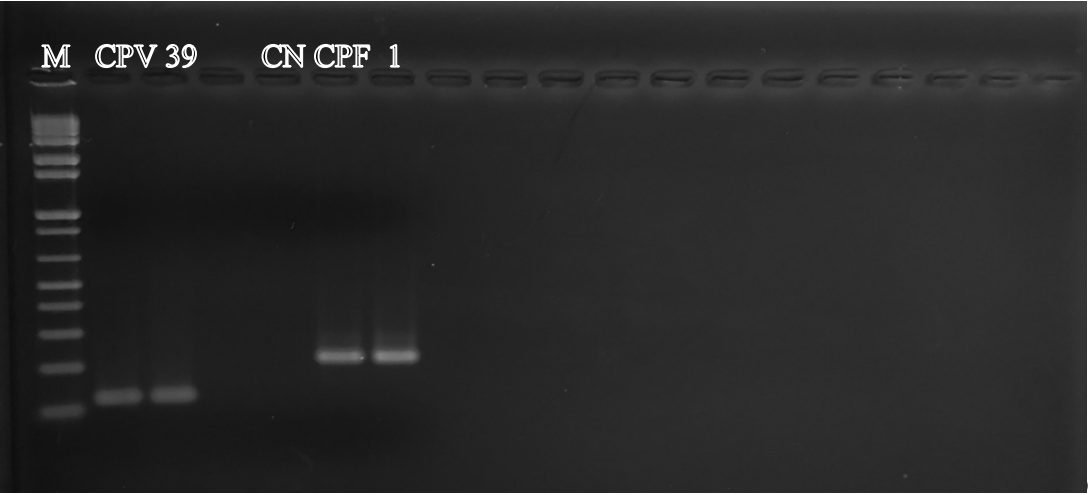


Figura 27. Gel de agarose 2% resultados positivos para *P. vivax* e *P. falciparum*.
 M: marcador, CPV: controle positivo *P. vivax*, CN: controle negativo, CPF: controle positivo *P. falciparum*, Números: amostras

6. DISCUSSÃO

O município de Atalaia do Norte é um dos municípios com maior incidência de malária no Brasil (Braz & Barcellos 2018, Sivep-Malaria 2019). Caracteriza-se por ser uma área altamente endêmica para malária, tendo todas as condições geográficas, ambientais, culturais e políticas para o desenvolvimento do mosquito vetor e da doença (Marcano et al. 2004, Braz et al. 2014). Apesar da alta receptividade do território, o município segue em busca da redução da morbimortalidade por malária principalmente nas áreas indígenas através de campanhas e ações envolvendo não apenas o setor saúde (Braz e Barcellos 2018).

Na Amazônia o controle da malária depende principalmente da detecção oportuna dos casos e do tratamento adequado. Comunidades sem acesso a serviços de saúde adequados são mais vulneráveis a ocorrência da doença como é o caso das comunidades da terra indígena do Vale do Javari. Nessas áreas a malária ao longo dos anos vêm apresentando elevado número de casos no estado do Amazonas (Sivep-Malaria 2019). Em 1993, a Fundação Nacional de Saúde (FNS) reportou elevado número de óbitos numa população indígena localizada na região do Vale do Javari. Inicialmente a causa dos óbitos foi atribuída à hepatite B, endêmica na região. Porém uma pesquisa epidemiológica, conduzida por Sampaio et al. (1996), demonstrou que a malária era a principal causa de morbi-mortalidade nessa população. A presença de médicos sem fronteira na década de 1990 no município, contribuiu para o desenvolvimento de atividades voltadas para a ajuda humanitária, tentando conter a epidemia na região (MSF 1996). Atualmente com o surgimento de resistência a medicamentos e inseticidas, juntamente com o aparecimento de infecções assintomáticas e a falta de uma vacina, além da proposta da eliminação da doença, a caracterização da epidemiologia da malária em áreas endêmicas é uma necessidade (World Health Organization 2015a).

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de casos de malária e/o infecção assintomática por *Plasmodium* spp. nos habitantes do município de Atalaia do Norte e determinar os principais determinantes associados.

Quase todas as infecções no Brasil são identificadas através da busca ativa e passiva de casos. A limitação desses métodos é que as infecções assintomáticas e sintomáticas afebris podem passar despercebida e não serem tratadas. Em nosso estudo o método de diagnóstico por gota espessa foi menos sensível

comparado ao PCR para a determinação da prevalência de malária nas populações indígenas e principalmente nas populações não indígenas. Um estudo desenvolvido por Alves et al. (2002) demonstrou que o PCR foi mais sensível para a detecção de casos do que a gota espessa nas comunidades ribeirinha de Portochuelo em Rondônia (microscopia = 3,2% e PCR = 21,3%) e Ji-paraná em Rondônia (microscopia = 16,8%, PCR 64,8%). Estudos desenvolvidos na Colômbia por Cucunuba et al. (2008) também mostraram que a PCR foi mais sensível com uma detecção de 16,5% contra 11,3% de lâminas detectada pela gota espessa. No trabalho desenvolvido na Amazônia Peruana utilizando técnicas moleculares como a qPCR foi possível detectar sete vezes mais infecções causada pelo *P. vivax* do que a microscopia (Carrasco-Escobar et al. 2017). A PCR utilizada em nosso estudo não é um método ultrasensível, mas segundo a literatura disponível o limite de detecção é de seis parasito/ μ L de sangue podendo indicar que os pacientes detectados têm uma grande probabilidade de infectar os vetores e transmitir a doença (Vasoo & Pritt 2013, Cook et al. 2015). A microscopia é a técnica padrão ouro para o diagnóstico da malária, porém sua sensibilidade para detectar infecções assintomáticas é muito baixa (Miguel et al. 2019). É muito importante ter em conta que a medida que a prevalência da doença vai diminuindo nas áreas endêmicas, a gota espessa vai perdendo utilidade, e com o tempo as infecções assintomáticas tendem a aumentar e não são detectadas por essa técnica (Bousema et al. 2014, Chen et al. 2016). Há portanto, necessidade de novas técnicas para revelar a presença de portadores de malária, como técnicas mais sensíveis de diagnóstico para detectar indivíduos assintomáticos.

No nosso estudo seccional, a prevalência de malária na comunidade indígena Aldeia São Luiz foi maior que na localidade não indígena. Esses achados corroboram com os resultados do estudo retrospectivo, onde a área indígena foi a responsável por 60,7% dos casos do município, podendo estar associada a fatores como dificuldade de acesso aos serviços de saúde, baixa adesão ao tratamento, presença de infecções assintomáticas e modificações ambientais (Sá et al. 2005, Almeida et al. 2018, Carrera et al. 2019). Estudos realizados em populações indígenas das etnias Arára, Kayapó e Parakanã no Brasil (De Arruda et al. 1989, Martins & Menezes 1994, Grenfell et al. 2008), indígenas do Javari (Sampaio et al. 1996), etnias da reserva Xingu em Mato Grosso (Burattini et al. 1993), e Yanomami na fronteira venezuelana- Brasil (Marcano et al. 2004, Grenfell et al. 2008, Cabral

et al. 2010) mostraram a presença da malária e a vulnerabilidade da população indígena diante desta doença. Embora a situação de malária no rio Javari tenha melhorado nos últimos três anos, a imensidão da área geográfica, dificuldade de acesso, a falta de combustível, transporte, medicamentos e de equipes de atenção básica são uma das principais dificuldades nestas áreas. Também Marcano et al. (2004) trabalhando na fronteira entre a Venezuela e o Brasil identificou uma prevalência de malária de 16% em indígenas Yanomami que habitavam na Amazônia venezuelana e 40,6% nos Yanomami de Mucajaí no estado de Roraima, Brasil. Esse resultado mostra a importância de se estudar a microepidemiologia da doença, mesmo sendo localidades aparentemente próximas, a malária possui prevalências bem diferentes.

Nas áreas indígenas existem diferentes polos-bases para atenção de saúde, porém, não oferecem a resposta adequada para a população indígena da área. Nos últimos anos, o DSEI-VJ tem aumentado o número de polos-base assim como as equipes multiprofissionais e conseqüentemente o número de atendimento aos casos de malária. Como resultado dessa estruturação tem se observado redução no número de casos nas áreas indígenas, de fato desde o primeiro semestre de 2016 não foram detectados novos surtos, dados reportados no estudo retrospectivo.

Nas localidades alvo dos estudos seccionais no município de Atalaia do Norte, as infecções pelo *P. vivax* foram mais predominantes que as infecções pelo *P. falciparum*, conservando o padrão apresentado no período de estudo na análise retrospectiva. Estes dados corroboram com estudos realizados na Amazônia brasileira (Alves et al. 2002, Marcano et al. 2004, Suárez-Mutis & Coura 2007, Almeida et al. 2018) e Peruana (Carrasco-Escobar et al. 2017, Rovira-Vallbona et al. 2017) onde o *P. vivax* foi a espécie mais prevalente. Uma das razões da prevalência do *P. vivax* pode estar associada a fase hepática latente, denominada hipnozoíta, que pode gerar recaídas tardias formando um reservatório de parasitos transmissíveis por intervalos longos de tempo (Bousema & Drakeley 2011, White 2011, Battle et al. 2014). Esta espécie possui facilidade de se desenvolver em climas temperados e tropicais (Rosas-Aguirre et al. 2013), uma vez que os gametócitos do *P. vivax* se multiplicam mais rapidamente que os *P. falciparum* na corrente sanguínea (Garnham 1966, McCarthy et al. 2013). Outro fator é a baixa adesão da população pelo uso prolongado (7-14 dias) para o tratamento das

formas hepáticas latente do *P. vivax*, ocasionando o abandono do tratamento (Ministério da Saúde 2019b).

A redução do número de casos de *P. falciparum* nos últimos 16 anos no município de Atalaia do Norte pode estar diretamente relacionada com a introdução de terapias combinadas de artemisinina para o tratamento da malária por esta espécie (Oliveira-Ferreira et al. 2010). O programa de controle da malária no Brasil com vista a redução da malária tem investido desde 2000 na distribuição em larga escala de medicamentos, na busca ativa de casos, no diagnóstico rápido e tratamento oportuno dentre outras medidas preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (Ministerio da Saúde 2003).

Com relação a variável “sexo” o estudo retrospectivo mostrou que no período analisado os homens (55,1%) adoeceram mais que as mulheres (44,9%), dados que corroboram com os resultados do estudo seccional em que os homens foram mais afetados e apresentaram maior número de episódios prévios de malária com uma diferença estatisticamente significativa quando comparado com as mulheres. A média de episódios de malária foi maior também para o sexo masculino e a chance de desenvolver a doença foi cerca de 7,5 vezes mais que as mulheres. Os estudos realizados no município de Pereira na Colômbia e na região do Darien no Panamá mostraram que 63,1% e 62,7%, respectivamente, dos casos reportados foram no sexo masculino (Chaparro et al. 2017, Carrera et al. 2019). Um estudo realizado nas áreas peri-urbanas de Manaus também observou que os homens apresentaram maior risco de contrair malária do que as mulheres. A maior prevalência da doença em homens possivelmente está atrelada a maior exposição ao vetor pelas atividades laborais exercidas (Almeida et al. 2018). As atividades ocupacionais como caça, pesca, trabalhos nas roças e banhos às margens de rios são fatores de risco para contrair malária uma vez que as localidades são vulneráveis e receptivas para malária (Sá et al. 2005, Rodríguez et al. 2007, Ministério da Saúde & Secretaria de Vigilância em Saúde 2015).

As crianças menores de 15 anos foram o grupo mais afetado com a malária em Atalaia do Norte ao longo dos últimos 15 anos. Achados semelhantes foram observados no município do Oiapoque, Amapá (fronteira da Guiana francesa com o Brasil) (da Cruz Franco et al. 2019) e da região do Darien (fronteira de Panamá com a Colômbia) (Carrera et al. 2019). Rodolfo et al. (2007) em um estudo transversal realizado com indígenas da etnia Piaroma, na região da Amazônia

venezuelana demonstrou que crianças menores de 10 anos são as mais susceptíveis a adoecer pela malária (Marcano et al. 2004, Rodulfo et al. 2007). Estudos relatados na Amazônia brasileira por Alves et al. (2002) e Marcano et al. (2004) também observaram que os grupos de idades mais jovens era mais susceptível a doença. Da mesma forma o estudo realizado por Ladeia-Andrade et al. (2009) em comunidades ribeirinhas do Rio Unini e Jaú na Amazônia brasileira mostrou que a diminuição da prevalência da malária nas comunidades foi diretamente proporcional ao aumento da idade, ou seja, população mais jovens apresentavam alta prevalência da doença (Ladeia-Andrade et al. 2009). Enquanto no estudo realizado por Silva-Nunez et al. (2008) em um assentamento no estado do Acre a idade não foi considerada um fator de risco para o desenvolvimento da malária, assim como o tempo de residência naquela área.

A mobilidade das crianças é menor que os adultos, acredita-se que as condições de infraestrutura das casas, a localização dos domicílios em áreas com criadouros potenciais para anofelinos e os hábitos da população facilitem a exposição ao vetor das crianças, aumentando o tempo de contato homem-vetor.

As análises retrospectivas mostraram sazonalidade no comportamento da malária no município, com variações de um ano para outro, mas com transmissão da doença presente todo o ano, com aumento de casos em fevereiro chegando a um pico máximo no mês de julho. Estas evidências foram confirmadas com um estudo da região do Loreto na Amazônia peruana, área fronteira com o Vale do rio Javari, onde a transmissão da malária é contínua com aumento no número de casos no período de fevereiro a julho (Branch et al. 2005, Chuquiyaury et al. 2012). O pico máximo de casos de malária em Atalaia do Norte foi registrado no período das chuvas segundo as análises do estudo retrospectivo. No estudo seccional não se apresentaram diferenças significativas no diagnóstico de malária na estação seca e na estação chuvosa, mas a malária sempre esteve presente nos dos períodos avaliados. Estudos realizados na região do Darien e Guna Yala no Panamá apresentaram dados similares aos deste estudo retrospectivo sendo que o maior número de casos de malária nessa área também foi registrado no período chuvoso (Calzada et al. 2015, Carrera et al. 2019). Levando em consideração a classificação da malária segundo a intensidade de transmissão, o município de Atalaia do Norte poderia ser considerada como uma área de transmissão estável, onde as pessoas estão expostas constantemente, e as crianças e a população

indígena são as mais afetadas (WHO 2015),. Existe a necessidade de estudos que avaliem o impacto climático na epidemiologia da malária, visto que existem relatos de que fenômenos climáticos como o El Niño possui influências na incidência de malária (Hurtado et al. 2014, Benavides Melo 2015).

Entre os pacientes com malária clínica, a febre e a dor de cabeça foram os sintomas mais comuns. Todas as infecções com sintomas deste estudo foram causadas pelo *P. vivax* e não foram diagnosticados casos de malária complicada. As infecções pelo *P. vivax* são conhecidas por ser infecções benignas, porém já há registros na literatura de que este parasito pode ser causante ocasionar casos de malária complicada e produzir óbitos (Lomar et al. 2005, Naing et al. 2014, Val et al. 2017).

O diagnóstico da malária no município de Atalaia do Norte está sendo realizado conforme o protocolo do Ministério da Saúde para todo o território brasileiro, baseado na detecção passiva de casos, quando os indivíduos com sintomas febris procuram os centros de diagnóstico ou, por meio da detecção ativa na qual, são feitas visitas domiciliares para coleta de gota espessa de pessoas com sintomas. Embora a busca ativa consiga detectar uma porção de casos de infecção plasmodial assintomática, a maior parte das estratégias estão focalizadas para detecção de infecções sintomáticas (Nájera 2001), deixando de lado as infecções assintomáticas, sendo estas, um grande desafio quando se pensa em eliminação.

A apresentação clínica da malária varia de malária grave e complicada que podem produzir óbitos, até a forma mais leve chegando até apresentações assintomáticas (Laishram et al. 2012). A imunidade dos portadores de infecções assintomáticas está sendo alvo de estudo por diferentes grupos de pesquisa. Dois tipos de imunidade podem ter como resultado a presença de infecções assintomáticas; sendo uma a imunidade frente à doença (imunidade clínica), com presença de parasitos sanguíneos sem o desenvolvimento de sintomas e a outra a imunidade antiparasitária, que pode ser a responsável pela diminuição da densidade parasitaria após uma idade determinada (Baird et al. 1991, Ladeia-Andrade et al. 2009). Atualmente, se tem identificado que estas infecções não estão só limitadas a áreas de alta transmissão na África e no sudeste asiático (Laishram et al. 2012) como se pensava anteriormente mas também em áreas de

baixa transmissão como ocorre nas Américas onde há áreas com presença de infecção assintomática.

Para estudar a presença de infecção assintomática é necessário a realização de estudos de campo onde toda a população possa ser examinada independentemente de apresentar ou não sintomas de malária. Os indivíduos devem ser acompanhados durante um período mínimo de tempo para poder confirmar a infecção assintomática, pois por se tratar de áreas com transmissão ativa, as pessoas podem estar em período de incubação (Rovira-Vallbona et al. 2017). O tempo de acompanhamento varia dependendo dos estudos, porém o grupo de consenso de infecção assintomática recomenda que seja de pelo menos 30 dias pelo período de incubação do *P. malariae*. Os estudos de Cucunuba et al (2008) no norte da Colômbia usaram o critério de 14 dias de acompanhamento e os de Suárez-Mutis et al (2007) usaram o critério de 30 dias. Por outro lado, indivíduos podem ter tido malária e iniciado tratamento sem aderir completamente ao esquema antimalárico produzindo uma recrudescência. Por esse motivo durante os estudos seccionais é fundamental verificar se o indivíduo teve sintomas, tomou antimaláricos e aderiu ou não completamente aos medicamentos nos últimos 30 dias antes da coleta de sangue, pois nesses casos poderia estar ainda sob os efeitos de uma infecção tratada inadequadamente. Da mesma forma, alguns medicamentos, especialmente antibióticos como as tetraciclina podem ter algum efeito antiparasitária; por esse motivo essa pergunta deve ser incorporada no questionário.

Nosso resultado mostrou alta prevalência de infecções sintomáticas comparada as infecções assintomáticas de malária nas comunidades estudadas. Porém a prevalência de infecções assintomáticas nas comunidades foi de 17.3%.

Infecções assintomáticas têm sido relatadas em áreas endêmicas da Amazônia (Alves et al. 2002, Ladeia-Andrade 2005, Coura et al. 2006, Rodolfo et al. 2007, Suárez-Mutis et al 2007, Carrasco-Escobar et al. 2017, Rovira-Vallbona et al. 2017) com alta prevalência da doença. Estes dados são de grande importância para entender como a malária se mantêm no município. No estudo realizado por Rovira-Vallbona et al. (2017) em Loreto Peru, relatou que o número da densidade de parasitos em portadores assintomáticos com infecção pelo *P. vivax* era muito mais baixa que em indivíduos sintomáticos, sendo, que o número de cópias em pacientes assintomáticos foi de 92 e em pacientes com malária de

544. Dados similares foram registrados também por Almeida et al. (2018) na área periurbana de Manaus, onde os pacientes assintomáticos também apresentaram menor número de cópias ($n=20,3$) contra 282.6 de pacientes sintomáticos. Estes resultados são consistentes com trabalhos reportados na África (Idris et al. 2016, Rovira-Vallbona et al. 2017, Almeida et al. 2018) cuja intensidade de transmissão é muito mais alta do que ocorre nas Américas. Os registros deste estudo demonstraram que as infecções assintomáticas também podem se desenvolver em ambientes de baixa transmissão de malária, resultantes provavelmente de imunidade adquirida nesses indivíduos (Barbosa et al. 2014, Vásquez-Jiménez et al. 2016, Sáenz et al. 2017) desafiando a ideia clássica da aquisição da imunidade descrita por Macdonald (1957).

Em nossos resultados foram identificados 22 (11,5%) indivíduos assintomáticos e 13 (6,8%) indivíduos oligossintomáticos os quais foram juntados para facilitar as análises. A presença destes estados pode estar evidenciando o desenvolvimento de imunidade clínica na população de estudo. Nossos resultados apresentaram maior prevalência de infecção assintomática nas mulheres em relação aos homens, embora, não houvesse diferenças estatisticamente significativas. As principais ocupações das mulheres da etnia Kanamari da aldeia São Luiz envolvem a agricultura e os trabalhos domésticos como lavagem de roupa e utensílios domésticos em corpos d'água pela falta de abastecimento de água. Esses achados corroboram com o estudo realizado na área rural de Remansinho, ao sul da Amazônia, onde as atividades de doméstica e agricultura tiveram relação com a presença de infecção e doença (Barbosa et al. 2014). O estudo realizado por Almeida et al. (2018) em localidades de Manaus, mostrou como as domésticas tinham maior probabilidade de apresentar infecção pelo *P. vivax*, devido a lavagem de roupas e utensílios de cozinha serem realizadas ao ar livre. Outros trabalhos têm mostrado que os homens são mais susceptíveis à presença de infecções assintomáticas devido as atividades que desenvolvem (Cucunubá et al. 2008, Mosnier et al. 2019).

Com relação a idade os pacientes com 15 ou mais anos, foram os que mais se apresentaram com o perfil de assintomáticos quando foi comparado com os menores de 15 anos, indicando que possivelmente as pessoas podem gerar uma imunidade antiparasitária ao estar mais exposta à doença com a idade. A pesquisa de Alves et al. (2002) mostra como a chance de ter uma infecção assintomática foi

6,67 vezes maior nos adultos de mais de 40 anos quando comparados com crianças de menos de 5 anos, e ao dividir o grupo entre menores e maiores de 15 anos, a chance foi de 5,82 vezes maior nos adultos que nas crianças com diferenças que foram estatisticamente significativas. Outros achados similares foram descritos na Guiana francesa (Mosnier et al. 2019), nas comunidades ribeirinhas da Amazônia Peruana (Rovira-Vallbona et al. 2017) e nas comunidades ribeirinhas Brasileira (Marcano et al. 2004, Suárez-Mutis et al. 2007, Rovira-Vallbona et al. 2017, Mosnier et al. 2019).

Neste estudo a infecção assintomática foi mais comum na comunidade indígena que na não indígena. Esses achados são similares aos encontrados por Mosnier et al. (2019), no município de São George na Guiana francesa, onde comparando a infecção assintomática em diferentes populações rurais, observou-se a persistência da infecção nos indivíduos das comunidades indígenas Wayana, Palikur, Kalina, Wayãpi, Teko, and Karipuna (Mosnier et al. 2019). Um estudo realizado em Manaus mostrou que as pessoas que apresentaram um ou mais episódios prévios de malária foram mais susceptíveis a apresentar infecções assintomáticas (Almeida et al. 2018)..

Para alcançar a eliminação da malária nas áreas endêmicas, a detecção de infecções assintomáticas é de grande importância assim como a implementação de medidas de controle dos vetores e da avaliação da resistência a medicamentos. Essas ações são fundamentais para a interrupção da transmissão. Este é o primeiro trabalho que avalia a prevalência de malária e infecção assintomática em comunidades do município de Atalaia do Norte. Também a identificação de infecções pelo *Plasmodium sp.* nesta área tem um papel importante para interromper a transmissão da doença. As medidas de intervenção utilizadas rotineiramente não são suficientes para a eliminação destas infecções, sendo necessário a implementação de novas estratégias.

Esta análise mostra o papel fundamental que tem o programa de controle da malária nesta área do país. Desde finais do ano 2012, o município iniciou um processo de intensificação das ações de controle da malária com um aumento do número de pontos de microscopia nas comunidades do município. Tem se observado que esta foi uma das estratégias fundamentais para o controle da doença, por ofertar diagnóstico oportuno e tratamento adequado e imediato, quebrando assim o ciclo de infecção pelo plasmódio (Ney José Batista dos

Anjos, Gerente de endemias, comunicação pessoal). Também observamos que é preciso integração das estratégias de controle entre a Secretaria Municipal de Saúde de Atalaia do Norte e o DSEI Vale do Javari, com o desenvolvimento e intensificação das ações tanto nas áreas não indígenas quanto nas áreas indígenas que são de difícil acesso, remotas e muito afastadas do centro urbano, considerando que a malária está fortemente instalada nessa área, com essa população vulnerável.

6.1. A migração como um desafio para a eliminação no município de Atalaia do Norte.

A malária no município de Atalaia do Norte é atingida por diferentes aspectos que variam no tempo e no espaço. Sendo que a migração de pessoas sintomáticas e assintomáticas tem se convertido em uma das principais causas para a incidência de malária em regiões endêmicas (Carrera et al. 2019). Na análise retrospectiva foram identificadas duas epidemias de longa duração durante o período epidêmico, o que pode estar relacionada com sua condição de município fronteiro devido as dificuldades para a realização de ações de controle integradas (Braz et al. 2014, Braz & Barcellos 2018). Os casos importados de outros países no município de Atalaia do norte correspondem a indivíduos procedentes do Peru, gerando grande preocupação das autoridades locais brasileiras, tendo em vista que na região de Loreto, na Amazônia peruana, a malária quase triplicou nos últimos anos (OPAS 2017), e as comunidades ribeirinhas fronteiriças desse país contam com uma frágil estrutura de serviços de saúde.

Os moradores das comunidades localizadas à margem do Rio Javari do lado peruano viajam até comunidades do lado brasileiro à procura de diagnóstico e tratamento para a doença. Além disso, alguns deles aproveitam para fazer as vendas de produtos agrícolas que cultivam nas comunidades e estas situações favorecem a transmissão da doença no lado brasileiro (Braz et al. 2014). Vale ressaltar que as áreas de fronteira são de difícil controle, devido ao movimento legal e ilegal de pessoas, conflitos fronteiriços, diferenças culturais e diferenças nos regulamentos nacionais de saúde pública (Krisher et al. 2016). Porém é importante desenvolver ações em conjunto para o controle da doença (Braz et al. 2014, Braz & Barcellos 2018). Krisher et al. (2016) registrou os caminhos percorridos para a eliminação da malária na província del Oro do Equador e na

região de Tumbes no Peru, onde uma colaboração binacional permitiu eliminar a malária da região, por meio do fortalecimento de estratégias de vigilância e tratamento. A dinâmica migratória é de muita importância no processo de eliminação o que gera a necessidade de esforços interfronteiriços de inclusão de políticas e estratégias que permitam a abordagem do controle nestas áreas.

O trabalho de campo teve uma série de limitações começando pelas dificuldades logísticas pelo acesso geográfico para chegar até as localidades de estudo que é realizado exclusivamente por via fluvial com altos custos. Nessas áreas o nível dos rios se modifica de acordo com a sazonalidade sendo que no verão o nível das águas baixa muito e no período das chuvas, a intensidade das mesmas dificultam as visitas domiciliares. Por outro lado, é provável que exista algum tipo de subnotificação e especialmente demora na notificação de casos especialmente nas áreas indígenas, onde as equipes multiprofissionais nem sempre estão completas e são insuficientes para cobrir toda a área. Essas equipes ficam entre 60 e 120 dias em cada localidade de tal forma que a entrega dos relatórios e das fichas de notificação são mais demoradas que em outras condições. Essa é uma limitação para que a notificação possa ser realizada em forma oportuna e adequada, especialmente para a detecção precoce de surtos, indispensável para o controle da doença. Pelas mesmas condições geográficas, a coleta de material sanguíneo para os estudos moleculares, seu armazenamento em condições adequadas e transporte desde as localidades até o Laboratório de Doenças Parasitárias no Rio de Janeiro foi bastante dispendioso e foi necessário ativar a logística com uma série de parceiros que nos ajudaram nessa empreitada.

Finalmente, este trabalho mostrou o perfil epidemiológico do município de Atalaia do Norte usando uma metodologia mista com um enfoque retrospectivo de 16 anos de dados do sistema de vigilância epidemiológica e dois estudos seccionais para avaliar a situação da doença e da infecção assintomática em duas localidades do município. Cabe salientar que se nas localidades próximas da área urbana (aproximadamente 200 kms por via fluvial) e com infraestrutura mínima para a vigilância ativa e passiva a prevalência de infecção assintomática foi considerada alta, a situação das localidades mais afastadas, e com dificuldade de acesso pode ser mais complicada. Por esta razão é preciso fazer estudos mais abrangentes em territórios indígenas onde o acesso a saúde é limitado e a população encontra-se em situação ainda mais vulnerável.

7. CONCLUSÕES

1. Atalaia do Norte é um município altamente endêmico para malária com infecções causadas pelos *P. vivax* e *P. falciparum*, sendo o *P. vivax* a espécie mais prevalente nos últimos 16 anos. A maioria dos casos de malária no município são provenientes da área indígena e acomete principalmente homens. A malária é sazonal com um incremento no número de casos no período das chuvas (Dezembro - Maio), porém tem havido uma redução dos casos desde o ano de 2016 sem ter sido detectados mais surtos no município.
2. Foi detectada a presença de infecção plasmodial assintomática nas duas localidades estudadas sendo que a prevalência geral foi de 17,3%. Essa prevalência foi de 4,7% na localidade de Boa Esperança e de 30,2% na aldeia São Luiz (área indígena). As infecções assintomáticas e oligossintomáticas não são detectadas pela rotina do programa de controle local, logo o número de casos e o IPA são subestimados no município de Atalaia do norte. Pacientes assintomáticos podem ser considerados como fontes de infecção malárica.
3. No estudo seccional, os homens são mais propícios a apresentarem episódios prévios de malária do que as mulheres nas comunidades de São Luiz e em Boa Esperança. Os homens tiveram uma chance de 7,5 vezes maior (IC95%: 1,6-34,7), de ter tido mais de 7 episódios de malária. As crianças menores de 15 anos são as que mais adoecem com malária sendo que esta é uma tendência observada no estudo retrospectivo e no estudos seccionais. Episódios prévios de malária, idade do indivíduo e a localidade onde residem são fatores relevantes para a ocorrência de infecções assintomáticas.
4. Os determinantes que contribuem para a presença de infecções assintomáticas na área de estudo do município de Atalaia do Norte foram: indivíduos maiores de 15 anos, homens que apresentaram entre 2-7 episódios prévios de malária, e moradores da aldeia São Luiz.

8. PERSPECTIVAS

- Realização de um estudo ecoepidemiológico, que avalie os fatores ambientais que podem influenciar a prevalência de malária e infecção assintomática na região incluindo estudos entomológicos que permitam a tomada de decisões que se adequem à realidade local;
- Monitoramento entomoparasitológico que permita identificar a diversidade, abundância e ciclo nictemeral das espécies de anofelinos bem como da circulação de parasitas na região;
- Estudo de mobilidade populacional que identifique os diferentes fluxos migratórios especialmente da população ribeirinha do Peru que procura atendimento do sistema de saúde Brasileiro.
- Estudos genéticos dos parasitas identificados durante os estudos seccionais e sequenciamento dos dois indivíduos que foram repetidamente positivos durante os dois estudos seccionais para verificar se se trata da mesma infecção pelo *P. vivax*.

9. REFERENCIAS

- Almeida AC, Kuehn A, Castro AJ, Vitor-Silva S, Figueiredo EF, Brasil LW, Brito MA, Sampaio VS, Bassat Q, Felger I 2018. High proportions of asymptomatic and submicroscopic *Plasmodium vivax* infections in a peri-urban area of low transmission in the Brazilian Amazon. *Parasites & vectors* 11: 194.
- Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Silva LHP, Camargo EP 2002. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 66: 641–648.
- Alves FP, Gil LHS, Marrelli MT, Ribolla PE, Camargo EP, Da Silva LHP 2005. Asymptomatic carriers of *Plasmodium* spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon. *Journal of medical entomology* 42: 777–779.
- Arnot D 1998. Unstable malaria in Sudan: the influence of the dry season: clone multiplicity of *Plasmodium falciparum* infections in individuals exposed to variable levels of disease transmission. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 92: 580–585.
- Autino B, Noris A, Russo R, Castelli F 2012. Epidemiology of malaria in endemic areas. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 4.
- Baird JK, Jones TR, Danudirgo EW, Annis BA, Bangs MJ, Basri PH, Masbar S 1991. Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in people having two years exposure to hyperendemic malaria. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 45: 65–76.
- Barbosa S, Gozze AB, Lima NF, Batista CL, Silva Bastos M da, Nicolete VC, Fontoura PS, Gonçalves RM, Viana SAS, Menezes MJ 2014. Epidemiology of disappearing *Plasmodium vivax* malaria: a case study in rural Amazonia. *PLOS neglected tropical diseases* 8: e3109.
- Bastien P, Procop GW, Reischl U 2008. Quantitative real-time PCR is not more sensitive than “conventional” PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 46: 1897–1900.
- Battle KE, Karhunen MS, Bhatt S, Gething PW, Howes RE, Golding N, Van Boeckel TP, Messina JP, Shanks GD, Smith DL 2014. Geographical variation in *Plasmodium vivax* relapse. *Malaria journal* 13: 144.
- Benavides Melo JA 2015. El cambio climático como determinante de la distribución de la malaria.
- Bousema T, Drakeley C 2011. Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clinical microbiology reviews* 24: 377–410.
- Bousema T, Okell L, Felger I, Drakeley C 2014. Asymptomatic malaria infections: detectability, transmissibility and public health relevance. *Nature Reviews Microbiology* 12: 833.
- Branch O, Casapia WM, Gamboa DV, Hernandez JN, Alava FF, Roncal N, Alvarez E, Perez EJ, Gotuzzo E 2005. Clustered local transmission and asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria infections in a recently emerged, hypoendemic Peruvian Amazon community. *Malaria journal* 4: 27.
- Brasil M 2005. Manual de diagnóstico laboratorial da malária. *Ministério da Saúde, Brasília* 112.
- Brasil P, Zalis MG, Pina-Costa A de, Siqueira AM, Júnior CB, Silva S, Areas ALL, Pelajo-Machado M, Alvarenga DAM de, Silva Santelli ACF da 2017. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a

- molecular epidemiological investigation. *The Lancet Global Health* 5: e1038–e1046.
- Braz RM, Barcellos C 2018. Análise do processo de eliminação da transmissão da malária na Amazônia brasileira com abordagem espacial da variação da incidência da doença em 2016. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 27: e2017253.
- Braz R, Guimarães R, Carvalho Júnior O, Tauil P 2014. Dependência espacial das epidemias de malária em municípios da Amazônia Brasileira. *Rev Bras de Epidemiologia* 17: 615–628.
- Buitrago LS, Brochero HL, McKeon SN, Lainhart W, Conn JE 2013. First published record of urban malaria in Puerto Gaitán, Meta, Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 108: 1045–1050.
- Burattini MN, Massad E, Coutinho FAB, Baruzzi RG 1993. Malaria prevalence amongst Brazilian Indians assessed by a new mathematical model. *Epidemiology & Infection* 111: 525–538.
- Cabral A, Fé N, Suárez-Mutis M, Bóia M, Carvalho-Costa F 2010. Increasing incidence of malaria in the Negro River basin, Brazilian Amazon. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104: 556–562.
- Calzada JE, Marquez R, Rigg C, Victoria C, De La Cruz M, Chaves LF, Cáceres L 2015. Characterization of a recent malaria outbreak in the autonomous indigenous region of Guna Yala, Panama. *Malaria journal* 14: 459.
- Camargo EP 2003. Malária, maleita, paludismo. *Ciência e cultura* 55: 26–29.
- Carrasco-Escobar G, Miranda-Alban J, Fernandez-Miñope C, Brouwer KC, Torres K, Calderon M, Gamboa D, Llanos-Cuentas A, Vinetz JM 2017. High prevalence of very-low *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* parasitaemia carriers in the Peruvian Amazon: insights into local and occupational mobility-related transmission. *Malaria journal* 16: 415.
- Carrera LC, Victoria C, Ramirez JL, Jackman C, Calzada JE, Torres R 2019. Study of the epidemiological behavior of malaria in the Darien Region, Panama. 2015–2017. *PloS one* 14.
- Casey N, Kohut M 2016. Hard times in Venezuela breed malaria as desperate flock to mines. *New York: The New York Times*.
- Castellanos A, Chaparro-Narváez P, Morales-Plaza CD, Alzate A, Padilla J, Arévalo M, Herrera S 2016. Malaria in gold-mining areas in Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 111: 59–66.
- CDC 2018. Malaria Diagnosis (United States).
- CDC 2019. Malaria.
- Chaparro PE, Molina K, Alzate A, Padilla J, Arévalo-Herrera M, Herrera S 2017. Urban malaria transmission in a non-endemic area in the Andean region of Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 112: 797–804.
- Chen I, Clarke SE, Gosling R, Hamainza B, Killeen G, Magill A, O’Meara W, Price RN, Riley EM 2016. “Asymptomatic” malaria: a chronic and debilitating infection that should be treated. *PLoS medicine* 13: e1001942.
- Chenet SM, Okoth SA, Kelley J, Lucchi N, Huber CS, Vredon S, Oliveira AM de, Barnwell JW, Udhayakumar V, Adhin MR 2017. Molecular profile of malaria drug resistance markers of *Plasmodium falciparum* in Suriname. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 61: e02655-16.
- Cheng Q, Cunningham J, Gatton ML 2015. Systematic review of sub-microscopic *P. vivax* infections: prevalence and determining factors. *PLoS neglected tropical diseases* 9: e3413.
- Chuquiyaauri R, Paredes M, Peñataro P, Torres S, Marin S, Tenorio A, Brouwer KC, Abeles

- S, Llanos-Cuentas A, Gilman RH 2012. Socio-demographics and the development of malaria elimination strategies in the low transmission setting. *Acta tropica* 121: 292–302.
- Confalonieri UE 2005. Saúde na Amazônia: um modelo conceitual para a análise de paisagens e doenças. *Estudos avançados* 19: 221–236.
- Consoli RA, Oliveira RL de 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. SciELO-Editora FIOCRUZ.
- Cook J, Aydin-Schmidt B, González IJ, Bell D, Edlund E, Nassor MH, Msellem M, Ali A, Abass AK, Mårtensson A 2015. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for point-of-care detection of asymptomatic low-density malaria parasite carriers in Zanzibar. *Malaria journal* 14: 43.
- Corrêa GJ, Almeida MEM de, Caroline K, Alves S, Araújo F, Ávila RAM de, Afonso P 2018. Métodos para diagnóstico de Malária: Atualização e desafios1. 7: B24–B31.
- Coura JR 2013. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro.
- Coura JR, Suárez-Mutis M, Ladeia-Andrade S 2006. A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic *Plasmodium* infection-a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101: 229–237.
- Cruz Franco V da, Peiter PC, Carvajal-Cortés JJ, Santos Pereira R dos, Gomes M do SM, Suárez-Mutis MC 2019. Complex malaria epidemiology in an international border area between Brazil and French Guiana: challenges for elimination. *Tropical medicine and health* 47: 24.
- Cucunubá ZM, Guerra ÁP, Rahirant SJ, Rivera JA, Cortés LJ, Nicholls RS 2008. Asymptomatic *plasmodium* spp. infection in Tierralta, Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103: 668–673.
- Da Silva NS, Silva-Nunes M da, Malafronte RS, Menezes MJ, D’Arcadia RR, Komatsu NT, Scopel KK, Braga ÉM, Cavasini CE, Cordeiro JA 2010. Epidemiology and control of frontier malaria in Brazil: lessons from community-based studies in rural Amazonia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104: 343–350.
- Daneshvar C, Davis TM, Cox-Singh J, Rafa’ee MZ, Zakaria SK, Divis PC, Singh B 2009. Clinical and laboratory features of human *Plasmodium knowlesi* infection. *Clinical Infectious Diseases* 49: 852–860.
- De Arruda M, Nardin EH, Nussenzweig RS, Cochrane AH 1989. Sero-epidemiological studies of malaria in Indian tribes and monkeys of the Amazon Basin of Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 41: 379–385.
- Deane L de M, Causey OR, Deane MP 2002. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das regiões nordestina e amazônica do Brasil (Publicado originalmente em 1948).
- DiMaio MA, Pereira IT, George TI, Banaei N 2012. Performance of BinaxNOW for diagnosis of malaria in a US hospital. *Journal of clinical microbiology* 50: 2877–2880.
- Divis PC, Shokoples SE, Singh B, Yanow SK 2010. A TaqMan real-time PCR assay for the detection and quantitation of *Plasmodium knowlesi*. *Malaria journal* 9: 344.
- Douine M, Musset L, Corlin F, Pelleau S, Pasquier J, Mutricy L, Adenis A, Djossou F, Brousse P, Perotti F 2016. Prevalence of *Plasmodium* spp. in illegal gold miners in French Guiana in 2015: a hidden but critical malaria reservoir. *Malaria journal* 15: 315.
- Douine M, Sanna A, Hiwat H, Briolant S, Nacher M, Belleoud D, Le Tourneau FM, Bogreau H, De Laval F 2019. Investigation of a possible malaria epidemic in an illegal gold mine in French Guiana: an original approach in the remote Amazonian forest.

Malaria journal 18: 91.

- Dzakah EE, Kang K, Ni C, Wang H, Wu P, Tang S, Wang J, Wang J, Wang X 2013. *Plasmodium vivax* aldolase-specific monoclonal antibodies and its application in clinical diagnosis of malaria infections in China. *Malaria journal* 12: 199.
- Eijk AM van, Sutton PL, Ramanathapuram L, Sullivan SA, Kanagaraj D, Priya GSL, Ravishankaran S, Asokan A, Sangeetha V, Rao PN, Wassmer SC, Tandel N, Patel A, Desai N, Choubey S, Ali SZ, Barla P, Oraon RR, Mohanty S, Mishra S, Kale S, Bandyopadhyay N, Mallick PK, Huck J, Valecha N, Singh OP, Pradhan K, Singh R, Sharma SK, Srivastava HC, Carlton JM, Eapen A 2019. The burden of submicroscopic and asymptomatic malaria in India revealed from epidemiology studies at three varied transmission sites in India. *Scientific Reports* 9: 17095.
- Filipe JA, Riley EM, Drakeley CJ, Sutherland CJ, Ghani AC 2007. Determination of the processes driving the acquisition of immunity to malaria using a mathematical transmission model. *PLoS computational biology* 3: e255.
- Fontes C 2001. epidemiologia da malária e fatores associados à infecção assintomática por *Plasmodium* em uma população de carimpeiros da amazônia brasileira (Mato Grosso, 1996). Belo Horizonte, 2001. *Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais*.
- Foster PG, Oliveira TMP de, Bergo ES, Conn JE, Sant'Ana DC, Nagaki SS, Nihei S, Lamas CE, González C, Moreira CC 2017. Phylogeny of Anophelinae using mitochondrial protein coding genes. *Royal Society open science* 4: 170758.
- FUNASA 1995. Diagnóstico e tratamento da malária. Brasília: Ministério da Saúde,.
- Garnham PCC 1966. Malaria parasites and other haemosporidia. *Malaria Parasites and other Haemosporidia*.
- Golassa L, Enweji N, Erko B, Aseffa A, Swedberg G 2013. Detection of a substantial number of sub-microscopic *Plasmodium falciparum* infections by polymerase chain reaction: a potential threat to malaria control and diagnosis in Ethiopia. *Malaria journal* 12: 352.
- Greenwood B 1987. Asymptomatic malaria infections—do they matter? *Parasitology today* 3: 206–214.
- Grenfell P, Fanello C, Magris M, Goncalves J, Metzger W, Vivas-Martínez S, Curtis C, Vivas L 2008. Anaemia and malaria in Yanomami communities with differing access to healthcare. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102: 645–652.
- Gudo ES, Prista A, Jani IV 2013. Impact of asymptomatic *Plasmodium falciparum* parasitemia on the imunohematological indices among school children and adolescents in a rural area highly endemic for Malaria in southern Mozambique. *BMC infectious diseases* 13: 244.
- Harbach RE 2013. The phylogeny and classification of Anopheles. In: *Anopheles mosquitoes-new insights into malaria vectors*, IntechOpen, p. .
- Harris I, Sharrock WW, Bain LM, Gray K-A, Bobogare A, Boaz L, Lilley K, Krause D, Vallely A, Johnson M-L 2010. A large proportion of asymptomatic *Plasmodium* infections with low and sub-microscopic parasite densities in the low transmission setting of Temotu Province, Solomon Islands: challenges for malaria diagnostics in an elimination setting. *Malaria journal* 9: 254.
- Hay SI, Smith DL, Snow RW 2008. Measuring malaria endemicity from intense to interrupted transmission. *The Lancet infectious diseases* 8: 369–378.
- Hiwat H, Bretas G 2011. Ecology of Anopheles darlingi Root with respect to vector importance: a review. *Parasites & vectors* 4: 177.
- Hochman G, Mello MTB de, Santos PRE dos 2002. Malaria in pictures: images from

- Brazil's Public Health campaigns in the first half of the Twentieth Century. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* 9: 233–273.
- Hurtado LA, Cáceres L, Chaves LF, Calzada JE 2014. When climate change couples social neglect: malaria dynamics in Panamá. *Emerging microbes & infections* 3: 1–11.
- IBGE 2019. Brasil Amazonas Atalaia do Norte, População.
- Idris ZM, Chan CW, Kongere J, Gitaka J, Logedi J, Omar A, Obonyo C, Machini BK, Isozumi R, Teramoto I 2016. High and heterogeneous prevalence of asymptomatic and sub-microscopic malaria infections on islands in Lake Victoria, Kenya. *Scientific reports* 6: 36958.
- Imwong M, Tanomsing N, Pukrittayakamee S, Day NP, White NJ, Snounou G 2009. Spurious amplification of a *Plasmodium vivax* small-subunit RNA gene by use of primers currently used to detect *P. knowlesi*. *Journal of clinical microbiology* 47: 4173–4175.
- Jeanne LD, Berry A, Dutoit E, Leclerc F, Beaudou J, Leteurtre S, Camus D, Benoit-Vical F 2010. Molecular method for the diagnosis of imported pediatric malaria. *Médecine et maladies infectieuses* 40: 115–118.
- Kasetsirikul S, Buranapong J, Srituravanich W, Kaewthamasorn M, Pimpin A 2016. The development of malaria diagnostic techniques: a review of the approaches with focus on dielectrophoretic and magnetophoretic methods. *Malaria journal* 15: 358.
- Klempner MS, Unnasch TR, Hu LT 2007. Taking a bite out of vector-transmitted infectious diseases. *New England Journal of Medicine* 356: 2567–2569.
- Krisher LK, Krisher J, Ambuludi M, Arichabala A, Beltrán-Ayala E, Navarrete P, Ordoñez T, Polhemus ME, Quintana F, Rochford R 2016. Successful malaria elimination in the Ecuador–Peru border region: epidemiology and lessons learned. *Malaria journal* 15: 573.
- Ladeia-Andrade S 2005. Aspectos Epidemiológicos da Malária no Parque Nacional do Jaú, Amazonas, Brasil. *Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 287p.
- Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, Carvalho ME de, Curado I, Coura JR 2009. Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 80: 452–459.
- Laishram DD, Sutton PL, Nanda N, Sharma VL, Sobti RC, Carlton JM, Joshi H 2012. The complexities of malaria disease manifestations with a focus on asymptomatic malaria. *Malaria journal* 11: 29.
- Lau Y-L, Fong M-Y, Mahmud R, Chang P-Y, Palaeya V, Cheong F-W, Chin L-C, Anthony CN, Al-Mekhlafi AM, Chen Y 2011. Specific, sensitive and rapid detection of human *Plasmodium knowlesi* infection by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in blood samples. *Malaria journal* 10: 197.
- Lindblade KA, Steinhardt L, Samuels A, Kachur SP, Slutsker L 2013. The silent threat: asymptomatic parasitemia and malaria transmission. *Expert review of anti-infective therapy* 11: 623–639.
- Lomar AV, Vidal JE, Lomar FP, Barbas CV, Matos GJ de, Boulos M 2005. Acute respiratory distress syndrome due to vivax malaria: case report and literature review. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 9: 425–430.
- Lorenz TC 2012. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*: e3998.
- Lourenço-de-Oliveira R, Guimarães AE da G, Arlé M, Silva TF da, Castro MG, Motta MA, Deane LM 1989. Anopheline species, some of their habits and relation to malaria

- in endemic areas of Rondonia State, Amazon region of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 84: 501–514.
- Lucchi N, Oberstaller J, Kissinger J, Udhayakumar V 2013. Malaria diagnostics and surveillance in the post-genomic era. *Public health genomics* 16: 37–43.
- Macauley C 2005. Aggressive active case detection: a malaria control strategy based on the Brazilian model. *Social science & medicine* 60: 563–573.
- Magris M, Rubio-Palis Y, Menares C, Villegas L 2007. Vector bionomics and malaria transmission in the Upper Orinoco River, Southern Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102: 303–312.
- Marcano TJ, Morgado A, Tosta CE, Coura JR 2004. Cross-sectional study defines difference in malaria morbidity in two Yanomami communities on Amazonian boundary between Brazil and Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99: 369–376.
- Marques AC 1987. Human migration and the spread of malaria in Brazil. *Parasitology today* 3: 166–170.
- Martins S, Menezes R 1994. Infecção malárica mista entre os índios Parakanã. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27: 274.
- Mathison BA, Pritt BS 2017. Update on malaria diagnostics and test utilization. *Journal of clinical microbiology* 55: 2009–2017.
- McCarthy JS, Griffin PM, Sekuloski S, Bright AT, Rockett R, Looke D, Elliott S, Whiley D, Sloots T, Winzeler EA 2013. Experimentally induced blood-stage *Plasmodium vivax* infection in healthy volunteers. *The Journal of infectious diseases* 208: 1688–1694.
- Michon P, Cole-Tobian JL, Dabod E, Schoepflin S, Igu J, Susapu M, Tarongka N, Zimmerman PA, Reeder JC, Beeson JG 2007. The risk of malarial infections and disease in Papua New Guinean children. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 76: 997–1008.
- Miguel RB, Albuquerque HG, Sanchez MCA, Coura JR, Santos S da S, Silva S da, Moreira CJ de C, Suárez-Mutis MC 2019. Asymptomatic *Plasmodium* infection in a residual malaria transmission area in the Atlantic Forest region: Implications for elimination. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 52.
- Milne L, Kyi M, Chiodini P, Warhurst D 1994. Accuracy of routine laboratory diagnosis of malaria in the United Kingdom. *Journal of clinical pathology* 47: 740–742.
- Ministério da Saúde 2000. Rede Interagencial de Informações para a Saúde RIPSAs, Indicadores de morbidade e Fatores de Risco.
- Ministerio da Saúde 2003. Programa Nacional de Prevenção e Controle da malária. PNCM, Brasília, Ministerio da Saúde.
- Ministério da Saúde 2015. Folder testes rápidos para diagnóstico de malária.
- Ministério da Saúde 2016. Plano de eliminação de malária no Brasil.
- Ministério da Saúde 2019a. Malária: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção.
- Ministério da Saúde 2019b. Malária: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção.
- Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde 2015. Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2012 e 2013. *Boletim Epidemiológico* 46.
- Mohon AN, Elahi R, Khan WA, Haque R, Sullivan Jr DJ, Alam MS 2014. A new visually improved and sensitive loop mediated isothermal amplification (LAMP) for diagnosis of symptomatic falciparum malaria. *Acta tropica* 134: 52–57.
- Moody A 2002. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clinical microbiology reviews* 15: 66–78.
- Mosnier E, Roux E, Cropet C, Lazrek Y, Moriceau O, Gaillet M, Mathieu L, Nacher M,

- Demar M, Odonne G 2019. Prevalence of *Plasmodium* spp. in the Amazonian Border Context (French Guiana–Brazil): Associated Factors and Spatial Distribution. *The American journal of tropical medicine and hygiene*: tpm190378.
- Naing C, Whittaker MA, Wai VN, Mak JW 2014. Is *Plasmodium vivax* malaria a severe malaria?: a systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases* 8: e3071.
- Nájera JA 2001. Malaria control: achievements, problems and strategies. *Parassitologia* 43: 1–89.
- Oliveira-Ferreira J, Lacerda MV, Brasil P, Ladislau JL, Tauil PL, Daniel-Ribeiro CT 2010. Malaria in Brazil: an overview. *Malaria journal* 9: 115.
- OPAS 2017. Alerta Epidemiológica: Aumento de casos de malaria; 2017.
- OPAS 2018. Casos de malária aumentam na região das Américas.
- OPS/OMS 2018. Actualización Epidemiológica Aumento de malaria en las Américas 30 de enero de 2018.
- Padilla JC, Chaparro PE, Molina K, Arevalo-Herrera M, Herrera S 2015. Is there malaria transmission in urban settings in Colombia? *Malaria journal* 14: 453.
- PAHO 2019. Epidemiological Update Malaria in the Americas.
- Peiter PC 2005. A geografia da saúde na faixa de fronteira continental do Brasil na passagem do milênio. *Rio de Janeiro: Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro*.
- Pereira de Sousa L, Mariuba LA, Nogueira PA 2013. OPTIMAL-IT®: Uma revisão de seu desempenho no diagnóstico de malária. *Scientia Amazonia* 2: 29–41.
- Pina-Costa A de, Brasil P, Santi SMD, Araujo MP de, Suárez-Mutis MC, Oliveira-Ferreira J, Lourenço-de-Oliveira R, Daniel-Ribeiro CT 2014. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 109: 618–633.
- PRODES 2019. Monitoramento do Desmatamento da Floresta Amazônica Brasileira por Satélite.
- Prussing C, Moreno M, Saavedra MP, Bickersmith SA, Gamboa D, Alava F, Schlichting CD, Emerson KJ, Vinetz JM, Conn JE 2018. Decreasing proportion of *Anopheles darlingi* biting outdoors between long-lasting insecticidal net distributions in peri-lquitos, Amazonian Peru. *Malaria journal* 17: 86.
- Ranjha R, Dutta G, Gitte S 2019. School-age Children as Asymptomatic Malaria Reservoir in Tribal Villages of Bastar Region, Chhattisgarh. *Indian Pediatrics* 56: 873–875.
- Rejmankova E, Rubio-Palis Y, Villegas L 1999. Larval habitats of anopheline mosquitoes in the Upper Orinoco, Venezuela. *Journal of vector ecology: journal of the Society for Vector Ecology* 24: 130–137.
- Reller ME, Chen WH, Dalton J, Lichay MA, Dumler JS 2013. Multiplex 5' nuclease quantitative real-time PCR for clinical diagnosis of malaria and species-level identification and epidemiologic evaluation of malaria-causing parasites, including *Plasmodium knowlesi*. *Journal of clinical microbiology* 51: 2931–2938.
- Rodríguez C, Rivera M, Rebaza H 2007. Factores de riesgo para malaria por *Plasmodium vivax* en una población rural de Trujillo, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 24: 35–39.
- Rodríguez JCP, Uribe GÁ, Araújo RM, Narváez PC, Valencia SH 2011. Epidemiology and control of malaria in Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 106: 114–122.
- Rodolfo H, Donato M de, Quijada I, Peña A 2007. High prevalence of malaria infection in Amazonas State, Venezuela. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 49: 79–85.
- Rosas-Aguirre A, Llanos-Cuentas A, Speybroeck N, Cook J, Contreras-Mancilla J, Soto

- V, Gamboa D, Pozo E, Ponce OJ, Pereira MO 2013. Assessing malaria transmission in a low endemicity area of north-western Peru. *Malaria journal* 12: 339.
- Rovira-Vallbona E, Contreras-Mancilla JJ, Ramirez R, Guzmán-Guzmán M, Carrasco-Escobar G, Llanos-Cuentas A, Vinetz JM, Gamboa D, Rosanas-Urgell A 2017. Predominance of asymptomatic and sub-microscopic infections characterizes the *Plasmodium* gametocyte reservoir in the Peruvian Amazon. *PLoS neglected tropical diseases* 11: e0005674.
- Ruckstuhl L, Lengeler C, Moyon JM, Garro H, Allan R 2017. Malaria case management by community health workers in the Central African Republic from 2009–2014: overcoming challenges of access and instability due to conflict. *Malaria journal* 16: 388.
- Sá DR, Souza-Santos R, Escobar A, Coimbra Jr C 2005. Malaria epidemiology in the Pakaanóva (Wari') Indians, Brazilian Amazon. *Bull Soc Pathol Exot* 98: 28–32.
- Sáenz FE, Arévalo-Cortés A, Valenzuela G, Vallejo AF, Castellanos A, Poveda-Loayza AC, Gutierrez JB, Alvarez A, Yan YH, Benavides Y 2017. Malaria epidemiology in low-endemicity areas of the northern coast of Ecuador: high prevalence of asymptomatic infections. *Malaria journal* 16: 300.
- Sama W, Owusu-Agyei S, Felger I, Dietz K, Smith T 2006. Age and seasonal variation in the transition rates and detectability of *Plasmodium falciparum* malaria. *Parasitology* 132: 13–21.
- Sampaio M, Turcotte S, Martins V, Cardoso E, Burattini M 1996. Malaria in the Indian reservation of "Vale do Javari", Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 38: 59–60.
- Sanchez JF, Carnero AM, Rivera E, Rosales LA, Baldeviano GC, Asencios JL, Edgel KA, Vinetz JM, Lescano AG 2017. Unstable Malaria Transmission in the Southern Peruvian Amazon and Its Association with Gold Mining, Madre de Dios, 2001–2012. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 96: 304–311.
- Silva-Nunes M da, Codeço CT, Malafronte RS, Da Silva NS, Juncansen C, Muniz PT, Ferreira MU 2008. Malaria on the Amazonian frontier: transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 79: 624–635.
- Singh B, Sung LK, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, Thomas A, Conway DJ 2004. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *The Lancet* 363: 1017–1024.
- Sivep-Malaria 2019. SIVEP.
- Snounou G 1996. Detection and identification of the four malaria parasite species infecting humans by PCR amplification. In: *Species Diagnostics Protocols*, Springer, pp. 263–291.
- Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, Thaithong S, Brown KN 1993. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. *Molecular and biochemical parasitology* 58: 283–292.
- Snow RW, Marsh K 2002. The consequences of reducing transmission of *Plasmodium falciparum* in Africa. *Advances in parasitology* 52: 235–264.
- Stanisic D, Mueller I, Betuela I, Siba P, Schofield L 2010. Robert Koch redux: malaria immunology in Papua New Guinea. *Parasite immunology* 32: 623–632.
- Suárez-Mutis MC, Coura JR 2007. Mudanças no padrão epidemiológico da malária em área rural do médio Rio Negro, Amazônia brasileira: análise retrospectiva. *Cadernos de Saúde Pública* 23: 795–804.

- Suárez-Mutis M, Cuervo P, Fernandes O, Coura J 2004. Evidência da presença de infecção assintomática por *Plasmodium* no médio rio Negro, Estado do Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 268–269.
- Suárez-Mutis MC, Cuervo P, Leoratti F, Moraes-Avila SL, Ferreira AW, Fernandes O, Coura JR 2007. Cross sectional study reveals a high percentage of asymptomatic *Plasmodium vivax* infection in the Amazon Rio Negro area, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 49: 159–164.
- Suárez-Mutis M, Martínez-Espinosa F, Albuquerque BC de 2013. Malária. In: *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*, Guanabara, Rio de Janeiro, pp. 885–909.
- Tadei WP, Dutary Thatcher B 2000. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: Anopheles of the subgenus Nyssorhynchus. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 42: 87–94.
- Tadei WP, Thatcher BD, Santos J, Scarpassa VM, Rodrigues IB, Rafael MS 1998. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 59: 325–335.
- Tang T-HT, Salas A, Ali-Tammam M, Carmen Martínez M del, Lanza M, Arroyo E, Rubio JM 2010. First case of detection of *Plasmodium knowlesi* in Spain by Real Time PCR in a traveller from Southeast Asia. *Malaria journal* 9: 219.
- Tauil P, Deane L, Sabroza P, Ribeiro C 1985. A malária no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 1: 71–111.
- Val F, Machado K, Barbosa L, Salinas JL, Siqueira AM, Alecrim MGC, Portillo H del, Bassat Q, Monteiro WM, Lacerda MVG 2017. Respiratory complications of *Plasmodium vivax* malaria: systematic review and meta-analysis. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 97: 733–743.
- Vallejo AF, Martínez NL, González IJ, Arévalo-Herrera M, Herrera S 2015. Evaluation of the loop mediated isothermal DNA amplification (LAMP) kit for malaria diagnosis in *P. vivax* endemic settings of Colombia. *PLoS neglected tropical diseases* 9: e3453.
- Vasoo S, Pritt BS 2013. Molecular diagnostics and parasitic disease. *Clinics in laboratory medicine* 33: 461–503.
- Vásquez-Jiménez JM, Arévalo-Herrera M, Henao-Giraldo J, Molina-Gomez K, Arce-Plata M, Vallejo AF, Herrera S 2016. Consistent prevalence of asymptomatic infections in malaria endemic populations in Colombia over time. *Malaria journal* 15: 70.
- Vinetz JM, Gilman RH 2002. Asymptomatic *Plasmodium* parasitemia and the ecology of malaria transmission. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 66: 639–640.
- Warhurst D, Williams J 1996. ACP Broadsheet no 148. July 1996. Laboratory diagnosis of malaria. *Journal of clinical pathology* 49: 533.
- Waters A, Mccutchan T 1989. Rapid, sensitive diagnosis of malaria based on ribosomal RNA. *The Lancet* 333: 1343–1346.
- White NJ 2011. Determinants of relapse periodicity in *Plasmodium vivax* malaria. *Malaria journal* 10: 297.
- White NJ 2017. The consequences of treating asymptomatic malaria parasitemia. *Clinical Infectious Diseases* 64: 654–655.
- WHO 2015. GUIDELINES FOR THE TREATMENT OF MALARIA.
- World Health Organization 2015a. Estrategia técnica mundial contra la malaria 2016-2030. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186671/1/9789243564999_spa.pdf.
- World Health Organization 2015b. World malaria report 2015. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization 2016. WHO malaria terminology.

World Health Organization 2018. World malaria report 2018. *Geneva: World Health Organization.*

World Health Organization 2019a. World malaria report 2019.

World Health Organization 2019b. Malaria, Diagnostic testing.

World Health Organization, World Health Organization, World Health Organization, Darling Foundation Committee 1950. Expert Committee on Malaria: report on the third session, Geneva, 10-17 August 1949.

10. APÊNDICE

Apêndice 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – maior de 18 anos ESTUDO DA MALÁRIA ASSINTOMÁTICA NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Estamos convidando-o a participar de um estudo prevalência de casos e/o infecções Assintomáticas da malária na Amazônia Brasileira. A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) está realizando uma pesquisa em Atalaia do Norte para avaliar se há pessoas que estejam infectados com o parasito da malária e não apresentem sintomas e como isso pode impactar no controle da mesma nesse município e suas comunidades. O estudo é coordenado pela Dra. Martha Cecília Suarez Mutis do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, no Rio de Janeiro.

A sua participação nesta pesquisa é voluntaria. Se você aceitar, vamos lhe fazer algumas perguntas (como seu nome, idade, local de moradia, quantas vezes teve malária, sintomas que sentiu, entre outras através de um questionário, isto levará cerca de 10 minutos), e depois vamos coletar uma pequena amostra de sangue (5ml, o que equivale a uma colher de sopa). Esta quantidade de sangue é suficiente para a realização do exame de diagnóstico do parasito da malária no sangue e de outros experimentos do projeto para estudar a doença. Você pode decidir participar ou não do estudo e pode sair dele em qualquer momento sem que haja nenhum problema para você em relação aos serviços médicos prestados pelo sistema de saúde de Atalaia do Norte. Se tiver a doença e não quiser participar do estudo, de qualquer forma será medicado seguindo o tratamento oficial do Ministério da Saúde. Você não receberá nenhum pagamento por participar desta pesquisa e também os procedimentos realizados não terão nenhum custo para você. Nosso grupo de pesquisa chegou a cada um dos lugares selecionados para o estudo. Por esse motivo não há necessidade de nenhum tipo de ressarcimento econômico para que os participantes de pesquisa se desloquem até o hospital. De outro lado, a maior parte de pesquisa será baseada na busca ativa nos próprios domicílios dos participantes.

Você pode sentir uma pequena dor no momento de coletar o exame de sangue e às vezes pode ficar um pouco roxo no local da coleta. Os pesquisadores cuidarão para que não existam problemas maiores nestes casos, pois eles são experientes e vão retirar o sangue com bastante cuidado. Para evitar que o braço fique roxo durante a coleta de sangue, as coletas serão realizadas unicamente pela pesquisadora Monica Palma Cuero, que está suficientemente bem treinada por ser bacterióloga de profissão e ter uma larga experiência com análises clínicas.

Se for encontrada alguma doença durante a entrevista, os pesquisadores encaminharão até o hospital onde será feito o diagnóstico e dados os medicamentos específicos. Às vezes os medicamentos específicos podem causar alguns problemas como mal-estar no estômago, vômito, diarreia, coceira ou manchas na pele; esses problemas, quando acontecem, são geralmente leves e passam sem precisar tomar mais medicamentos. Se o problema continuar ou piorar é preciso que retorne imediatamente ao posto de saúde ou hospital onde será examinado e receberá as orientações necessárias. Esperamos que você não tenha nenhum tipo de mal-estar como consequência da sua participação no estudo; se tiver alguma consequência negativa, será dada toda a assistência necessária no serviço de saúde até que fique bem. Nos responsabilizamos por todos os gastos relativos aos exames e procedimentos, bem como acompanhamento, tratamento e orientação enquanto necessários após assinatura deste termo. Não está previsto nenhum tipo de indenização por participar da pesquisa, mas asseguramos seu direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Também informamos que esta pesquisa não ira a produzir gastos ao seu plano de saúde (se tiver) ou ao SUS, e os pesquisadores se responsabilizam pelos gastos dos cuidados de rotina que sejam necessários dentro deste projeto após a assinatura do termo de consentimento. Os benefícios que você pode ter desta pesquisa tem a ver com receber tratamento sob supervisão de um pesquisador e se você continuar doente com malária ou se outra doença aparecer, saberemos rapidamente e isto poderá ser importante para a sua saúde. Também vamos saber se a população de Atalaia do Norte tem alguma susceptibilidade aumentada para ter ou para resistir a esta doença.

Qualquer informação sobre você será mantida em segredo absoluto por parte dos pesquisadores; seu nome não será usado em relatórios publicados; em vez disso serão usados códigos para ninguém conhecer as pessoas que fizeram parte da pesquisa. Todos os seus dados e também o material coletado serão utilizados unicamente esta pesquisa e uma parte do material será armazenado, para se for necessário, utilizarmos em estudos futuros. Em caso de necessidade, a cada nova pesquisa realizada pelos pesquisadores usando o material que está armazenado será necessário (a) apresentação de novo projeto de pesquisa para ser analisado e aprovado pelo Sistema CEP/Conep e (b) re consentimento do participante de pesquisa por meio de um TCLE específico referente ao novo projeto de pesquisa (ou, quando devidamente justificado, a obtenção de aprovação da dispensa do Termo pelo Comitê.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fiocruz é um grupo de pesquisadores que analisa e avalia projetos de pesquisa envolvendo seres humanos, a fim assegurar os direitos e a dignidade dos participantes da pesquisa como você. Além disso, o CEP contribui para a qualidade das pesquisas e para a discussão do papel da pesquisa da qual você participa no desenvolvimento social da comunidade. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) prepara e atualiza as normas para a proteção dos participantes da pesquisa e coordena a rede de Comitês de Ética em Pesquisa das instituições.

Este termo de consentimento está redigido em duas vias de igual teor; uma delas ficará com você e a outra será guardada pelos pesquisadores. Se decidir participar do estudo, você e o pesquisador deverão dar um visto em todas as páginas deste documento e assinarem a última página. Qualquer dúvida que você tenha em qualquer etapa do estudo pode ligar e entrar em contato com a Dra. Martha Cecília Suarez-Mutis - tel (21) 2562-1278/(21)99682-5379 ou com a pesquisadora Monica Palma Cuero - tel (098)5924388 / (97)3176466114 (na Colômbia) ou pelo e-mail monicapalma5@hotmail.com. Qualquer informação que você deseje saber, pode ser perguntada aos pesquisadores do estudo, tanto durante a pesquisa quanto em momentos futuros. Se você tiver também alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CEP) da Fundação Oswaldo Cruz/Instituto Oswaldo Cruz que funciona de segunda a sexta-feira das 8 às 15 horas, pelo telefone (21) 3882-9011. O CEP-Fiocruz fica na Avenida Brasil 4.036 sala 705 (Expansão) Manguinhos, Rio de Janeiro- RJ - CEP: 21.040-360, e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br ou entre em contato com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) de segunda a sexta-feira das 8 às 18 horas pelo telefone: (61) 3315-5878. O endereço do CONEP é SEPN 510 NORTE, BLOCO A, 3º Andar, Edifício Ex- INAN - Unidade II - Ministério da Saúde, bairro Asa Norte, CEP: 70750-521**

- Brasília-DF, e-mail: conep@saude.gov.br. Você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, que fica mais próximo a você de segunda a sexta-feira das 8 às 14 horas pelo telefone (92) 2127-3572. O endereço deste CEP é Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro cep: 69040-000 Manaus- Amazonas, e-mail: cep@fmt.am.gov.br.

Consentimento

Acredito ter sido bem informado sobre o estudo acima citado que li e que foram lidos para mim. Eu discuti com os pesquisadores sobre a minha

decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação não vai me gerar despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem qualquer prejuízo e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Além disso, estou ciente de que eu e os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa deveremos dar um visto em todas as folhas desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

Como está previsto que parte do material biológico será armazenado para se for necessário ser utilizado em estudos futuros, eu manifesto expressamente que:

1. () Não concordo em que parte do material biológico coletado seja armazenado para ser utilizado em estudos futuros;
2. () Concordo plenamente em que parte do material biológico coletado seja armazenado para ser utilizado em estudos futuros.

Nesse caso, manifesto que:

2. 1. () A cada nova pesquisa há necessidade de solicitar um novo consentimento de minha parte para utilizar este material biológico;
2. 2 () Dispensar a necessidade de solicitar novo consentimento em caso de uso deste material biológico para outra pesquisa.

Nome

Assinatura

Nome testemunha

Assinatura

Nome do pesquisador

Assinatura

Data: _____

Apendice 2.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – responsável pelo menor de 18 anos ESTUDO DA MALÁRIA ASSINTOMÁTICA NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Estamos convidando seu filho (ou menor de idade pelo qual você é responsável) a participar de um estudo de prevalência de casos e/o infecções Assintomáticas da malária na Amazônia Brasileira. A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) está realizando uma pesquisa em Atalaia do Norte para avaliar se há pessoas que estejam infectados com o parasito da malária e não apresentem sintomas e como isso pode impactar no controle da mesma nesse município e suas comunidades. O estudo é coordenado pela Dra. Martha Cecília Suarez Mutis do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, no Rio de Janeiro.

A participação do seu filho nesta pesquisa é voluntária. Se você permitir que seu filho faça parte desta pesquisa, vamos fazer algumas perguntas a ele (como nome, idade, local de moradia, quantas vezes teve malária, sintomas que sentiu, entre outras através de um questionário, isto levará cerca de 10 minutos), depois vamos coletar uma pequena amostra de sangue(5ml, o que equivale a uma colher de sopa) do seu filho. Esta quantidade de sangue é suficiente para a realização do exame de diagnóstico do parasito da malária no sangue e de outros experimentos do projeto para estudar a doença. Seu filho pode decidir participar ou não do estudo e pode sair dele em qualquer momento sem que haja nenhum problema para ele em relação aos serviços médicos prestados pelo sistema de saúde de Atalaia do Norte. Se seu filho tiver malária e não quiser participar do estudo, de qualquer forma será medicado seguindo o tratamento oficial do Ministério da Saúde. Seu filho não receberá nenhum pagamento por participar desta pesquisa e também os procedimentos realizados não terão nenhum custo para você ou seu filho. Nosso grupo de pesquisa chegara a cada um dos lugares selecionados para o estudo. Por esse motivo não há necessidade de nenhum tipo de ressarcimento econômico para que os participantes de pesquisa se desloquem até o hospital. De outro lado, a maior parte de pesquisa será baseada na busca ativa nos próprios domicílios dos participantes.

Seu filho pode sentir uma pequena dor no momento de coletar o exame de sangue e às vezes pode ficar um pouco roxo no local da coleta. Os pesquisadores cuidarão para que não existam problemas maiores nestes casos, pois eles são experientes e vão retirar o sangue com bastante cuidado. Para evitar que o braço fique roxo durante a coleta de sangue as coletas serão realizadas unicamente pela pesquisadora Monica Palma Cuero, que está suficientemente bem treinada por ser bacterióloga de profissão e ter uma larga experiência com análises clínicas. Se for encontrada alguma doença durante a entrevista, os pesquisadores encaminharão seu filho até o hospital onde será feito o diagnóstico e dados os medicamentos específicos. Às vezes os medicamentos específicos podem causar alguns problemas como mal-estar no estômago, vômito, diarreia, coceira ou manchas na pele; esses problemas, quando acontecem, são geralmente leves e passam sem precisar tomar mais medicamentos. Se o problema continuar ou piorar é preciso que seu filho retorne imediatamente ao posto de saúde ou hospital onde será examinado e receberá as orientações necessárias. Esperamos que seu filho não tenha nenhum tipo de mal-estar como consequência da sua participação no estudo; se tiver alguma consequência negativa, será dada toda a assistência necessária no serviço de saúde até que ele fique bem. Nos responsabilizamos por todos os gastos relativos aos exames e procedimentos, bem como acompanhamento, tratamento e orientação enquanto necessários após assinatura deste termo. Não está previsto nenhum tipo de indenização por participar da pesquisa, mas asseguramos seu direito e do seu filho de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Também informamos que esta pesquisa não irá a produzir gastos ao plano de saúde do seu filho (se tiver) ou ao SUS, e os pesquisadores se responsabilizam pelos gastos dos cuidados de rotina que sejam necessários dentro deste projeto após assinatura do termo de consentimento.

Os benefícios que seu filho pode ter desta pesquisa tem a ver com receber tratamento sob supervisão de um pesquisador e se seu filho continuar doente com malária ou se outra doença aparecer, saberemos rapidamente e isto poderá ser importante para a saúde do seu filho.

Qualquer informação sobre seu filho será mantida em segredo absoluto por parte dos pesquisadores; o nome do seu filho não será usado em relatórios publicados; em vez disso serão usados códigos para ninguém conhecer as pessoas que fizeram parte da pesquisa. Todos os dados do seu filho e também o material coletado serão utilizados para esta pesquisa e uma parte do material será armazenado, para se for necessário, utilizarmos em estudos futuros. A cada nova pesquisa realizada pelos pesquisadores com o sangue do seu filho coletado será apresentado um novo projeto de pesquisa a ser analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fiocruz e quando necessário, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e será pedido novo consentimento a você por meio de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (semelhante a este) referente ao novo projeto de pesquisa ou quando devidamente justificado, será obtida aprovação pelo Comitê de Ética a não necessidade de um novo TCLE.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fiocruz é um grupo de pesquisadores que analisa e avalia projetos de pesquisa envolvendo seres humanos, a fim assegurar os direitos e a dignidade dos participantes da pesquisa como você e seu filho. Além disso, o CEP contribui para a qualidade das pesquisas e para a discussão do papel da pesquisa da qual você participa no desenvolvimento social da comunidade. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) prepara e atualiza as normas para a proteção dos participantes da pesquisa e coordena a rede de Comitês de Ética em Pesquisa das Instituições.

Este termo de consentimento está redigido em duas vias de igual teor; uma delas ficará com você e a outra será guardada pelos pesquisadores. Se permitir que seu filho participe do estudo, você e o pesquisador deverão dar um visto em todas as páginas deste documento e assinarem a última página. Qualquer dúvida que você ou seu filho tenha em qualquer etapa do estudo pode ligar e entrar em contato com a Dra. Martha Cecília Suarez-Mutis - tel (21) 2562-1278/(21)99682-5379 ou com a pesquisadora Monica Palma cuero- tel (098)5924388 /(97) 3176466114 (na colômbia) ou pelo e-mail monicapalma5@hotmail.com.

Qualquer informação que você ou seu filho deseje saber, pode ser perguntada aos pesquisadores do estudo, tanto durante a pesquisa quanto em momentos futuros. Se você ou seu filho tiver também alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CEP) da Fundação Oswaldo Cruz/Instituto Oswaldo Cruz que funciona de segunda a sexta-feira das 8 às 15 horas, pelo telefone (21) 3882-9011. O CEP-Fiocruz fica na Avenida Brasil 4.036 sala 705 (Expansão) Manguinhos, Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360, e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br ou entre em contato com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) de segunda a sexta-feira das 8 às 18 horas pelo telefone: (61) 3315-5878. O endereço do CONEP é SEPN 510 NORTE, BLOCO A, 3º Andar, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde, bairro Asa Norte, CEP: 70750-521 - Brasília-DF, e-mail: conep@saude.gov.br. Você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, que fica mais próximo a você de segunda a sexta-feira das 8 às 14 horas pelo telefone (92) 2127-3572. O endereço deste CEP é Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro CEP: 69040-000 Manaus-Amazonas, e-mail: cep@fmt.am.gov.br.**

Consentimento

Acredito ter sido bem informado sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidos para mim. Eu discuti com os pesquisadores sobre a minha decisão em permitir que meu filho participe deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação do meu filho não vai me gerar despesas e que ele tem a garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente que meu filho participe deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem qualquer prejuízo e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que meu filho possa ter adquirido. Além disso, estou ciente de que eu e os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa deveremos dar um visto em todas as folhas desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

Como está previsto que parte do material biológico será armazenado para se for necessário ser utilizado em estudos futuros, eu manifesto expressamente que:

1. () Não concordo em que parte do material biológico coletado do meu filho seja armazenado para ser utilizado em estudos futuros;
2. () Concordo plenamente em que parte do material biológico coletado do meu filho seja armazenado para ser utilizado em estudos futuros.

Nesse caso, manifesto que:

2. 1. () A cada nova pesquisa há necessidade de solicitar um novo consentimento de minha parte para utilizar este material biológico;
2. 2 () Dispensar a necessidade de solicitar novo consentimento em caso de uso deste material biológico para outra pesquisa.

Nome

Assinatura

Nome testemunha

Assinatura

Nome do pesquisador

Assinatura

Data: _____

Apêndice 3

TERMO DE ASSENTIMENTO (8-12 anos) ESTUDO DA MALÁRIA ASSINTOMÁTICA NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Estamos convidando-o a participar de um estudo sobre os organismos que causam a malária nas pessoas. Queremos saber se há pessoas que estão com esse micróbio e que precisam ser curadas para ajudar a evitar essa doença, aqui onde você vive. Este estudo está sendo realizado pelo Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) do Rio de Janeiro e é coordenado pela Dra. Martha Cecília Suarez Mutis, que trabalha neste mesmo laboratório. Eu, Monica Palma Cuero, faço parte da equipe de pesquisa e também trabalho no mesmo Laboratório da dra. Martha.

Você pode escolher se quer participar ou não. Falamos deste estudo com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você quer participar do estudo, seus pais ou responsáveis também vão ter que concordar. Mas se você não quiser fazer parte do estudo, não é obrigado, até mesmo se seus pais quiserem.

Se você concordar em participar deste estudo, vamos lhe fazer algumas perguntas, vamos a examiná-lo e depois vamos coletar uma pequena amostra de sangue (uma colher de sopa) estudar os organismos que causam a malária.

Você pode sentir uma pequena dor no momento de tirar o sangue e às vezes pode ficar um pouco roxo no local da coleta. Para evitar que o braço fique roxo durante a coleta de sangue, as coletas serão realizadas unicamente pela pesquisadora Monica Palma Cuero, que está suficientemente bem treinada por ser bacterióloga de profissão e ter uma larga experiência com análises. Os trabalhadores do estudo são pessoas muito boas e vão cuidar muito bem de você. Se for encontrada alguma doença em você, os trabalhadores do estudo vão levar você até o hospital e você será tratado. Todos os dias vai ter uma pessoa no serviço de saúde para te ajudar caso você precise.

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não vamos dar nenhuma informação sobre você para qualquer um que não trabalha no estudo.

Todas as suas informações e também o sangue coletado serão utilizados para este estudo e uma parte do material vai ser armazenado, para se for necessário, utilizarmos em estudos futuros.

Você não precisa participar desta pesquisa. Ninguém ficará chateado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode dizer "sim" agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem.

Por favor, diga-me se você quer participar.

Você pode perguntar qualquer dúvida agora ou em qualquer etapa do estudo entrando em contato com a Dra. Martha Cecília Suarez-Mutis - tel (21) 25621278 / (21) 99682-5379, Ela vive no Rio de Janeiro e trabalha na Fiocruz ou à pesquisadora Monica Palma Cuero- tel (21) 965295815 quem faz parte da equipe da pesquisa. Este termo de assentimento é feito em duas vias, e deverá ser assinado nas duas, ficando uma retida com o pesquisador responsável /pessoa por ele delegado e a outra com o participante de pesquisa /responsável legal.

Se decidir participar do estudo, você ou seu representante legal e a pesquisadora deverão dar um visto em todas as páginas deste documento e assinarem a última página.

Confirmação do Assentimento

Eu entendi para que serve o estudo. Eu também entendi que caso seja necessário, vou receber o tratamento com acompanhamento dos trabalhadores do estudo e que eu darei um pouco do meu sangue através de picada no braço.

Nome da criança/adolescente

Assinatura

Nome do responsável

Assinatura

Nome do pesquisador

Assinatura

Data: _____

Apêndice 4

TERMO DE ASSENTIMENTO (13-17 anos) ESTUDO DA MALÁRIA ASSINTOMÁTICA NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Estamos convidando-o a participar de um estudo sobre a malária assintomática e a diversidade genética dos três parasitos (*Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malariae*) causadores da malária no Brasil. Este estudo está sendo realizado pelo Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) do Rio de Janeiro e coordenado pela Dra. Martha Cecília Suarez Mutis, que trabalha neste mesmo laboratório. Eu, Monica Palma Cuero, faço parte da equipe de pesquisa e também trabalho no mesmo Laboratório da dra. Martha.

Você pode escolher se quer participar ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você quiser participar da pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem.

Se você concordar em participar deste estudo, vamos lhe fazer algumas perguntas como nome, idade, local de moradia, quantas vezes teve malária, sintomas que sentiu, entre outras através de um questionário, isto levará cerca de 10 minutos), depois vamos coletar uma pequena amostra de sangue (5ml, o que equivale a uma colher de sopa).

Você pode sentir uma pequena dor no momento de coletar o exame de sangue e as vezes pode ficar um pouco roxo no local da coleta. Os pesquisadores cuidarão para que não existam problemas maiores nestes casos. Para evitar que o braço fique roxo durante a coleta de sangue, as coletas serão realizadas unicamente pela pesquisadora Monica Palma Cuero, que está suficientemente bem treinada por ser bacterióloga de profissão e ter uma larga experiência com análises. Se for encontrada alguma doença durante a entrevista, os pesquisadores o encaminharão até o hospital onde será feito o diagnóstico e dados os medicamentos específicos para que fique bom. Todos os dias haverá uma pessoa no serviço de saúde disposto a ajudar você, se precisar.

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não vamos dar nenhuma informação sobre você para qualquer um que não trabalha na pesquisa. As informações sobre você serão coletadas na pesquisa e ninguém, somente os pesquisadores poderão ter acesso a elas. Qualquer informação sobre você terá um número ao invés de seu nome. Só os investigadores saberão qual é o seu número e manteremos em segredo.

Todos os seus dados e também o material coletado serão utilizados para esta pesquisa e uma parte do material será armazenado, para se for necessário, utilizarmos em estudos futuros. Nesse caso vamos pedir seu consentimento novamente ou a depender do caso, falaremos como Comitê de ética para pedir dispensa, se for necessário.

Você não tem que participar nesta pesquisa. Ninguém estará furioso ou desapontado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode dizer "sim" agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem.

Por favor, diga-me se você quer participar.

Você pode perguntar qualquer dúvida agora ou em qualquer etapa do estudo entrando em contato com a Dra. Martha Cecília Suarez-Mutis - tel (21) 25621278 / (21) 99682- 5379, ela vive no Rio de Janeiro e trabalha na Fiocruz ou a pesquisadora Monica Palma cuero- tel (21) 965295815 quem faz parte da equipe da pesquisa. Este termo de assentimento é feito em duas vias, e deverá ser assinado nas duas, ficando uma retida com o pesquisador responsável/pessoa por ele delegado e a outra com o participante de pesquisa/responsável legal. Se decidir participar do estudo, você ou seu representante legal e o pesquisador deverão dar um visto em todas as páginas deste documento e assinarem a última página.

Confirmação do Assentimento

Eu entendi os propósitos da pesquisa. Eu também entendi que receberei o tratamento com acompanhamento dos pesquisadores e que eu darei uma amostra de sangue através da coleta na veia do braço.

Nome da criança/adolescente

Assinatura

Nome do responsável

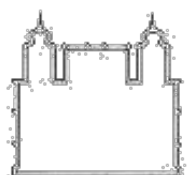
Assinatura

Nome do pesquisador

Assinatura

Data: _____

Apêndice 5



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz –
Laboratório de Doenças Parasitárias



ESTUDO DAS INFECÇÕES ASSINTOMÁTICAS POR *PLASMODIUM SPP.* NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Instruções ao preencher: O campo **Número de Registro** deverá ser composto pelas iniciais do bairro/localidade onde o participante mora (duas letras), seguido do número da família (com três dígitos), mais o número do paciente (dois dígitos) e o ano de 2017. Exemplo: ss023.04/17 (bairro de São Sebastião, família 023, paciente 04, /17 = ano de 2017).

1.Nome: _____

2.Código: _____ 3- Data: _____

4.Sexo: () Masculino () Feminino 5- Idade: _____ 6- Data de nascimento ____/____/____

7- Estado e Município de nascimento: _____

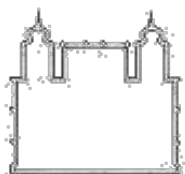
8- Nome da localidade ou comunidade de nascimento (bairro, igarapé, comunidade, etc):

() Urbano () Rural

9- Estado e Município de residência atual:

10- Endereço/nome da localidade ou comunidade de residência atual (bairro, igarapé, comunidade, etc):

() Urbano () Rural



11. Há quanto tempo mora na localidade ou comunidade atual? (Bairro, igarapé, comunidade, etc)

12. Residências anteriores: _____

13. Viagens para fora do Amazonas (local - data e período que ficou) : _____

14.1- Ocupação atual: _____ 14.2- Lugar de trabalho _____

() urbano () rural

15. Alguma vez teve malária? () Sim () Não 16. Número de vezes que teve malária _____

17- Quando foi a última malária?

Ano _____ Mês _____ Lugar _____ Estado _____

18. Está com malária no momento atual? () Sim () Não

Especie _____

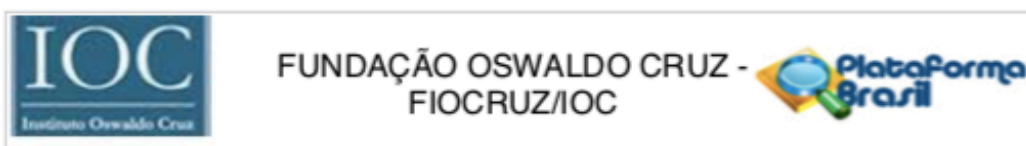
Tratamento _____ Data de início do tratamento _____

19- Tem algum dos seguintes sintomas?

	Sim	Não	Se respondeu sim, a intensidade é		
			leve	mediana	intensa
Febre					
Dor de cabeça					
Tremor (Calafrio)					
Moleza					
Diarreia					
Suor					
Vômito					
Enjôo					
Outro (Qual):					

20- Observações: _____

ANEXO 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA MALÁRIA ASSINTOMÁTICA NO VALE DO RIO JAVARI, AMAZONAS

Pesquisador: Martha Cecilia SuárezMutis

Área Temática: Estudos com populações indígenas;

Versão: 5

CAAE: 74999617.7.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa:

Data do Envio: 13/05/2019

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.386.831

Apresentação da Notificação:

Trata-se de uma Notificação, datada de 31/01/2019, para Apresentar o Relatório parcial do projeto "Estudo da malária assintomática no Vale do Rio Javari, Amazonas". O projeto está previsto para finalizar em 24/01/2020. Segundo a pesquisadora principal, o projeto está em fase de inclusão de participantes, até o momento foram incluídos 109 de 268 previstos. Não foram apresentados resultados parciais em eventos científicos nem em publicações.

Objetivo da Notificação:

Apresentar Relatório Parcial de projeto

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

A Notificação apresentada cumpriu a Resolução 466 de 2012 do CNS.

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 3.386.831

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentada e avaliada a Notificação do Relatório Parcial.

Recomendações:

Apresentar Relatório e publicações ao finalizar o projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foi apresentado relatório parcial dentro dos moldes e parâmetros solicitados. A pesquisadora atendeu a todos os itens que constam no modelo de relatório.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP Fiocruz/IOC), em sua 250ª Reunião Ordinária, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 510 de 2016, na Resolução CNS 466/12 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se por APROVAR a Notificação para o envio do Relatório Parcial.

Cabe ressaltar que a responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

O pesquisador principal deverá apresentar os Relatórios parciais e, ao término do projeto, o Relatório Final com comprovação das divulgações por meio de publicações e apresentações em eventos científicos.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	RELATORIO_PARCIAL_1_RIO_JAVARI.pdf	13/05/2019 16:25:45	Martha Cecilia SuárezMutis	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 3.386.831

RIO DE JANEIRO, 12 de Junho de 2019

Assinado por:
Maria Regina Reis Amendoira
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 03 de 03

