

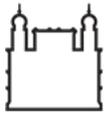
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**MOSQUITEIROS IMPREGNADOS COM INSETICIDAS DE  
LONGA DURAÇÃO NO CONTROLE DA MALÁRIA NO  
AMAZONAS: PERCEPÇÃO DA POPULAÇÃO EM ÁREAS DE  
RISCO E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DOS  
VETORES AO INSETICIDA**

**ELDER AUGUSTO GUIMARÃES FIGUEIRA**

**Rio de Janeiro  
Outubro de 2022**



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**ELDER AUGUSTO GUIMARÃES FIGUEIRA**

**MOSQUITEIROS IMPREGNADOS COM INSETICIDA DE LONGA  
DURAÇÃO NO CONTROLE DA MALÁRIA NO AMAZONAS:  
PERCEPÇÃO DA POPULAÇÃO EM ÁREAS DE RISCO E  
AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DOS  
VETORES AO INSETICIDA**

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

**Orientador: Prof. Dr. José Bento Pereira Lima**  
**Coorientadora: Profa. Dra. Martha Cecília Suárez-Mutiz**

**Rio de Janeiro**  
**Outubro de 2022**

Figueira, Elder Augusto Guimarães.

Mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração no controle da malária no Amazonas: percepção da população em área de risco e avaliação do perfil de susceptibilidade dos vetores ao inseticida / Elder Augusto Guimarães Figueira. - Rio de Janeiro, 2022.

xix, 89 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2022.

Orientador: José Bento Pereira Lima.

Co-orientadora: Martha Cecília Suárez-Mutiz.

Bibliografia: f. 64-74

1. malária. 2. mosquiteiros impregnados. 3. resistência kdr. 4. Amazonas.  
I. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/Icict/Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Igor Falce Dias de Lima - CRB-7/6930.



INSTITUTO OSWALDO CRUZ  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**Autor: ELDER AUGUSTO GUIMARÃES FIGUEIRA**

**MOSQUITEIROS IMPREGNADOS COM INSETICIDA DE LONGA DURAÇÃO NO CONTROLE DA MALÁRIA NO AMAZONAS: PERCEPÇÃO DA POPULAÇÃO EM ÁREAS DE RISCO E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DOS VETORES AO INSETICIDA**

**Orientador: Prof. Dr. José Bento Pereira Lima**  
**Coorientadora: Profa. Dra. Martha Cecília Suárez-Mutiz**

**Aprovada em:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**EXAMINADORES:**

Prof. Dr. Jerônimo Augusto Fonseca Alencar (Fiocruz/IOC) – Revisor e Presidente  
Dra. Paola Barbosa Marchesini (Ministério da Saúde) - Membro  
Dr. Ricardo Augusto dos Passos (Ministério da Saúde) - Membro  
Dr. José Ferreira Saraiva (IEPA/AP) - Suplente  
Prof. Dra. Teresa Fernandes Silva do Nascimento (Fiocruz/IOC) - Suplente

Rio de Janeiro, 03 de outubro de 2022



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## ATA DA DEFESA



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de tese de doutorado acadêmico em Medicina Tropical de **Elder Augusto Guimarães Figueira**, sob orientação do Dr. José Bento Pereira Lima e da Dr<sup>a</sup>. Martha Cecilia Suárez Mutis. Ao terceiro dia do mês de outubro de dois mil e vinte e dois, realizou-se às nove horas, de forma síncrona remota, o exame da tese de doutorado acadêmico intitulada: **"Mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração no controle da malária no Amazonas: percepção da população em áreas de risco e avaliação do perfil de susceptibilidade dos vetores ao inseticida"**, no programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor 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. Jeronimo Augusto Fonseca Alencar – IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr. José Ferreira Saraiva – IEPA/AP, Dr. Ricardo Augusto dos Passos – Ministério da Saúde/DF, e como suplentes: Dr<sup>a</sup>. Teresa Fernandes Silva do Nascimento - IOC/FIOCRUZ e Dr<sup>a</sup>. Paola Barbosa Marchesini - Ministério da Saúde/DF. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo 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 acadêmico. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutor em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Presidente da Banca atesta a decisão e a participação do aluno e de todos o membros da banca de forma síncrona remota. A Coordenadora do Programa Dr<sup>a</sup>. Vanessa Salete de Paula, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 3 de outubro de 2022.

Dr. Jeronimo Augusto Fonseca Alencar (Presidente da Banca):

Dr<sup>a</sup>. Vanessa Salete de Paula (Coordenadora do Programa):

*Dedico esse trabalho aos milhares de Agentes de Combate às Endemias do Amazonas, que quase sempre sem condições ideais trabalham pesado e com muita dedicação levam saúde aos povos da floresta, contribuindo para que seja possível viver na Amazônia sem adoecer por malária.*

*#EliminaMaláriaBrasil  
#EliminaMaláriaAmazonas*

## AGRADECIMENTOS

“Não há no mundo exagero mais belo que a gratidão”

*Jean de la Bruyere*

Agradeço todo o incentivo de meus pais, Antônio Edmar Lopes Figueira e Eleni Maria das Graças Guimarães Figueira, professores, mestres, que sempre acreditaram na educação como o caminho correto para o crescimento pessoal e profissional. Eles sempre estiveram certos.

Aos meus irmãos Eymar, Euler e Éder, pelos momentos de descontração e pelo carinho, mesmo que as vezes tenhamos uma imensa dificuldade de expressar o quanto nos amamos, eu sei que ele está lá no fundinho da alma, e sei que posso contar com vocês hoje e sempre.

À minha esposa Roseilza Souza do Vale, minha amada companheira de todas as horas, presente em todas as batalhas, tentando sempre mostrando o bom caminho na vida, mesmo que o teimoso aqui não os siga o tanto quanto deveria.

Aos meus amados filhos Ilze Marina e Antônio Pedro, as melhores partes de mim. Obrigado pelo amor expresso nos olhares mais profundos, nos abraços mais afetuosos. Eu estarei aqui com vocês até a eternidade.

Malária é paixão. Agradeço meus mestres que me apresentaram esse desafio apaixonante e que continuam sendo referências profissionais no meu caminho: Ana Carolina Santelli, Paola Marchesini, Marcus Lacerda, André Siqueira, Wanderly Tadei (*in memoriam*), Maria Anice Sallum, Edvaldo Rocha, Romeo Fialho, Wagner Terrazas, Eurenice Neves e Ana Ruth Arcanjo.

Aos meus diretores, chefes e amigos, com os quais tive a honra de trabalhar e aprender, Dr. Bernardino Albuquerque, Dra. Rosemary Costa Pinto (*in memoriam*) e Dr. Cristiano Fernandes. Obrigado pelo incentivo, ensinamentos e por acreditarem no meu potencial profissional.

Aos atuais diretores da FVS-RCP, meus jovens amigos, que em um dos momentos mais difíceis para a saúde pública desse estado, corajosamente aceitaram o desafio e nos trouxeram mais vigor dando novos rumos para a Fundação de Vigilância em Saúde. Obrigado Dra. Tatyana Amorim e Dr. Daniel Barros pelo incentivo e amizade.

Agradeço a minha melhor amiga, Myrna Barata. Quem a conhece sabe por que estou agradecendo. A melhor amiga que alguém pode ter. Uma profissional dedicada, competente, exemplar. Minha referência em vigilância da malária na Amazônia. Obrigado por tudo.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho na luta contra malária no Amazonas, sem os quais tudo que temos avançado seria impossível: Sampaio Rosas, João Pinheiro Júnior, Heine Teixeira, Gilson Rodrigues, Josielen Amorim, Jaidson Becker, José Edilson Guimarães, Emily Marcele, Magno Almeida, Laudelino Dinelly e Genesi Oliveira, e aos muitos outros que passaram pela GDTV-Malária.

Obrigado pelo apoio dos Apoiadores! Em 2022 comemoramos 10 anos do *Projeto Apoiadores Municipais para o Controle da Malária na Região Amazônica*, uma iniciativa do Ministério da Saúde que leva apoio técnico aos municípios mais distantes e com maior carga de doença, ofertando apoio local e capacidade técnica aos gestores municipais para que as estratégias de controle da malária sejam discutidas sob a luz das recomendações mais atuais da OMS e OPAS. Obrigado meus amigos por toda dedicação. Parabéns, Marcela Dourado pela condução nem sempre fácil, aliás quase sempre difícil.

Agradeço aos melhores apoiadores que o Amazonas teve a honra de receber: Douglas Moura e Márcio Fabiano. Profissionais excelentes! Amigos necessários! Muito obrigado por toda ajuda no desenvolvimento do projeto, e mais ainda pelo convívio nas viagens de campo.

Ao meu amigo e conterrâneo Patrick Machado Barbosa agradeço o apoio com as análises do SIVEP-Malária. Pará é um excelente profissional, tens um futuro brilhante.

Aos secretários municipais de saúde e gerentes municipais de controle de endemias, agradeço todo apoio da distribuição dos mosquiteiros, apoio com a logística, e pelo trabalho em parceria que temos desenvolvido por muitos anos. Vamos vencer essa luta, contem sempre comigo, e com o comprometimento da FVS-RCP.

Obrigado aos muitos profissionais que dedicaram anos de suas vidas contribuindo para diminuir a carga de malária nos municípios e o sofrimento dos amazonenses com essa doença secular. Em especial aos milhares de Agentes de Combate às Endemias, por vezes não reconhecidos na grandeza de sua missão, são trabalhadores que sem ter condições ideais conseguem com muito esforço melhorar a vida da população. Mais que agradecer quero registrar minha admiração e parabenizá-los.

Agradeço aos meus orientadores, Dr. José Bento Pereira Lima e Dra. Martha Cecilia Suárez Mutis, pelos conselhos, ensinamentos, apoio técnico e científico e principalmente por não me deixarem desistir.

Aos técnicos da Subgerência de Entomologia da FVS/RCP, Dra. Érica Chagas, Cátia Mendonça, Enes Libório, Íria Cabral, Rayner Neuber, Marcos Bernardes, Eugênia, Ivaneide, Evaldo, Benedita, pelo apoio nas ações de campo e testes com anofelinos.

Agradeço ao apoio do Laboratório de Malária e Dengue do INPA, na pessoa do saudoso Dr. Wandely Tadei, Dra. Rosemary Roque e minha amiga Rejane Simões, pelo fornecimento de exemplares de anofelinos para realização dos testes.

A Dra. Cláudia Rios da Fiocruz Amazônia (ILMD) pelo fornecimento de anofelinos para os testes entomológicos.

Ao Dr. Ademir de Jesus Martins Júnior e minha amiga Bárbara Souza pelo apoio no processamento e análises moleculares no LAFICAVE.

Agradeço a Deus por ter me conduzido até aqui. *Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor determina seus passos. (Provérbios, 16:9).*

### ***Características de um Tropicalista***

*Visão abrangente de ecologia, geografia médica, epidemiologia e clínica de doenças infecciosas e parasitárias.*

*Conhecimentos básicos de parasitologia, microbiologia, entomologia e imunopatologia.*

*Deve ter bom preparo físico e nunca ter tido torção do tornozelo.*

*Se veste com simplicidade e gosta de dormir em rede, tomar banho frio, viajar e comer bem.*

*Conhece várias marcas de cachaça e entre os refrigerantes só toma cerveja.*

*Raramente é monogâmico, entretanto, é sensível, ciumento e adora a mulher e os filhos.*

José Rodrigues Coura, 1987

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

# MOSQUITEIROS IMPREGNADOS COM INSETICIDA DE LONGA DURAÇÃO NO CONTROLE DA MALÁRIA NO AMAZONAS: PERCEPÇÃO DA POPULAÇÃO EM ÁREAS DE RISCO E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DOS VETORES AO INSETICIDA

## RESUMO

### TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

### ELDER AUGUSTO GUIMARÃES FIGUEIRA

O controle e eliminação da malária continuam sendo um desafio, a OMS estima um total de 241 milhões de casos de malária em todo o mundo no ano de 2020, estando distribuídos em 85 países endêmicos. Em 2021 o Brasil notificou 138.598 casos de malária autóctone o que representa uma redução de 77,5% se comparado o ano 2000. O Amazonas é o estado que concentra a maioria dos casos de malária do Brasil, em 2021 foi responsável por aproximadamente 44% casos de todo o país, com 61.165 casos. Os resultados alcançados com a redução em todo o mundo, evidenciam a possibilidade de eliminação desse agravo, desde que sejam utilizadas estratégias adequadas aos contextos locais de transmissão. Um dos pilares para o controle adequado da malária é o controle vetorial, que objetiva evitar o contato dos vetores com a população humana susceptível, por meio da eliminação de mosquitos infectados. Uma das estratégias amplamente utilizada para o controle de vetores são os mosquiteiros impregnados com inseticida de longa duração (MILDs). Nesse estudo foi avaliada a eficácia dos MILDs para o controle da malária em municípios do estado do Amazonas, investigando o impacto da utilização dessa ferramenta na redução de casos, além de descrever a percepção da população residente nas áreas de risco a respeito da eficácia dos mosquiteiros. Foram avaliados aspectos relacionados a durabilidade e persistência do inseticida na malha dos MILDs. Investigou-se a presença de marcadores moleculares relacionados à resistência aos piretróides. Foram instalados 23.219 mosquiteiros, nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga, entre junho de 2016 e julho de 2017. Em números absolutos houve uma redução de -52,2% dos casos de malária no grupo de municípios avaliados, entre 2015 e 2019. A população atendida entende a importância do uso dos MILDs para proteção individual, e demonstrou adequada adesão à ferramenta de controle, mas fica evidente que ações de educação em saúde na rotina de visitas domiciliares são necessárias para garantir o uso diário, além do correto manuseio e manutenção para melhorar a durabilidade e eficácia. A mortalidade dos mosquitos expostos ao contato com os MILDs apresentou resultados abaixo do esperado, após 12 meses de uso a mortalidade média caiu para 50% dos expostos, depois de 24 meses a mortalidade foi inferior a 6%. As análises moleculares nos mosquitos coletados nos quatro municípios incluídos nesse estudo não evidenciaram a presença de mutações que favorecem a ocorrência da resistência *kdr*, são necessários estudos mais amplos para investigar a presença de resistência metabólica nas populações de mosquitos da Amazônia brasileira. Conclui-se que mosquiteiros impregnados são uma estratégia com boa adesão para o controle da malária, entretanto a redução dos casos não pode ser atribuída unicamente ao uso de mosquiteiros, que deve ser entendido com uma estratégia complementar e que seu impacto positivo é alcançado desde que utilizado de forma integrada, especialmente com diagnóstico e tratamento oportuno e adequado. Estudos mais abrangentes que avaliem a resistência dos mosquitos vetores são necessários, dando segurança aos gestores de que estes estão usando estratégias de controle eficazes, além de garantia a proteção adequada da população atendida.

Palavras-chave: malária, mosquiteiros impregnados, resistência *kdr*, Amazonas.

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

### **LONG-LASTING INSECTICIDAL NETS (LLINS) IN THE CONTROL OF MALARIA IN THE AMAZON: PERCEPTION OF THE POPULATION IN RISK AREAS AND ASSESSMENT OF THE SUSCEPTIBILITY PROFILE OF VECTORS TO THE INSECTICIDE**

#### **ABSTRACT**

#### **PHD THESIS IN TROPICAL MEDICINE**

#### **ELDER AUGUSTO GUIMARÃES FIGUEIRA**

Malaria control and elimination remains a challenge. The WHO estimates a total of 241 million cases of malaria worldwide in 2020, distributed in 85 endemic countries. In 2021, Brazil reported 138,598 cases of autochthonous malaria, which represents a reduction of 77.5% compared to the year 2000. Amazonas is the state that concentrates most cases of malaria in Brazil, in 2021 it was responsible for approximately 44% cases from across the country, with 61,165 cases. The results achieved with the reduction all over the world, show the possibility of eliminating this problem, provided that appropriate strategies are used in the local contexts of transmission. One of the pillars for the adequate control of malaria is vector control, which aims to avoid the contact of vectors with the susceptible human population, through the elimination of infected mosquitoes. One of the widely used strategies for vector control is long-lasting insecticide-impregnated bed nets (LLINs). In this study, the effectiveness of LLINs for malaria control in municipalities in the state of Amazonas was evaluated, investigating the impact of using this tool in reducing cases, in addition to describing the perception of the population residing in risk areas regarding the effectiveness of mosquito nets. . Aspects related to the durability and persistence of the insecticide in the LLIN network were evaluated. The presence of molecular markers related to pyrethroid resistance was investigated. 23,219 mosquito nets were installed in the municipalities of Eirunepé, Lábrea, Manaus and Tabatinga between June 2016 and July 2017. In absolute numbers, there was a -52.2% reduction in malaria cases in the group of municipalities evaluated, between 2015 and 2019. The population served understands the importance of using LLINs for individual protection, and showed adequate adherence to the control tool, but it is evident that health education actions in the routine of home visits are necessary to ensure daily use, in addition to correct handling and maintenance to improve durability and effectiveness. The mortality of mosquitoes exposed to contact with LLINs presented results below expectations, after 12 months of use the average mortality dropped to 50% of those exposed, after 24 months the mortality was less than 6%. Molecular analyzes on the mosquitoes collected in the four municipalities included in this study did not show the presence of mutations that favor the occurrence of kdr resistance, and broader studies are needed to investigate the presence of metabolic resistance in mosquito populations in the Brazilian Amazon. It is concluded that impregnated mosquito nets are a strategy with good adherence for the control of malaria, however the reduction of cases cannot be attributed solely to the use of mosquito nets, which must be understood as a complementary strategy and that its positive impact is achieved as long as used in an integrated manner, especially with timely and appropriate diagnosis and treatment. More comprehensive studies that assess the resistance of vector mosquitoes are needed, giving managers confidence that they are using effective control strategies, in addition to ensuring adequate protection of the population served.

Keywords: malaria, impregnated mosquito nets, kdr resistance, Amazon.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Marco teórico .....</b>	<b>5</b>
2.1. Estratégias técnicas para Controle e Eliminação da Malária .....	5
2.2. Malária no Amazonas .....	12
2.3. Aspectos Gerais da Malária.....	17
2.4. Ciclo de vida do Plasmódio .....	17
2.5. Os Vetores da Malária .....	20
2.6. Controle Vetorial .....	26
2.7. Resistência dos Anofelinos aos inseticidas .....	29
2.8. Uso de Mosquiteiros Impregnados e Controle da Malária .....	30
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>33</b>
3.1. Objetivo Geral .....	33
3.2. Objetivos Específicos .....	33
<b>4. Materiais e Métodos.....</b>	<b>34</b>
4.1. Área de estudo .....	34
4.2. Método .....	35
4.3. Avaliação de Conhecimentos, Práticas e Atitudes .....	37
4.4. Avaliação de uso, retenção e durabilidade dos mosquiteiros .....	37
4.5. Avaliação entomológica .....	38
4.5.1. Coleta das populações de anofelinos para bioensaios .....	38
4.5.2. Bioensaio com realização de prova do cone.....	39
4.6. Análises moleculares relacionadas à resistência.....	41
<b>5. Metodologia de Análise de Dados.....</b>	<b>42</b>
5.1. Análises de dados .....	42
<b>6. Aspectos Éticos .....</b>	<b>42</b>
<b>7. Resultados .....</b>	<b>43</b>
7.1. Uso do mosquiteiro e redução dos casos de malária .....	44
7.2. Conhecimentos, atitudes e práticas .....	46
7.3. Atividade inseticida nos mosquiteiros - Bioeficácia .....	50
7.4. Investigação de mutações gênicas relacionadas à resistência aos piretróides.....	52
<b>8. Discussão.....</b>	<b>55</b>
<b>9. Conclusões.....</b>	<b>62</b>
<b>10. Perspectivas.....</b>	<b>63</b>
<b>11. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>64</b>

<b>12. Apêndices .....</b>	<b>75</b>
12.1. Formulário CAP.....	75
12.2. TCLE - usuários.....	81
12.3. TCLE – agentes de captura .....	82
12.4. Recibo de Instalação dos MILDs .....	83
12.5. Termo de Recusa .....	83
<b>13. Anexos.....</b>	<b>84</b>
13.1. Parecer Comitê de Ética FIOCRUZ.....	84

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Pilares da Estratégia Técnico Global para eliminação da malária. Fonte: OMS, 2021.....6
- Figura 2:** Diagrama de classificação de risco de adoecer por malária, segundo a Incidência Parasitária Anual (IPA). .....8
- Figura 3:** Estratos epidemiológicos estabelecidos pelo Plano Nacional de Eliminação da Malária 2022. Fonte: Ministério da Saúde do Brasil, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/malaria/elimina-malaria-brasil-plano-nacional-de-eliminacao-da-malaria/view>. Acessado em 18/08/2022. ....9
- Figura 4:** Número de casos de malária por município no Brasil, casos notificados em 2020 e estimativas 2025 e 2030 segundo Plano Nacional de Eliminação (Bloco A). Casos autóctones de malária por *Plasmodium falciparum* nos municípios do Brasil em 2020 e estimativa para 2025 (Bloco B). Fonte: Ministério da Saúde, 2022. .... 11
- Figura 5:** Incidência parasitária anual dos municípios do estado do Amazonas, entre os anos de 2015 e 2020. Fonte: SIVEP-Malária, 2022..... 14
- Figura 6:** Série histórica dos casos de malária no Amazonas entre os anos de 2003 e 2021, destacando as notificações autóctones de casos de malária por *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*. Fonte: SIVEP-Malária, Ministério da Saúde (2022). ..... 15
- Figura 7:** Proporção de casos de malária por áreas especiais no Amazonas entre os anos de 2015 a 2020. Destacando os recentes aumentos de participação das notificações em áreas indígenas e áreas de garimpo. Fonte: SIVEP-Malária, Ministério da Saúde (2022). ..... 15
- Figura 8:** Ciclo de vida do *Plasmodium* sp. (Adaptado de MMV: Medicines for Malaria Venture; Disponível em <https://www.mmv.org/malaria-medicines/parasite-lifecycle>; Acessado em 05/08/2022). ..... 19
- Figura 9:** Ciclo de vida dos anofelinos. Adaptado de CDC/USA. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mosquitoes/es/about/life-cycles/anopheles.html>. Acessado em 05/08/2022.....21
- Figura 10:** Distribuição Global das espécies dominantes ou de importância médica na transmissão da malária. Adaptado de From Kiszewski et al., 2004. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 70(5):486-498. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/map.html>. Acessado em 15/08/2022.....23
- Figura 11:** Áreas de estudo, destacando os municípios onde foram monitorados os mosquiteiros impregnados. ....35
- Figura 12:** Aplicação do formulário CAP com moradora do município de Lábrea.....37
- Figura 13:** Aplicação do CAP com moradores da área rural de Manaus. ....37

<b>Figura 14:</b> Seleção das amostras de mosquiteiros para serem testadas em bioensaios..	40
<b>Figura 15:</b> Realização dos ensaios com exposição dos mosquitos ao contato com os mosquiteiros impregnados. ....	40
<b>Figura 16:</b> Retirada dos mosquitos expostos após o tempo de exposição para o repouso e posterior contagem dos espécimes mortos. ....	40
<b>Figura 17:</b> Exposição dos mosquitos com detalhe para os mosquitos não-expostos a inseticida (controle negativo). ....	40
<b>Figura 18:</b> Aspecto geral das moradias nas localidades em que foram instalados os mosquiteiros. ....	44
<b>Figura 19:</b> Codificação dos mosquiteiros para instalação e posterior monitoramento ..	44
<b>Figura 20:</b> Instalação de mosquiteiros adaptados para uso em redes.....	44
<b>Figura 21:</b> Modelo de MILD para uso em camas. ....	44
<b>Figura 22:</b> Casos autóctones de malária por espécie parasitária e semana epidemiológica nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga, entre os anos de 2015 e 2019. ....	45
<b>Figura 23:</b> Média de efeito <i>knockdown</i> em anofelinos, após 60 minutos de exposição ao contato com mosquiteiros impregnados em diferentes tempos de uso, comparando o efeito observado entre MILDs utilizados como referência e MILDs recolhidos de campo.....	51
<b>Figura 24:</b> Média de efeito <i>mortalidade</i> em anofelinos, após 24h de exposição ao contato com mosquiteiros impregnados em diferentes tempos de uso, comparando mortalidade observada entre MILDs mantidos como referência e MILDs recolhidos de campo.....	52
<b>Figura 25:</b> Amplificação da região IIS6 do <i>Nav</i> . Gel de agarose 1%. O Marcador utilizado foi o 100 bp DNA Ladder (Promega). M) Marcador 100 bp, 1 – 29) <i>Pools</i> de 1 a 29, N) Controle Negativo. Fonte: SOUZA, 2018.....	53
<b>Figura 26:</b> Resultado da genotipagem por AS-PCR. Visualização da AS-PCR em gel de poliacrilamida 10% sob voltagem de 170V por 40 minutos, corados com Nancy. Os produtos com aproximadamente 100 e 120 bp correspondem aos alelos selvagem (1014 L) e mutante (1014 F), respectivamente. M: Marcador Ultra Low Range; <i>Pools</i> de 1 a 29; LEU: Controle positivo 1014 Leu/Leu; PHE: Controle positivo 1014 Phe/Phe; HT: Heterozigoto Leu/Phe; NEG: Controle Negativo. Fonte: Souza, 2018.....	54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Resumo Epidemiológico dos casos de malária autóctone do estado do Amazonas em 2021. Destacados os municípios que concentraram 50% das notificações do total de casos positivos, em seguida os municípios que somam 80%, e ao final destaque ao grupo de municípios com menos de 10 casos no ano, que se enquadram no estrado 4.1 (Em processo de Eliminação).....	16
<b>Tabela 2:</b> Quantidades previstas e instaladas de MILDs nos municípios incluídos no estudo, segundo tipo de mosquiteiro, com percentual de instalações realizadas. ....	43
<b>Tabela 3:</b> Número de casos de malária nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga no estado do Amazonas, entre os anos de 2015 e 2019, destacando os percentuais de redução na comparação entre o ano de 2015 e 2019.....	45
<b>Tabela 4:</b> Características socioeconômicas das populações entrevistadas nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga. ....	46
<b>Tabela 5:</b> Descrição das moradias da população incluída no estudo, com ênfase nos aspectos que influenciam diretamente a ocorrência dos casos de malária na família. ....	47
<b>Tabela 6:</b> Acesso ao serviço de saúde nas localidades incluídas no estudo.....	49
<b>Tabela 7:</b> Frequências das variáveis relacionadas aos Conhecimentos, Atitudes e Práticas em relação à malária.....	49
<b>Tabela 8:</b> Quantidades testadas de mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração, conforme tempo de utilização, tipo/modelo e município. ....	50
<b>Tabela 9:</b> Quantidade de mosquitos e <i>pools</i> para extração de DNA de espécimes de <i>Anopheles darlingi</i> provenientes dos municípios incluídos no estudo. ....	53

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Objetivos e metas da Estratégia Técnica Global para controle e eliminação da malária 2016-2030 da Organização Mundial da Saúde (OMS). .....	7
<b>Quadro 2:</b> Mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração (MILDS) pré-qualificados pela OMS/WHOPES para uso em saúde pública. ....	31
<b>Quadro 3:</b> Especificação técnica dos mosquiteiros adquiridos para o controle da malária no estado do Amazonas em 2016. ....	35
<b>Quadro 4:</b> Número de mosquiteiros distribuídos aos municípios selecionados para o estudo. ....	36

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACE: Agentes de Combate as Endemias

ACS: Agentes Comunitários de Saúde

ACT: Artemisinin-based combination therapy (Terapia combinada com derivados da artemisinina)

BRI: Borrifação Intradomiciliar

BS: *Bacillus sphaericus*

BTI: *Bacillus thuringiensis var israelenses*

CAP: Conhecimento, Atitudes e Práticas

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

COVID-19: Corona Virus Disease 19

DDT: Dicloro-Difenil-Tricloroetano

DNA: Desoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucleico)

DVA: Departamento de Vigilância Ambiental

EPI: Equipamentos de Proteção Individual

ESF: Estratégia Saúde da Família

ETG: Estratégia Técnica Global para enfrentamento da malária

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

FVS-RCP: Fundação de Vigilância em Saúde Dra. Rosemary Costa Pinto

HBI: Human Blood Index

INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

IOC: Instituto Oswaldo Cruz

IPA: Incidência Parasitária Anual

KDR: Knockdown Resistance (resistência *kdr*)

MILD: Mosquiteiro Impregnado com Inseticida de Longa Duração

MMV: Medicines for Malaria Venture

OMS: Organização Mundial da Saúde

ONU: Organização das Nações Unidas

OPAS: Organização Pan-Americana da Saúde

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)

PNCM/MS: Programa Nacional de Controle da Malária/Ministério da Saúde do Brasil

PPACM: Plano Plurianual de Controle da Malária

SESP: Serviço Especial de Saúde Pública

SGENTO: Subgerência de Entomologia

SIVEP: Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica

SMN: Serviço de Malária do Nordeste

SNM: Serviço Nacional de Malária

SUS: Sistema Único de Saúde

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNICEF: United Nations International Children's Emergency Fund

USA: United States of America

WHO: World Health Organization

WHOPES: World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme

## 1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde estimou um total de 241 milhões de casos de malária em todo o mundo no ano de 2020, casos esses distribuídos em 85 países considerados endêmicos para a doença (1,2). Apesar da malária estar amplamente distribuída em todos os continentes, atualmente mais de 96% dos casos são provenientes de 29 países, sendo que 55% então concentrados em 6 países africanos. O *Plasmodium falciparum* é o agente etiológico responsável pela maior parte dos casos de malária no mundo. Em 2020 apenas 2% das notificações eram casos de malária por *Plasmodium vivax*, a espécie parasitária predominante na região das Américas, estimando-se um total de 4,5 milhões de casos em todo o mundo (3).

A história recente do controle da malária no mundo tem mostrado que é possível avançar cada vez mais rumo a eliminação (4). Entre os anos de 2000 e 2020 houve redução importante tanto no número de casos quanto no número de óbitos em todas as regiões malarígenas do planeta. Nas Américas, por exemplo, a redução foi da ordem de 58% no número de casos, reduzindo de 1,5 milhões para 0,65 milhões no período de 20 anos. No mesmo período a taxa de incidência baixou de 14 para 5 casos/1.000 habitantes de áreas de risco, uma redução bastante significativa, embora, tenha sido comprometida pelo elevado número de registros na Venezuela em virtude da grave crise política e econômica naquele país (5). A Venezuela notificou no ano 2000, 35.500 casos de malária, em 2020 foram notificados 232.000 casos, isso considerando a possível subnotificação em virtude do colapso dos serviços de saúde em todo o mundo devido a pandemia de COVID-19 (6). É importante também considerar que nos últimos 5 anos, três países americanos foram certificados pela OPAS/OMS como áreas livres de transmissão autóctone de malária: Paraguai em 2018, Argentina em 2019, e El Salvador em 2021, corroborando a ideia de que é possível eliminar a malária mesmo no cenário latino-americano, de peculiaridades ambientais, econômicas e sociais. As mortes por malária continuam sendo um desafio aparte; no ano 2000 estimava-se a morte de 896.000 pessoas no mundo, especialmente entre mulheres grávidas e crianças com menos de cinco anos nos países da África subsaariana. Após 20 anos, o número de óbitos diminuiu consideravelmente, estimando-se para 2020 aproximadamente 627.000 mortes por

malária. A taxa de mortalidade nesse período caiu de 30 para 15 mortes por 100.000 habitantes nas áreas de risco (2).

Nas últimas duas décadas o Brasil tem conseguido avanços importantes no controle da malária. Em 2021 o Brasil notificou 138.598 casos de malária autóctone (SIVEP-Malária, 2022). Esse número representa uma redução de 77,5% se comparado com o número de casos em 2000, quando foram notificados 615.247 casos (7). Aproximadamente 98% destas notificações são casos que ocorreram na Região Amazônica. O estado do Amazonas, considerado área endêmica para a malária no Brasil, concentrou em 2021 cerca de 44% casos de todo o país, tendo sido notificados 61.165 casos (SIVEP\_Malária, 2022). No Brasil existe um predomínio de casos de malária causados por *Plasmodium vivax*, sendo que aproximadamente 85% dos casos são devidos a esse agente etiológico. Entretanto, os outros 15% causados por *Plasmodium falciparum*, a forma clínica que mais rapidamente pode evoluir para malária grave e levar os pacientes a óbito, têm demonstrado nos últimos anos uma tendência preocupante de estagnação nos números absolutos, e em algumas localidades amazônicas tem se tornado a espécie parasitária predominante (8).

Alguns desafios devem ser considerados quando pensamos em avançar ainda mais no controle da malária no Brasil. O fato de a espécie parasitária predominante ser *P. vivax* por si só já impõe algumas particularidades que interferem e dificultam o controle, e mais ainda quando se pensa em eliminação. São comuns infecções por *P. vivax* com baixa parasitemia (9). Os hipnozoítos, formas latentes do parasita, podem ficar viáveis por vários meses no fígado do hospedeiro humano e possibilitar a ocorrência de recidivas (10). Infecções assintomáticas e oligossintomáticas comprometem as estratégias de detecção oportuna dos casos de malária nas localidades e são fontes de infecção importantes para os mosquitos vetores (11). Por outro lado, os gametócitos de *P. vivax* são produzidos precocemente durante o ciclo eritrocítico, e aparecem na circulação sanguínea antes do início dos sintomas, de tal forma que o paciente é fonte de infecção para o anofelino vetor antes de poder ser diagnosticado e tratado adequadamente.

A resistência dos plasmódios aos medicamentos atualmente utilizados constitui-se em mais uma importante barreira para a eliminação da malária em diversas regiões endêmicas no mundo, havendo registros fartamente documentados, tanto de resistência aos antimaláricos utilizados no tratamento de malária por *P. vivax* quanto por *P. falciparum*. A resistência de *P. falciparum* a cloroquina foi inicialmente observada no

sudeste asiático e na Colômbia por volta de 1950, e nos anos 70 a resistência já era observada em todas as regiões endêmicas da América do Sul; em 1978 houve o primeiro relato em países africanos, em 1989 já havia relatos na maioria dos países da Ásia, Oceania e África subsaariana (12). Desde meados dos anos 1980 já se relatava a resistência de *P. falciparum* à cloroquina no Brasil, sendo necessária sua rápida substituição por outros fármacos (13–15). Com objetivo de oferecer novas possibilidades de tratamento, desde 2006 as terapias com combinações de drogas derivadas da artemisinina (ACTs) tem sido o tratamento padrão recomendado para o controle de *P. falciparum* em todo o mundo, entretanto a resistência aos ACTs também já é observada, com relatos iniciais no Camboja e mais recentemente em diversos outros países do sudeste asiático (16).

O primeiro relato de resistência à cloroquina por linhagens de *Plasmodium vivax* foi observado na Papua Nova Guiné, e daí rapidamente para países asiáticos, atualmente sendo observada em diversas regiões do mundo (12). Em estudo realizado entre os anos de 2004 e 2005 com pacientes com malária por *P. vivax* em Manaus, observou-se que mesmo após receberem tratamento supervisionado com cloroquina e primaquina houve falha no tratamento em 10% dos voluntários, indicando possível resistência (17).

Muitos fatores condicionantes atuam para que o controle de malária seja de difícil execução. O acesso às áreas rurais, onde ocorrem surtos frequentes e onde rapidamente se estabelecem ciclos de transmissão, demanda tempo e recursos financeiros nem sempre disponíveis. A malária em áreas indígenas, que no Amazonas corresponde a aproximadamente 30% das notificações, também é um desafio para os gestores dos programas de controle de malária; além do isolamento, as estratégias clássicas de controle vetorial nem sempre são aplicáveis devido a precariedade das residências e a característica nômade de muitas etnias. Em áreas urbanas a ocupação desordenada de localidades próximas a criadouros de anofelinos, com supressão da cobertura vegetal, assoreamento de córregos com estagnação do fluxo da água e instalação de famílias susceptíveis à malária em aglomerados populacionais de residências com pouca estrutura, favorece a rápida disseminação do parasita e dificulta o controle da doença e dos vetores (18).

É importante destacar que aspectos ambientais, sociais e culturais têm influência direta sobre a magnitude da transmissão de malária em um território (19). As características ambientais da bacia amazônica favorecem a reprodução rápida das

principais espécies de vetores dessa região, em virtude da grande disponibilidade de corpos d'água, elevada temperatura e umidade na maior parte do ano. A cobertura vegetal, assim como sua supressão, também são fatores que influenciam direta e indiretamente no estabelecimento de populações de anofelinos (20–22). As migrações humanas com ocupações de vastas áreas antes cobertas por florestas, o estabelecimento de garimpos ilegais, que além de alterarem o ambiente, criam paisagens antropizadas com diversos criadouros artificiais são outros fatores condicionantes (23–25).

As atividades de controle vetorial continuam sendo um pilar importante para controle da malária em todo o mundo. Entre essas medidas está a borrifação residual intradomiciliar com inseticidas (BRI), usada a partir da década de 1950 e mais recentemente, o uso de mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração. Aspectos como a disseminação da resistência dos anofelinos aos inseticidas utilizados têm sido relatados em diversas regiões, e constituído uma nova preocupação (26–29).

Estudos que avaliem os diversos aspectos relacionados aos fatores que podem interferir no controle e eliminação da malária devem ser conduzidos imediatamente, pois é preciso conhecer quais são as principais barreiras, e desenvolver estratégias para que o objetivo da eliminação seja possível. Este trabalho pretende aportar informações sobre o uso de mosquiteiros em condições de campo, as percepções dos moradores em áreas endêmicas e a susceptibilidade dos anofelinos vetores aos inseticidas usados para o controle desta doença como um dos empecilhos para sua eliminação.

## 2. MARCO TEÓRICO

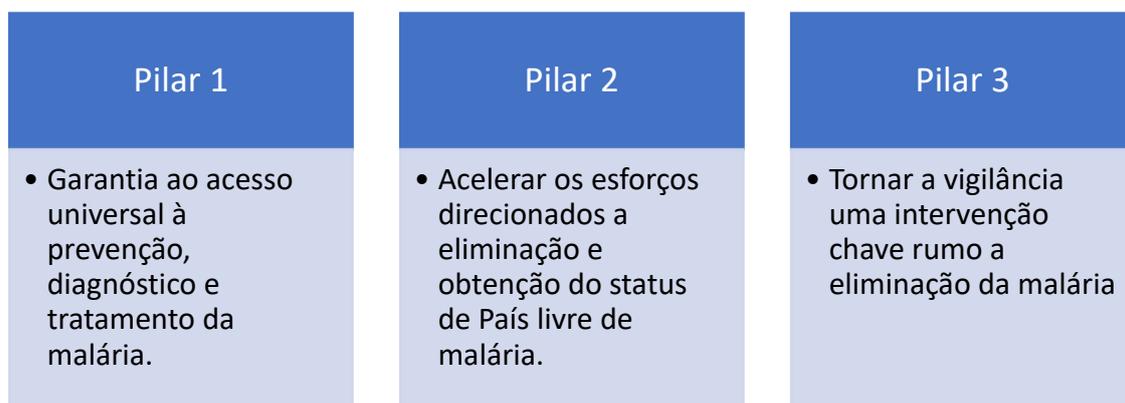
### 2.1. ESTRATÉGIAS TÉCNICAS PARA CONTROLE E ELIMINAÇÃO DA MALÁRIA

Controlar a malária impõe o enfrentamento de inúmeros desafios, que vão desde dificuldades com o financiamento para executar e sustentar as ações de controle, até questões de ordem biológica, como lidar com a resistência dos parasitos aos antimaláricos e dos vetores aos inseticidas. Outros desafios que terão de ser enfrentados para acelerar o progresso para o controle e a eliminação são de ordem sistemática e técnica, e incluem: o inadequado desempenho dos sistemas de saúde como, a má gestão das cadeias de abastecimento e a falta de regulação do setor privado da saúde em muitos países, permitindo a utilização de antimaláricos ineficazes; um sistema de informação fragilizado que dificulta a adequada vigilância epidemiológica para o correto direcionamento de atividades; dificuldades técnicas para o monitoramento e avaliação das ações de controle executadas, impossibilitando a detecção de falhas nos programas de controle da doença.

Desde 2007, na histórica conferência de Seattle, a Fundação Bill e Melinda Gates fez uma chamada à comunidade internacional para reorientar os esforços do controle da malária, com o foco na eliminação e erradicação da doença. No entanto, à época a proposta não foi bem recebida e considerada uma meta muito ambiciosa. Mais recentemente esses esforços foram intensificados com o aumento dos recursos financeiros disponíveis, utilizando as ferramentas de gestão, diagnóstico e controle disponíveis para se combater à doença, o que resultou em uma importante redução da incidência da malária no mundo (30).

O Brasil é signatário da *Estratégia Técnica Global (ETG) para enfrentamento da malária 2016-2030*; trata-se de uma proposta da Organização Mundial de Saúde (OMS) que estabelece diretrizes e metas para a redução do número de casos de malária em todo o mundo, inclusive com a proposta de eliminação dos casos de malária por *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* em algumas regiões. A Estratégia Técnica Global para malária foi publicada pela OMS em maio de 2015 e atualizada em publicação de 2021 que considerou as lições aprendidas nos cinco anos após sua primeira edição, assim como a estabilização na tendência de redução da malária no mundo impactada pela pandemia de COVID-19 (30).

A proposta da ETG estabelece três pilares onde devem estar sustentados os programas nacionais de controle e eliminação da malária.



**Figura 1:** Pilares da Estratégia Técnico Global para eliminação da malária. Fonte: OMS, 2021.

Segundo a OMS o objetivo principal dos programas nacionais deve ser selecionar e combinar as intervenções que melhor se adequem às realidades locais, de forma que sejam exequíveis, sustentáveis, tenham equidade e promovam o melhor impacto possível, sempre considerando aspectos sociais e econômicos, e de forma mais ampla os direitos humanos (31).

O primeiro pilar da estratégia faz recomendações específicas relacionadas ao controle de vetores, maximizando o impacto do controle vetorial considerando aspectos epidemiológicos e entomológicos. Recomenda que seja construída e mantida a adequada vigilância entomológica, com monitoramento e avaliação constante das estratégias. Também deve ser considerada e monitorada a resistência das espécies de mosquitos vetores aos inseticidas utilizados. O documento recomenda que sejam adotados esquemas de quimioprofilaxia, com expansão do tratamento preventivo para os grupos mais vulneráveis, com especial destaque para pessoas sem contato prévio com o *Plasmodium* spp. e migrantes. Também deve ser ampliada a oferta de diagnóstico e tratamento da malária, ampliando a rede de diagnóstico, tratando todo caso positivo, promover o monitoramento da segurança e eficácia dos antimaláricos e promover a vigilância de indícios de resistência do *Plasmodium* spp. às principais drogas utilizadas. Deve-se ainda retirar de circulação medicamentos inadequados, ou que não tenham comprovado sua eficácia.

O segundo pilar da estratégia ressalta que todos os países devem estar comprometidos com o objetivo de eliminar a malária, adaptando as estratégias nacionais para intensificação da resposta ao agravo. Fica evidenciada a importância de se trabalhar o enfrentamento da malária também fora do setor saúde, discutindo e aprovando

legislação diretamente relacionada ao controle da malária. Devem ser incentivadas as discussões em comitês multisetoriais, de forma que a sociedade civil esteja envolvida no processo. É destacada a importância de que sejam desenvolvidas estratégias direcionadas ao controle da malária por *Plasmodium vivax*, que possui características biológicas e epidemiológicas que obrigam a adoção de ações específicas. Após o alcance da redução e posteriormente da eliminação, devem ser discutidas as melhores estratégias que evitem a reintrodução da malária.

Por fim, o terceiro pilar destaca a importância da vigilância, como uma intervenção chave para a eliminação da malária, promovendo a vigilância tanto em áreas de alta e baixa transmissão, assim como nas áreas que estão em fase de eliminação. Os países precisam coletar os dados necessários, com completude mínima suficiente para entender o processo de saúde e doença e investir em fluxos de informação que sejam funcionais e que possa direcionar adequadamente as atividades para localidades prioritárias (32).

A estratégia global também apresenta as metas e os objetivos para o período de 2016 a 2030, incluindo marcos intermediários para 2020 e 2025, conforme quadro 01 abaixo (WHO 2021).

**Quadro 1:** Objetivos e metas da Estratégia Técnica Global para controle e eliminação da malária 2016-2030 da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Objetivos	Marcos intermediários		Meta
	2020	2025	2030
<b>Reduzir as taxas globais de malária comparadas com 2015</b>	Ao menos 40%	Ao menos 75%	Ao menos 90%
<b>Redução da incidência global de malária comparada com 2015</b>	Ao menos 40%	Ao menos 75%	Ao menos 90%
<b>Eliminar a malária de países com transmissão ativa em 2015</b>	Pelo menos em 10 países	Pelo menos em 20 países	Pelo menos em 35 países
<b>Prevenir a reintrodução de malária em todos os países que eram livres de malária</b>	Prevenir a reintrodução	Prevenir a reintrodução	Prevenir a reintrodução

Paralelamente a Organização das Nações Unidas (ONU), também lançou os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, que propunha extinguir as epidemias de malária até 2030 (33). Considerando os diversos desafios para se controlar e eliminar a malária em nível global, a OMS, lançou em 2016, o plano de eliminação da malária no mundo, visando fornecer conselhos práticos para orientar os países na reflexão sobre as decisões de quando e como eliminar a malária, definindo uma visão estratégica que leve em consideração quando um país deve avaliar o contexto antes, durante e após a decisão de eliminação da doença. As estratégias voltadas para a eliminação têm como objetivo principal a interrupção da transmissão e a eliminação de parasitos tanto nos pacientes com malária clínica quanto nos portadores assintomáticos.

O Brasil lançou em 2015 o *Plano de Eliminação da Malária por Plasmodium falciparum*, adaptando as estratégias da OMS para o cenário nacional, cuja avaliação se deu com base o período de 2012 a 2014. Segundo o recente documento técnico (Ministério da Saúde do Brasil 2022) a estratificação das áreas malarígenas no Brasil deve ser inicialmente utilizada o Incidência Parasitária Anual (IPA), que corresponde ao número de casos positivos de malária para cada grupo de 1.000 habitantes de uma localidade, em determinado ano-base, classificados conforme diagrama representado na Figura 2 abaixo.

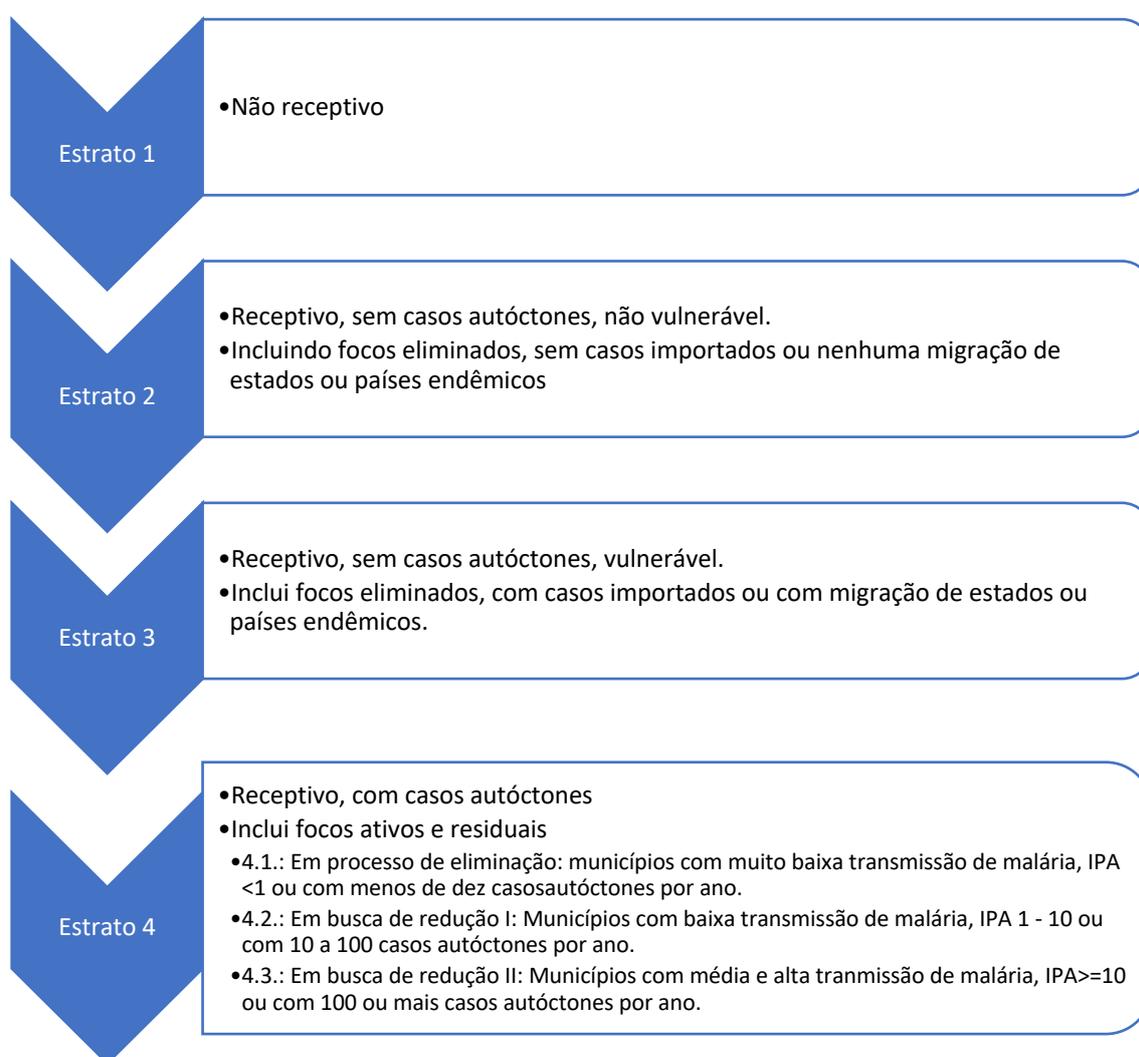


**Figura 2:** Diagrama de classificação de risco de adoecer por malária, segundo a Incidência Parasitária Anual (IPA).

Entretanto, quando os municípios diminuem a carga de doença a ponto de se aproximarem da eliminação, a IPA perde sua aplicabilidade, por não retratar os cenários epidemiológicos de forma adequada, e o número absoluto passa a ser mais relevante.

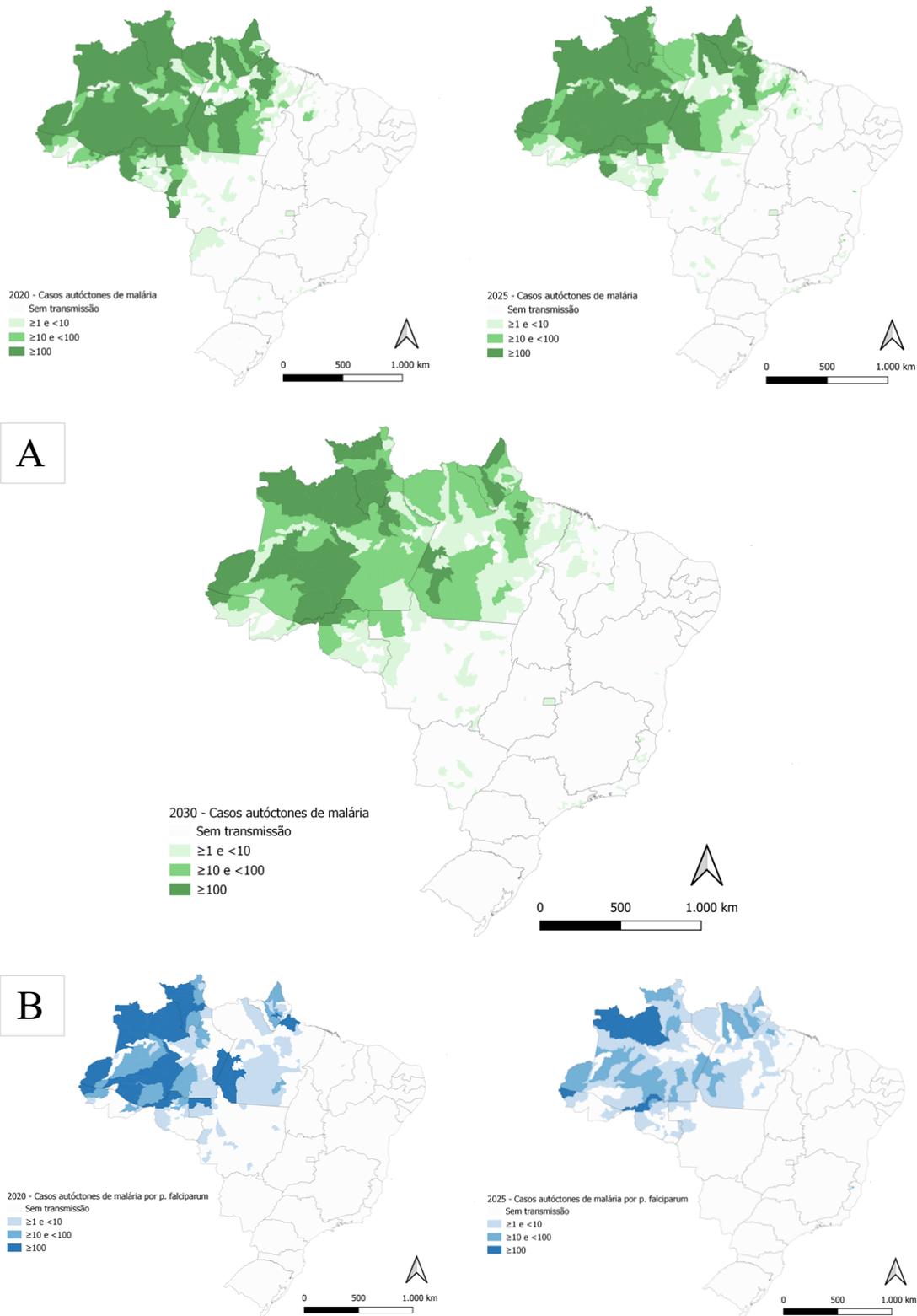
A delimitação das áreas prioritárias deve considerar os conceitos de (1) Receptividade: características ambientais que possibilitam a presença e reprodução de vetor, assim como a transmissão da malária com a presença de reservatórios humanos. É considerada receptiva qualquer área com ocorrência de vetores da malária nos últimos cinco anos; e (2) Vulnerabilidade: conceito relacionado ao risco de importação do parasita, pela chegada de indivíduos oriundo de áreas endêmicas que são portadores de *Plasmodium*, e que por essas áreas apresentarem condições permissíveis pode-se iniciar ou reintroduzir a transmissão autóctone em áreas anteriormente sem transmissão (34).

A análise dos diversos critérios epidemiológicos ajuda a dividir as áreas em diferentes estratos, e conforme essa divisão devem ser adotadas diferentes estratégias para garantir a eliminação da malária, ou manter a eliminação já alcançada (Figura 3).



**Figura 3:** Estratos epidemiológicos estabelecidos pelo Plano Nacional de Eliminação da Malária 2022. Fonte: Ministério da Saúde do Brasil, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/malaria/elimina-malaria-brasil-plano-nacional-de-eliminacao-da-malaria/view>. Acessado em 18/08/2022.

O Programa Nacional de Controle da Malária do Brasil, por meio do Ministério da Saúde, em parceria com estados e municípios, vem buscando alcançar as metas pactuadas de eliminação de forma sustentável, apresentando em maio de 2022 o Plano Nacional de Eliminação da malária, cuja meta é eliminar do território brasileiro a transmissão de malária autóctone até 2035. O foco inicial é a eliminação de malária por *P. falciparum* com a intensificação nos cinco anos finais para eliminação de transmissão da malária por *P. vivax*. Existem marcos intermediários que devem ser alcançados durante a vigência do Plano. (1) Reduzir o número de casos autóctones para menos de 68 mil casos até 2025; (2) Reduzir o número de casos para menos de 14 mil casos de malária até 2030; (3) Reduzir o número de óbitos para zero até 2030; (4) Eliminar a transmissão de malária por *Plasmodium falciparum* até 2030. A última fase do Plano é a prevenção do reestabelecimento da transmissão da malária no Brasil a partir de 2035 (Figura 4).



**Figura 4:** Número de casos de malária por município no Brasil, casos notificados em 2020 e estimativas 2025 e 2030 segundo Plano Nacional de Eliminação (Bloco A). Casos autóctones de malária por *Plasmodium falciparum* nos municípios do Brasil em 2020 e estimativa para 2025 (Bloco B). Fonte: Ministério da Saúde, 2022.

## 2.2. MALÁRIA NO AMAZONAS

Um marco importante no contexto histórico do controle da malária no Amazonas foi a criação, pelo Governo do Estado no ano de 2005, da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas Dra. Rosemary Costa Pinto (FVS-RCP), uma instituição pioneira no país que tem como missão, promover a melhoria da qualidade de vida da população amazonense por meio da promoção e proteção à saúde, mediante ações integradas das vigilâncias epidemiológica, sanitária, ambiental e laboratorial, bem como o controle de doenças e agravos, incluindo as principais endemias causadas por vetores no estado.

Considerando que a malária é um dos principais agravos notificados no Amazonas, a FVS-RCP investe ao longo dos anos recursos para a estruturação dos municípios, incluindo capacitações técnicas além do custeio das ações de forma complementar para o alcance das metas definidas.

Em 2006 o Estado obteve uma redução de 16,55% do número de casos registrados quando comparado ao ano anterior já como resultado do primeiro ano da Instituição atuando em parceria com os municípios para o enfrentamento da doença. No entanto, observou-se que as estratégias implantadas, não foram suficientes para avançar na manutenção desta redução. Em 2007 o estado do Amazonas implementou o Plano Plurianual de Controle Sustentável da Malária PPACM 2007-2010, que tinha como principal objetivo reduzir em 70% os casos de malária nos 4 anos de sua vigência. Este plano foi elaborado considerando as necessidades específicas dos municípios do interior do estado e em conformidade com as Diretrizes do Programa Nacional de Controle da Malária.

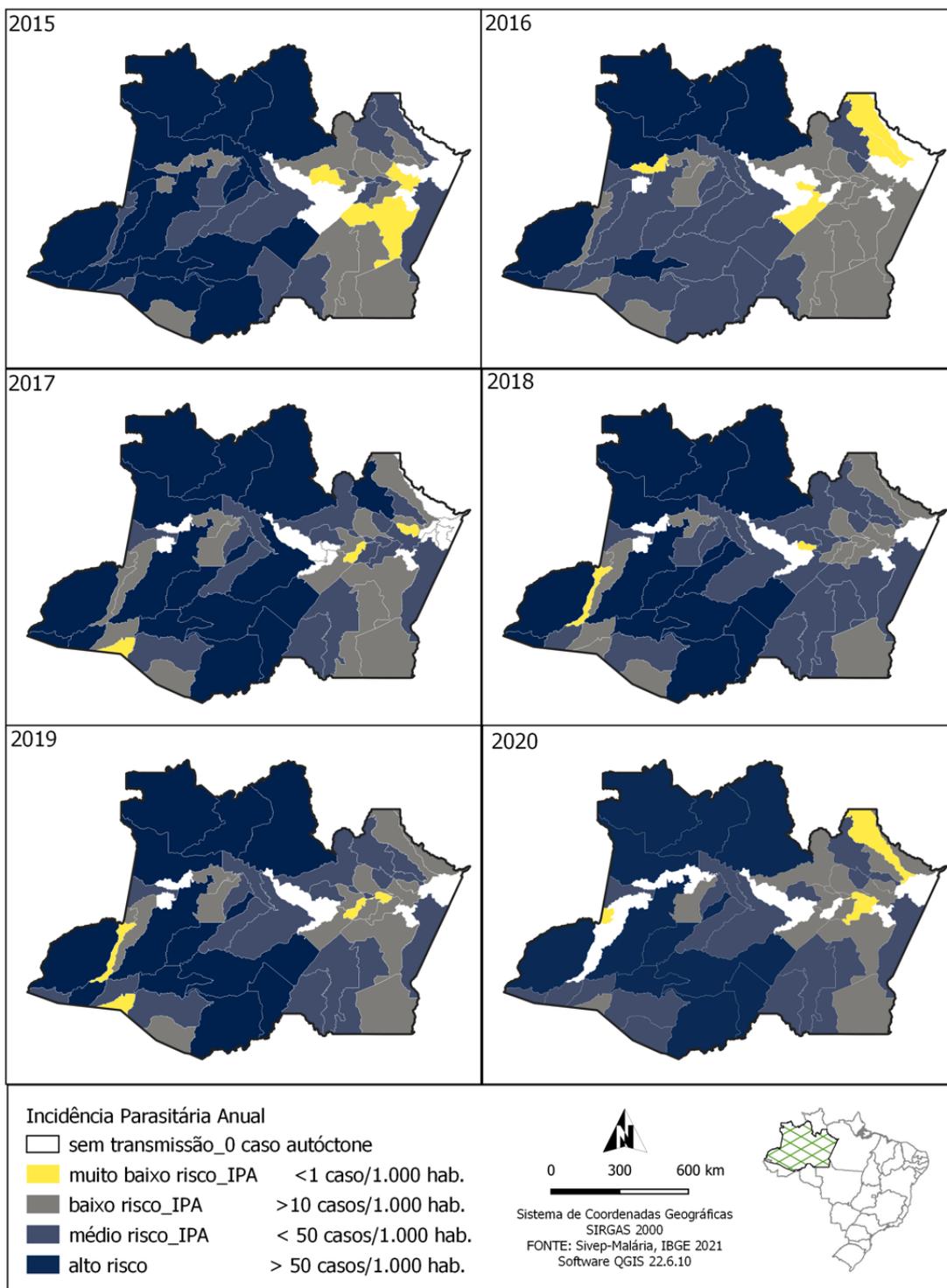
O PPACM foi pautado nos pilares do Sistema Único de Saúde (SUS) para a garantia do acesso universal e da equidade por meio da definição de políticas públicas voltadas para o controle da malária no Amazonas, estabelecendo metas estruturantes operacionais e epidemiológicas anuais, com ações específicas e direcionadas para cada perfil das áreas de risco, considerando os determinantes e condicionantes que envolvem a dinâmica de transmissão da doença no Amazonas.

Os principais avanços foram as ações integradas, com melhorias na oferta do diagnóstico e tratamento oportunos, com a ampliação da rede de diagnóstico, e a execução concomitante de ações de controle vetorial (Borrifação Residual Intradomiciliar e Instalação de Mosquiteiros impregnados).

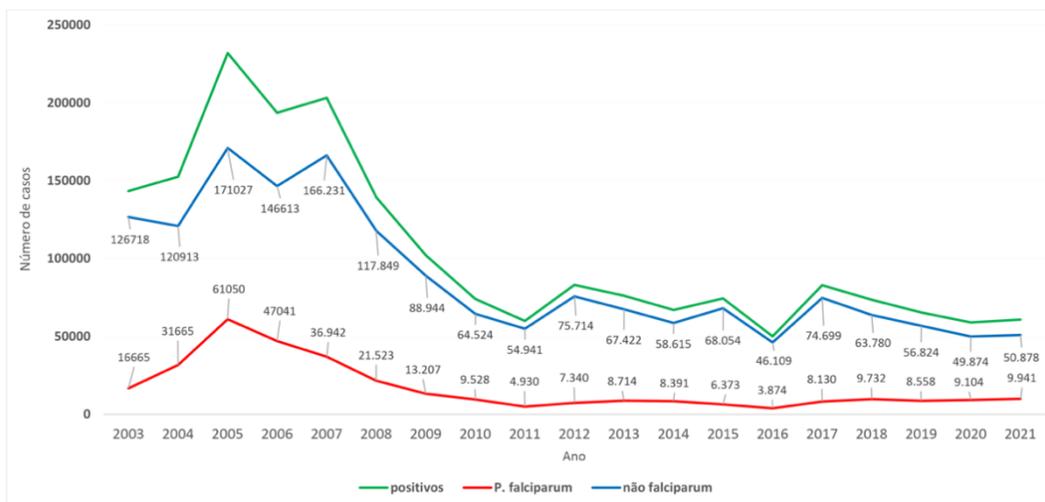
A redução gradativa das notificações foi observada ao longo dos anos de execução do PPACM 2007-2010, resultado do investimento e implantação das medidas de intensificação contidas no respectivo plano. Em 2010, contabilizou-se uma redução de 63,57% dos casos, e foi observada uma notável e importante redução do número de casos de malária grave, causadas principalmente por infecção por *P. falciparum*, alavancada com a utilização do medicamento *Coartem* para tratamento destes casos e a garantia do acesso e do tratamento oportuno dos pacientes com a doença.

O Estado do Amazonas é considerado o de maior risco de adoecer por malária do país (Figura 4), e apesar do cenário de redução, muitos municípios amazonenses permanecem com IPA muito acima de 50, o que significa um alto risco de adoecer por malária (Figura 5). Em 2021 o Amazonas notificou 61.165 casos, distribuído em todos os 62 municípios. Existe uma alta concentração dos casos em um reduzido número de municípios. Como mostra a Tabela 1, cinco municípios (Barcelos, São Gabriel da Cachoeira, Manaus, Tefé e Santa Isabel do Rio Negro) concentram a metade dos casos de malária do estado. Um fator que deve ser destacado é que dentre esses municípios, quatro estão situados na região do Rio Negro, uma região que concentra grande parte da população indígena do Amazonas, com municípios e grande extensão territorial e baixa densidade demográfica, aspectos esses que dificultam o controle da malária. Se adicionados a esses, mais outros nove municípios compõe-se o grupo que concentra 80% das notificações. Por outro lado, existe um grupo de 29 municípios, o que corresponde a 46% do total, que em 2021 notificou menos de 100 casos de malária, o que pelos critérios do atual Plano de Eliminação do Malária (8) estão situados no Estrato 4.2 (Em busca de redução I), e dentre esse 29, existem 15 municípios que estariam mais próximos da eliminação, no Estrato 4.3 (Em fase de redução II).

Analisando uma série histórica das notificações de malária, tanto o Brasil como o estado do Amazonas apresentam uma tendência de redução no número de casos de malária (Figura 6), mesmo que apresente certa estagnação ou mesmo aumento em situações mais específicas, vivemos o momento oportuno para intervir, controlar e eliminar a malária em nosso território.



**Figura 5:** Incidência parasitária anual dos municípios do estado do Amazonas, entre os anos de 2015 e 2020. Fonte: SIVEP-Malária, 2022.



**Figura 6:** Série histórica dos casos de malária no Amazonas entre os anos de 2003 e 2021, destacando as notificações autóctones de casos de malária por *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*. Fonte: SIVEP-Malária, Ministério da Saúde (2022).

É importante ressaltar a diversidade de cenários com transmissão ativa de malária no Amazonas, o estado possui atualmente 11.671 localidades cadastradas no Sistema de Vigilância Epidemiológica da Malária (SIVEP-Malária), com notificações que se distribuem entre áreas rurais e ribeirinhas, áreas indígenas, urbanas, assentamentos e garimpos (Figura 7).



Excluídos LVC e resultados negativos. \*Dados preliminares, podendo sofrer alterações. Fonte: Sivep-Malária/SVS/MS.

**Figura 7:** Proporção de casos de malária por áreas especiais no Amazonas entre os anos de 2015 a 2020. Destacando os recentes aumentos de participação das notificações em áreas indígenas e áreas de garimpo. Fonte: SIVEP-Malária, Ministério da Saúde (2022).

**Tabela 1:** Resumo Epidemiológico dos casos de malária autóctone do estado do Amazonas em 2021. Destacados os municípios que concentraram 50% das notificações do total de casos positivos, em seguida os municípios que somam 80%, e ao final destaque ao grupo de municípios com menos de 10 casos no ano, que se enquadram no estrado 4.1 (Em processo de Eliminação).

Código	Município	Pop.	Total Positivos	IPA	%F	F	V	F+V	M	Participação (%)	Acumulado (%)
<b>TOTAL</b>		4.269.995	61.165	14,3	16,5	9.196	51.086	878	5		
130040	BARCELOS	27.772	10.458	376,6	21,5	2.003	8.200	250	5	17,1	17,1
130380	SAO GABRIEL DA CACHOEIRA	47.031	10.092	214,6	31,8	2.896	6.884	312	-	16,5	33,6
130260	MANAUS	2.255.903	4.468	2	0	-	4.468	-	-	7,3	40,9
130420	TEFE	59.250	3.374	56,9	1,1	36	3.336	2	-	5,5	46,4
130360	SANTA ISABEL DO RIO NEGRO	26.566	3.067	115,4	31,5	827	2.101	139	-	5,0	51,4
130410	TAPAUA	16.876	2.732	161,9	13,4	357	2.367	8	-	4,5	55,9
130100	CARAUARI	28.719	2.248	78,3	34,9	766	1.464	18	-	3,7	59,6
130120	COARI	86.713	2.026	23,4	9,3	180	1.837	9	-	3,3	62,9
130290	MAUES	66.159	2.002	30,3	23,6	413	1.529	60	-	3,3	66,2
130090	CANUTAMA	15.981	1.980	123,9	4,8	81	1.884	15	-	3,2	69,4
130240	LABREA	47.685	1.943	40,7	4,9	90	1.847	6	-	3,2	72,6
130020	ATALAIA DO NORTE	20.868	1.796	86,1	13,5	230	1.553	13	-	2,9	75,5
130165	GUAJARA	17.193	1.743	101,4	21,9	371	1.362	10	-	2,8	78,4
130140	EIRUNEPE	36.121	1.495	41,4	13,7	195	1.290	10	-	2,4	80,8
130170	HUMAITA	57.195	1.463	25,6	4,8	65	1.393	5	-	2,4	83,2
130270	MANICORE	57.405	1.337	23,3	3,4	42	1.291	4	-	2,2	85,4
130210	JAPURA	1.755	1.313	748,1	2,4	30	1.281	2	-	2,1	87,5
130002	ALVARAES	16.396	1.064	64,9	0,1	1	1.063	-	-	1,7	89,3
130180	IPIXUNA	31.172	1.026	32,9	4,4	45	981	-	-	1,7	90,9
130426	UARINI	13.839	842	60,8	0,2	-	840	2	-	1,4	92,3
130230	JUTAI	13.462	749	55,6	3,5	26	723	-	-	1,2	93,5
130185	IRANDUBA	49.718	422	8,5	0	-	422	-	-	0,7	94,2
130195	ITAMARATI	7.777	419	53,9	16	66	352	1	-	0,7	94,9
130070	BOCA DO ACRE	34.958	405	11,6	11,4	43	359	3	-	0,7	95,6
130350	PAUINI	19.616	346	17,6	49,4	169	175	2	-	0,6	96,1
130014	APUI	22.739	269	11,8	1,1	3	266	-	-	0,4	96,6
130220	JURUA	15.495	235	15,2	4,7	10	224	1	-	0,4	97,0
130356	RIO PRETO DA EVA	34.856	226	6,5	23,5	51	173	2	-	0,4	97,3
130353	PRESIDENTE FIGUEIREDO	38.095	195	5,1	0	-	195	-	-	0,3	97,7
130370	SANTO ANTONIO DO ICA	20.889	187	9	55,1	103	84	-	-	0,3	98,0
130280	MARAA	18.298	160	8,7	0	-	160	-	-	0,3	98,2
130150	ENVIRA	20.748	158	7,6	38	60	98	-	-	0,3	98,5
130330	NOVO ARIPUANA	26.443	153	5,8	19	25	124	4	-	0,3	98,7
130390	SAO PAULO DE OLIVENCA	40.837	94	2,3	0	-	94	-	-	0,2	98,9
130300	NHAMUNDA	21.710	93	4,3	0	-	93	-	-	0,2	99,0
130406	TABATINGA	68.502	89	1,3	1,1	1	88	-	-	0,1	99,2
130063	BERURI	20.503	88	4,3	0	-	88	-	-	0,1	99,3
130080	BORBA	42.328	72	1,7	6,9	5	67	-	-	0,1	99,5
130160	FONTE BOA	16.409	57	3,5	0	-	57	-	-	0,1	99,5
130190	ITACOATIARA	104.046	51	0,5	3,9	2	49	-	-	0,1	99,6
130110	CAREIRO	38.820	43	1,1	2,3	1	42	-	-	0,1	99,7
130083	CAAPIRANGA	13.482	33	2,4	0	-	33	-	-	0,1	99,8
130250	MANACAPURU	99.613	32	0,3	0	-	32	-	-	0,1	99,8
130030	AUTAZES	41.005	21	0,5	0	-	21	-	-	0,0	99,8
130400	SILVES	9.289	17	1,8	0	-	17	-	-	0,0	99,9
130320	NOVO AIRAO	20.395	16	0,8	0	-	16	-	-	0,0	99,9
130200	ITAPIRANGA	9.312	14	1,5	0	-	14	-	-	0,0	99,9
130060	BENJAMIN CONSTANT	44.873	9	0,2	11,1	1	8	-	-	0,0	99,9
130395	SAO SEBASTIAO DO UATUMA	14.678	9	0,6	0	-	9	-	-	0,0	99,9
130115	CAREIRO DA VARZEA	31.459	8	0,3	0	-	8	-	-	0,0	100,0
130255	MANAQUIRI	33.981	6	0,2	0	-	6	-	-	0,0	100,0
130006	AMATURA	11.934	5	0,4	0	-	5	-	-	0,0	100,0
130310	NOVA OLINDA DO NORTE	38.665	4	0,1	0	-	4	-	-	0,0	100,0
130430	URUCARA	16.007	3	0,2	0	-	3	-	-	0,0	100,0
130130	CODAJAS	29.691	2	0,1	0	-	2	-	-	0,0	100,0
130340	PARINTINS	116.439	2	0	0	-	2	-	-	0,0	100,0
130423	TONANTINS	19.038	2	0,1	0	-	2	-	-	0,0	100,0
130010	ANORI	21.937	1	0	100	1	-	-	-	0,0	100,0
130440	URUCURITUBA	24.098	1	0	100	1	-	-	-	0,0	100,0
130008	ANAMA	14.292	-	0	0	-	-	-	-	0,0	100,0
130050	BARREIRINHA	32.919	-	0	0	-	-	-	-	0,0	100,0
130068	BOA VISTA DO RAMOS	20.040	-	0	0	-	-	-	-	0,0	100,0

Fonte: Ministério da Saúde. SIVEP\_ Malária, 2022. Acessado em 18/08/2022.

### 2.3. ASPECTOS GERAIS DA MALÁRIA

Malária é uma doença febril aguda causada por parasitas protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Plasmodium* spp., e transmitida pela picada de fêmeas de mosquito do gênero *Anopheles* spp.

Atualmente reconhecem-se cinco espécies de *Plasmodium* spp. que podem causar doença em humanos com maior frequência: *P. falciparum* (Welch 1897) que é responsável por aproximadamente 90% das infecções no mundo, assim como pela maioria das formas graves e mortes causadas por essa doença; *P. vivax* (Grassi e Filetti 1890), a segunda espécie mais prevalente no mundo e predominantemente encontrada em países do sudeste asiático e da América Latina; *Plasmodium ovale* spp. (Stephens 1922), mais comumente encontrada na África, sudeste asiático e Papua Nova Guiné (35); *Plasmodium malariae* (Grassi e Filetti 1890) que é responsável por infecções benignas, com quadros de acessos febris geralmente muito brandos e que geralmente acontecem a cada 72 horas, devido ao ciclo de vida do parasita que é bastante lento; e *Plasmodium knowlesi* (Knowles & Gupta 1931), uma espécie que infecta primariamente primatas não humanos, mas que pode ser transmitida ao homem em ocasiões eco-epidemiológicas bastante específicas no sudeste asiático (36,37).

O quadro clínico clássico da malária está composto por uma tríade de sinais e sintomas com calafrio, febre e sudoração intensa e que pode ser acompanhada de dor de cabeça, astenia, dores musculares, tremores, e episódios de diarreia e vômito. Entretanto, os quadros clínicos são bastante variáveis; alguns pacientes com elevada carga de parasitas, inclusive que apresentam gametócitos circulantes, ou seja, formas sanguíneas capazes de infectar mosquitos, podem apresentar sintomas brandos ou mesmo serem assintomáticos, dependendo da experiência malárica prévia (36,38–41). As primeiras manifestações clínicas têm início geralmente entre uma a duas semanas após a picada do anofelino infectado. Entretanto, esse período é bastante variável, dependendo da espécie parasitária, ou de aspectos relacionados a imunidade do indivíduo infectado.

### 2.4. CICLO DE VIDA DO PLASMÓDIO

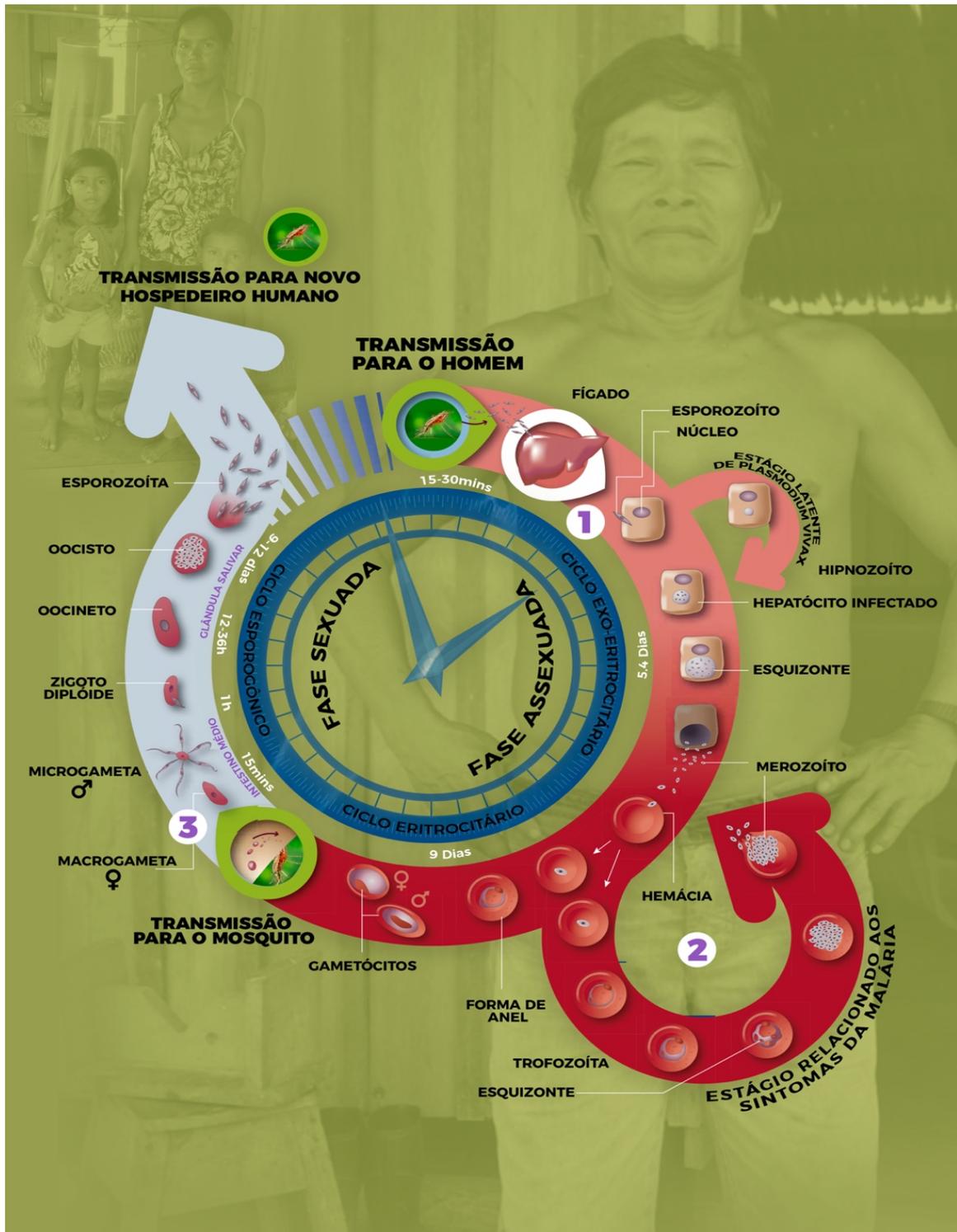
O ciclo de vida dos plasmódios é sempre dividido em duas fases, uma fase assexuada que acontece no hospedeiro vertebrado e outra fase sexuada que acontece no hospedeiro invertebrado (Figura 8). O ciclo de vida começa quando a forma parasitária conhecida como esporozoíta presente na glândula salivar do mosquito vetor, é inoculada,

através da picada, no hospedeiro vertebrado. Os esporozoítas são depositados na derme e por meio da corrente sanguínea migram rapidamente para o fígado, invadindo os hepatócitos, onde se multiplicam rapidamente por um processo chamado esquizogonia tissular (ou fase pre-eritrocitaria) (42). Após a multiplicação, os parasitas assumem a forma de merozoítas que retornam à corrente sanguínea e invadem os eritrócitos. O número de merozoítas produzidos durante a esquizogonia tissular depende da espécie parasitária. Nessa fase do ciclo uma importante diferenciação acontece; alguns parasitos persistem no fígado em condição latente denominada hipinozoíto, que são formas parasitárias exclusivas de *P. vivax* e *P. ovale* (43). Os hipnozoítos podem permanecer latentes no fígado por períodos que ultrapassam dois anos após a inoculação dos esporozoítos pelo mosquito infectado, mas geralmente voltam à corrente sanguínea entre três a seis semanas depois do primeiro episódio de malária, provocando as já bem relatadas recaídas (10,44,45).

Dentro dos eritrócitos, cada merozoíta se multiplica por reprodução assexuada e gera entre 8 e 64 novos merozoítas, o que varia conforme a espécie do parasito. Quando o ciclo dos merozoítas é concluído, ocorre a ruptura do glóbulo vermelho infectado com a liberação dos merozoítas que invadem novos eritrócitos e repetem esse ciclo de multiplicação assexuada em períodos que variam conforme a espécie parasitária: 24h para o *P. knowlesi*, 48h para o *P. ovale*, *P. vivax* e *P. falciparum* ou 72h para o *P. malariae*. Alguns merozoítas se diferenciam em formas sexuadas do parasito, chamados de gametócitos. Inicialmente, todos os gametócitos possuem a mesma forma, mas posteriormente eles irão se diferenciar em gametas masculinos e femininos (37).

A segunda fase do ciclo de vida do parasita acontece dentro do mosquito, após o repasto sanguíneo em um hospedeiro com gametócitos circulantes e é denominada fase esporogônica. Os gametócitos só estarão ativos em condições específicas encontradas no intestino médio do mosquito. Os gametas masculinos e femininos se diferenciam em microgametócitos e macrogametócitos, respectivamente. Microgametócitos fertilizam os macrogametócitos e produzem os zigotos. Os zigotos formados se diferenciam, através de processos de meiose, em formas parasitárias móveis, denominadas oocinetos. Os oocinetos atravessam a parede do intestino do mosquito e dão origem aos oocistos, e a partir daí acontecem várias divisões celulares por mitose produzindo os esporozoítos durante a esporogonia. Quando o oocisto está maduro ele se rompe, e os esporozoítos são lançados na hemolinfa do mosquito e migram para as glândulas salivares, onde adquirem

a capacidade de infectar hospedeiros vertebrados quando são inoculados a partir da picada do mosquito vetor(46,47).



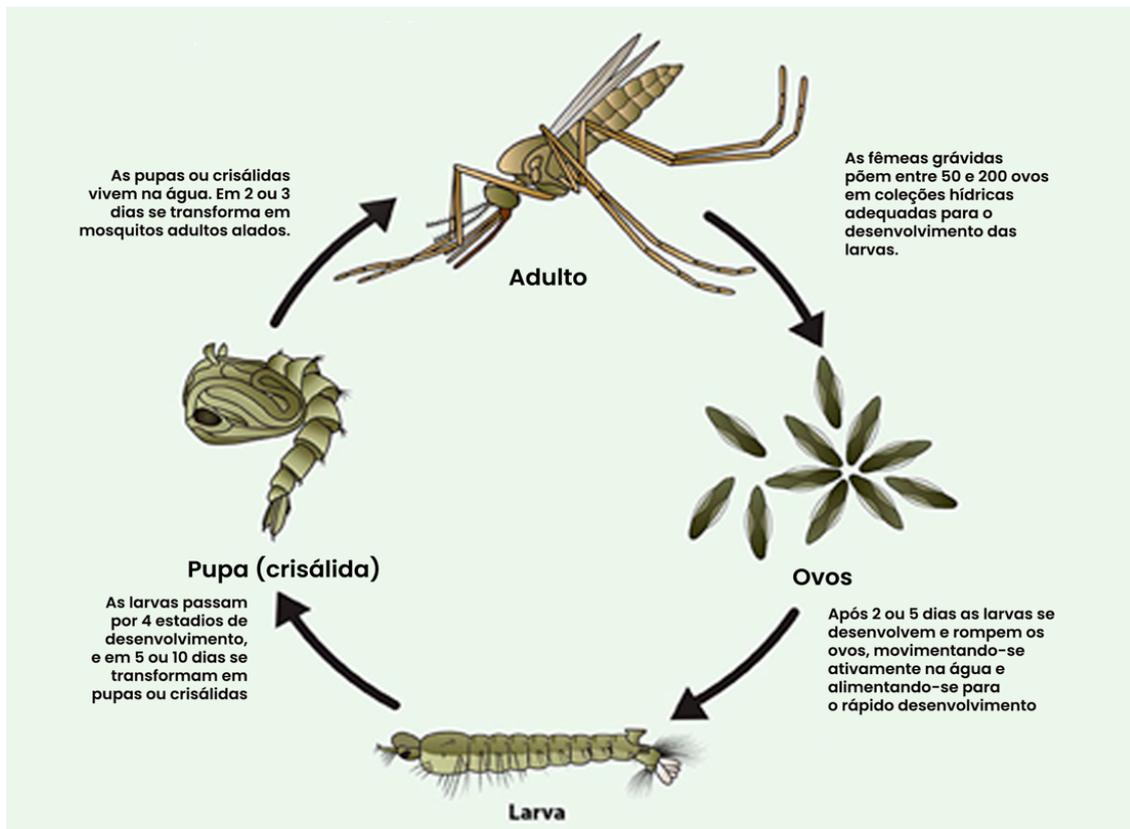
**Figura 8:** Ciclo de vida do *Plasmodium* sp. (Adaptado de MMV: Medicines for Malaria Venture; Disponível em <https://www.mmv.org/malaria-medicines/parasite-lifecycle>; Acessado em 05/08/2022).

## 2.5. OS VETORES DA MALÁRIA

A malária é transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* spp., que pertencem à família Culicidae. Popularmente são denominados de carapanã, perninho, mosquito prego ou sovela. Uma série de características morfológicas são próprias do gênero *Anopheles*: Adultos medem cerca de 6 a 15mm, variando conforme a espécie ou mesmo com variação intraespecífica. Em ambos os sexos têm os palpos maxilares longos, nas fêmeas equivalentes a pelo menos, 0,7 do comprimento da probóscide, enquanto nos machos os palpômeros 4 e 5 são clavados e voltados para a direção superior. Nas pernas o quinto tarsômero é mais longo que o quarto. Assim como todas as espécies dessa família, os anofelinos possuem em seu ciclo de vida uma fase larvária aquática, que em repouso ficam posicionadas paralelamente a linha d'água. Nas larvas o ventromento mostra-se como lâmina esclerotizada e distalmente denteada, enquanto o dorsomento é geralmente reduzido. Uma fêmea põe de 50 a 200 ovos por vez. Os ovos possuem flutuadores, sendo ovipostos de forma separada uns dos outros, não tolerando o ressecamento. Em aproximadamente dois a quatro dias as larvas se desenvolvem e rompem os ovos. As larvas passam por quatro estádios de desenvolvimento, e entre dez a vinte dias se transformam em pupa. Após 3 dias as pupas dão origem aos insetos adultos, a fase alada do mosquito(48). A duração do ciclo de vida dos anofelinos pode variar muito entre as espécies, e na mesma espécie pode ser alterada por fatores ambientais locais.

Uma característica que ajuda a diferenciar os anofelinos dos demais culicídeos é a posição oblíqua que esse inseto assume quando pousa sobre uma superfície; daí a denominação de mosquito prego (Figura 9). Anofelinos machos e fêmeas se alimentam de água e carboidratos retirados, geralmente, de seivas vegetais, todavia após o acasalamento as fêmeas necessitam de maiores quantidades de proteína para maturação dos ovócitos, sendo necessária a hematofagia.

Aproximadamente 70 espécies de mosquitos da subfamília Anophelinae (Grassi, 1900) são incriminadas como vetores de protozoários do gênero *Plasmodium* spp. (Figura 10), sendo cerca de 41 espécies consideradas como vetores primários(49).



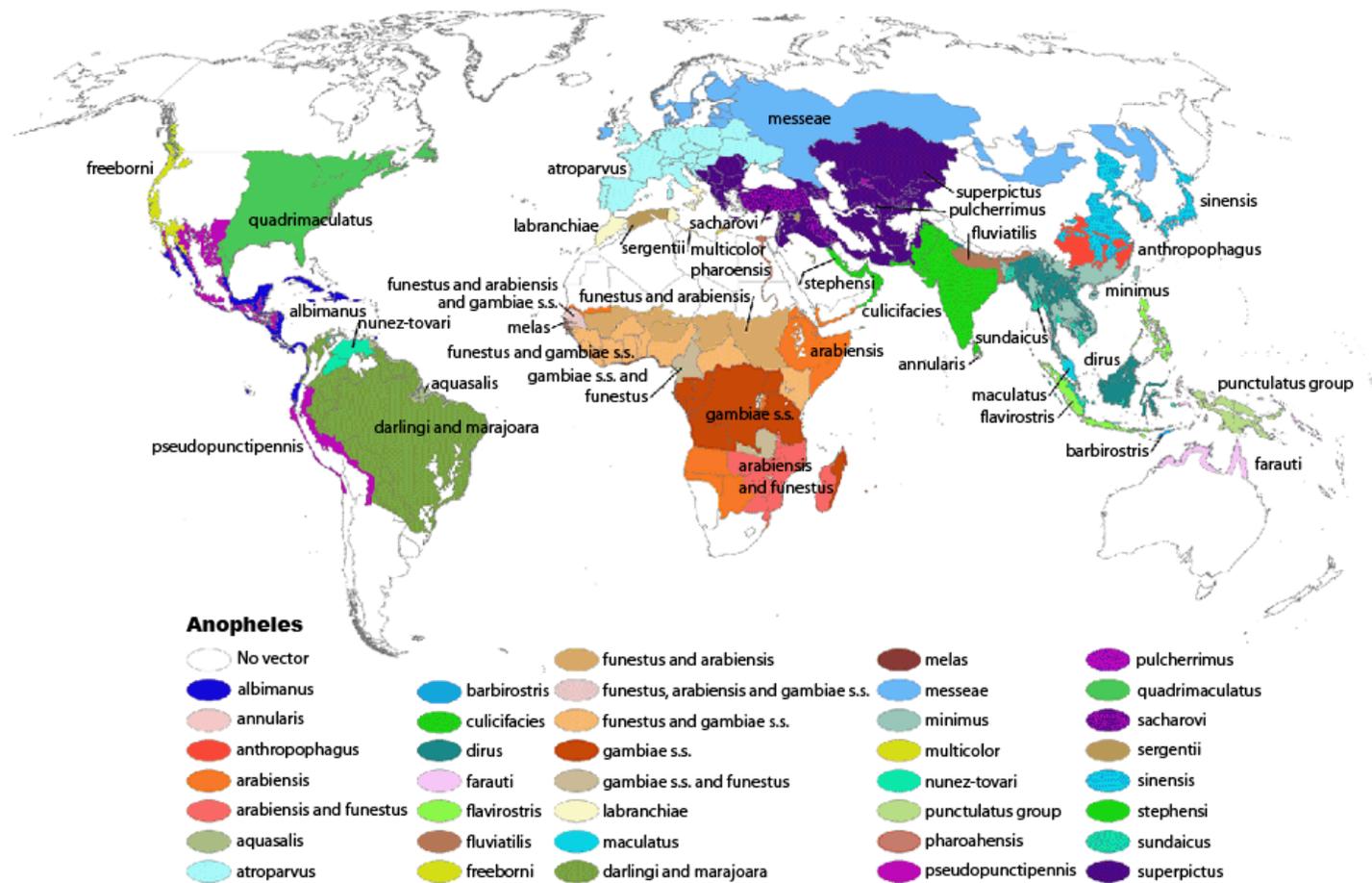
**Figura 9:** Ciclo de vida dos anofelinos. Adaptado de CDC/USA. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mosquitoes/es/about/life-cycles/anopheles.html>. Acessado em 05/08/2022.

Na África subsaariana o principal vetor da malária é *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) sensu lato (s.l.). Trata-se de um complexo de oito subespécies altamente antropofílica, dentre as quais estão *An. gambiae* sensu stricto, *An. coluzzii* (Coetzee & Wilkerson, 2013) e *An. arabiensis* (Patton, 1905) (50). *An. gambiae* é uma espécie que possui um ciclo de desenvolvimento muito rápido; são necessários apenas seis dias desde o ovo até a emergência do mosquito adulto. Por essa importante adaptação no ciclo de vida as larvas dessa espécie proliferam-se em uma grande variedade de coleções hídricas, sendo capazes de se desenvolver em pequenos corpos d'água rasos, bem iluminados e temporários, como depressões no solo, poças, piscinas e pegadas. É um dos vetores mais eficientes na transmissão da malária; é descrito como uma espécie extremamente antropofílica e endofágica, mas que alguns autores relatam ser oportunista, exofágica e com atividades de repasto sanguíneo que variam bastante em horários e preferências de fontes alimentares.

Outra espécie também muito importante no ciclo de transmissão da malária em países africanos é o *Anopheles funestus* (Giles, 1900), uma espécie que facilmente se

adapta a uma grande variedade de habitats, e diferentes condições climáticas. As larvas de *An. funestus* se desenvolvem em grandes e permanentes corpos d'água doce, geralmente associados a vegetação emergente, e por essa característica estão comumente associados com campos de cultivo de arroz que são parcialmente submersos em virtude da irrigação (51). A característica endofílica (entrar e repousar dentro das casas) do *An. funestus*, associada à sua longevidade, assim como resistência aos piretróides já comprovada para várias populações, tem associado essa espécie à manutenção da transmissão e reintrodução da malária (52–55).

Na região das Américas, nove espécies ou complexo\* de espécies de anofelinos são consideradas como vetoras predominantes: *Anopheles albimanus* (Wiedemann, 1820), *An. albitarsis* (Lynch Arribalzaga, 1878)\*, *An. aquasalis* (Curry, 1932), *An. darlingi* (Root, 1926), *An. freeborni* (Aitken, 1939), *An. marajoara* (Galvão & Damasceno, 1942), *An. nuneztovari* (Gabaldon, 1940)\*, *An. pseudopunctipennis* (Theobald, 1901)\*, *An. quadrimaculatus* (Say, 1824) (56).



**Figura 10:** Distribuição Global das espécies dominantes ou de importância médica na transmissão da malária. Adaptado de From Kiszewski et al., 2004. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 70(5):486-498. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/map.html>. Acessado em 15/08/2022.

No Brasil apesar da ocorrência de 54 espécies do anofelinos, apenas seis espécies são vetores da malária, quatro espécies pertencentes ao subgênero *Nyssorhynchus*, *An. darlingi*, *An. albitarsis*, *An. marajoara* e *An. aquasalis*, além de duas espécies pertencentes ao subgênero *Kerteszia*: *Anopheles cruzii* (Dyar & Knab, 1908) e *Anopheles bellator* (Dyar & Knab, 1906) (Marrelli et al. 2007, Meibalan & Marti 2017, Baia-da-Silva et al. 2019, Oliveira et al. 2021).

Mais recentemente a taxonomia das espécies do complexo *An. albitarsis* tem sido revista, e sua importância como vetor da malária está melhor compreendida. Trata-se de um grupo taxonômico de cinco espécies formalmente descritas: *An. albitarsis*, *An. deaneorum* (Rosa-Freitas 1989), *An. janconnae* (Wilkerson & Sallum, 2009) *An. marajoara* (Galvao & Damasceno,) *An. oryzalimnetes* (Wilkerson & Motoki, 2009), e cinco outras separadas por estudos moleculares (*An. albitarsis* F, *An. albitarsis* G, *An. albitarsis* I, *An. albitarsis* H e *An. albitarsis* J). A competência vetorial para transmissão de *Plasmodium* spp. no Brasil já é comprovada para *An. deaneorum*, *An. janconnae* e *An. marajoara* (Foley et al. 2014, Zorello Laporta et al. 2015, Zúñiga et al. 2021).

A distribuição de *An. aquasalis* é restrita às áreas costeiras que sofrem a influência marítima; é encontrado naturalmente infectado por *Plasmodium vivax*, sendo considerado o vetor primário em regiões costeiras. É considerada uma espécie oportunista, que pode se alimentar tanto de animais quanto humanos, com atividade hematofágica predominante nas primeiras horas da noite. As fêmeas se alimentam tanto no intra como no extradomicílio, mas geralmente o repouso pós repasto sanguíneo é feito no extradomicílio. As larvas de *An. aquasalis* se desenvolvem melhor em corpos d'água naturais e não poluídos com elevado teor de cloreto de sódio, que apresentam vegetação emergente; podem ocorrer tanto em água doce quanto salobra (56,57). Em virtude do sucesso na manutenção de colônias de *An. aquasalis* em laboratório, essa espécie tem sido utilizada como modelo para diferentes estudos de morfologia, ecologia, interação parasito-hospedeiro, infecção experimental por *Plasmodium* spp. (58–62), e diversos outros estudos que ajudam a compreender melhor diferentes aspectos relacionados a patogenia, transmissão, tratamento e controle da malária.

Na região de Mata Atlântica do sudeste do Brasil *An. cruzii* e *An. bellator* são espécies consideradas vetores primários de malária. No Brasil admite-se que a distribuição geográfica das espécies restringe ao litoral, seguindo ao sistema montanhoso

que caracteriza ao bioma de Mata Atlântica. No entanto, *An. bellator* sua distribuição atinge Guiana, Trinidad e Venezuela. São descritas como espécies relacionadas a malária de bromélias, em virtude de usarem a água acumulada nas axilas foliares dessas epífitas como criadouros. A densidade populacional varia conforme a época do ano; sua sazonalidade está diretamente relacionada com a temperatura e ocorrência de chuvas, sendo insetos mais frequentes nos meses mais quentes e úmidos do ano. A atividade hematofágica das fêmeas pode acontecer em qualquer horário, até mesmo durante o dia, especialmente em ambientes mais sombreados dentro da floresta (63,64).

A espécie mais amplamente distribuída nas Américas é *Anopheles darlingi*, sendo encontrado desde o sudeste do México até o norte da Argentina. Está presente em todas as regiões do Brasil, sendo considerado o vetor mais eficaz e agressivo da malária neotropical, especialmente na bacia amazônica (65–67). É um mosquito que habita preferencialmente áreas rurais com cobertura vegetal preservada, ou áreas que passaram por recente supressão vegetal. Alterações na paisagem natural podem criar ambientes favoráveis para a proliferação dessa espécie de anofelino. As larvas se desenvolvem bem em coleções hídricas naturais com pouca correnteza, como lagoas e lagos, pequenos riachos e rios sombreados que apresentam vegetação submersa ou emergente. As formas imaturas são frequentemente associadas a detritos vegetais flutuantes nas margens dos criadouros. Entretanto, já foram encontradas larvas em águas poluídas, salobras, e principalmente em poços de água que se formam pela escavação do terreno para mineração em garimpos na Amazônia (68–70).

A abundância de *An. darlingi* tem característica sazonal, em geral grandes quantidades de mosquito estão associadas ao final do período chuvoso que aumenta a oferta de criadouros disponíveis para reprodução, especialmente pela formação de temporários ao longo dos leitos dos rios nas épocas de transbordamento. Aspectos relacionados as características físico-químicas dos grandes rios da Amazônia também influenciam diretamente na ocorrência, densidade e riqueza de espécies de anofelinos (71). É uma espécie altamente antropofílica, alimentando-se preferencialmente de sangue humano, mas é oportunista já tendo sido encontrado ingurgitado com sangue de diversas fontes alimentares, desde porcos, aves, cães e bovinos (72–74).

## 2.6. CONTROLE VETORIAL

O controle de vetores é um dos princípios básicos adotados pelos Programas de Controle da Malária no mundo, sendo parte fundamental das estratégias integradas para o combate à malária. Seu principal objetivo é diminuir a transmissão da doença através da eliminação de parte da população de mosquitos infectados (75). A população de anofelinos pode ser controlada com estratégias específicas direcionadas ao combate de formas imaturas ou adultos.

Os métodos de controle das formas imaturas são variados e apresentam relatos bastante exitosos como por exemplo contribuindo na erradicação de espécies invasoras de *An. gambiae* no Brasil e *An. arabiensis* no Egito (76). Pode-se adotar a intervenção direta nos habitats larvais dos mosquitos, seja por sua eliminação com drenagem ou aterro, seja promovendo a melhoria no fluxo da água e diminuição do sombreamento e do excesso de vegetação. No entanto, a estratégia de controle mais comumente utilizada consiste na aplicação de formulações químicas ou biológicas que agem como larvicidas. Em virtude da toxicidade ambiental dos componentes químicos, e da possibilidade de que esses induzam a resistência, cada vez mais tem sido adotada a aplicação de larvicidas biológicos. As formulações mais comumente utilizadas são biolarvicidas que se valem de proteínas produzidas naturalmente por bactérias *Bacillus thuringiensis var israelenses* (BTI) e *Bacillus sphaericus* (BS) (69,77–80). As larvas ingerem os cristais e esporos, os quais atuam como toxinas ativas que se ligam a receptores das células do epitélio intestinal causando lise celular, gerando a eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio. Consequentemente, a larva morre devido aos efeitos nocivos causados às células do epitélio intestinal (81,82).

Apesar da comprovada eficácia do controle larvário, e de seu impacto na transmissão da malária com a redução das populações de vetores, alguns aspectos negativos devem ser considerados. Em primeiro lugar a dificuldade de identificar assertivamente os criadouros de mosquitos que estão dispersando vetores em determinada localidade, e mesmo depois de identificados chegar aos locais de reprodução dos mosquitos, que nem sempre são de fácil acesso. Atualmente, alguns estudos têm utilizado drones para a correta identificação de criadouros e mesmo para aplicação de larvicidas, mas ainda são estudos iniciais sem aplicação prática nas rotinas dos programas de controle da malária (83–85).

Porém, uma das medidas mais amplamente difundidas nos programas de controle de vetores é o controle químico, que está fundamentado no contato direto entre mosquitos adultos e o inseticida.

No Brasil em 1930 foi constatada a presença de *An. gambiae*, uma espécie invasora, que por sua fácil adaptação ao ambiente e sua grande capacidade vetorial, rapidamente se disseminou pelos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, provocando epidemias sem precedentes com estimativa de que tenham ocorrido 14.000 óbitos em menos de um ano. Em 1939 o Serviço de Malária do Nordeste (SMN) assumiu a meta de erradicação desse vetor, êxito alcançado em menos de dois anos, com o trabalho intensivo de identificação dos criadouros, controle de larvas e adultos, além de tratamento dos pacientes diagnosticados com malária. As últimas larvas de *An. gambiae* que foram encontradas no Brasil datam de 14 de novembro de 1940 (86). Considerando o alcance da meta proposta, no início dos anos 40 as ações de controle da malária foram expandidas para todo o território nacional, com a atuação do Serviço Especial de Saúde Pública (SESP) na região amazônica, Serviço Estadual de Malária de São Paulo e do Serviço Nacional de Malária (SNM) cobrindo o restante do país (31).

Em 1945 chegou ao Brasil o DDT (dicloro-difenil-tricloroetano), um organoclorado sintético desenvolvido no início do século XIX e que teve suas propriedades inseticidas descobertas no início dos anos 40, que foi inicialmente usado no combate da malária, tifo e outras doenças transmitidas por vetores. Foi o primeiro inseticida utilizado massivamente nas campanhas de controle da malária no país.

Os anofelinos (especialmente *An. darlingi*) possuem alto grau de endofilia (comportamento de repousar dentro da casa) e endofagia (comportamento de se alimentar dentro de casa). Assim, em muitos casos a transmissão se dá no intradomicílio, e a aplicação de inseticidas nas paredes, favorece o contato do inseto com o inseticida ao pousar nesta para iniciar a digestão do sangue após o repasto sanguíneo, causando sua morte. O DDT começou a ser utilizado nas atividades de Borrifação Residual Intradomiciliar (BRI), de forma ainda experimental, no município de Breves no estado do Pará quando as casas eram borrifadas bimestralmente, e em seguida passou-se a usar intervalos quadrimestrais, devido a constatação de sua boa residualidade. Em virtude dos bons resultados alcançados, sua utilização foi sendo expandida pelos estados do Amapá, Amazonas, Rondônia e Pará para a redução das populações de *An. darlingi*. A borrifação nas capitais, Belém, e Manaus, não estava restrita apenas as casas, incluía cinemas,

teatros, igrejas e escolas que funcionavam no período noturno. Em 1954 as ações de borrifação intradomiciliar com uso do DDT cobriam uma área com aproximadamente três milhões de habitantes (86). O efeito prolongado do DDT tinha uma outra vantagem, diminuía os custos do combate vetorial especialmente com deslocamentos às áreas rurais mais remotas, e fortalecia a ideia de que a malária poderia ser erradicada com a eliminação dos vetores (87).

Entretanto, a estratégia do uso massivo de DDT começou a ser questionada quando surgiram os primeiros relatos de resistência de populações de diversos insetos. Já em 1948 começou-se a observar populações resistentes de mosca doméstica, e nos anos seguintes o mesmo fenômeno foi sendo observado em outras pragas domésticas, como mosquitos do gênero *Culex*, pulgas, percevejos e baratas. Os primeiros relatos de resistência relacionados ao controle da malária foram comunicados à Organização Mundial da Saúde em outubro de 1951, informando a pouca efetividade do DDT no controle de *Anopheles sacharovi* (Favre, 1903) na região do Peloponeso no sul da Grécia (88).

Inseticidas de outros grupos químicos começaram a ser utilizados em substituição ao DDT. Organofosforados são um grupo de inseticidas desenvolvidos durante a Segunda Guerra Mundial. Esses compostos são para controle de pragas na agricultura, assim como controle de vetores em saúde pública. Atualmente os organofosforados são os compostos químicos mais utilizados, principalmente na agricultura; eles ganharam popularidade e maior adesão dos serviços de saúde nos anos 70, substituindo os Organoclorados, por serem inseticidas biodegradáveis e não-cumulativos, conseqüentemente menos persistentes e danosos ao meio ambiente, embora sejam compostos quimicamente mais instáveis e muito tóxico aos vertebrados (89,90). Os Carbamatos começaram a ser comercializados por volta dos anos 50; são uma classe de inseticidas de estrutura e mecanismo de ação muito similares os organofosforados, atuando na inibição das enzimas colinesterases. Apesar de sua ação letal rápida, têm a desvantagem de serem compostos geralmente instáveis, com moléculas que degradam facilmente sob determinadas condições de temperatura, umidade e luz (91).

Os piretróides são uma classe de inseticidas sintéticos moduladores do canal de sódio, desenvolvidos a partir de compostos isolados de extratos naturais de plantas do gênero *Chrysanthemum*. Os inseticidas da classe dos piretróides são os mais utilizados no controle doméstico de pragas, especialmente de mosquitos, devido a sua baixa toxicidade

para mamíferos, rápido efeito knockdown e alta eficácia contra insetos. O primeiro piretróide isolado, a aletrina, foi descoberto por Schechter e LaForge em 1949. No mesmo ano as indústrias Matsui & Sumitomo Chemical Co., Ltda., se interessaram em produzir a aletrina como inseticida para uso doméstico. Após o desenvolvimento da tecnologia necessária, começaram a produzir a aletrina em escala comercial em 1953. Nos últimos 60 anos mais de 30 piretróides foram desenvolvidos e comercializados. Em 1977 os desenvolvedores da Sumitomo Chemical® conseguiram incorporar a permetrina nas fibras de mosquiteiros, com objetivo de proteger as pessoas das picadas dos mosquitos, criando o Olyset Net, revolucionando a luta global contra a malária e recebendo a recomendação da OMS em 2002 (92).

Os piretróides começaram a ser utilizados no Brasil para o controle da malária em meados dos anos 1990, com uma formulação de cipermetrina em pó molhável, utilizado para borrifação intradomiciliar, em substituição ao DDT (93). Atualmente, vários outros inseticidas da classe dos piretróides são utilizados nos programas de controle da malária em todas as regiões malarígenas do mundo, tanto para a borrifação intradomiciliar (cipermetrina, deltametrina, etofenprox), quando para aplicação espacial com uso da termonebulização (lambda-cialotrina), e ainda como compostos utilizados na impregnação de mosquiteiros (alfacipermetrina, deltametrina, dentre outros.) (94).

## 2.7. RESISTÊNCIA DOS ANOFELINOS AOS INSETICIDAS

Apesar da inegável importância do controle químico de vetores para a diminuição dos casos de malária, seu uso deve ser monitorado continuamente. A resistência a inseticidas tem sido atualmente uma das principais preocupações dos programas de controle da malária pelo mundo.

Os casos de resistência se intensificaram por volta dos anos 1940, com a introdução dos inseticidas sintéticos, que aumentaram a eficácia dos produtos, baratearam os insumos e favoreceram seu uso em larga escala. Atualmente a resistência aos inseticidas já foi detectada para praticamente todas as classes utilizadas, como os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (95).

Os inseticidas mais comumente utilizados na termonebulização e borrifação intradomiciliar são do grupo dos piretróides, assim como todos os inseticidas aprovados pela OMS para impregnação de mosquiteiros, de forma que o surgimento de resistência a estes inseticidas é inevitável (96). Trabalhos recentes têm mostrado um aumento muito

rápido de populações de anofelinos resistentes, relacionando a utilização de mosquiteiros impregnados (97–100). Outros estudos têm mostrado mudanças de comportamento dos vetores, como por exemplo nos horários de picos que se entendem além das primeiras horas da noite como classicamente descrito, inclusive com alterações de horário de pico conforme a sazonalidade. Já foram descritas também casos de aumento na proporção de picadas no extra domicílio após a distribuição em massa de MILDs, o que aumenta a capacidade vetorial (101,102), o que pode comprometer os programas de controle com a utilização massiva desta ferramenta (103–105).

## 2.8. USO DE MOSQUITEIROS IMPREGNADOS E CONTROLE DA MALÁRIA

Mosquiteiros impregnados de longa duração (MILDs) são primariamente medida de proteção individual, impedindo o contato do vetor com os indivíduos sadios evitando a transmissão. Mosquiteiros também podem constituir-se em medida de proteção coletiva se forem usados pela maioria dos residentes de uma localidade; nestes casos nota-se importante redução na densidade da população dos vetores e consequentemente da infectividade, o que é conhecido como "efeito de massa". Estudos mostram que em localidades onde o mosquiteiro foi instalado em aproximadamente 70% das residências, toda a população foi beneficiada pelo efeito protetivo dos mosquiteiros (106,107).

Os MILDs mais modernos possuem em sua malha moléculas de princípios ativos de substâncias inseticidas que persistem mesmo após o manuseio e lavagens, variando conforme o fabricante; os mosquiteiros têm durabilidade aproximada de três anos e conseguem manter a capacidade inseticida mesmo após vinte lavagens, desde que sejam seguidas as recomendações de uso. Para que um mosquiteiro impregnado possa ser utilizado em saúde pública ele precisa ser testado e aprovado pela WHOPES (World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme). Atualmente a lista de mosquiteiros impregnados de longa duração pré-qualificados pela OMS/WHOPES relaciona 21 produtos de 12 fabricantes (Quadro 2), a maior parte deles impregnados com piretróides ou piretróides associados a substâncias com efeitos sinérgicos com objetivo de conseguir melhor resultados em populações de anofelinos que comprovadamente apresentam algum grau de resistência aos inseticidas (108).

**Quadro 2:** Mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração (MILDS) pré-qualificados pela OMS/WHOPEs para uso em saúde pública.

Fabricante	Ano da pré-qualificação	Produto	Material	Inseticida
BASF (Alemanha)	2017	Interceptor®	Poliéster	Piretróide
	2018	Interceptor G2®	Poliéster	Piretróide
Disease Control Technologies (USA)	2017	Royal Sentry®	Polietileno	Piretróide
	2019	Royal Sentry® 2.0	Polietileno	Piretróide
	2019	Royal Guard®	Polietileno	Piretróide
Fujian Yamei Industry (China)	2018	Yahe LN®	Poliéster	Piretróide
Life Ideas Biological Technology (China)	2018	Panda Net 2.0®	Polietileno	Piretróide
Mainpol (Alemanha)	2018	SafeNet®	Poliéster	Piretróide
NRS Moon Netting (China)	2018	Tsara Boost®	Poliéster	PBO
	2018	Tsara Soft® *	Poliéster	Piretróide
	2018	Tsara Plus®	Poliéster	PBO
Net Health (A to Z Textile Mills) (Tanzania)	2018	MiraNet®	Polietileno	Piretróide
	2017	OLYSET Net®	Polietileno	Piretróide
Shobikaa Impex Private (India)	2017	DuraneNet®	Polietileno	Piretróide
Sumitomo Chemical (Japão)	2017	OLYSET Net®	Polietileno	Piretróide
	2018	OLYSET PLUS®	Polietileno	PBO
Tianjin Yorkool International (China)	2018	Yorkool LN®	Poliéster	Piretróide
VKA Polymers (India)	2018	MAGNet®	Polietileno	Piretróide
	2018	VEERALIN®	Polietileno	PBO
Vestergaard (Suíça)	2017	PermaNet 2.0®	Poliéster	Piretróide
	2018	PermaNet 3.0®	Poliéster	PBO

Fonte: UNICEF, 2020.

O Programa Nacional de Controle da Malária do Ministério da Saúde do Brasil (PNM/MS) incorporou em 2010 o uso de MILDs como parte de uma estratégia integrada de controle. Nesta oportunidade foram contemplados 47 municípios dos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima. No estado do Amazonas foram distribuídos 285.000 mosquiteiros impregnados disponibilizados pelo Projeto para 20 municípios. A associação entre estratégias de controle vetorial tem sido testada, como forma de potencializar a proteção dos moradores. Em geral estão associadas à borrifação intradomiciliar e os mosquiteiros impregnados, ou telas impregnadas. Os resultados, às vezes contraditórios, na sua maioria indicam produzir benefícios garantindo proteção adicional aos usuários e de forma coletiva às localidades atendidas (106,109).

A eficácia dos mosquiteiros no controle de malária é reconhecida mundialmente, e tem demonstrado excelentes resultados em vários países. Considerando o Brasil ser signatário da Estratégia Técnica Mundial para Malária 2016-2030 (OMS 2015), que tem como uma das principais metas reduzir, em 15 anos, a incidência de casos de malária no mundo em 90%, torna-se fundamental o conhecimento do conjunto de estratégias para

controle de malária na Amazônia, que deve ser profundamente compreendido e adaptado a realidade local, de maneira que sua efetividade seja maximizada.

No Brasil, pouco se conhece do impacto destes mosquiteiros sobre a população de mosquitos das áreas atendidas. Entretanto, um estudo desenvolvido entre 2006 e 2010 no Suriname demonstrou uma redução das taxas de picadas a níveis próximos de zero depois da adoção de medidas massivas de controle da malária, incluindo o uso de mosquiteiros impregnados (110).

O planeta está empenhado na eliminação da malária. Apesar do uso massivo de mosquiteiros para controle de malária no Brasil já ter sido implementado previamente, condições como dificuldades logísticas e operacionais impossibilitaram um monitoramento mais adequado da implementação desta ferramenta à época. Estudos prévios de adequação dos mosquiteiros às condições de moradia e hábitos da população, não foram realizados adequadamente. O impacto sobre as populações de vetores também não foi avaliado; nenhum estudo de suscetibilidade ao inseticida utilizado na impregnação foi realizado, antes da implementação da estratégia e nem depois dos mosquiteiros instalados.

Justifica-se a necessidade de realização deste estudo frente à necessidade de monitorar mais detalhadamente o uso dos mosquiteiros impregnados para controle de malária na Amazônia brasileira. Para tanto é importante que sejam considerados hábitos e percepções locais da população, assim como estabelecer linhas de base quanto a suscetibilidade dos mosquitos. Entender qual a melhor estratégia, considerando diferentes mosaicos de intervenção, assim como diferentes cenários de transmissão, através da avaliação dos benefícios do uso, combinado e/ou isolado, de mosquiteiros e borrifação intradomiciliar é uma necessidade se quisermos atingir a meta da eliminação. Os resultados deste estudo ajudarão a fundamentar a tomada de decisão dos gestores quanto a definição de estratégias, de modo que estas decisões sejam as mais adequadas possíveis e resultem em controle mais efetivo dos vetores, e conseqüentemente da doença.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficácia de mosquiteiros impregnados com inseticida para o controle da malária em 4 municípios do estado do Amazonas, considerando suas particularidades socioculturais.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Investigar o impacto da utilização dos mosquiteiros impregnados como ferramentas na redução de número de casos de malária em municípios do Amazonas;

Investigar percepções da população a respeito da eficácia dos mosquiteiros para a proteção dos residentes

Investigar o efeito protetivo de massa, conferidos aos indivíduos que mesmo não utilizando mosquiteiros, se beneficiam pelo uso coletivo da estratégia em sua localidade;

Avaliar a durabilidade dos mosquiteiros e a persistência do inseticida nos mesmos, usando metodologia preconizada pela OMS;

Investigar resistência à piretróides, com utilização de marcadores moleculares, de população de mosquitos nas diferentes localidades;

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

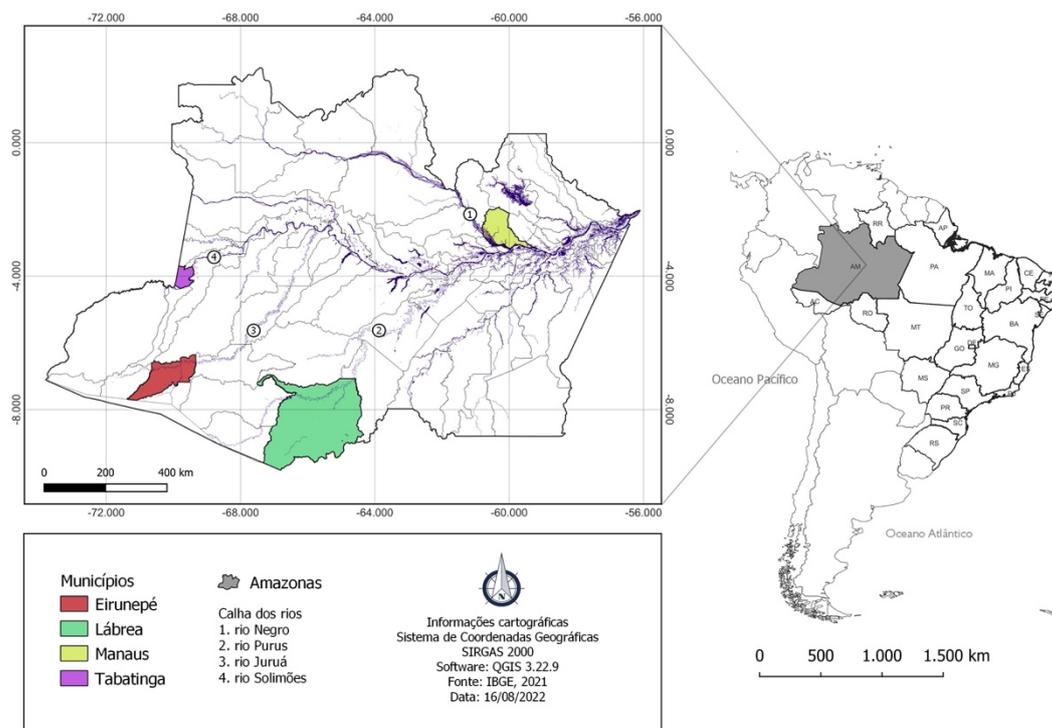
Trata-se de um ensaio de campo comunitário no qual foram acompanhadas por três anos consecutivos os municípios onde foram instalados aproximadamente 23.200 mosquiteiros impregnados com inseticida de longa duração (MILDs) para o controle da malária em localidades com transmissão ativa.

##### 4.1. ÁREA DE ESTUDO

Para definição das localidades alvo para acompanhamento durante o estudo foram considerados critérios epidemiológicos quanto ao número de casos absolutos de malária no ano de 2015, assim como ocorrência de malária em área urbana. Foram consideradas também características ecológicas para que a diversidade dos ambientes amazônicos estivesse representada.

Diante disso, quatro municípios do estado do Amazonas foram selecionados para o estudo, localizados em três diferentes calhas de rio (Figura 11):

- (1) Eirunepé, município localizado na calha do rio Juruá, com 33.580 habitantes; em 2015 esse município notificou 6.262 casos de malária, com IPA de 186,5 casos/1.000 habitantes sendo 7,5% destes casos por *P. falciparum*; (-6,6623772°; -69,8674302°).
- (2) Lábrea, com 42.439 habitantes na calha do rio Purus, que notificou um total de 5.288 casos de malária com IPA de 124,6 casos/1.000 habitantes e 11,8% de malária por *P. falciparum*; (-7,2819521°; -64,808997°).
- (3) Manaus, capital do Amazonas, com 2.020.301 habitantes e que no ano de 2015 notificou 8.498 casos autóctones, com IPA 4,2 e 0,3% de casos por *P. falciparum*; (-2,9206533°; -59,8961743°).
- (4) Tabatinga, localizado no alto rio Solimões, com 59.684 habitantes, 1.808 casos, IPA de 30,3 casos/1.000 habitantes e 9,2% de casos por *P. falciparum* (-4,2555949°; -69,9396463°).



**Figura 11:** Áreas de estudo, destacando os municípios onde foram monitorados os mosquiteiros impregnados.

#### 4.2. MÉTODO

No início de 2016 o Governo do Estado do Amazonas, por meio da Fundação de Vigilância em Saúde, adquiriu 41.000 unidades de mosquiteiros impregnados com inseticida de longa duração, sendo 20.900 unidades de modelo cônico para uso em camas, e outras 20.100 unidades para uso em rede, conforme descrições no **Quadro 3** abaixo.

**Quadro 3:** Especificação técnica dos mosquiteiros adquiridos para o controle da malária no estado do Amazonas em 2016.

Descrição	Modelo	Quantidade	Marca/ Fabricante
MOSQUITEIRO, Tipo: cônico impregnado com inseticida de lenta liberação; Aplicação: para programas de saúde pública; Material: 100% poliéster; Dimensões: circunferência superior 56cm, circunferência da base 1050cm, altura 220cm e espessura do fio 75 denier; Características: malha de 24 orifícios/cm <sup>2</sup> , concentração: 0,67% p/p (200 mg/m <sup>2</sup> ), permite múltiplas lavagens e seja durável, resistente, não inflamável e anti-sujeira; Ingrediente ativo: alfacipermetrina;	Cama	20.900	Interceptor® BASF

MOSQUITEIRO, Aplicação: para programas de saúde pública; Tipo: Rede impregnado; Material: 100% poliéster; Dimensões: comprimento 340cm x largura do teto 90cm x altura 160cm x espessura do fio 75 denier; Características: malha de 24 orifícios/cm <sup>2</sup> permite múltiplas lavagens e seja durável, resistente, não inflamável e anti-sujeira; Ingrediente ativo: alfacipermetrina; Cor: a definir; Conforme especificações da OMS e considerar as recomendações de registro no Ministério da Saúde do Brasil	Rede	20.100	Interceptor® BASF
--	------	--------	----------------------

Fonte: Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas, 2016.

Junto com os gestores de cada um dos municípios incluídos neste estudo, foram selecionadas dentre as localidades que concentravam 80% dos casos de malária no ano de 2015, aquelas onde iriam ser instalados os mosquiteiros impregnados.

Nas localidades selecionadas para receber os mosquiteiros, no mínimo 80% das residências deveriam ter mosquiteiros instalados, excluindo-se apenas as residências onde os moradores se recusassem a receber os mosquiteiros, mediante assinatura do *termo de recusa* (Apêndice 12.5).

O **Quadro 4** abaixo mostra o número de casos de malária por município em 2015, e a respectiva quantidade de mosquiteiros que deveria ter sido entregue, segundo levantamento preliminar realizado pelos próprios gestores municipais. Do total adquirido foi destacado um quantitativo para reserva técnica, que serviu tanto para atender famílias que não foram contabilizadas no levantamento preliminar, quanto para substituir mosquiteiros que foram danificados ou retirados de campo para testes entomológicos.

**Quadro 4:** Número de mosquiteiros distribuídos aos municípios selecionados para o estudo.

Município	Casos de Malária em 2015	Quantidade de Mosquiteiros previstos		
		Tipo Rede	Tipo Cama	TOTAL
Eirunepé	6.262	5.000	8.000	13.000
Lábrea	5.288	3.000	5.000	13.000
Manaus	8.498	1.000	1.000	2.000
Tabatinga	1.808	1.500	2.000	3.500
Reserva técnica	-	2.000	7.000	9.000

Fonte: Fundação de Vigilância em Saúde, 2016.

#### 4.3. AVALIAÇÃO DE CONHECIMENTOS, PRÁTICAS E ATITUDES

Com objetivo de avaliar a manutenção do uso dos mosquiteiros pelas famílias atendidas em diferentes momentos após a instalação, optou-se pela aplicação de formulários estruturados tipo CAP (formulário para avaliação de conhecimentos, atitudes e práticas), com aplicações realizadas após 6, 12, 18, 24 e 36 meses de instalação, denominadas no estudo de campanhas.

Em cada município foram escolhidas aleatoriamente duas localidades que foram avaliadas em cada uma das 5 campanhas. Em cada localidade escolhida foram aleatorizadas novamente e escolhidas 10 residências para aplicação do CAP relativo a percepções dos moradores quanto a malária e mosquiteiros (111). O CAP foi adaptado do Guia de avaliação da OMS (WHO 2011). O formulário CAP usado encontra-se no Apêndice 10.1.

A aplicação do CAP foi realizada por técnicos devidamente capacitados e era sempre realizada com o chefe da família de cada residência; na ausência desse poderia ser respondido por outro adulto responsável. As entrevistas não eram realizadas em residências sem a presença de um adulto. A aplicação do CAP demorava em média 15 minutos.



**Figura 12:** Aplicação do formulário CAP com moradora do município de Lábrea.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.



**Figura 13:** Aplicação do CAP com moradores da área rural de Manaus.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

#### 4.4. AVALIAÇÃO DE USO, RETENÇÃO E DURABILIDADE DOS MOSQUITEIROS

Para o monitoramento da durabilidade dos mosquiteiros foram utilizados questionários semi-estruturados adaptados do Guia de monitoramento elaborado pela Organização Mundial de Saúde (WHO 2011). (Apêndice 10.1)

Com a aplicação deste questionário foram avaliados três indicadores:

(1) *Vida útil*: que é estimada considerando a proporção de mosquiteiros viáveis que permanecem sendo utilizados pelas famílias, em relação ao total de mosquiteiros distribuídos, considerando o período de 36 meses;

(2) *Uso & abandono*: proporção de mosquiteiros que não está em uso como preconizado, após um período definido depois da sua instalação nos domicílios. Foram elencadas as principais razões pelas quais o mosquiteiro não foi mais usado, ou seja, se este foi destruído, rasgado, desgastado, se é considerado inútil para proteção contra mosquitos, ausência (roubado ou removido) ou utilizado para outros fins;

(3) *Integridade Física*: foi considerado o número, localização e tamanho dos buracos em cada mosquiteiro; também foi caracterizado o motivo do rasgo. A integridade física deve avaliar o tempo de uso dos mosquiteiros em função de sua deterioração, desde o início do uso até seu descarte.

#### 4.5. AVALIAÇÃO ENTOMOLÓGICA

Foram realizados ensaios biológicos com os mosquiteiros que foram recolhidos das residências. Foram recolhidos 115 mosquiteiros em diferentes residências, durante as campanhas de monitoramento realizadas após 6, 12, 18, 24 e 36 meses de instalação.

Como amostras de controle/referência foram selecionados mais 10 mosquiteiros não usados que ficaram no laboratório e passaram por igual prova de cone, seguindo a mesma periodicidade dos mosquiteiros amostrados em campo.

##### 4.5.1. COLETA DAS POPULAÇÕES DE ANOFELINOS PARA BIOENSAIOS

Para a realização de bioensaios foram capturados anofelinos com o método de atração por humano protegido ou, por aspiração, diretamente nas paredes de currais, com auxílio de um capturador de Castro. Os exemplares de anofelinos foram capturados por técnicos das Gerências Municipais de Controle de Endemias, devidamente capacitados e usando Equipamentos de Proteção Individual (EPI) adequados. Os técnicos que realizaram as coletas também assinaram TCLE (Apêndice 10.2), conforme recomendação do CEP.

Inicialmente, para os bioensaios foram utilizados mosquitos da geração F1 criados em laboratório, a partir dos ovos de fêmeas coletados no próprio município,

conforme detalhamento a seguir. Foram coletadas fêmeas de anofelinos em campo, nos municípios incluídos no estudo. A amostragem em populações locais visou aproximar os resultados ao máximo quanto a bioeficácia, considerando que podem existir diferentes perfis de susceptibilidade por área geográfica.

Quando necessário, as fêmeas capturadas foram alimentadas com sangue de cobaia para garantir a maturação dos ovócitos. Três dias depois da captura ou da alimentação no laboratório, fêmeas grávidas foram anestesiadas com acetato de etila e os indivíduos identificados até espécie, usando uma chave taxonômica de (112). Para a obtenção de ovos, fêmeas da espécie *An. darlingi* foram colocadas em um aparato de plástico, com 8,5 cm de diâmetro e 4,5 cm de altura, no qual a parte superior é recoberta por uma tela de náilon com um pequeno orifício (para introdução dos mosquitos). O aparato de plástico foi mergulhado em uma bacia de 18 cm de diâmetro e 7,5 cm de altura, contendo água sem cloro, com a superfície interna recoberta com papel-filtro, para evitar que os ovos ressequem. Dois dias após a postura, o aparato de plástico foi removido. As larvas recém-emergidas foram transferidas para bacias de criação e mantidas até a formação de pupas. Os mosquitos foram criados de acordo com o protocolo de Horosko *et al.* (1997), com algumas modificações.

A oviposição e criação dos anofelinos foi realizada no insetário do Laboratório de Malária e Dengue do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Em virtude de dificuldades técnicas para o transporte de fêmeas para oviposição nos laboratórios em Manaus, e por efeitos da sazonalidade que dificultaram a captura de um quantitativo mínimo viável, optou-se por concluir a realização das provas biológicas com anofelinos (*Anopheles aquasalis*) provenientes do insetário da Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Leônidas e Maria Deane em Manaus, como uma espécie modelo que tem sido amplamente utilizada para estudos diversos.

#### 4.5.2. BIOENSAIO COM REALIZAÇÃO DE PROVA DO CONE.

Para cada mosquiteiro amostrado foram recortados quatro quadrados de 25 cm X 25 cm. Cada quadrado recortado foi esticado e fixado em uma superfície plana onde foram fixados dois cones padrão OMS para a prova biológica. Dentro de cada cone foram colocados cinco mosquitos não ingurgitados, permanecendo em contato com o mosquiteiro por três minutos. Após a exposição, os mosquitos foram recolhidos dos cones e transferidos para copos com paredes parafinadas com solução de açúcar a 10%

embebido em algodão e colocados em câmaras com temperatura próxima de 26°C. O efeito Knock-down foi mensurado após 60 minutos da exposição, quando foram contados os mosquitos que caíram. A mortalidade final foi mensurada após 24 da exposição.

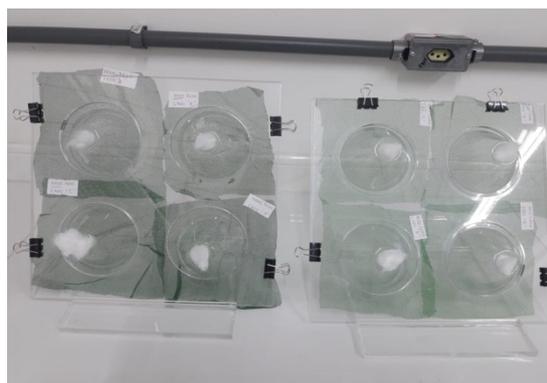
Para cada mosquiteiro testado foi realizada uma prova controle, onde os mosquitos foram expostos ao contato com uma tela não tratada com inseticida.

Os bioensaios foram realizados no laboratório de entomologia da Subgerência de Entomologia da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas (SGENTO/DVA/FVS).



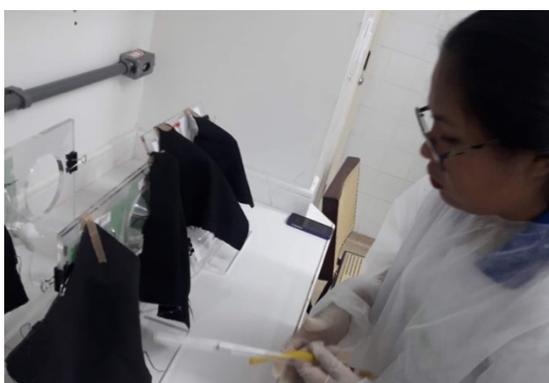
**Figura 14:** Seleção das amostras de mosquiteiros para serem testadas em bioensaios.

Fonte: SGENTO/DVA/FVS-AM



**Figura 15:** Realização dos ensaios com exposição dos mosquitos ao contato com os mosquiteiros impregnados.

Fonte: SGENTO/DVA/FVS-AM



**Figura 16:** Retirada dos mosquitos expostos após o tempo de exposição para o repouso e posterior contagem dos espécimes mortos.

Fonte: SGENTO/DVA/FVS-AM



**Figura 17:** Exposição dos mosquitos com detalhe para os mosquitos não-expostos a inseticida (controle negativo).

Fonte: SGENTO/DVA/FVS-AM

#### 4.6. ANÁLISES MOLECULARES RELACIONADAS À RESISTÊNCIA

A extração de DNA utilizando mosquitos individualmente, foi realizada pelo método TNES, descrito por Martins et al, (2007).

Este DNA foi criopreservado para montagem de um banco de DNA de *An. darlingi* do Amazonas, que pode no futuro ser utilizado com vários propósitos. Uma alíquota de 1µL de cada amostra foi retirada para a formação de um *pool*, representando 10 indivíduos.

A genotipagem da clássica mutação *kdr* L1014F foi realizada em duas etapas:

- i) amplificação da região IIS6 do *Nav*, seguida de
- ii) amplificação alelo específica (genotipagem propriamente dita).

Para a amplificação da região IIS6 do *Nav*, foi feita PCR em 12µL de reação, contendo *GoTaq Green Master Mix 2x* (Promega), 1µL (concentração) de cada *pool*, 1 µM dos *primers forward* 42f 5'-CGTGTTTTATGCGGAGAATG-3' e *reverse* 422r 5'-CACGGACGCAATTTGACTTGT-3', e água mili-Q para completar o volume final. As reações foram realizadas em o termociclador modelo Applied Biosystems™ Verti™ 96 – Well Fast Thermal Cycler, com as seguintes condições: 3 minutos à 94°C, seguido de 32 ciclos à 94°C por 30 segundos para a desnaturação das fitas de DNA, 58°C por 30 segundos para o alinhamento dos *primers* e 72°C por 1 minuto para extensão da polimerase. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese por 40 minutos a 110 volts em gel de agarose 1% em tampão TBE (Tris, borato e EDTA), que foram em seguida corados com Nancy-520 DNA Gel *Stain intercalante* de DNA (Sigma-Aldrich®). O tamanho dos produtos em pares de base foi guiado pelo marcador 100bp *ladder plus* (Promega), revelando um produto de 339pb para a região IIS6 do *Nav*.

O produto da reação do IIS6 foi diluído 100 vezes em água mili-Q e submetido à reação de AS-PCR. Foi utilizado 1µL dessa diluição, o *GoTaq Green Master Mix 2x* (Promega), 0,5 µM do *primer* comum (5'-GCG GGC CTG TAG TTA TAG GAA ACG TA-3'), 0,5 µM do *primer f\_Phe* (5'-GCG GGC AGG GCG GCG GGG GCG GGG CCC TGT AGT TAT AGG AAA CATT-3') e 0,25 µM do *primer f\_Leu* (5'- GCG GGC CTG TAG TTA TAG GAA ACG TA-3') para o volume final de 12,5 µL. Foram usados, também, controles positivos homozigotos (1014L/L, 1014F/F) e heterozigoto (1014L/F), derivados de plasmídeos sintéticos contendo a região IIS6 do *Nav* de *An. darlingi* com alteração somente no nucleotídeo referente ao sítio 1014. As reações foram incubadas

em um termociclador passando por 5 minutos à 94°C na fase inicial, seguida de 32 ciclos à 94°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto, e uma fase final de 7 minutos a 72°C para extensão da polimerase. Os produtos desta reação foram submetidos à eletroforese por 1 hora a 170 volts em gel de poliacrilamida 10% e depois, corados em Nancy-520 DNA Gel Stain intercalante de DNA (Sigma-Aldrich®). O tamanho dos produtos em pares de base foi guiado pelo marcador DNA *Ladder Ultra Low Range*.

## **5. METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS**

### **5.1. ANÁLISES DE DADOS**

As informações coletadas foram sistematizadas em bancos de dados em EPIDATA e analisadas usando o programa EPIINFO (CDC-Atlanta, 2010). As variáveis categóricas foram analisadas usando os testes de Qui quadrado ( $X^2$ ) com correção de Yates para proporções e em caso de valores esperados menores que cinco foi feito o teste de Fisher. A magnitude das associações foi estimada usando os valores de risco relativo. Para variáveis contínuas foram realizadas análises de distribuição de frequências, medidas de tendência central (médias e medianas), medidas de dispersão (variância e desvio padrão). Foi aplicado o teste t de Student para comparação de médias quando houve duas séries de dados e ANOVA no caso de mais de duas séries de dados e análise multivariada, para correlação de duas variáveis numéricas foi usado o teste de Spearman. Em todos os casos foi considerado como estatisticamente significativo um valor de p menor de 0,05.

## **6. ASPECTOS ÉTICOS**

O projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética da FIOCRUZ/IOC, e têm parecer favorável do que emitiu Parecer Consubstanciado N° 2.293.231 / CAAE 69014317.0.3001.5248 (Apêndice 10.2) e (Anexo 11.1).

## 7. RESULTADOS

Dos 31.500 mosquiteiros inicialmente previstos, foram instalados um total 23.219, dentre os quatro municípios incluídos nesse estudo (**Tabela 2**). A instalação dos mosquiteiros foi realizada entre os meses de junho de 2016 e julho 2017.

A **Tabela 2** mostra a relação dos mosquiteiros entregues entre todos os previstos e o percentual de cobertura real atingida. A estimativa inicial foi feita pelos próprios municípios baseados nas populações de localidades malarígenas cadastradas no SIVEP\_Malária em 2015.

Do total 23.219 mosquiteiros instalados, 31,9% (7.407) foram do tipo apropriado para uso em redes e 68,1% (15.812) do tipo cônico apropriado para uso em camas, numa razão aproximada de 2,1 mosquiteiro de cama por mosquiteiro de rede instalado. Essa taxa, no entanto, foi bastante variável de um município para outro o que está diretamente relacionado com os hábitos de dormir de cada lugar. No município de Tabatinga localizado na região do Alto Rio Solimões, a razão de mosquiteiro de cama vs mosquiteiro de rede foi de 6,5. No município de Lábrea a proporção foi de 1,6. Em Eirunepé essa proporção cai para 0,83.

**Tabela 2:** Quantidades previstas e instaladas de MILDs nos municípios incluídos no estudo, segundo tipo de mosquiteiro, com percentual de instalações realizadas.

Município	Quantidade de Mosquiteiros previstos (N)			Quantidade de Mosquiteiros entregues (N)			Percentual de mosquiteiros entregues/previsto (%)		
	Tipo Rede	Tipo Cama	TOTAL	Tipo Rede	Tipo Cama	TOTAL	Tipo Rede	Tipo Cama	TOTAL
Eirunepé	5.000	8.000	13.000	2.000	2.500	4.500	40,0	31,3	34,6
Lábrea	3.000	5.000	13.000	4.200	4.200	8.400	140,0	84,0	64,6
Manaus	1.000	1.000	2.000	1.007	3.362	4.369	100,7	336,2	218,5
Tabatinga	1.500	2.000	3.500	200	5.750	5.950	13,3	287,5	170,0
TOTAL	10.500	16.000	31.500	7.407	15.812	23.219	70,5	98,8	73,7

Todo mosquiteiro instalado foi registrado em formulário próprio, com preenchimento de informações a respeito da quantidade e tipos por residência (Apêndice 11.4). Optou-se pela instalação, ao invés da simples entrega casa-a-casa ou distribuição aos moradores a partir de um único ponto, como por exemplo a distribuição nas unidades de diagnóstico de malária ou Unidades básicas de saúde, porque pretendia-se garantir que todas as residências da localidade alvo fossem visitadas e que todos os moradores

recebessem mosquiteiros impregnados, excetuando-se apenas aqueles moradores que optassem por não recebe-los e que deveriam assinar respectivos Termos de Recusa de Recebimento (Apêndice 11.5).

As figuras 18 a 21 mostram o processo de instalação dos mosquiteiros em residências da localidade Vila Gomes, área rural do município de Eirunepé, um dos municípios do estudo.



**Figura 18:** Aspecto geral das moradias nas localidades em que foram instalados os mosquiteiros.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.



**Figura 19:** Codificação dos mosquiteiros para instalação e posterior monitoramento

Fonte: Arquivo pessoal do autor.



**Figura 20:** Instalação de mosquiteiros adaptados para uso em redes.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.



**Figura 21:** Modelo de MILD para uso em camas.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

### 7.1. USO DO MOSQUITEIRO E REDUÇÃO DOS CASOS DE MALÁRIA

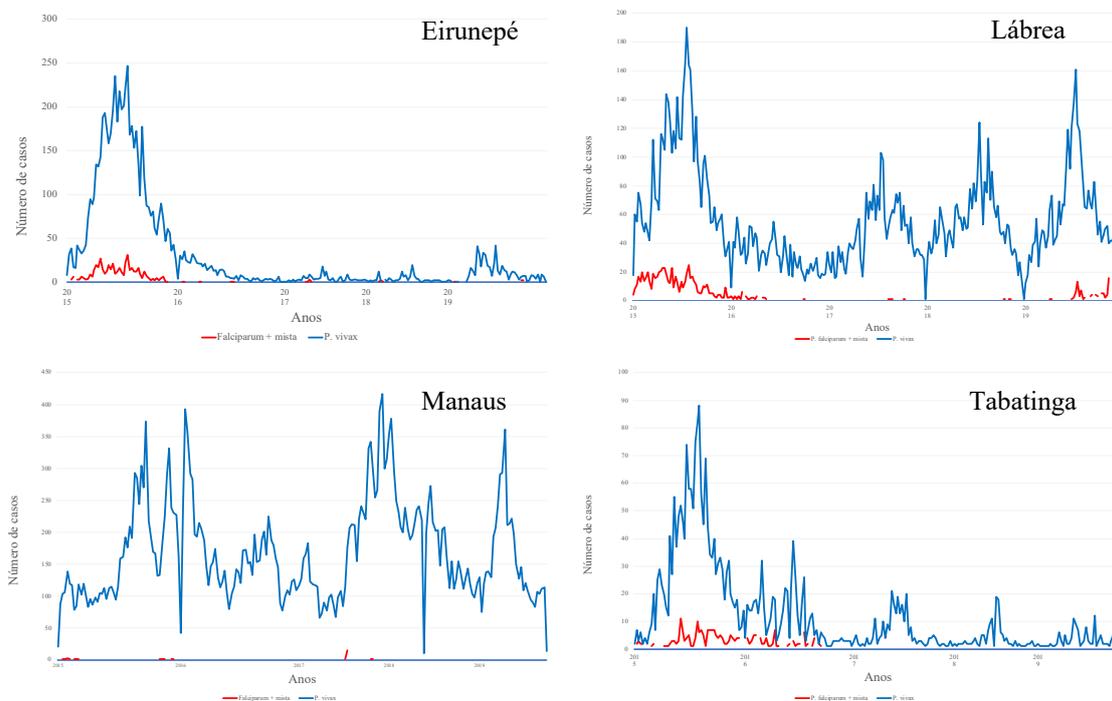
Um dos principais objetivos do estudo foi avaliar o impacto da instalação e uso dos mosquiteiros impregnados em municípios com alta carga de malária, e a contribuição da estratégia na redução das notificações autóctones.

Se considerados apenas os números absolutos de casos de malária nos municípios avaliados, observa-se redução das notificações entre 2015 e 2019 para todos os municípios. Nesse período, a redução de casos em Tabatinga foi 92,9%, em Eirunepé foi de 91,8%, em Lábrea foi 38,1% e em Manaus houve uma redução de 23,3% (**Tabela 3**). Apesar da redução, somente os municípios de Eirunepé e Tabatinga mostram uma tendência de estabilidade no período, conforme observado nos gráficos da Figura 22.

**Tabela 3:** Número de casos de malária nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga no estado do Amazonas, entre os anos de 2015 e 2019, destacando os percentuais de redução na comparação entre o ano de 2015 e 2019.

Município	2015	2016	2016	2018	2019	Diferença 2015 a 2019
EIRUNEPE	6.262	567	165	142	514	-91,8
LABREA	5.288	1.697	2.499	2.869	3.273	-38,1
MANAUS	8.514	8.501	10.557	8.347	6.529	-23,3
TABATINGA	1.808	620	272	146	128	-92,9
<b>Total Geral</b>	<b>21.872</b>	<b>11.385</b>	<b>13.493</b>	<b>11.504</b>	<b>10.444</b>	<b>-52,2</b>

Fonte: SIVEP-Malária, 2022.



**Figura 22:** Casos autóctones de malária por espécie parasitária e semana epidemiológica nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga, entre os anos de 2015 e 2019.

Fonte: SIVEP-Malária, 2022.

## 7.2. CONHECIMENTOS, ATITUDES E PRÁTICAS

Foram realizadas um total de 214 entrevistas, dentre os 4 municípios incluídos no estudo. Preferencialmente as perguntas foram feitas para o chefe da família, e 156 dos entrevistados (72,9%) se apresentavam como tal. A maioria dos entrevistados eram mulheres (124; 57,9%) com média de idade de 38,6 anos ( $\pm 15$ ). Quanto ao grau de instrução, 48 entrevistados (22,4%) identificaram-se como sem instrução formal, 93 pessoas tinham ensino fundamental incompleto (43,5%), 39 pessoas entrevistadas (18,2%) possuíam ensino fundamental completo ou médio incompleto, e outras 34 pessoas (15,9%) possuíam ensino médio completo ou nível superior.

**Tabela 4:** Características socioeconômicas das populações entrevistadas nos municípios de Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga.

	N(%)	Média ( $\pm$ DP)
<b>Localidade</b>		
Eirunepé	64 (29,8)	
Lábrea	40 (18,6)	
Manaus	37 (17,2)	
Tabatinga	74 (34,4)	
<b>O entrevistado é o chefe da família?</b>		
Sim	156 (72,9)	
Não	58 (27,1)	
<b>Gênero do entrevistado</b>		
Homens	90 (42,1)	
Mulheres	124 (57,9)	
<b>Idade</b>		38,6 (15,0)
<b>Escolaridade do respondente</b>		
Sem instrução	48 (22,4)	
Fundamental incompleto	93 (43,5)	
Fundamental completo/médio incompleto	39 (18,2)	
Médio completo/superior	34 (15,9)	

Em média, as casas eram habitadas por 6 residentes ( $\pm 2,8$ ). A média de mosquiteiros por residência foi 3,2 ( $\pm 1,7$ ). A maioria das casas dos entrevistados possuía paredes de madeira sem pintura 124 (57,9%), seguida por paredes de madeira pintada 65 (30,4%), 23 casas possuíam paredes de alvenaria (10,7%). Nesse estudo 98 casas (76,0%) eram cobertas com telhas de zinco, e outras 29 casas (22,5%) eram cobertas com telhas de fibrocimento. O piso predominante nas residências visitadas era de madeira (82,0%),

seguinte de casas com piso de cimento cru (9,0%), piso de cerâmica (7,5%) e chão batido (1,5%).

Apenas 34,3% das casas possuíam banheiro interno, ou seja, em 65,7% das casas os moradores precisavam sair das casas para tomar banho no final do dia e para usar o banheiro durante toda a noite. Mais recentemente um outro aspecto tem chamado a atenção das autoridades de saúde local, com a chegada da energia elétrica com fornecimento em tempo integral para as localidades que anteriormente dependiam exclusivamente de geradores, os moradores ficam acordados por mais tempo, e um dos indicadores utilizados para medir essa exposição noturna é a existência de TV nas residências; em 72,4% das casas onde foram realizadas as entrevistas desse estudo existia uma televisão, e (76,1%) dos moradores relataram assistir TV durante a noite.

**Tabela 5:** Descrição das moradias da população incluída no estudo, com ênfase nos aspectos que influenciam diretamente a ocorrência dos casos de malária na família.

	N(%)	Média (±DP)
<b>Tipo de piso</b>		
Chão ou areia	2 (1,5)	
Madeira	109 (82,0)	
Cimento cru	12 (9,0)	
Lajota	10 (7,5)	
<b>Tipo de telhado</b>		
Zinco	98 (76,6)	
Fibrocimento	29 (22,7)	
Barro	1 (0,8)	
<b>Onde toma banho</b>		
Banheiro	73 (34,3)	
Cacimba	24 (11,3)	
Rio/igarapé	95 (44,6)	
Poço	9 (4,2)	
Outro local	12 (5,6)	
<b>Possui TV em casa</b>		
Sim	155 (72,4)	
Não	59 (27,6)	
<b>Número de moradores</b>		6,0 (2,8)
<b>Número de mosquiteiros usados</b>		3,3 (1,8)
<b>Número de mosquiteiros impregnados</b>		3,2 (1,7)

Quando questionados de forma genérica se conheciam o modo de transmissão da malária, com a pergunta “*Você sabe como se pega malária?*”, 127 pessoas (59,3%) responderam que sim. E quando foi solicitado para que informassem como se dava a transmissão, 107 entrevistados (50,0%) disseram acertadamente que a transmissão da

malária se dava com a picada do mosquito. Outros 81 (37,9%) optaram por não responder. Um grupo de 18 entrevistados (8,4%) respondeu que a transmissão se dava durante as atividades de caça, pesca ou tomando banho nos igarapés.

A respeito do local que serve como criadouro dos mosquitos vetores, 85 entrevistados (39,7%) responderam não saber o local de reprodução ou preferiram não responder à pergunta, entretanto, 129 (60,3%) indicaram conhecer os locais de procriação dos mosquitos, relacionando os criadouros com a floresta, corpos d'água próximos ou presença de lixo. Dentre os indivíduos que relatavam *saber de onde vinham os mosquitos*, 68 pessoas (31,8%) relacionaram a presença dos vetores com depósitos de água, sejam eles córregos ou igarapés, como são regionalmente conhecidos, ou ainda com a presença de água represada/empossada. Outros 51 (23,8%) relacionam os criadouros dos mosquitos com a existência da mata e floresta próxima. Quando perguntados sobre os horários preferenciais do repasto sanguíneo por anofelinos, 35,5% responderam não conhecer os horários, a maior parte dos entrevistados 86 (40,2%) disse que o horário preferencial para picada dos mosquitos era no início da noite, outros 42 (19,5%) responderam ser no início da manhã, ou outros 4,7% responderam que os mosquitos picavam durante toda a noite.

Um dos princípios fundamentais para o controle da malária em todo o mundo é a oferta adequada de diagnóstico e tratamento rápido dos casos positivos. Nesse estudo 89,5% dos entrevistados disseram que recebem regularmente a visita do agente de saúde. A presença de uma rede de laboratórios para diagnóstico da malária, geograficamente bem distribuída, também irá permitir que o próprio paciente procure o diagnóstico em tempo oportuno. Aproximadamente 66% dos entrevistados relatam ter acesso a um local apropriado para o diagnóstico próximo as suas residências, não sendo necessário um tempo de caminhada superior a 15 minutos. Perguntados se alguém da família já teve malária, 90,7% afirmam que pelo menos um membro da família já esteve doente.

A maioria dos moradores demonstram ter bom conhecimento a respeito do ciclo de transmissão da malária, sintomas da doença e medidas preventivas. O fato de que 90,7% dos moradores entrevistados relatar que já teve malária, ou pelo menos algum dos moradores da residência já esteve doente, favorece este conhecimento empírico a respeito do agravo.

As atitudes frente a malária por parte dos entrevistados mostram-se satisfatórias. Um total de 90,2% da amostra busca imediatamente o diagnóstico quando apresenta os

sintomas que são mais frequentemente relacionados com quadros de malária. Quanto à recomendação do Ministério da Saúde, para que o início do tratamento seja realizado em até 48h após o início dos sintomas, observou-se que apenas 65,4% conseguem o diagnóstico e tratamento dentro do período recomendado. É provável que a demora em procurar atendimento esteja relacionado com o hábito de automedicação praticado pelos moradores, ou ainda o uso de fitoterápicos nos primeiros dias de sintomas.

**Tabela 6:** Acesso ao serviço de saúde nas localidades incluídas no estudo.

	N(%)	Média (±DP)
<b>Recebeu visita de agente de saúde</b>		
Sim	188 (89,5)	
Não	19 (9,0)	
Não sabe informar	3 (1,4)	
<b>Tempo de caminhada até o local do exame</b>		
Menos de 15 min	139 (66,2)	
30 min ou mais	71 (33,8)	
<b>Alguém da família ou próprio já teve malária</b>		
Sim	194 (90,7)	
Não	20 (9,3)	
<b>Número de moradores</b>		6,0 (2,8)
<b>Número de mosquiteiros usados</b>		3,3 (1,8)
<b>Número de mosquiteiros impregnados</b>		3,2 (1,7)

Mais de 90% dos moradores relataram usar os mosquiteiros diariamente, e 95% disse ter usado o mosquiteiro na noite anterior a entrevista. Portanto, considera-se que existe nas localidades onde foi realizado o estudo, práticas adequadas do uso de mosquiteiros em todos os períodos do ano. Apenas 7 entrevistados relataram não terem usado mosquiteiros na noite anterior a entrevista, justificando questões relacionadas ao calor na região, ser uma época do ano em que não existem muitos mosquitos, ou por não gostarem de usar mosquiteiros por claustrofobia.

**Tabela 7:** Frequências das variáveis relacionadas aos Conhecimentos, Atitudes e Práticas em relação à malária.

	N(%)
<b>Conhecimentos</b>	
Sabe como pega malária	127 (59,3)
Conhece o local de criadouro	69 (32,5)
Conhece o horário em que o mosquito pica	128 (61,2)
Sabe quando está com malária	202 (94,8)
Reconhece corretamente os sintomas de malária	190 (95,5)

<b>Atitudes</b>	
Agiu corretamente quando alguém adoeceu	175 (90,2)
O exame foi realizado no tempo adequado	125 (65,4)
Age corretamente diante do quadro de febre	169 (80,9)
<b>Práticas</b>	
Usa o mosquiteiro diariamente	192 (90,1)
Usou o mosquiteiro na noite anterior	195 (95,1)
Usou MILD com frequência adequada	196 (96,6)
Usa o MILD no período correto do ano	191 (93,2)

### 7.3. ATIVIDADE INSETICIDA NOS MOSQUITEIROS - BIOEFICÁCIA

Ao final do estudo foram recolhidos 115 mosquiteiros impregnados para avaliação da persistência da ação do inseticida, sendo 10 mosquiteiros próprios para uso sobre redes e 105 mosquiteiros cônicos para uso em camas, conforme detalhamento da tabela abaixo.

Outros 10 mosquiteiros foram selecionados para realização das provas chamadas como provas de referência, e tiveram suas taxas de *knockdown* e mortalidade comparadas com os mosquiteiros que foram recolhidos do campo.

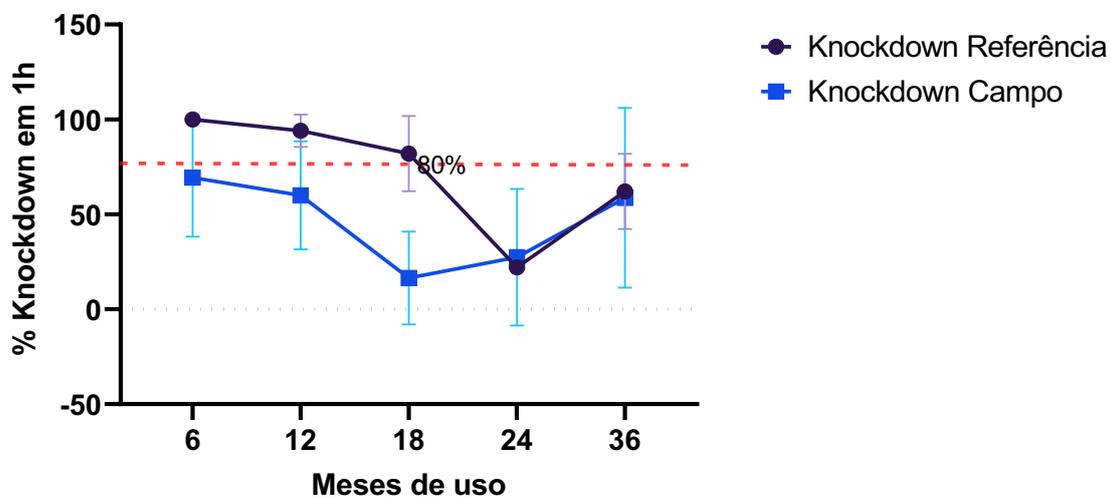
**Tabela 8:** Quantidades testadas de mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração, conforme tempo de utilização, tipo/modelo e município.

Tempo de Uso	6		12		18		24		36		Total Geral
	Tipo										
Município	cama	rede	cama	rede	cama	rede	cama	rede	cama		
Eirunepé					1	3	4			8	
Lábrea	7	1	18	2	2		14	2	2	48	
Manaus	4		25	1						30	
Tabatinga	2	1	5		12		8		1	29	
<b>Total Geral</b>	13	2	48	3	15	3	26	2	3	115	

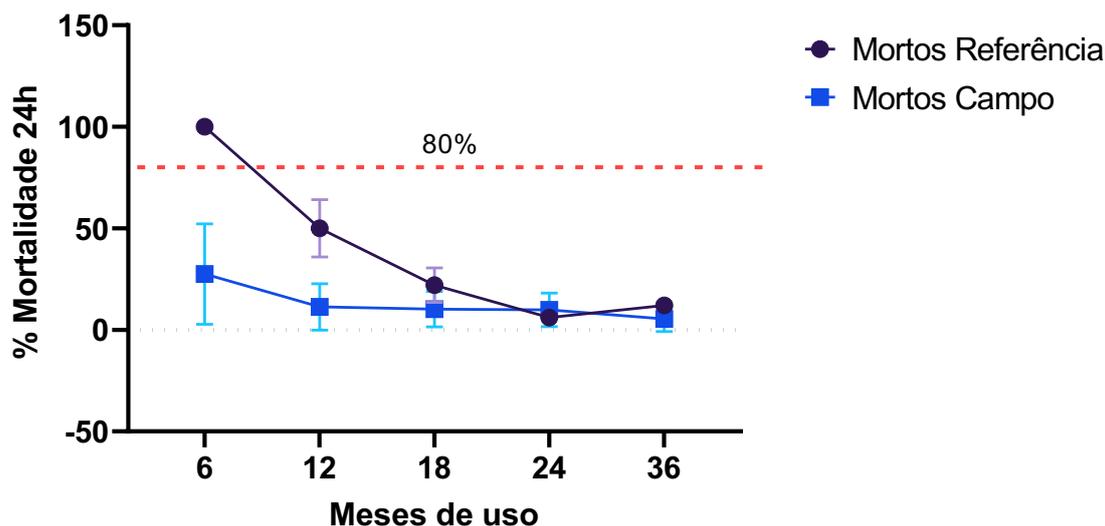
Após a realização da prova de cone com exposição de 3 minutos, os mosquitos foram transferidos para os copos de espera, após 60 minutos foi realizada a contagem dos mosquitos caídos pelo efeito *knockdown*. Apenas os mosquiteiros de referência mais novos, de 6 até 12 meses de uso, apresentaram proporção média de mosquitos caídos

próxima de 95%. Todos os mosquiteiros recolhidos de campo apresentaram taxas inferiores a 80%, após 18 meses a taxa cai para abaixo de 50%.

Realizada a leitura após 24h de exposição apenas os mosquiteiros com 6 meses de uso apresentaram taxa média de mortalidade próxima a 100%, mas que decaiu rapidamente para 50% nos mosquiteiros com 12 meses de uso, e 22% após 18 meses. Após 24 meses a média de mortalidade nos mosquiteiros tomados como referência caiu para 6% apenas. Nenhum mosquiteiro recolhido do campo apresentou média de mortalidade que ultrapassava 50% dos mosquitos expostos, mesmo nas amostras com pouco tempo de uso. A maior média foi 27,47% nos mosquiteiros com 6 meses de uso, seguido para 11,29% em mosquiteiros com 12 meses, 10,22% para mosquiteiros com 18 meses de uso; a mortalidade média em mosquiteiros com 24 meses de uso foi 9,86%, e após 36 meses a taxa média foi 5,33%.



**Figura 23:** Média de efeito *knockdown* em anofelinos, após 60 minutos de exposição ao contato com mosquiteiros impregnados em diferentes tempos de uso, comparando o efeito observado entre MILDs utilizados como referência e MILDs recolhidos de campo.



**Figura 24:** Média de efeito *mortalidade* em anofelinos, após 24h de exposição ao contato com mosquitos impregnados em diferentes tempos de uso, comparando mortalidade observada entre MILDs mantidos como referência e MILDs recolhidos de campo.

#### 7.4. INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES GÊNICAS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA AOS PIRETRÓIDES.

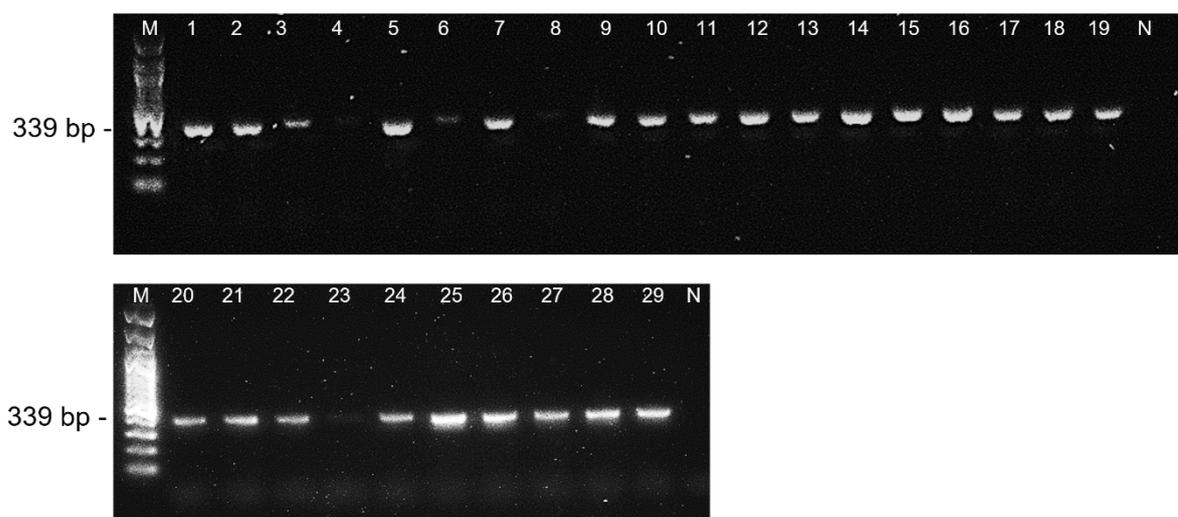
Com a finalidade de otimizar tempo e consumo de reagentes as amostras foram agrupadas em pools de 10 espécimes. Foram inicialmente utilizados controles positivos 1014L/L e 1014F/F em diferentes concentrações para formação de *pools*, que foram então genotipados via AS-PCR. O *pool* contendo uma parte do controle 1014 F/F para 19 partes de 1014 L/L revelou-se com perfil de heterozigoto, com amplificação das duas bandas no AS-PCR. Isto indica que em um *pool* com 10 indivíduos, se houver pelo menos um heterozigoto para o alelo *kdr* (Leu/Phe), ou seja, um alelo entre os 20 totais, este seria detectado. Portanto, a utilização dos pools foi dada como viável. Caso aparecesse algum *pool* com a mutação, seria realizada a genotipagem individual de todos os indivíduos do respectivo *pool*.

O DNA de 292 indivíduos de *An. darlingi* foi extraído e destes obtivemos 29 pools com cerca de 10 indivíduos em cada (Tabela 9). Todos os pools das localidades tiveram sua região IIS6 amplificada com sucesso, revelando um produto de 339pb para a região IIS6 do NaV (figura 3).

**Tabela 9:** Quantidade de mosquitos e *pools* para extração de DNA de espécimes de *Anopheles darlingi* provenientes dos municípios incluídos no estudo.

Município	Nº de <i>pools</i>	Quantidade de mosquitos
Eirunepé	5	45
Lábrea	9	95
Manaus	5	53
Tabatinga	10	99
<b>TOTAL</b>	<b>29</b>	<b>292</b>

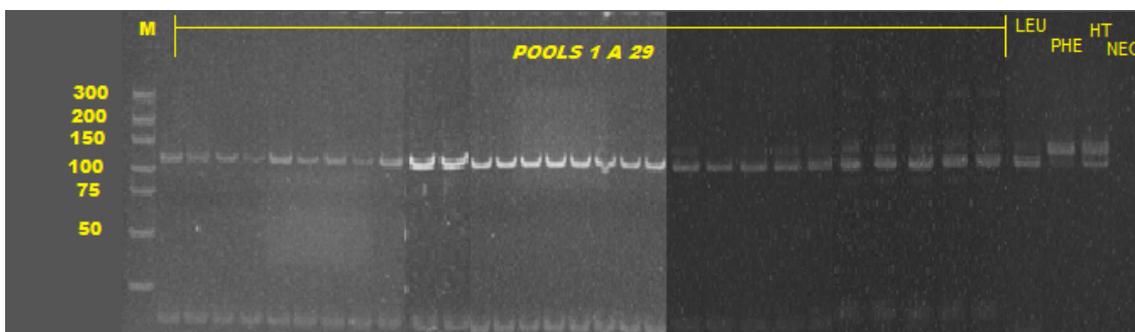
Abaixo estão representadas as amplificações da região IIS6 do *Nav*, sendo *pools* contendo exemplares dos municípios de Tabatinga (*pools* 1 a 10), Lábrea (*pools* 11 a 19), Eirunepé (*pools* 20 a 24) e Manaus (*pools* 25 a 29). Apenas cinco *pools* (4, 6, 8 e 23) revelaram bandas fracas (Figura 25).



**Figura 25:** Amplificação da região IIS6 do *Nav*. Gel de agarose 1%. O Marcador utilizado foi o 100 bp DNA Ladder (Promega). M) Marcador 100 bp, 1 – 29) *Pools* de 1 a 29, N) Controle Negativo. Fonte: SOUZA, 2018.

Os produtos da amplificação IIS6 do *Nav* foram então diluídos 100 vezes e submetidos à reação de genotipagem por PCR alelo-específica (AS-PCR). Em todas as reações, foram utilizados os controles positivos para os genótipos homocigoto selvagem (L/L), homocigoto *kdr* (F/F) e heterocigoto (L/F). Nesta reação, os alelos são discriminados pela diferença de 20 pb entre o selvagem e mutante, de forma que é possível caracterizar o genótipo da amostra em eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% (Figura 26) ou por curva de dissociação em PCR em tempo real. Todos os 29 *pools* apresentaram o perfil de homocigoto selvagem (L/L). Alguns *pools* apresentaram uma

banda fraca, o que poderia ser correspondente ao alelo *kdr*. No entanto, na nossa experiência, isto é uma característica inespecífica da reação. Não foi encontrado nenhum espécime de *An. darlingi* com a mutação *kdr* L1014F.



**Figura 26:** Resultado da genotipagem por AS-PCR. Visualização da AS-PCR em gel de poliacrilamida 10% sob voltagem de 170V por 40 minutos, corados com Nancy. Os produtos com aproximadamente 100 e 120 bp correspondem aos alelos selvagem (1014 L) e mutante (1014 F), respectivamente. M: Marcador Ultra Low Range; Pools de 1 a 29; LEU: Controle positivo 1014 Leu/Leu; PHE: Controle positivo 1014 Phe/Phe; HT: Heterozigoto Leu/Phe; NEG: Controle Negativo. Fonte: Souza, 2018.

## 8. DISCUSSÃO

Apesar dos avanços no controle da malária em todo o mundo, com uma importante redução do número de casos e óbitos, essa doença continua sendo um dos principais desafios em diversas regiões do mundo, uma vez que atinge na maioria das vezes, as populações mais pobres de países subdesenvolvidos. A malária atinge mais duramente populações pobres e que possuem mais dificuldade de acesso aos serviços de saúde, do que populações mais bem assistidas. Estudos conduzidos pela OMS para avaliar o impacto da malária no desenvolvimento econômico dos países, conclui que é urgente a necessidade de incluirmos o combate a essa doença na agenda política dos países, não só pelo aspecto sanitário, mas também econômico. Segundo os dados da OMS (113) uma redução de 10% na incidência de malária entre os anos de 2000 e 2017 estaria associada a um aumento de quase 0,3% do PIB per capita em média.

A ocorrência de malária em uma localidade compromete economicamente toda uma geração. Em estudo publicado em 2010 por Bleakley e colaboradores, com resultados que avaliaram os efeitos dos esforços de erradicação da malária nas Américas e seu impacto na produtividade e renda de adultos, que quando crianças cresceram em países com diferentes níveis de transmissão de malária (Estados Unidos, México, Brasil e Colômbia). Segundo esse estudo, crianças que nasceram após a implementação de estratégia de eliminação da malária, tiveram quando adultos, maior renda do que aquelas que nasceram antes da eliminação. A infecção persistente da malária na infância, ao contrário, reduziu a renda dos adultos em 50% com estimativas semelhantes em análises separadas para os quatro países avaliados (114).

Em estudo realizado entre crianças residentes em área de transmissão ativa de malária na área periurbana de Manaus (115), ficou evidenciada a associação entre o baixo desenvolvimento cognitivo e a ocorrência de malária entre essa população. Deve ser destacada também a importância do ambiente familiar, social e econômico onde essas crianças crescem, o estudo mostrou que essas crianças além de terem tido malária, uma ou mais vezes durante seus primeiros anos de vida, viviam sob condições sanitárias inadequadas, eram crianças que recebiam poucos estímulos por parte da família, sendo que esses aspectos também eram determinantes no desenvolvimento inadequado.

A redução do número de casos absolutos de malária entre os anos de 2015 e 2019 nos municípios incluídos no presente estudo, apesar de ser coincidente com o período em que houve a instalação dos mosquiteiros, não pôde ter sua associação diretamente comprovada, uma vez que a mesma tendência foi observada em outros municípios do Amazonas que ainda não haviam recebido mosquiteiros, além do fato de que a mesma tendência foi observada em outros estados, como demonstrado em relatórios do Ministério da saúde do Brasil (8) que informam que no ano de 2016 o país registrou 143.250 casos, sendo esse o menor número de casos em 37 anos.

Em dezembro de 2006 a Secretaria de Estado da Saúde do Amazonas, por meio da Fundação de Vigilância em Saúde em parceria com a UNICEF desenvolveu um projeto piloto de implantação de mosquiteiros impregnados com permetrina para o controle da malária no município de Rio Preto da Eva, implantando 2.000 mosquiteiros em seis comunidades rurais com transmissão ativa. O principal objetivo dessa primeira experiência era avaliar a adesão da população à estratégia. Segundo informações dos gestores da FVS na época (dados não publicados), a principal reclamação foi referente ao tipo de malha dos mosquiteiros, que possuía um tecido muito áspero e com impregnação que utilizava uma espécie de cera, favorecendo a aderência de sujidades ao tecido. Aspectos como tamanho, cor, maleabilidade do tecido, devem ser sempre considerados quando se planeja a implementação de uma estratégia que está fundamentada na adesão em massa, uma vez que são aspectos que interferem diretamente no uso dos MILDs por parte da população atendida, o que vai impactar diretamente nos resultados esperados pós-intervenção. Além disso deve-se avaliar o custo-benefício, cada um dos mosquiteiros impregnados usados nesse projeto piloto custou aos cofres públicos US\$12, recursos que são sempre limitados no serviço público de saúde.

Em agosto de 2008 iniciou-se outro projeto piloto conduzido pela FVS (116), dessa vez utilizando mosquiteiros impregnados com alfacipermetrina, o Interceptor®, mesma marca utilizada nesse estudo. Foram instalados 200 mosquiteiros em uma localidade de 172 habitantes no município de São Sebastião do Uatumã. A proposta era avaliar, além da adesão, o impacto dos MILDs na redução de número de casos, como uma ferramenta adicional ao modelo de controle integrado da malária, uma vez que além dos mosquiteiros foram instaladas telas de proteção em portas e janelas em 87% das residências, houve ainda intensificação do diagnóstico e tratamento com busca ativa de casos, melhorando a oportunidade e qualidade mediante atualização técnica dos

profissionais que atuavam na vigilância e controle da malária na localidade. Outro diferencial que merece ser destacado no projeto foi a adoção massiva de estratégias de educação em saúde, com atividades voltadas tanto para o público adulto quanto infantil. Após um ano da implantação do projeto, verificou-se uma redução de 89,64% dos casos de malária. Com aplicação de formulários CAP constatou-se que 84% dos moradores estavam satisfeitos com a instalação tanto de telas e 89% com a distribuição dos mosquiteiros, uma vez que ajudaram a diminuir a presença de mosquitos, baratas e abelhas no interior das casas.

Entre fevereiro de 2009 e fevereiro de 2010, a Secretaria de Estado da Saúde do Amazonas, por meio da Fundação de Vigilância em Saúde em parceria com a USAID (United States Agency for International Development), desenvolveram o Projeto de Intervenção Comunitária para o Controle da Malária no Estado do Amazonas com uso de Mosquiteiros Impregnados. Foram distribuídos 14.621 mosquiteiros, atendendo uma população de aproximadamente 17.000 pessoas, em 6 municípios: Manaus, Presidente Figueiredo, Autazes, Careiro Castanho, Iranduba e Manacapuru. O projeto tinha o objetivo de identificar a percepção da população sobre a transmissão da malária e do conhecimento das medidas preventivas da doença, em particular, do uso de mosquiteiros como medida de proteção individual. O principal resultado observado com o uso de mosquiteiros nesses municípios foi a redução do número absoluto de casos, com proporções que variaram entre 23% para Manaus, até 74% no município de Presidente Figueiredo, muito embora outras estratégias de controle da malária tenham sido adotadas e não foi possível avaliar o impacto isolado dos MILDs (dados não publicados). No entanto, em publicação de Castro e colaboradores (2012) (117) foi destacada a importância da atividade dos Agentes Comunitários de Saúde como responsáveis por ações de mobilização social que promovam o uso adequado de mosquiteiros.

Os guias da OMS indicam que a cobertura mínima adequada para que a população esteja protegida por mosquiteiros impregnados é um MILD para cada dois moradores (0,5). Nesse estudo, considerando que as casas eram habitadas em média por 6 moradores e a média de mosquiteiros por casa era 3,2, podemos considerar que a taxa de cobertura encontrada foi de 0,53, o que pode ser expresso em razão (população/mild)=1,87, portanto uma cobertura adequada, embora muito próxima do mínimo recomendado. Os valores são superiores aos reportados no monitoramento feito

na Amazônia venezuelana após 6 meses de distribuição em massa de mosquiteiros (razão população/mild=1,43) (118).

Deve ser destacado o fato de que a maior parte dos chefes de família entrevistados eram mulheres. De fato, o cuidado com os mosquiteiros parece ser entendido como uma atividade doméstica, culturalmente relacionada como uma tarefa feminina. Por diversas vezes apesar do marido estar presente durante as entrevistas, eram as mulheres que eram indicadas para responder as questões do formulário. Em estudo qualitativo sobre o uso de mosquiteiros impregnados conduzido na Etiópia (119), fica bem destacada a importância da mulher na melhor adesão ao uso dos mosquiteiros, além da garantia quanto aos cuidados necessários para sua conservação. Trabalhar em parceria com as mulheres da comunidade parece ser uma estratégia eficaz para melhoria do uso adequado da ferramenta.

Diversos estudos também destacam a importância do desenvolvimento de estratégias de educação em saúde e mobilização social para que os mosquiteiros tenham o impacto epidemiológico esperado na redução de casos de malária (120). Nossos resultados mostram que a maior parte dos entrevistados (65,9%) possuíam pouca instrução formal, com no máximo ensino fundamental incompleto, o que corresponde a menos de 9 anos de frequência à escola. Esse valor é similar ao encontrado por Sousa e colaboradores (68,3%) em estudo de avaliação do uso de mosquiteiros impregnados com inseticida de longa duração no município de Barcelos no Amazonas (121), o que sugere que essa seja uma característica social da maioria das localidades rurais com transmissão ativa de malária. Dessa forma, as estratégias educacionais devem ser desenvolvidas de forma a contemplar essa clientela, precisando que seja investido nos primeiros anos de educação formal, mas também com atividades extramuros, preferencialmente desenvolvidas em parceria com Agentes Comunitários de Saúde e Agente de Combate as Endemias, que pelo fato de realizarem frequentes visitas as residências, podem convencer os moradores da importância dos mosquiteiros, usando uma linguagem mais adequada e de fácil compreensão por parte da comunidade.

Apesar do uso diário e durante todo o período do ano afirmado pelos moradores entrevistados, é importante lembrar que a transmissão de malária pode se dar no peridomicílio, e que a maior densidade de mosquitos é observada na Amazônia justamente no início da noite, quando os moradores ainda não estão sob a proteção dos mosquiteiros (122,123). Desta forma, a proteção pode estar restrita aos períodos em que

o morador está de fato sob o mosquito, em virtude do hábito dos anofelinos picarem durante toda a noite, e serem capazes de manter ciclos de transmissão mesmo em baixa densidade. Esta dependência de que a transmissão esteja ocorrendo no intradomicílio e que os picos de atividade vetorial se deem no início da noite, para que de fato os mosquitos sejam efetivos para a redução de número de casos de malária já foi observada em trabalhos com *An. albimanus* no Peru e Haiti (124). Entretanto, alguns estudos têm enfatizado a importância da proteção em massa que o uso de mosquitos em coberturas adequadas dentro de uma localidade pode oferecer aos moradores, mesmo para aqueles que não usem efetivamente os mosquitos, ou os usem em horários distintos aos de maior densidade anofélica, uma vez que os mosquitos com inseticidas irão matar mosquitos infectados, diminuindo a possibilidade de transmissão entre moradores (125).

Quando avaliamos as razões pelas quais os moradores podem não aderir a estratégia dos mosquitos impregnados, estudos corroboram os achados de nosso estudo. Em geral a população deixa de usar os mosquitos por desconforto térmico, uma vez que estes dificultam a ventilação e aumentam a sensação de calor, ou quando observam uma diminuição da densidade de mosquitos, mesmo que não sejam anofelinos (126).

Em estudos de populações de *An. darlingi* da Colômbia, os testes de susceptibilidade recomendados pela OMS comprovaram que estes vetores eram sensíveis aos piretróides lambda-cialotrina e deltametrina, grupo de inseticidas normalmente utilizado para impregnação dos mosquitos (127). O trabalho de Corrêa (2019) com utilização de casa modelo, testando diferentes inseticidas e diferentes superfícies de aplicação, mostrou que anofelinos de populações naturais do estado do Amapá continuam susceptíveis aos inseticidas do grupo dos piretróides, sendo que deltametrina WG foi a formulação com melhor desempenho em todas as superfícies, mantendo a residualidade e mortalidade acima de 80% por períodos que ultrapassaram 90 dias. Os testes de susceptibilidade conduzidos no estudo do Amapá indicam que *An. darlingi* mantém o status de susceptível com mortalidade superior a 98%, entretanto *An. marajoara*, indica possível resistência, situação que deve ser monitorada. Corrêa destaca também que embora seja mantido o status de susceptibilidade, deve ser considerada a opção de esquemas de rotação com uso de princípios ativos diferentes, uma vez que tanto nas

atividades de BRI, quanto em mosquiteiros impregnados, temos usado massivamente os piretróides como única opção (90).

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde publicou nos anais da vigésima reunião do Grupo Técnico da WHOPES (WHO/HQ 2017) uma série de avaliações de mosquiteiros impregnados mais modernos, dentre eles o Interceptor G2® produzido pelo BASF da Alemanha, sendo essa a segunda geração dos mosquiteiros da marca Interceptor® que foi avaliado nesse estudo. Em estudos conduzidos em países africanos, onde a resistência a diversos grupos químicos de inseticidas já é bastante conhecida e amplamente estudada, tem-se adotado uma alteração na metodologia para avaliação da bioeficácia em mosquiteiros impregnados; ao invés de 3 minutos de exposição como anteriormente recomendado pela OMS/WHOPES, tem-se optado por uma exposição de 30 minutos. Dessa forma a baixa mortalidade que foi observada nesse estudo pode não estar diretamente ligada a um mecanismo de resistência, mas a necessidade de adequação da metodologia de avaliação. Outra importante mudança que tem sido sugerida é quanto a leitura de tempos para avaliação de mortalidade, antes 24h pós-exposição; em publicação mais recentes apresentam leitura com 48h e até 72h após a exposição ao produto.

As populações de anofelinos estudadas não apresentaram mutações relacionadas a resistência aos piretróides. Entretanto já existe relato da ocorrência de mutação *kdr* em populações brasileiras de *An. albiparvus* s.s. no sul do Brasil, provavelmente selecionados pelo uso de agrotóxicos em plantações de arroz (128). Existem também relatos não publicados de diminuição da eficácia de piretróides que vem sendo utilizados na rotina do combate aos anofelinos na região amazônica. Portanto, é importante continuar na busca por mutações em populações silvestres em diferentes regiões da Amazônia, expostas a diferentes graus de pressão de inseticidas, para que estas sejam diagnosticadas precocemente permitindo que medidas preventivas sejam adotadas. É importante ressaltar que a resistência pode estar relacionada a outros mecanismos fisiológicos, como resistência metabólica e espessamento da cutícula, que devem ser estudados de maneira mais aprofundada, uma vez que interferem negativamente no controle de vetores.

Os resultados sugerem que a população das áreas com transmissão ativa de malária, tem bom conhecimento a respeito do ciclo natural da doença, sintomas e métodos de prevenção. Entretanto, ainda se expõe a atitudes de risco, o que favorece a transmissão da doença, e dificultam sobremaneira a eliminação no território.

Estudos com uma abordagem mais qualitativa são necessários, para que possamos elucidar a relação entre pessoa/doença em localidades com alta carga de transmissão. Em diversas situações a malária é tão presente na localidade, que as pessoas deixam de ver a doença como uma ameaça, banalizando os riscos à saúde, o que é altamente prejudicial aos indivíduos, principalmente crianças, grávidas e idosos, os mais vulneráveis, como também comprometem o objetivo de eliminação da malária, uma vez que teremos a presença constante de hospedeiros fontes de infecção.

As campanhas de mobilização social e de educação em saúde ainda são muito tímidas. Em localidades onde existe uma cobertura adequada da Estratégia Saúde da Família, é necessário que os Agentes Comunitários de Saúde estejam envolvidos no processo de vigilância e educação, realizando a abordagem adequada junto aos moradores, contribuindo para a identificação de casos em seus primeiros dias de sintomas, cortando cadeias de transmissão, discutindo estratégias de controle com a comunidade, e estimulando moradores a aderir às ferramentas de controle vetorial disponíveis na rotina dos programas de controle e eliminação da malária.

A extração de DNA de amostras de *An. darlingi* nativos dos quatro municípios amostrados (Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga) teve resultados satisfatórios, e a criopreservação em bancos de DNA permitirão estudos genéticos posteriores. Na análise do material genético dos 292 espécimes de anofelinos processados não foi observada a ocorrência da clássica mutação *kdr* L1014F; A região IIS6 do *NaV* dos *An. darlingi* foi amplificada, seguindo da genotipagem por AS-PCR e nenhuma mutação *kdr* foi encontrada até o momento, confirmando que todos os indivíduos genotipados apresentam o alelo selvagem.

## 9. CONCLUSÕES

- O uso de mosquiteiros impregnados para controle da malária no Amazonas tem se mostrado historicamente uma estratégia com resultados positivos na redução de números absolutos de casos, entretanto a metodologia utilizada não nos permite estabelecer o quanto essa estratégia ajudou na recente redução das notificações de malária.
- As populações atendidas com a instalação dos mosquiteiros impregnados entendem a importância da estratégia para controle da malária, entretanto, é necessária a intensificação das ações de educação em saúde e a integração com a estratégia Saúde da Família, para que na rotina de visitas domiciliares o uso adequado dos mosquiteiros seja incentivado, a manutenção e lavagem correta conforme recomendações do fabricante seja lembrada de modo que os mosquiteiros tenham sua eficácia e durabilidade mantida pelo maior tempo possível;
- Os mosquiteiros se mantiveram com a durabilidade preservada, ao menos pelos 3 anos como indica o fabricante. Porém, as análises de bioeficácia não mostraram resultados favoráveis, com mortalidade muito abaixo do esperado mesmo em amostras de mosquiteiros com pouco tempo de uso. A mortalidade pode ter sido comprometida pelo tempo de exposição dos mosquitos ao contato com os mosquiteiros durante as provas biológicas, sendo necessária adequação a metodologia que possa ser utilizada em novos testes.
- As análises moleculares nos mosquitos coletados nos quatro municípios incluídos nesse estudo (Eirunepé, Lábrea, Manaus e Tabatinga) não evidenciaram a presença de mutações que favorecem a ocorrência da resistência *kdr*, são necessários estudos mais amplos para investigar a presença de resistência metabólica nas populações de mosquitos da Amazônia brasileira.

## 10. PERSPECTIVAS

- Novos projetos de monitoramento da resistência dos anofelinos vetores de malária aos piretróides utilizados pelo programa nacional de controle da malária já estão sendo realizados em parceria entre Ministério da Saúde, e secretarias estaduais de saúde, estudos esses conduzidos pelo LAFICAVE/IOC. Esses estudos de maior abrangência nos ajudarão a esclarecer melhor a possível resistência *kdr* nas populações amazônicas, e conseqüentemente ajudar no direcionamento das ações de controle da malária no Brasil, especialmente considerando o contexto da eliminação.
- Atualmente participamos de um novo monitoramento do uso de mosquiteiros impregnados para controle da malária no município de Coari no Amazonas, esse monitoramento está sendo desenvolvido em parceria entre FVS/AM e LAFICAVE/IOC, trata-se de um monitoramento do uso do Interceptor G2 ®, a segunda geração de mosquiteiros produzidos pela BASF, que possui um princípio ativo adjuvante que tem melhorado a bioeficácia dos mosquiteiros, o que já foi comprovado em diversos estudos ao redor do mundo.
- O Amazonas trabalha sobre a perspectiva de eliminação da malária até 2035, e para conseguir esse objetivo, todas os pilares que sustentam o Programa de Eliminação devem ser fortalecidos, dentre eles o uso adequado de mosquiteiros impregnados, ampliando ao máximo possível o uso da estratégia entre a população residente em áreas de transmissão ativa de malária no Estado, e fortalecendo as ações de Educação em Saúde e Mobilização Social, para que sejam ações de rotina tanto quanto o Busca Ativa de casos, o tratamento oportuno, ou outras atividades de controle vetorial.

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindblade KA, Li Xiao H, Tiffany A, Galappaththy G, Alonso P, Abeyasinghe R, et al. Supporting countries to achieve their malaria elimination goals: the WHO E-2020 initiative. *Malar J.* 2021 Dec 1;20(1).
2. World Health Organization 2021. World malaria report 2021. 2021. 1–322 p.
3. World Health Organization. World Malaria Report: 20 years of global progress and challenges [Internet]. Vol. WHO/HTM/GM, World Health. Geneva; 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>
4. Dhiman S. Are malaria elimination efforts on right track? An analysis of gains achieved and challenges ahead. Vol. 8, *Infectious Diseases of Poverty*. BioMed Central Ltd.; 2019.
5. Arisco NJ, Peterka C, Castro MC. Cross-border malaria in Northern Brazil. *Malar J.* 2021 Dec 1;20(1).
6. OPAS OP de la S, OMS OM de la S. Actualización Epidemiológica: Situación de la malaria en las Américas en el contexto de la pandemia de COVID-19. [Internet]. Washington, DC; 2020. Available from: [www.paho.org](http://www.paho.org)
7. Ministério da Saúde do Brasil. Boletim Epidemiológico 44: Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2000 a 2011. Brasília; 2013.
8. Ministério da Saúde do Brasil. Elimina Malária Brasil: Plano Nacional de Eliminação da Malária [Internet]. 1st ed. Rosa DP, Silva K, editors. Brasília: Ministério da Saúde; 2022. 1–60 p. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/>
9. Ferreira MU, Castro MC. Challenges for malaria elimination in Brazil. Vol. 15, *Malaria Journal*. BioMed Central Ltd.; 2016.
10. Dayananda KK, Achur RN, Gowda DC. Epidemiology, drug resistance, and pathophysiology of plasmodium vivax malaria. Vol. 55, *Journal of Vector Borne Diseases*. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2018. p. 1–8.
11. Ferreira MU, Corder RM, Johansen IC, Kattenberg JH, Moreno M, Rosas-Aguirre A, et al. Relative contribution of low-density and asymptomatic infections to Plasmodium vivax transmission in the Amazon: pooled analysis of individual participant data from population-based cross-sectional surveys. *The Lancet Regional Health - Americas*. 2022 May 1;9.
12. Farooq U, Mahajan RC. Drug resistance in malaria. *J Vect Borne Dis*. 2004;41:45–53.
13. Gonçalves LA, Cravo P, Ferreira MU. Emerging Plasmodium vivax resistance to chloroquine in South America: An overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109(5):534–9.

14. Menard D, Dondorp A. Antimalarial drug resistance: a threat to malaria elimination. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017 Jul 1;7(7):1–24.
15. Musset L, Heugas C, Naldjinan R, Blanchet D, Houze P, Abboud P, et al. Emergence of plasmodium vivax resistance to chloroquine in French guiana. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(11).
16. Woodrow CJ, White NJ. The clinical impact of artemisinin resistance in Southeast Asia and the potential for future spread. Vol. 41, *FEMS Microbiology Reviews.* Oxford University Press; 2017. p. 34–48.
17. Santana-Filho FS, Arcanjo AR de L, Chehuan YM, Costa MR, Martinez-Espinosa FE, Vieira JL, et al. Chloroquine-resistant Plasmodium vivax, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis [Internet].* 2007;13(7). Available from: [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid)
18. Oliveira-Ferreira J, Lacerda MVG, Brasil PP, Ladislau JLB, Tauil PL, Daniel-Ribeiro CCT. Malaria in Brazil: an overview. *Malar J.* 2010;9(1):115.
19. Canelas T, Castillo-Salgado C, Baquero OS, Ribeiro H. Environmental and socioeconomic analysis of malaria transmission in the Brazilian Amazon, 2010-2015. *Rev Saude Publica.* 2019;53.
20. Wolfarth-Couto B, Filizola N, Durieux L. Seasonal pattern of malaria cases and the relationship with hydrologic variability in the Amazonas State, Brazil. *Revista Brasileira de Epidemiologia.* 2020;23.
21. Arcos AN, Valente-Neto F, da Silva Ferreira FA, Bolzan FP, da Cunha HB, Tadei WP, et al. Seasonality modulates the direct and indirect influences of forest cover on larval anopheline assemblages in western Amazônia. *Sci Rep.* 2021 Dec 1;11(1).
22. Laporta GZ, Ilacqua RC, Bergo ES, Chaves LSM, Rodovalho SR, Moresco GG, et al. Malaria transmission in landscapes with varying deforestation levels and timelines in the Amazon: a longitudinal spatiotemporal study. *Sci Rep.* 2021 Dec 1;11(1).
23. Angelo JR, Katsuragawa TH, Sabroza PC, de Carvalho LAS, Silva LHP da, Nobre CA. The role of spatial mobility in malaria transmission in the Brazilian Amazon: The case of Porto Velho municipality, Rondônia, Brazil (2010-2012). *PLoS One.* 2017 Feb 1;12(2).
24. Pereira ALRR, Miranda CDSC, Guedes JA, de Oliveira RAC, Campos PSDS, Palácios VRDCM, et al. The socio-environmental production of malaria in three municipalities in the Carajás region, Pará, Brazil. *Rev Saude Publica.* 2021;55.
25. Murta FLG, Marques LLG, Santos APC, Batista TSB, Mendes MO, Silva ED, et al. Perceptions about malaria among Brazilian gold miners in an Amazonian border area: perspectives for malaria elimination strategies. *Malar J.* 2021 Dec 1;20(1).
26. Ochomo EO, Bayoh NM, Walker ED, Abongo BO, Ombok MO, Ouma C, et al. „The efficacy of long-lasting nets with declining physical integrity may be

- compromised in areas with high levels of pyrethroid resistance. *Malar J.* 2013;12(1).
27. Lindblade KA, Mwandama D, Mzilahowa T, Steinhardt L, Gimnig J, Shah M, et al. A cohort study of the effectiveness of insecticide-treated bed nets to prevent malaria in an area of moderate pyrethroid resistance, Malawi. *Malar J.* 2015;14(1).
  28. Galardo AKR, Póvoa MM, Sucupira IMC, Galardo CD, dos Santos RLC. *Anopheles darlingi* and *Anopheles marajoara* (Diptera: Culicidae) susceptibility to pyrethroids in an endemic area of the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015 Nov 1;48(6):765–9.
  29. Orjuela LI, Morales JA, Ahumada ML, Rios JF, González JJ, Yañez J, et al. Insecticide Resistance and Its Intensity in Populations of Malaria Vectors in Colombia. *Biomed Res Int.* 2018;2018.
  30. World Health Organization. Global Technical Strategy for Malaria 2016-2030 - 2021 Update. Geneva; 2021.
  31. Silveira AC, Rezende DF de. Avaliação da Estratégia Global de controle integrado da malária no Brasil. OPAS, editor. Brasília: Organização Pan-americana de Saúde; 2001. 1–119 p.
  32. Braz RM, Tauil PL, Santelli ACFES, Fontes CJF. Avaliação da completude e da oportunidade das notificações de malária na Amazônia Brasileira, 2003-2012. *Epidemiol Serv Saude.* 2016 Jan 1;25(1):21–32.
  33. OMS. Estratégia técnica mundial para o paludismo 2016-2030. Genebra; 2015. 30 p.
  34. Ministério da Saúde do Brasil. Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária, PNCM. Vol. 1. Ministério da Saúde; 2003. 131 p.
  35. Hawadak J, Nana RRD, Singh V. Epidemiological, physiological and diagnostic comparison of *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri*. *Diagnostics.* 2021 Oct 1;11(10).
  36. Milner DA. Malaria pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018 Jan 1;8(1).
  37. Sato S. *Plasmodium*—a brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology. Vol. 40, *Journal of Physiological Anthropology.* BioMed Central Ltd; 2021.
  38. Galatas B, Bassat Q, Mayor A. Malaria Parasites in the Asymptomatic: Looking for the Hay in the Haystack. Vol. 32, *Trends in Parasitology.* Elsevier Ltd; 2016. p. 296–308.
  39. Lover AA, Kevin Baird J, Gosling R, Price RN. Malaria elimination: Time to target all species. Vol. 99, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2018. p. 17–23.

40. Su XZ, Lane KD, Xia L, Sá JM, Wellems TE. Plasmodium Genomics and Genetics: New Insights into Malaria Pathogenesis, Drug Resistance, Epidemiology, and Evolution. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2019;32(4):1–29. Available from: <https://doi.org/10>
41. Plewes K, Leopold SJ, Kingston HWF, Dondorp AM. Malaria: What's New in the Management of Malaria? Vol. 33, *Infectious Disease Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. p. 39–60.
42. Frischknecht F, Matuschewski K. Plasmodium sporozoite biology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 May 1;7(5).
43. Adams JH, Mueller I. The biology of plasmodium vivax. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Sep 1;7(9).
44. Hulden L, Hulden L. Activation of the hypnozoite: a part of Plasmodium vivax life cycle and survival [Internet]. Vol. 10, *Malaria Journal*. 2011. Available from: <http://www.malariajournal.com/content/10/1/90>
45. Chu CS, White NJ. Management of relapsing Plasmodium vivax malaria. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2016;14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14787210.2016.1220304>
46. Simonetti AB. The Biology of Malarial Parasite in the Mosquito-A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996 Sep;91(5):519–35.
47. Dinglasan R, Delves M, Smith R, Silveira H, Alano P, Levashina EA, et al. Critical Steps of Plasmodium falciparum Ookinete Maturation. 2020; Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
48. Forattini OP. *Culicidologia Médica*. Vol. 2: Identificação, Biologia, Epidemiologia. Vol. 2. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo; 2002. 5–860 p.
49. MAP. MAP The Malaria Atlas Project [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <https://malariaatlas.org/mosquito-malaria-vectors/>
50. Sovi A, Govoéchan R, Ossé R, Koukpo CZ, Salako AS, Syme T, et al. Resistance status of Anopheles gambiae s.l. To insecticides following the 2011 mass distribution campaign of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in the Plateau Department, south-eastern Benin. *Malar J*. 2020 Jan 15;19(1).
51. Loonen JACM, Dery DB, Musaka BZ, Bandibabone JB, Bousema T, van Lenthe M, et al. Identification of main malaria vectors and their insecticide resistance profile in internally displaced and indigenous communities in Eastern Democratic Republic of the Congo (DRC). *Malar J*. 2020 Dec 1;19(1).
52. Okia M, Hoel DF, Kirunda J, Rwakimari JB, Mpeka B, Ambayo D, et al. Insecticide resistance status of the malaria mosquitoes: Anopheles gambiae and Anopheles funestus in eastern and northern Uganda. *Malar Journal* [Internet]. 2018;17(157):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2293-6>

53. Chanda J, Saili K, Phiri F, Stevenson JC, Mwenda M, Chishimba S, et al. Pyrethroid and Carbamate Resistance in *Anopheles funestus* Giles along Lake Kariba in Southern Zambia. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;103:90–7.
54. Nkemngo FN, Mugenzi LMJ, Terence E, Niang A, Wondji MJ, Tchoupo M, et al. Multiple insecticide resistance and Plasmodium infection in the principal malaria vectors *Anopheles funestus* and *Anopheles gambiae* in a forested locality close to the Yaoundé airport, Cameroon [version 2; peer review: 2 approved]. *Wellcome Open Res* [Internet]. 2020;5(146):1–29. Available from: <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15818.1>
55. Pinda PG, Eichenberger C, Ngowo HS, Msaky DS, Abbasi S, Kihonda J, et al. Comparative assessment of insecticide resistance phenotypes in two major malaria vectors, *Anopheles funestus* and *Anopheles arabiensis* in south-eastern Tanzania. *Malar J.* 2020 Dec 1;19(1).
56. Sinka ME, Rubio-Palis Y, Manguin S, Patil AP, Temperley WH, Gething PW, et al. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: Occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasit Vectors.* 2010;3(1).
57. Rios-Velásquez CM, Martins-Campos KM, Simões RC, Izzo T, Santos EV dos, Pessoa FA, et al. Experimental *Plasmodium vivax* infection of key *Anopheles* species from the Brazilian Amazon. *Malar J* [Internet]. 2013;12(460):1–10. Available from: <http://www.malariajournal.com/content/12/1/460>
58. Ferreira Mendes-Sousa A, Fazito Vale V, Costa Queiroz D, Alves Pereira-Filho A, Carvalho Sales Da Silva N, Koerich LB, et al. Inhibition of the complement system by saliva of *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2018;92(12–20).
59. Martins-Campos KM, Kuehn A, Almeida A, Paula A, Duarte M, Sampaio VS, et al. Infection of *Anopheles aquasalis* from symptomatic and asymptomatic *Plasmodium vivax* infections in Manaus, western Brazilian Amazon. *Parasit Vectors* [Internet]. 2018;11(288). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2749-0>
60. Pinilla YT, P Lopes SC, Sampaio VS, Andrade FS, Melo GC, Orfanó AS, et al. Promising approach to reducing Malaria transmission by ivermectin: Sporontocidal effect against *Plasmodium vivax* in the South American vectors *Anopheles aquasalis* and *Anopheles darlingi*. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018;12(2). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006221>
61. Amélia Gonçalves Santana R, Costa Oliveira M, Cabral I, Celso Andrade Silva Junior R, Raysa Teixeira de Sousa D, Ferreira L, et al. *Anopheles aquasalis* transcriptome reveals autophagic responses to *Plasmodium vivax* midgut invasion. *Parasit Vectors* [Internet]. 2019;12(261). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3506-8>
62. Ramos GQ, Clarys Baia-Da-Silva D, Vinícius M, Lacerda G, Monteiro WM, Costa S, et al. Viability and Infectivity of *Plasmodium vivax* Gametocytes in Short-Term

- Culture. *Frontiers in Cell and Infection Microbiology* [Internet]. 2021;11(676276). Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
63. Forattini OP, Kakitani I, la Corte dos Santos R, Mariko Ueno H, Miki Kobayashi K. Role of *Anopheles* (*Kerteszia*) *bellator* as Malaria Vector in Southeastern Brazil (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 94(6):715–8.
  64. Marrelli MT, Malafronte RS, Sallum MAM, Natal D. *Kerteszia* subgenus of *Anopheles* associated with the Brazilian Atlantic rainforest: Current knowledge and future challenges. *Malar J*. 2007;6.
  65. Pimenta PF, Orfano AS, Bahia AC, Duarte AP, Ríos-Velásquez CM, Melo FF, et al. An overview of malaria transmission from the perspective of Amazon *Anopheles* vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;
  66. Emerson KJ, Conn JE, Bergo ES, Randel MA, Sallum MAM. Brazilian *Anopheles darlingi* root (Diptera: Culicidae) clusters by major biogeographical region. *PLoS One*. 2015 Jul 14;10(7).
  67. Sallum MAM, Conn JE, Bergo ES, Laporta GZ, Chaves LSM, Bickersmith SA, et al. Vector competence , vectorial capacity of *Nyssorhynchus darlingi* and the basic reproduction number of *Plasmodium vivax* in agricultural settlements in the Amazonian Region of Brazil. *Malar J* [Internet]. 2019;18(117):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2753-7>
  68. Girod R, Roux E, Berger F, Stefani A, Gaborit P, Carinci R, et al. Unravelling the relationships between *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) densities, environmental factors and malaria incidence: Understanding the variable patterns of malarial transmission in French Guiana (South America). *Ann Trop Med Parasitol*. 2011 Mar;105(2):107–22.
  69. Galardo AKR, Zimmerman R, Galardo CD. Larval control of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* using granular formulation of *Bacillus Sphaericus* in abandoned gold-miners excavation pools in the Brazilian Amazon Rainforest. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013;46(2):172–7.
  70. Villarreal-Treviño C, Penilla-Navarro RP, Vázquez-Martínez MG, Moo-Llanes DA, Ríos-Delgado JC, Fernández-Salas I, et al. Larval habitat characterization of *Anopheles darlingi* from its northernmost geographical distribution in Chiapas, Mexico. *Malar J*. 2015 Dec 22;14(1).
  71. Andrade AO, dos Santos NAC, Castro RB, Araujo IS de, Bastos A da S, Magi FN, et al. Description of malaria vectors (Diptera: Culicidae) in two agricultural settlements in the western Brazilian Amazon. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2021;63.
  72. Moreno M, Saavedra MP, Bickersmith SA, Prussing C, Michalski A, Tong Rios C, et al. Intensive trapping of blood-fed *Anopheles darlingi* in Amazonian Peru reveals unexpectedly high proportions of avian blood-meals. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Feb 23;11(2).

73. Saavedra MP, Conn JE, Alava F, Carrasco-Escobar G, Prussing C, Bickersmith SA, et al. Higher risk of malaria transmission outdoors than indoors by *Nyssorhynchus darlingi* in riverine communities in the Peruvian Amazon. *Parasit Vectors*. 2019 Jul 29;12(1).
74. Nagaki SS, Chaves LSM, López RVM, Bergo ES, Laporta GZ, Conn JE, et al. Host feeding patterns of *Nyssorhynchus darlingi* (Diptera: Culicidae) in the Brazilian Amazon. *Acta Trop*. 2021 Jan 1;213.
75. Lima JBP, Da-Cunha MP, Carneirodasilva R, Júnior AKRG, Soares S, Braga IA, et al. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2003;68(3):329–33.
76. Sougoufara S, Ottih EC, Tripet F. The need for new vector control approaches targeting outdoor biting Anopheline malaria vector communities. Vol. 13, *Parasites & vectors*. NLM (Medline); 2020. p. 295.
77. Derua YA, Kweka EJ, Kisinza WN, Githeko AK, Mosha FW. Bacterial larvicides used for malaria vector control in sub-Saharan Africa: Review of their effectiveness and operational feasibility. Vol. 12, *Parasites and Vectors*. BioMed Central Ltd.; 2019.
78. Dambach P, Baernighausen T, Traoré I, Ouedraogo S, Sié A, Sauerborn R, et al. Reduction of malaria vector mosquitoes in a large-scale intervention trial in rural Burkina Faso using Bti based larval source management. *Malar J*. 2019 Sep 14;18(1).
79. Gowelo S, Chirombo J, Spitzen J, Koenraad CJM, Mzilahowa T, van den Berg H, et al. Effects of larval exposure to sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on body size, oviposition and survival of adult *Anopheles coluzzii* mosquitoes. *Parasit Vectors*. 2020 May 16;13(1).
80. Gimnig JE, Ombok M, Bayoh N, Mathias D, Ochomo E, Jany W, et al. Efficacy of extended release formulations of Natular™ (spinosad) against larvae and adults of *Anopheles* mosquitoes in western Kenya. *Malar J*. 2020 Dec 1;19(1).
81. Aronson AI, Shai Y. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action . *FEMS Microbiol Lett*. 2001 Feb;195(1):1–8.
82. Knowles BH, Ellar DJ. Colloid-osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxins with different insect specificity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1987 Jun 22;924(3):509–18.
83. Carrasco-Escobar G, Manrique E, Ruiz-Cabrejos J, Saavedra M, Alava F, Bickersmith S, et al. High-accuracy detection of malaria vector larval habitats using drone-based multispectral imagery. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(1).
84. Byrne I, Chan K, Manrique E, Lines J, Wolie RZ, Trujillano F, et al. Technical Workflow Development for Integrating Drone Surveys and Entomological

- Sampling to Characterise Aquatic Larval Habitats of *Anopheles funestus* in Agricultural Landscapes in Côte d'Ivoire. *J Environ Public Health*. 2021;2021.
85. Stanton MC, Kalonde P, Zembere K, Hoek Spaans R, Jones CM. The application of drones for mosquito larval habitat identification in rural environments: a practical approach for malaria control? *Malar J*. 2021 Dec 1;20(1).
  86. Griffing SM, Tauil PL, Udhayakumar V, Silva-Flannery L. A historical perspective on malaria control in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015 Sep 1;110(6):701–18.
  87. Barroso MAB, Amorim RDS. *Malária no Amazonas: registros e memórias*. 1st ed. Manaus: Valer; 2017. 1–460 p.
  88. Livadas GA, Georgopoulos G. Development of resistance to DDT by *Anopheles sacharovi* in Greece. *Bull Org mond Sante*. 1953;8:497–511.
  89. Jag K, Dharman C. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides Key words. Vol. 14, *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public*. 2003.
  90. Corrêa APSA, Galardo AKR, Lima LA, Câmara DCP, Müller JN, Barroso JFS, et al. Efficacy of insecticides used in indoor residual spraying for malaria control: An experimental trial on various surfaces in a “test house.” *Malar J*. 2019 Oct 10;18(1).
  91. Silberman J, Taylor A. Carbamate Toxicity. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482183/>. 2022.
  92. Matsuo N. Discovery and development of pyrethroid insecticides. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2019;95(7):378–400.
  93. Santos RLC, Fayal A da S, Aguiar AE, Vieira DBR, Póvoa MM. Evaluation of the residual effect of pyrethroids on *Anopheles* in the Brazilian Amazon. *Rev Saúde Pública*. 2007;41(2).
  94. Corrêa APS de A. *Avaliação residual de inseticidas para o controle da malária em diferentes superfícies, e do status de susceptibilidade/resistência de populações naturais de anofelinos do estado do Amapá [Doutorado]*. [Rio de Janeiro]: Fundação Oswaldo Cruz; 2019.
  95. Sparks TC, Nauen R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic Biochem Physiol* [Internet]. 2014;121:122–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048357514002272>
  96. Ahoua Alou LP, Koffi A a, Adja M a, Assi SB, Kouassi PK, N'Guessan R. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s. s. M form prior to the scaling up of Long Lasting Insecticidal Nets (LLINs) in Adzopé, Eastern Côte d'Ivoire. *Parasit Vectors* [Internet]. 2012;5(1):289. Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/289>

97. Kawada H, Dida GO, Ohashi K, Kawashima E, Sonye G, Njenga SM, et al. A Small-Scale Field Trial of Pyriproxyfen-Impregnated Bed Nets against Pyrethroid-Resistant *Anopheles gambiae* s.s. in Western Kenya.
98. Silva APB, Santos JMM, Martins AJ. Mutations in the voltage-gated sodium channel gene of anophelines and their association with resistance to pyrethroids - a review. *Parasit Vectors* [Internet]. 2014;7:450. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4283120&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
99. Toé KH, Jones CM, N’Fale S, Ismail HM, Dabiré RK, Ranson H. Increased pyrethroid resistance in malaria vectors and decreased bed net effectiveness, burkina faso. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2014;20(10):1691–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4193182&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
100. Cook J, Tomlinson S, Kleinschmidt I, Donnelly MJ, Akogbeto M, Adechoubou A, et al. Implications of insecticide resistance for malaria vector control with long-lasting insecticidal nets: Trends in pyrethroid resistance during a WHO-coordinated multi-country prospective study 11 *Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Se. Parasit Vectors*. 2018;11(1):1–10.
101. Moutinho PR, Gil LHS, Cruz RB, Ribolla PEM. Population dynamics, structure and behavior of *Anopheles darlingi* in a rural settlement in the Amazon rainforest of Acre, Brazil. *Malar J* [Internet]. 2011;10(1):174. Available from: <http://www.malariajournal.com/content/10/1/174>
102. Moiroux N, Gomez MB, Penetier C, Elanga E, Djèntonin A, Chandre F, et al. Changes in *Anopheles funestus* biting behavior following universal coverage of long-lasting insecticidal nets in benin. *Journal of Infectious Diseases*. 2012;206(10):1622–9.
103. Hunt RH, Fuseini G, Knowles S, Stiles-Ocran J, Verster R, Kaiser ML, et al. Insecticide resistance in malaria vector mosquitoes at four localities in Ghana, West Africa. *Parasit Vectors* [Internet]. 2011;4(1):107. Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/4/1/107>
104. Badolo A, Traore A, Jones CM, Sanou A, Flood L, Guelbeogo WM, et al. Three years of insecticide resistance monitoring in *Anopheles gambiae* in Burkina Faso: Resistance on the rise? *Malar J* [Internet]. 2012;11(1):1. Available from: *Malaria Journal*
105. Rufalco-Moutinho P, Schweigmann N, Bergamaschi DP, Mureb Sallum MA. Larval habitats of *Anopheles* species in a rural settlement on the malaria frontier of southwest Amazon, Brazil. *Acta Trop* [Internet]. 2016;164:243–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.032>
106. West PA, Protopopoff N, Wright A, Kivaju Z, Tigererwa R, Mosha FW, et al. Indoor Residual Spraying in Combination with Insecticide-Treated Nets Compared to Insecticide-Treated Nets Alone for Protection against Malaria: A Cluster Randomised Trial in Tanzania. *PLoS Med* [Internet]. 2014;11(4). Available from:

<http://www.plosmedicine.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pmed.1001630&representation=PDF>

107. Nkoka O, Chuang TW, Chuang KY, Chen YH. Factors associated with insecticide-treated net usage among women of childbearing age in Malawi: A multilevel analysis. *Malar J* [Internet]. 2018;17(1):1–16. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2522-z>
108. Bayili K, N'do S, Namountougou M, Sanou R, Ouattara A, Dabiré RK, et al. Evaluation of efficacy of Interceptor® G2, a long-lasting insecticide net coated with a mixture of chlorfenapyr and alpha-cypermethrin, against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *Malar J*. 2017 May 8;16(1).
109. Okumu FO, Moore SJ. Combining indoor residual spraying and insecticide-treated nets for malaria control in Africa: a review of possible outcomes and an outline of suggestions for the future. *Malar J*. 2011;
110. Hiwat H, Mitro S, Samjhawan A, Sardjoe P, Soekhoe T, Takken W. Collapse of *Anopheles darlingi* populations in Suriname after introduction of Insecticide-Treated Nets (ITNs); malaria down to near elimination level. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2012;86(4):649–55.
111. Tomass Z, Alemayehu B, Balkew M, Leja D. Knowledge, attitudes and practice of communities of Wolaita, Southern Ethiopia about long-lasting insecticidal nets and evaluation of net fabric integrity and insecticidal activity. *Parasit Vectors* [Internet]. 2016;9(1):224. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1494-5>
112. Faran ME, Linthicum KJ. A Handbook of the Amazonian Species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*. 1981;13(1):81.
113. Sarma N, Patouillard E, Cibulskis RE, Arcand JL. The economic burden of Malaria: Revisiting the evidence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2019;101(6):1405–15.
114. Bleakley H. Malaria eradication in the americas: A retrospective analysis of childhood exposure. *Am Econ J Appl Econ*. 2010 Apr;2(2):1–45.
115. Tapajós R, Castro D, Melo G, Balogun S, James M, Pessoa R, et al. Malaria impact on cognitive function of children in a peri-urban community in the Brazilian Amazon. *Malar J*. 2019 May 16;18(1).
116. Santos G, Castro DB de, Freitas LM, Fialho R, Albuquerque B. Implementação de medidas integradas para controle da malária com enfoque no uso de telas e mosquiteiros impregnados com inseticidas. In: Miñoso MC, editor. *Cuba Salud*. Havana: MINSAP; 2012.
117. Castro DB de. A importância das equipes de Atenção Básica para a eficácia do uso de mosquiteiros impregnados como medida de controle da malária no estado do Amazonas. In: Miñoso MC, editor. *Convención Internacional de Salud Pública*. Havana: MINSAP; 2012.

118. Alvarado G, García B, Villarroel A, Rosas-Aguirre A. Monitoreo de la posesión y uso de mosquiteros tratados con insecticidas de larga duración en un área endémica de malaria de la Amazonia Venezolana. *Rev Panamazonica Saude*. 2011;2(1):42–51.
119. Doda Z, Solomon T, Loha E, Gari T, Lindtjørn B. A qualitative study of use of long-lasting insecticidal nets (LLINs) for intended and unintended purposes in Adami Tullu, East Shewa Zone, Ethiopia. *Malar J*. 2018 Feb 6;17(1).
120. Afoakwah C, Deng X, Onur I. Malaria infection among children under-five: The use of large-scale interventions in Ghana. *BMC Public Health*. 2018 Apr 23;18(1).
121. de Sousa JO, de Albuquerque BC, Coura JR, Suárez-Mutis MC. Use and retention of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in a malaria risk area in the Brazilian Amazon: A 5-year follow-up intervention. *Malar J*. 2019 Mar 25;18(1).
122. da Silva-Nunes M, Codeço CT, Malafronte RS, da Silva NS, Juncansen C, Muniz PT, et al. Malaria on the amazonian frontier: Transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2008;79(4):624–35.
123. Vieira G de D, Basano S de A, Katsuragawa TH, Camargo LMA. Insecticide-treated bed nets in Rondonia, Brazil: evaluation of their impact on malaria control. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;
124. Steinhardt LC, Jean YS, Impoinvil D, Mace KE, Wiegand R, Huber CS, et al. Effectiveness of insecticide-treated bednets in malaria prevention in Haiti: a case-control study. *Lancet Glob Health*. 2017;5(1):e96–103.
125. Curtis CF, Jana-Kara B, Maxwell CA. Insecticide treated nets: Impact on vector populations and relevance of initial intensity of transmission and pyrethroid resistance. *J Vector Borne Dis*. 2003;40(1–2):1–8.
126. Koenker H, Yukich JO. Effect of user preferences on ITN use: a review of literature and data. *Malar J*. 2017;16(1):1–18.
127. Santacoloma Varón L, Tibaduiza T, Gutiérrez M, Brochero H. Suceptibilidad a insecticidas de *Anopheles darlingi* Root 1840, en dos localidades de los departamentos de Santander y Caquetá en Colombia. *Biomédica*. 2011;31.
128. Braga TA, Loureiro AC, Lima JBP, Martins A. Insecticide Resistance in *Anopheles Albitarsis* S.S. From a Rice Production Field, With the First Record of Kdr Mutation in This Species. *Res Sq*. 2021 Jan 5;

## 12. APÊNDICES

### 12.1. FORMULÁRIO CAP

* Deve ser preenchido antes da entrevista		
1.	Número do questionário	_____/_____/____ (Código do Município/Código da localidade/número sequencial)
2.	Nome do Entrevistador	
3.	Data da entrevista	____/____/____
4.	Nome da localidade	
5.	Código SIVEP da Localidade	
6.	Endereço	
7.	Município	

Secção 1: Gostaria de fazer perguntas a você algumas informações sobre você e sua casa. (Entrevistar preferencialmente o chefe da família, e nunca menores de 18 anos).			
8.	Nome do Entrevistado:		
9.	Endereço		
10.	Data de nascimento do entrevistado	____/____/____	
11.	Sexo	(____)	1. Masculino 2. Feminino
12.	Quem está sendo entrevistado é o proprietário do imóvel?	(____)	1. Proprietário 2. Inquilino 3. Caseiro
13.	Quem está sendo entrevistado é o chefe da família?	(____)	1. SIM 2. NÃO
14.	Qual o maior nível de escolaridade do entrevistado?	(____)	1. Sem instrução 2. Ensino fundamental incompleto 3. Ensino fundamental completo 4. Ensino médio incompleto 5. Ensino médio completo 6. Ensino superior incompleto 7. Ensino superior completo
15.	Qual o tipo de parede predominante na residência? (observar)	(____)	1. Lona/plástico 2. Madeira sem pintura 3. Madeira pintada 4. Alvenaria com tijolos sem reboco 5. Alvenaria com tijolos rebocados sem pintura 6. Alvenaria com tijolos rebocados com pintura 7. Casa sem paredes 8. Outro (Especificar)
16.	Sua casa tem televisão? (Se a resposta for não, passe para a pergunta 18).	(____)	1. SIM 2. NÃO
17.	Em que horas do dia as pessoas se juntam para assistirem televisão na sua casa?	(_____)	
18.	Onde você costuma estar de manhã bem cedo e na boquinha (início) da noite?	(____)	1. Dentro de casa 2. Na varanda ou no quintal de casa 3. Na mata/floresta 4. Nos igarapés e rios 5. Na escola 6. Roçado 7. Campo de futebol 8. Reuniões em barracões comunitários 9. Cultos ou reuniões da igreja

<sup>1</sup> Bem cedo - horário que compreende o período entre 5 horas e 6 horas.

Boquinha da noite - horário que compreende o período entre 17 horas e 19 horas.

			10. Em escritórios, lojas ou lugares fechados
19.	Onde as pessoas da família tomam banho?	(___)	1. Banheiro 2. Cacimba 3. Rio 4. Poço 5. Outros

20.	Qual o horário em que tomam banho?	(___)	1. Entre 5 e 7 da manhã 2. Durante o dia 3. Entre 17 e 19 horas 4. A noite 5. Outros:..... (Pode marcar mais de uma resposta).
21.	Quantas pessoas moram na residência?	(___)	
22.	Quantas pessoas dormiram nesta casa na noite anterior?	(___)	
23.	Onde as pessoas dormiram na noite anterior na sua casa? (Incluindo lugares fora da casa e lugares temporários).	(___) Rede – Quantas? (___) Cama de casal* – Quantas? (___) Cama de solteiro* – Quantas? (___) Berço - Quantas? (___) Outro (Especificar)	Observação: verificar se o total de redes e camas é igual ao número de pessoas apresentadas na questão 01, se for diferente perguntar onde os demais dormem e registrar a resposta em anexo.
24.	Quantos mosquiteiros foram usados na noite anterior? Procure por mosquiteiros guardados ou mesmo embalados.	(___)	
25.	Do total de mosquiteiros na residência, quantos são impregnados? (Observar)	(___)	

Secção 2: Conhecimentos sobre malária			
26.	Você sabe como se pega malária? (Se a resposta for sim continue, se for não, passe para a pergunta 30)	(___)	1. SIM 2. NÃO – Passe para a pergunta 30
27.	Como é que se pega malária? *Pode marcar mais de uma resposta	(___)	1. Mosquito2 _____ - 2. Caçando 3. Pescando 4. Beber água do rio 5. No roçado 6. Pegou do vizinho 7. Tomou banho de corpo quente 8. Tomando banho nos igarapés 9. Outro: (Especificar).
28.	De onde o <i>mosquito</i> * vem? *Usar o nome usado pelo morador. *Pode marcar mais de uma opção	(___)	1. Campinho 2. Lixo 3. Igarapé 4. Água empossada 5. Mata/Floresta 6. Do vizinho 7. Outro (Especificar).
29.	Você sabe quais os horários em que o mosquito gosta de picar?	(___)	1. Bem cedinho 2. Na boquinha da noite 3. O dia todo 4. A noite toda
30.	Como você sabe que uma pessoa está com malária?	(___)	1. Febre alta 2. Tremedeira 3. Dor de cabeça 4. Fraqueza 5. Suor 6. Frio 7. Outro (Especificar).

<sup>2</sup> No espaço ao lado escreva o nome que a pessoa chamou o mosquito.

31.	Você ou alguém da sua casa já teve malária? (Se a resposta for <i>não</i> passe para a questão 37).	(____)	1. SIM 2. NÃO
-----	--	--------	------------------

32.	O que você ou a pessoa sentiu? (Pode marcar mais de uma resposta)	(____)	1. Febre alta 2. Tremedeira 3. Dor de cabeça 4. Fraqueza 5. Suor 6. Frio 7. Outro (Especificar).
33.	O que você fez? (Pode marcar mais de uma resposta)	(____)	1. Levou para o serviço de saúde 2. Agente de saúde foi em casa 3. Furou o dedo/ coletou sangue 4. Tomou chá 5. Não fez nada 6. Benzedeira, rezador ou curandeiro 7. Tomou remédio. Em caso afirmativo responda a <b>questão 34</b>
34.	Qual o remédio que você tomou?	(_____)	
35.	Depois que a febre começou, quanto tempo levou para fazer exame de malária?	(____)	1. 01 dia 2. De 01 a 02 dias 3. De 03 a 05 dias 4. Mais de 05 dias
36.	O serviço de saúde que você, sua família e sua comunidade têm direito, mantêm um agente de saúde fazendo visita casa em casa? (Caso a resposta seja <i>negativa</i> , passe para a questão 39).	(____)	1. Sim 2. Não 3. Não sei 4. Acho que tem 5. Acho que não tem
37.	O agente de saúde já visitou a sua casa alguma vez?	(____)	1. SIM 2. NÃO
38.	O que ele faz para tratar e ajudar a controlar a malária? (Anotar a resposta de acordo com que ele falar, mesmo que você considere errado)		
39.	Caso alguém, na sua casa ou na sua vizinhança, esteja com febre o que você faz?	(____)	1. Dou remédio 2. Chamo o agente de saúde 3. Levo para coletar sangue 4. Levo para o serviço de saúde 5. Dou banho 6. Levo para a benzedeira, rezador ou curandeira
40.	O que é preciso fazer para evitar que a malária chegue a sua comunidade?		1. Mutirão de limpeza nos igarapés 2. Reunião comunitária para a discussão sobre os horários em que o mosquito pica 3. Planejamento ambiental 4. Outro (Especificar).
41.	Quanto tempo leva caminhando da sua casa até o local onde é feito o exame de malária?	(____)	1. Menos de 5 minutos 2. Entre 5 e 15 minutos 3. Aproximadamente 30 minutos 4. Entre 30 minutos e 1 hora 5. Entre 1 e 2 horas 6. Mais de 2 horas 7. Não é possível ir caminhando 8. Não tem laboratório próximo

Secção 3: Avaliação do Mosquiteiro em uso			
42.	O mosquiteiro tem sido usado diariamente?	(____)	1. SIM 2. NÃO – Pular para questão 47
43.	Este mosquiteiro foi utilizado para dormir na noite passada?	(____)	1. SIM – Pular para a questão 45 2. NÃO

44.	Se não, por que este mosquiteiro não foi utilizado na noite passada?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. É muito quente.</li> <li>2. Não gosto da malha</li> <li>3. Me sinto preso/fechado/encarcerado</li> <li>4. Não está dando malária</li> <li>5. Não tem mosquito</li> <li>6. O MILD está rasgado ou muito velho</li> <li>7. Não tinha mosquiteiro suficiente</li> <li>8. Usei outro mosquiteiro</li> <li>9. O dono do mosquiteiro não dormiu aqui na noite passada.</li> <li>10. Outra (Especificar): _____</li> <li>11. Não soube informar</li> </ol>
45.	Na semana passada, com que frequência o mosquiteiro foi usado?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Todas as noites (7 noites)</li> <li>2. A maioria das noites (5 ou 6)</li> <li>3. Algumas noites (1 até 4)</li> <li>4. Não foi usado</li> <li>5. Não soube informar</li> </ol>
46.	Quantas pessoas dormiram usando mosquiteiro na noite anterior?	<input type="checkbox"/> Crianças menores de 5 anos. <input type="checkbox"/> Crianças e adolescentes entre 5 e 18 anos. <input type="checkbox"/> Homens <input type="checkbox"/> Mulheres não grávidas <input type="checkbox"/> Mulheres Grávidas	
47.	Em que período do ano o mosquiteiro é usado?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Durante todo o ano.</li> <li>2. Na época das chuvas</li> <li>3. Na época da seca</li> <li>4. Não soube informar</li> </ol>
48.	O mosquiteiro tem sido usado para dormir fora de casa? Se sim, onde?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Na área rural.</li> <li>2. Na praia</li> <li>3. Na floresta</li> <li>4. Em acampamentos</li> <li>5. Outros (Especificar): _____</li> <li>6. Não é usado fora de casa – Pular para questão 51</li> <li>7. Não soube informar casa – Pular para questão 51</li> </ol>
49.	Em que período do ano o mosquiteiro é usado fora da casa.	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. O ano todo</li> <li>2. Só na época das chuvas</li> <li>3. Só na época da seca</li> <li>4. Não soube informar</li> </ol>
50.	Você retirou o mosquiteiro de cima da cama/rede durante a noite?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. SIM</li> <li>2. NÃO</li> <li>3. Não soube informar</li> </ol>
51.	Este mosquiteiro já foi lavado?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. SIM</li> <li>2. NÃO – Pular para a questão 57</li> <li>3. Não soube informar - Pular para a questão 57</li> </ol>
52.	Qual foi a última vez que este mosquiteiro foi lavado?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uma semana atrás</li> <li>2. Entre uma semana e um mês atrás</li> <li>3. 1 – 3 meses atrás</li> <li>4. 3 – 6 meses atrás</li> <li>5. Mais de 6 meses atrás</li> <li>6. Não soube informar</li> </ol>
53.	Que tipo de sabão você usou?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nenhum</li> <li>2. Sabão em barra</li> <li>3. Sabão em pó</li> <li>4. Sabão em barra e em pó</li> <li>5. Água sanitária</li> <li>6. Não soube informar</li> </ol>
54.	Quanto tempo o mosquiteiro ficou de molho?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Não ficou de molho</li> <li>2. Menos de 1 hora</li> <li>3. Mais de 1 hora</li> <li>4. Não soube informar</li> </ol>
55.	O mosquiteiro foi esfregado com força ou batido sobre uma superfície dura (por exemplo: rochas ou pedaços de madeira)	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. SIM</li> <li>2. NÃO</li> <li>3. Não soube informar</li> </ol>
56.	Onde o mosquiteiro foi colocado para secar?	( )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Fora de casa no sol</li> <li>2. Fora de casa na sombra</li> <li>3. Dentro de casa</li> <li>4. Não soube informar</li> </ol>

Encerrar aqui o questionário padrão

Iniciar a secção 4 deste questionário, somente nas residências selecionadas para retirada de mosquiteiros e avaliação física dos mesmos.

Selecionar aleatoriamente quatro residências da localidade onde estão sendo aplicados os questionários, e recolher de cada casa um mosquiteiro.

Deve-se recolher em cada localidade 2 mosquiteiros de rede e 2 de cama.

A avaliação física deve ser feita 2 meses após a instalação do mosquiteiro, e repetida 6 meses depois da instalação, 1 ano após a instalação, 1 ano e meio e 2 anos. Na mesma localidade, porém sempre em casas diferentes.

Secção 4: Condições físicas do mosquiteiro avaliado – Retirar o mosquiteiro e entregar o novo do mesmo tipo ao Morador.			
57.	No mês passado, apareceu algum novo buraco no mosquiteiro que você tenha percebido?	( )	1. SIM 2. NÃO 3. Não soube informar
58.	O que causou esse novo buraco?	( )	1. Furado ou rasgado quando engatou em um objeto. 2. Foi queimado 3. Foi causado por animais 4. Foi causado por crianças 5. Outra maneira (especificar): _____ 6. Não soube informar.
59.	Como o mosquiteiro foi encontrado?	( )	1. Pendurado solto sobre o "lugar de dormir" 2. Pendurado amarrado em um nó 3. Pendurado e Dobrado 4. Visível, mas não pendurado 5. Guardado
60.	Sobre que tipo de "lugar de dormir" o mosquiteiro estava pendurado? (Observar)	( )	1. Colchão 2. Rede 3. Esteira 4. Chão 5. Outro (Especificar): _____
61.	Onde o mosquiteiro foi encontrado? (Observar)	( )	1. Dentro de casa 2. Fora de casa – Pular para a questão ...
62.	Qual o principal tipo de PISO do lugar onde o mosquiteiro foi encontrado? (Observar)	( )	1. Chão ou areia 2. Madeira 3. Cimento cru 4. Lajota 5. Carpete 6. Outro (Especificar): _____
63.	Qual o principal tipo de PAREDE do lugar onde o mosquiteiro foi encontrado? (Observar)	( )	1. Lona/Plástico 2. Barro 3. Madeira 4. Tijolos aparentes 5. Alvenaria com reboco e SEM pintura 6. Alvenaria com reboco e COM pintura 7. Sem paredes 8. Outro (Especificar): _____
64.	Qual o principal tipo de TETO do lugar onde o mosquiteiro foi encontrado? (Observar)	( )	1. Telhas de zinco 2. Telhas de fibrocimento (Brasilit) 3. Telhas de barro 4. Lage/Concreto 5. Madeira 6. Outro (Especificar): _____
65.	Você usa algum tipo de fogo para cozinhar, aquecer ou iluminar o local onde o mosquiteiro foi encontrado?	( )	1. Não uso 2. Fogueira 3. Fogão a lenha 4. Lamparina 5. Outro (Especificar): _____
66.	Que tipo de buracos foram observados?		1. Rasgos horizontais na parte de baixo do mosquiteiro 2. Buracos nos pontos de amarração 3. Costuras abertas 4. Buracos provocados por fogo 5. Buracos provocados por roedores 6. Pedacos grandes perdidos

67.	Número de buracos do tamanho 1	Menores que o tamanho de um polegar (0,5 - 2 cm)	<input type="checkbox"/> No Teto do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de cima do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de baixo do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Nas costuras
68.	Número de buracos do tamanho 2	Maior que um polegar e menor que o tamanho de um punho (2 - 10 cm)	<input type="checkbox"/> No Teto do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de cima do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de baixo do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Nas costuras
69.	Número de buracos do tamanho 3	Maior que um punho e menor que uma cabeça (10 - 25 cm)	<input type="checkbox"/> No Teto do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de cima do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de baixo do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Nas costuras
70.	Número de buracos do tamanho 4	Maior que uma cabeça (>25 cm)	<input type="checkbox"/> No Teto do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de cima do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Na parte de baixo do mosquitoiro <input type="checkbox"/> Nas costuras
71.	Número de buracos com reparos		<input type="checkbox"/> Costurados <input type="checkbox"/> Amarrados <input type="checkbox"/> Remendados

## 12.2. TCLE - USUÁRIOS

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Nós os pesquisadores (**Elder Augusto Guimarães Figueira, Martha Cecilia Suárez-Mutis e José Bento Pereira Lima**), vimos nos apresentar ao(s) senhor(es), como responsáveis pelo desenvolvimento de um projeto de pesquisa que tem como título **“Impacto de mosquiteiros impregnados de longa duração (MILDs) associados à borrifação intradomiciliar no controle da malária no Amazonas: percepção da população em áreas de risco e avaliação do perfil de susceptibilidade dos vetores ao inseticida”** e pedir a sua participação no referido projeto. Vamos lhe apresentar a pesquisa.

1. O estado do Amazonas atualmente concentra quase a metade dos casos de malária do Brasil;
2. Seis municípios do Estado foram selecionados para receberem por este projeto em parceria com a Fundação de Vigilância em Saúde, mosquiteiros impregnados para controle de mosquitos em áreas de transmissão ativa de malária.
3. O objetivo geral é avaliar o impacto de uso destes mosquiteiros impregnados como estratégia isolada e combinada com a borrifação intradomiciliar, identificando qual estratégia tem melhor impacto para o controle da doença em diferentes cenários de transmissão.
4. Também tem como objetivo avaliar a percepção da população a respeito da malária, considerando aspectos relativos a transmissão, prevenção e tratamento, através de entrevistas com população residente em áreas de transmissão ativa do estado do Amazonas.
5. Você está sendo convidado a participar da pesquisa respondendo a uma entrevista com duração aproximada de 15 minutos, a respeito de seus conhecimentos, práticas e atitudes sobre a malária.
6. Para realização de testes com uso de mosquitos, o mosquiteiro que você usa poderá ser solicitado como amostra e levado para o laboratório do Núcleo de Entomologia da FVS em Manaus, mas neste caso, você receberá outro mosquiteiro novo de igual modelo para substituição.
7. As informações fornecidas por você contribuirão para um maior conhecimento dos problemas relacionados com o controle da malária no estado de Amazonas.
8. A sua participação é voluntária e se participar não terá nenhuma despesa ou receberá algo em troca. Consequentemente, a vantagem de sua participação é apenas de caráter científico.
9. Mesmo após sua autorização terá o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, independente do motivo e sem qualquer prejuízo a sua pessoa e as informações fornecidas serão utilizadas apenas na realização desse projeto.
10. Caso forneça alguma informação considerada como um conhecimento tradicional, os pesquisadores jamais a utilizarão para obter patente ou a divulgarão em publicações técnico-científicas de circulação nacional ou internacional e em outros veículos de divulgação de informação para a sociedade.
11. As demais informações não relacionadas com o conhecimento tradicional serão analisadas e os resultados serão divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo.
12. Não serão coletadas amostras biológicas de qualquer natureza e você receberá uma via assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
13. Declaro para os devidos fins que será realizado o cumprimento das exigências contidas nos itens apresentados acima e que os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre.
14. O Projeto está submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical “Doutor Heitor Vieira Dourado” sob o Número do CAAE: 69014317.0.0000.0005. Este CEP está situado a Av. Pedro Teixeira, 25, Bairro Dom Pedro, Manaus, Amazonas – CEP 69.040-000 – Fone (92) 2127 3572 – Email: [cep@fmt.am.gov.br](mailto:cep@fmt.am.gov.br), funciona para atendimento ao público de 8h as 17h de segunda a sexta-feira, podendo ser consultado sobre a aprovação deste projeto.

Se você quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, faça contato com o pesquisador **Elder Augusto Guimarães Figueira**, pelo telefone (92) **981553653** ou pelo E-mail: [eagfigueira@gmail.com](mailto:eagfigueira@gmail.com)

Consentimento Após-Informação Eu, \_\_\_\_\_, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do participante da pesquisa	Ou Impressão digital	Assinatura do entrevistador

### 12.3. TCLE – AGENTES DE CAPTURA

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO – Agentes de Captura de Anofelinos

Nós os pesquisadores (**Elder Augusto Guimarães Figueira, José Bento Pereira Lima e Martha Cecilia Suárez-Mutis**), responsáveis pelo desenvolvimento de um projeto de pesquisa que tem como título **“Impacto de mosquitos impregnados de longa duração (MILDs) associados à borrifação intradomiciliar no controle da malária no Amazonas: percepção da população em áreas de risco e avaliação do perfil de susceptibilidade dos vetores ao inseticida”** vimos esclarecer os principais objetivos de projeto e solicitar sua participação como Agente de Captura de Anofelinos.

1. O estado do Amazonas atualmente concentra quase a metade dos casos de malária do Brasil;
2. Seis municípios do Estado foram selecionados para receberem por este projeto em parceria com a Fundação de Vigilância em Saúde, mosquitos impregnados para controle de mosquitos em áreas de transmissão ativa de malária.
3. O objetivo geral é avaliar o impacto de uso destes mosquitos impregnados como estratégia isolada e combinada com a borrifação intradomiciliar, identificando qual estratégia tem melhor impacto para o controle da malária em diferentes cenários de transmissão.
4. Também tem como objetivo avaliar a percepção da população a respeito da malária, considerando aspectos relativos a transmissão, prevenção e tratamento, através de entrevistas com população residente em áreas de transmissão ativa do estado do Amazonas.
5. A pesquisa envolve testes de susceptibilidade dos mosquitos ao inseticida utilizado para impregnação dos mosquitos.
6. Também será testada a efetividade e tempo de duração do efeito letal do inseticida.
7. Para ambos os testes entomológicos devem ser utilizados mosquitos vivos. E como estabelecido na NOTA INFORMATIVA Nº06, de 06/12/2016 SVS/Ministério da Saúde, “Atualmente, ainda não estão disponíveis outros métodos de captura com eficácia compatível à captura de anofelinos por atração humana (...) Portanto, não há, ainda alternativa para fazer levantamentos de indicadores entomológicos essenciais sem a utilização deste método”. Ou seja, a captura dos mosquitos usados nestes testes, deverá ser realizada através de atração humana protegida.
8. Só realizarão as capturas, técnicos diretamente ligados ao serviço público de controle de endemias, devidamente capacitados e utilizando Equipamentos de Proteção Individual específicos (calça comprida, camisa de manga longa e meião), que visam mitigar o impacto à saúde dos profissionais envolvidos.
9. A capacitação e o fornecimento de EPI para os profissionais são de responsabilidade do Núcleo Estadual de Entomologia da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas.
10. As capturas noturnas terão duração de 3 horas, com início às 18h e término às 21h, podendo haver alteração em virtude da variação nos horários de pôr-do-sol, com início às 19h.
11. Como as capturas são realizadas em áreas de transmissão de malária, existe o risco de que o profissional seja infectado pelo *Plasmodium* durante as capturas e desenvolva a doença, nestes casos todo o suporte de diagnóstico e tratamento da doença será oferecido gratuitamente, como já é realizado em todo sistema público de saúde. Entretanto, com o treinamento adequado e uso de EPI este risco é bastante reduzido.
12. Você receberá uma via assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
13. Se você quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, faça contato com o pesquisador **Elder Augusto Guimarães Figueira**, pelo telefone (92) **981553653** ou pelo E-mail: [eagfigueira@gmail.com](mailto:eagfigueira@gmail.com)
14. O Projeto está submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical “Doutor Heitor Vieira Dourado” sob o Número do CAAE: 69014317.0.0000.0005. Este CEP está situado a Av. Pedro Teixeira, 25, Bairro Dom Pedro, Manaus, Amazonas – CEP 69.040-000 – Fone (92) 2127 3572 – Email: [cep@fmt.am.gov.br](mailto:cep@fmt.am.gov.br), funciona para atendimento ao público de 8h às 17h de segunda a sexta-feira, podendo ser consultado sobre a aprovação deste projeto.

Consentimento Após–Informação Eu, \_\_\_\_\_, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como agente de captura e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do Agente de Captura

## 12.4. RECIBO DE INSTALAÇÃO DOS MILDS

RECIBO DE INSTAÇÃO DE MOSQUITEIROS IMPREGNADOS			
Município:		Código	
Localidade:		Código	
Endereço:			
Responsável pela Entrega:		Função:	
Eu: .....			
Residente nesta localidade, declaro o recebimento de ..... MILDs Rede e ..... MILDs Cama			
CÓDIGOS REDE			
CÓDIGOS CAMA			
<p>_____ / ____ / _____</p> <p>ASSINATURA DO RESPONSÁVEL PELO RECEBIMENTO</p>			

## 12.5. TERMO DE RECUSA

Município	
Localidade	

Eu \_\_\_\_\_, proprietário do imóvel situado na localidade acima citada, declaro minha DECISÃO PESSOAL de não receber os mosquiteiros que estão sendo instalados gratuitamente pela equipe de controle de Endemias do Município. Estou esclarecido quanto as vantagens do uso de mosquiteiros e sua importância no controle da malária e como forma de proteção para mim e para minha família. Estou esclarecido também quanto possíveis efeitos adversos do uso de mosquiteiros impregnados.

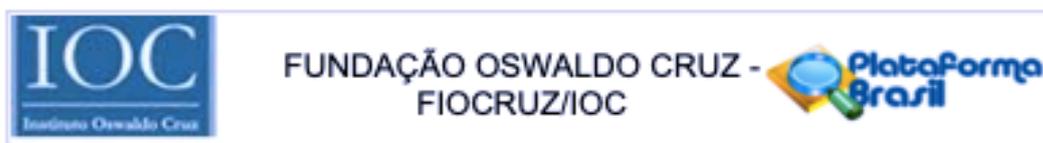
Por decisão pessoal RECUSO a instalação dos mosquiteiros.

\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

(Assinatura do Proprietário do Imóvel)

## 13. ANEXOS

### 13.1. PARECER COMITÊ DE ÉTICA FIOCRUZ



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Impacto de mosquiteiros impregnados de longa duração (MILDs) associados à borrifação intradomiciliar no controle da malária no Amazonas: percepção da população em áreas de risco e avaliação do perfil de susceptibilidade dos vetores ao inseticida.

**Pesquisador:** Elder Augusto Guimarães Figueira

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 69014317.0.3001.5248

**Instituição Proponente:** Fundação de Vigilância em Saúde

**Patrocinador Principal:** Fundação de Vigilância em Saúde

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.293.231

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto aprovado pelo CEP da Fundação de Medicina Tropical "Doutor Heitor Vieira Dourado", CAAE nº 69014317.0.0000.0005, Parecer nº 2.215.374, emitido em 11 de agosto de 2017.

É um estudo de coorte com intervenção, no qual serão acompanhadas por três anos consecutivos as localidades onde serão instalados aproximadamente 40.000 mosquiteiros impregnados.

Segundo o pesquisador principal, com o presente projeto pretende-se avaliar o impacto do uso de mosquiteiros impregnados com inseticida no controle da malária no Amazonas. Serão considerados aspectos relacionados à adesão desta ferramenta por parte da população usuária residente em áreas de transmissão ativa e aspectos entomológicos relacionados à susceptibilidade e resistência das populações de anofelinos nas áreas endêmicas. Para tanto foram selecionados três municípios, localizados em três diferentes calhas de rio no estado do Amazonas com altas taxas de transmissão de malária. (1) Eirunepé município localizado na calha do rio Juruá, com 5.313 casos de malária notificados em 2014; (2) Santo Antônio do Içá, localizado no rio Solimões, com 21,8% de casos por *Plasmodium falciparum* e (3) Tapauá, com 2.019 casos de malária em

**Endereço:** Av. Brasil 4336, 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:** cepfocruz@ioc.fiocruz.br



2014. Para o monitoramento da durabilidade dos mosquiteiros serão utilizados questionários semi-estruturados adaptados do Guia de monitoramento elaborado pela Organização Mundial de Saúde (WHO 2011). Com a aplicação deste questionário serão avaliados quatro indicadores: (1) Vida útil: que será estimada considerando a proporção de mosquiteiros viáveis que permanecem sendo utilizados pelas famílias; (2) Uso e abandono: proporção de mosquiteiros que não está em uso como preconizado; (3) Integridade Física: será considerado o número, localização e tamanho dos buracos em cada mosquiteiro, será também caracterizado o motivo do rasgo. (4) Bioeficácia é o grau de efeito "knock-down", mortalidade ou inibição da atividade de sugar dos mosquitos. Serão realizadas 50 entrevistas em cada localidade, totalizando 150 participantes.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar a eficácia de duas ferramentas, borrifação intradomiciliar e mosquiteiros impregnados com inseticida no controle da malária na região amazônica brasileira, considerando suas particularidades ambientais e socioculturais.

**Objetivos Secundários:**

1. Investigar o impacto da utilização dos mosquiteiros impregnados, da borrifação intradomiciliar e das duas ferramentas associadas na redução de vetores e do número de casos de malária nas áreas do estudo no Amazonas;
2. Investigar percepções da população a respeito da eficácia dos mosquiteiros para a proteção dos residentes e o efeito protetivo de massa, conferidos aos indivíduos que mesmo não utilizando mosquiteiros, se beneficiam pelo uso coletivo da estratégia em sua localidade;
3. Avaliar a durabilidade dos mosquiteiros e a persistência do inseticida nos mesmos, usando metodologia preconizada pela OMS;
4. Investigar resistência à piretróides, com utilização de marcadores moleculares, de população de mosquitos nas diferentes localidades;
5. Avaliar o perfil de susceptibilidade das populações de anofelinos em diferentes calhas de rio, expostos a diferentes níveis de pressão de inseticida.

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: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 2.293.231

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Segundo o pesquisador principal: "Os mosquitos utilizados nos testes de suscetibilidade serão coletados por auxiliares de entomologia do Núcleo Estadual de Entomologia da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas, devidamente capacitados e usando sempre EPI adequado. Não haverá coleta de amostras biológicas humanas, por conseguinte não se esperam riscos à saúde do participante, seja físico, social ou mental. Para evitar possíveis riscos psíquicos decorrentes do possível constrangimento que os participantes possam chegar a ter, os resultados serão publicados sem mencionar o nome dos entrevistados."

**Benefícios:**

Ainda segundo o pesquisador: "Esta pesquisa trará benefícios diretos às comunidades envolvidas. Em primeiro lugar, a inclusão de uma nova ferramenta de controle vetorial garantirá melhor controle das populações de vetores nas localidades malarígenas. A inclusão definitiva dos mosquiteiros impregnados no rol de estratégias de rotina dos Programas Municipais de Controle de Malária no Amazonas, tornará o controle vetorial logisticamente mais fácil e economicamente mais viável."

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo de grande interesse para a saúde pública. Os resultados poderão identificar o impacto direto da implantação de mosquiteiros impregnados em localidades com alta transmissão de malária na Amazônia brasileira, espera-se que esta estratégia contribua para o controle vetorial e, conseqüentemente, para a redução do número de casos autóctones de malária na região amazônica.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados e avaliados os seguintes documentos:

1-Folha de Rosto datada, assinada e carimbada pelo Diretor Presidente da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Governo do Estado do Amazonas;

2-PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_926848;

3-Questionário para "Monitoramento de Uso e Efetividade de Mosquiteiros Impregnados de Longa Duração (MILDs) para controle de malária no Amazonas";

4-Projeto Detalhado;

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: cepfio cruz@ioc.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 2.293.231

5-TCLE – Agentes de Captura de Anofelinos;

6-O Projeto está submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical "Doutor Heitor Vieira Dourado" sob o Número do CAAE: 69014317.0.0000.0005 e

7-TCLE dos entrevistados.

**Recomendações:**

O projeto deverá ser desenvolvido conforme delineado no momento da aprovação.  
Recomenda-se que o pesquisador faça as alterações nos TCLEs.

1-TCLE – Agentes de Captura de Anofelinos (falta assinatura do pesquisador e :“.....livremente dou meu consentimento para inclusão como agente de captura e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento” por:

“.....livremente dou meu consentimento para inclusão como para inclusão como agente de captura e atesto que me foi entregue uma via,deste documento, com igual teor a via do pesquisador”;

2-TCLE dos entrevistados (substituir o texto:“.....livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma cópia desse documento” por:

“.....livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma via,deste documento, com igual teor a via do pesquisador”

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O projeto já foi aprovado pelo CEP da Instituição proponente.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP Fiocruz/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Res.CNS 466/12, manifesta-se por APROVAR o presente projeto de pesquisa. Cabe ressaltar que:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto.

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: 2.293.231

Justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados. (Res CNS 466/12, item XI).

Qualquer alteração no projeto deverá ser submetida à avaliação do CEP da Instituição proponente por meio de Emenda ou Notificação, conforme o caso.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_926848.pdf	24/07/2017 21:41:38		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Captura_de_anofelinos_MILDS.doc	24/07/2017 21:41:06	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Monitoramento_MILDS_alterado.doc	24/07/2017 21:40:36	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_926848.pdf	28/05/2017 22:04:24		Aceito
Outros	Questionario_Monitoramento_MILDS consolidado.doc	28/05/2017 22:02:08	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Captura_de_anofelinos_MILDS.doc	28/05/2017 21:57:20	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Monitoramento_MILDS consolidado.doc	28/05/2017 21:56:32	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Doutorado_IOC_Elder_Figueira.doc	28/05/2017 21:52:29	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_Projeto_Milids.pdf	28/05/2017 21:49:19	Elder Augusto Guimarães Figueira	Aceito

**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: cepfioacruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -  
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.293.231

RIO DE JANEIRO, 23 de Setembro de 2017

---

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

**Endereço:** Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)  
**Bairro:** Manguinhos **CEP:** 21.040-360  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)3682-8011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepflocruz@ioc.fiocruz.br

Página 06 de 06