TIENE ZINGANO HINKE

Perfil Nosológico da População Ribeirinha do Baixo Rio Machado em Rondônia/Amazônia Ocidental-Brasil

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro.

Orientador: Erney Felício Plessmann de Camargo

RESUMO

HINKE, T. Z. **Perfil Nosológico da População Ribeirinha do Baixo Rio Machado em Rondônia / Amazônia Ocidental-Brasil**. 150 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Parasitologia, São Paulo, 2009.

Foi estudado o perfil nosológico da população ribeirinha do Baixo Rio Machado em Rondônia, área de Amazônia Ocidental no Brasil. Neste estudo, escolhemos abordar o perfil das seguintes doenças: malária, hepatite viral B e C, parasitose intestinal e papilomavírus humano. Estas doenças foram priorizadas devido à importância clínica e epidemiológica e também escassez de estudos referentes nas populações ribeirinhas amazônicas. Para isto, foi realizado um estudo descritivo no Baixo Rio Machado que se localiza a 250 km de Porto Velho (capital do Estado de Rondônia) pela margem direita do Rio Madeira, que é um afluente volumoso do Rio Amazonas, no Brasil. Nesta área, vivem aproximadamente 806 pessoas distribuídas em 55 comunidades ribeirinhas isoladas. Em Rondônia, encontramos locais, como o Rio Machado, que abrigam a presença de portadores assintomáticos do *Plasmodium*, fato que pode contribuir para a persistência desta doença na região. Para caracterizar o perfil da malária ribeirinha, focalizando aspectos da infecção assintomática e sintomática, foram realizados hemoscopia e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com amplificação do DNA ribossomal do parasita para *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* para o diagnóstico da malária. Foi considerado como assintomático o paciente com hemoscopia positiva ou PCR positivo que permaneceu sem sintomas durante pelo menos 60 dias. Foi realizado acompanhamento longitudinal de 70 dias após o primeiro corte transversal (nC1=585 pessoas) para observação dos pacientes assintomáticos diagnosticados por hemoscopia, onde 25 pacientes (4,25%) permaneceram assintomáticos durante todo esse seguimento. Após, foi realizado mais dois cortes transversais a cada 6 meses (nC2=583 pessoas, nC3=607 pessoas), com tratamento dos indivíduos assintomáticos diagnosticados por PCR no corte transversal anterior ou hemoscopia atual e também dos casos sintomáticos. Foi estudado, na população que permaneceu na área durante toda a pesquisa (n=379), o perfil e o impacto do tratamento da infecção assintomática. Houve diminuição da infecção por *P. falciparum* de seis vezes e aumento da prevalência de malária por *P. vivax* de aproximadamente três vezes. O diagnóstico por PCR foi de 2-5 vezes mais eficiente do que por hemoscopia e a prevalência de infecção assintomática foi de 16 a 22% nos cortes

transversais. Assim, foi observada a importância do tratamento dos indivíduos assintomáticos para o controle da malária no local, sendo que o incremento de malária por *Plasmodium vivax* deve ter ocorrido devido a recaídas da doença. Com o estudo entomológico da área, foi verificado que o vetor *Anopheles* possui atividade hematofágica moderada e principalmente em região peridomiciliar, sendo o *A. darlingi* a principal espécie da região. Existem poucos dados sobre a prevalência de hepatites na população ribeirinha de Rondônia, o que dificulta a vigilância epidemiológica nestas regiões amazônicas. Foi realizado um estudo de prevalência de hepatite B e C na área, com 123 pacientes pertencentes a 5 comunidades ribeirinhas, incluindo todas as pessoas que estavam presentes na área no momento do corte transversal, de todas as faixas etárias. Foi realizada sorologia para os marcadores de hepatite B: HbsAg, Anti-Hbc (total) e Anti-Hbs e sorologia para hepatite C com o marcador anti-HCV. Foram encontrados 12 (14,7%) pacientes com hepatite B aguda, 29 (38,7%) pacientes apresentaram imunidade vacinal para hepatite B e 7 (9,3%) pacientes apresentaram hepatite C, sendo que um (1,3%) paciente tinha co-infecção para hepatite B e C. Notou-se que esta população ribeirinha está exposta às hepatites virais, sendo necessário intensificar a vigilância epidemiológica na área, assim como a cobertura vacinal e também fornecer cuidados preventivos, curativos e paliativos em relação a estas doenças. A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é altamente prevalente, sendo detectada em aproximadamente 10% a 20% da população sexualmente ativa entre 15 e 49 anos de idade. A introdução de testes mais acurados para a detecção do DNA do HPV em investigações epidemiológicas confirmou a importância do HPV, principalmente dos tipos de alto risco, como o principal fator de risco para o desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial cervical e câncer do colo uterino. Não foram encontrados estudos sobre a existência do HPV em populações ribeirinhas amazônicas na literatura médica**.** Foi realizado, então, um estudo transversal para levantar a prevalência de HPV nesta população, com 84 participantes em idade sexualmente ativa presentes na área. Após coleta de consentimento informado e questionário clínico-epidemiológico, foi realizado exame para isolar o HPV. A tipagem do HPV foi realizada com amplificação dos DNAs por PCR empregando iniciadores genéricos seguida de hibridização em pontos, capaz de identificar mais de 40 tipos diferentes de HPVs. Foram encontradas 18 pacientes contaminadas pelo HPV, perfazendo 21,4% da amostra. Os tipos de HPV encontrados foram: 53, 58, 31, 56, 16, 83, 55, 66, 45, 51, 40, 42, 6, 68. Os tipos de HPV mais freqüentes foram 51 (23%), 58 (19%), 53 (7,7%), 83 (7,7%), sendo HPV 16 encontrado em 3,8% das pacientes HPV positivas e a prevalência do HPV de alto risco oncogênco foi de 13,1%. Desta forma, foi encontrado alta prevalência de HPV na população ribeirinha amazônica estudada,

evidenciando a necessidade de vigilância epidemiológica para câncer de colo uterino na região. Por fim, foi estabelecido a prevalência de parasitoses intestinais na população, abordando a correlação das enteroparasitoses com malária assintomática e anemia, realizando um inquérito coproparasitológico na área incluindo pacientes de todas as faixas etárias, que estivessem dispostos a participar do estudo. A análise das amostras foi realizada pelo método da Sedimentação Espontânea (método de Lutz ou Hoffmann, Pons & Janer). Entre os 268 exames de fezes realizados, a prevalência de parasitose intestinal encontrada na região em estudo foi de 86,6%. Entre os helmintos, *Ascaris lumbricoides* (47%), *Ancilostomideos* (37,3%), *Trichuris trichiura* (3,4%), *Capillaria hepatica* (2,3%), foram os parasitas mais encontrados. Entre os protozoários foram encontrados: *Entamoeba coli* (21,4%), *Entamoeba histolytica* (12%), *Giardia intestinalis* (15,4%), *Endolimax nana* (10,1%) e *Iodamoeba butschlii* (7,5%). A alta prevalência de parasitose intestinal encontrada na pesquisa foi concordante com outros dados desenvolvidos na Região Amazônica. Com este estudo, a região da Amazônia Ocidental insere-se no cenário geográfico mundial de distribuição da *Capillaria hepatica*, particularmente, a região do Baixo Rio Machado.

Palavras-Chave: Malária-Epidemiologia. Malária-Rondônia. Infecção Assintomática. Hepatites-Rondônia. Parasitose Intestinal-Rondônia. Papilomavírus humano-Rondônia.

ABSTRACT

HINKE, T. Z. **Nosology Profile of Riverine People from Down Machado River in Rondônia / Western Amazon – Brazil**. 150 p. Ph. D. Thesis – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Parasitologia, São Paulo, 2009.

Was studied the nosological profile of the riverside population of the Baixo Rio Machado in Rondônia, Western Amazon area of Brazil. In this study, was chosed the profile of following diseases: malaria, hepatitis B and C, intestinal parasite and human papillomavirus. These diseases have been prioritized due to clinical and epidemiological importance and scarcity of studies in the riverside Amazon population. For this, was conducted a descriptive study in the Baixo Rio Machado which is located 250 km from Porto Velho (capital of Rondônia State) in the right bank of the Rio Madeira which is a large tributary of the Amazon River in Brazil. In this area, live about 806 people distributed in 55 riversides communities isolated. In Rondônia, we find places such as the Rio Machado, which shelter to the presence of asymptomatic carriers of *Plasmodium*, which may contribute to the persistence of this disease in the region. To characterize the profile of malaria riverside, focusing on aspects of symptomatic and asymptomatic infections, were performed haemoscopia and Polymerase Chain Reaction (PCR) with amplification of ribosomal DNA for the parasite *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* to the diagnosis of malaria. Was considered as asymptomatic patient with positive haemoscopia or positive or PCR that remained without symptoms for at least 60 days. Longitudinal follow-up was conducted for 70 days after the first cross section (nC1 = 585 people) for observation of asymptomatic patients diagnosed by haemoscopia where 25 patients (4.25%) remained asymptomatic throughout the follow-up. After was performed two cross cuts every 6 months (nC2 = 583 people, nC3 = 607 people), with treatment of asymptomatic individuals diagnosed by PCR in previous transverse cross-sections or haemoscopia a current and also symptomatic cases. We studied in the population that remained in the area throughout the study (no= 379), the profile and impact of treatment of asymptomatic infection. There was a decrease in infection by *P. falciparum* of six times and increased prevalence of malaria by *P. vivax* approximately three times. The diagnosis by PCR was 2-5 times more efficient than haemoscopia and the prevalence of asymptomatic infection was 16 to 22% in transverse cross-sections. Thus, was saw the importance of treatment of asymptomatic individuals for the control of malaria in the place, and the increase in malaria by *Plasmodium vivax* should have occurred due to relapse of the disease. With entomological study of the area, was saw that the vector Anopheles has

moderate blood activity and especially in peridomiciliary region and the *A. darlingi* the main species in the region. There are few data on the prevalence of hepatitis in riverside population of Rondônia, which makes surveillance in Amazonian regions. Was conducted a study of prevalence of hepatitis B and C in the area, with 123 patients belonging to 5 communities, including all the people who were present in the area at the cross section of all ages. Serology was performed for markers of hepatitis B: HBsAg, anti-HBc (total) and anti-HBs and serology for hepatitis C with anti-HCV marker. Was found 12 (14.7%) patients with acute hepatitis B, 29(38.7%) patients demonstrated immunity to hepatitis B vaccine and 7(9.3%) patients had hepatitis C, with one (1.3%) patient had co-infection for hepatitis B and C. Realize that this riverside population is exposed to viral hepatitis, being necessary to intensify epidemiological surveillance in the area, as well as immunization coverage and provide preventive care, curative and palliative for these diseases. The infection by human papillomavirus (HPV) is highly prevalent, being detected in approximately 10% to 20% of the sexually active population between 15 and 49 years of age. The introduction of more accurate tests for the detection of HPV DNA in epidemiological investigations confirmed the importance of HPV, particularly types of high risk, as the main risk factor for the development of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Was found no studies on the existence of HPV in riverside Amazonian populations in the medical literature. The transversal cross-section study was take up to raise the prevalence of HPV in this population, with 84 participants in sexually active age in the area. After collection of informed consent and clinical-epidemiological questionnaire, was conducted to isolate the HPV test. The typing of HPV was taking with the DNAs for PCR using generic primers followed by hybridization in points, able to identify over 40 different types of HPV. Was found 18 patients infected by HPV, comprising 21.4% of the sample. The HPV types found were: 53, 58, 31, 56, 16, 83, 55, 66, 45, 51, 40, 42, 6, 68. The most common HPV types were 51 (23%), 58 (19%), 53 (7.7%), 83 (7.7%) with HPV 16 found in 3.8% of HPV positive patients and prevalence the high risk HPV oncogenic was 13.1%. Thus, was find high prevalence of HPV in riverside Amazonian population studied, highlighting the need for surveillance for cancer of the cervix in the region. Finally, was established the prevalence of intestinal parasites in the population, deal the correlation of intestinal with asymptomatic malaria and anemia, taking the fecal examination conducting in the area including patients of all ages, who were willing to participate in the study. The analysis of samples was performed by the spontaneous sedimentation method (method of Lutz or Hoffmann, Pons & Janer). Among the 268 fecal examinations, the prevalence of intestinal parasite found in the region under study was 86.6%.

Among helminths, *Ascaris lumbricoides* (47%), *Ancilostomideos* (37.3%), *Trichuris trichiura* (3.4%), *Capillaria hepatica* (2.3%) were found more parasites. Among the protozoa were: *Entamoeba coli* (21.4%), *Entamoeba histolytica* (12%), *Giardia intestinalis* (15.4%), *Endolimax nana* (10.1%) and *Iodamoeba butschlii* (7.5%).The high prevalence of intestinal parasite found in the survey was consistent with other data developed in the Amazon region. In this study, the region of the Western Amazon is part of the scenario of global geographic distribution of *Capillaria hepatica,* particularly the region of the Baixo Rio Machado.

Key Words: Epidemiology-Malaria. Malaria-Rondônia. Asymptomatic Infection. Rondônia-Hepatitis. Rondônia-Intestinal Parasites. Rondônia-Human papillomavirus.

1 INTRODUÇÃO

1.1 O RIBEIRINHO

Quando utilizamos o termo “ribeirinho” não estamos somente nos referindo a quem mora às margens de um rio ou igarapé, mas àquele que essencialmente mantém uma organização social diferenciada da urbana, com sua sobrevivência econômica baseada principalmente na pesca e na pequena produção agrícola. Não é somente o fato de morar às margens de um rio ou igarapé que caracteriza o ribeirinho, isso seria uma classificação simplória diante da diversidade da forma de viver da população amazônica. Temos como definição de “ribeirinho” a população que possui um modo de vida peculiar que a distingue das demais populações do meio rural ou urbano, que possui sua cosmovisão marcada pela presença do rio. Para estas populações, o rio não é apenas um elemento do cenário ou paisagem, mas algo constitutivo do modo de ser e viver do homem (SILVA; SOUZA FILHO, 2002).

O espaço ribeirinho é composto por centenas de localidades. Vale salientar que estamos chamando de localidades os lugarejos que estão às margens dos rios e igarapés e que fazem parte de uma estrutura administrativa que são os Distritos, que por sua vez são parte da estrutura administrativa do município. O município de Porto Velho possui quatro distritos na região do baixo Rio Madeira (São Carlos, Nazaré, Calama e Demarcação) e Machadinho d’Oeste possui o distrito de Tabajara. Demarcação e Tabajara fazem parte de nosso trabalho de pesquisa, e por pertencerem a distritos diferentes, existe a dificuldade de padronização da assistência das comunidades do Rio Machado. As comunidades que pertencem a um rio têm um processo contínuo de vivências entre elas e não dividido em distrito como está nas políticas públicas. Algumas localidades surgiram a partir da simples ocupação por seringueiros da primeira corrente migratória, posteriormente por agricultores e, a partir da década de 50, pelos seringueiros “soldado da borracha”, bastando apenas umas três ou quatro famílias para formar uma localidade. Quando findou a economia dos seringais, esses seringueiros formaram várias localidades ao longo dos rios, lagos e igarapés.

A produção econômica realizada pela população das comunidades é tipicamente camponesa, caracterizada pela combinação de uma produção doméstica para consumo direto, principalmente os itens básicos da alimentação: o peixe e a farinha; e uma produção para venda, composta por peixe, farinha, raízes de macaxeira e açaí, além de algumas frutas como cupuaçu e a banana que geram uma renda mensal para os domicílios. Essa produção é vendida para donos de barcos, comerciantes itinerantes que dominam o comércio, principalmente nas comunidades que ficam mais distantes, ou diretamente para o mercado de Porto Velho.

Historicamente, esse modo de viver sempre esteve "às margens" do planejamento estatal no que se refere à formação de infra-estrutura que garanta a melhoria das condições de saúde e educação. Isso pode ser um dos fatores responsáveis por manter a maioria das comunidades em uma condição precária de saúde e educação e conseqüentemente, gerando desestruturações sociais internas.

A ausência de dados estatísticos também contribui para aumentar a ignorância quando em levantamentos demográficos. A estrutura político-administrativa do município de Porto Velho e Machadinho d'Oeste apresenta uma série de dificuldades ao pesquisador que objetive analisar dados de população e produção, uma vez que os dados estatísticos disponíveis não disponibilizam informações sobre populações e caracterizações sócio-econômicas ribeirinhas. Comunidades abaixo de cinqüenta pessoas somam-se a outras e são inseridas na unidade administrativa dos distritos de Porto Velho e Machadinho d'Oeste. Essa é uma das formas pelas quais as comunidades "deixam de existir", conforme Silva e Souza Filho (2002).

Um outro exemplo de fazer "desaparecer" essas comunidades é desconsiderar a diversidade cultural existente. A conservação de valores, proporcionado por longos períodos de isolamento e pela dificuldade de acesso, construiu na população ribeirinha um caráter mais conservador e tradicional; onde a transmissão cultural foi predominantemente oral, refletindo de forma incisiva na relação do homem com a natureza (SILVA; SOUZA FILHO, 2002).

Ao tratarmos de comunidades ribeirinhas, há uma gama de diferenciações entre elas. Tais diferenciações possuem as mais diversas origens, quer sejam relacionadas aos rios, igarapés, a cor das águas ou às atividades econômicas, de origem étnica, entre outras.

O planejador do Estado homogeneíza, em suas ações, todas as comunidades ao desconhecer essa pluralidade do viver ribeirinho. O resultado manifesta-se sob a forma de ações ineficazes e geralmente desastrosas para a comunidade.

As propostas não podem ser generalizadas para toda a realidade ribeirinha. É necessário discutirmos alternativas que mantenham o ribeirinho em seu lugar com sua cultura e suas relações com o ambiente para que ele não sinta necessidade de se deslocar para meios urbanos onde será marginalizado pela sociedade dominante de consumo.

1.2 O PROCESSO HISTÓRICO NA REGIÃO

Desde o processo de colonização da Amazônia, esta região teve uma economia extrativista por se encontrar gêneros naturais diversos como o cravo, a canela, a castanha, a salsaparilha e o cacau que poderiam ser utilizados pelo mercado estrangeiro. Esta economia extrativista perdura ainda com o começo da exploração da borracha na região que compreende o primeiro e o segundo ciclo da borracha. O primeiro ciclo da borracha tem uma grande importância dentro da economia estrangeira, pois este coloca a Amazônia como uma grande exportadora da goma elástica a nível industrial possibilitado pelo processo de vulcanização. Este se constitui na mistura do enxofre com a borracha a uma temperatura de 140 °C e 150 °C durante algumas horas de forma a deixar a borracha sem adesividade, permitindo que se possa confeccionar alguns artefatos de borracha. Com o contrabando das sementes da Hevea Brasiliense pelo inglês Henry Alexander Wychan, a Amazônia deixa de ser a maior exportadora de borracha e só terá sua economia revigorada com o segundo ciclo da borracha quando se torna novamente a maior exportadora até o final da Segunda Guerra Mundial, porque os seringueiros que haviam sido abandonados com o primeiro ciclo da borracha são reativados pela América do Norte através do acordo de Washington para abastecer os aliados que haviam perdido os seringais da Malásia em função da invasão japonesa naquele país. Para desencadear essa operação em larga escala na Amazônia, fez-se necessário solucionar um grande problema: a falta de mão-de-obra, que foi solucionada com a chegada dos nordestinos, principalmente em decorrência da seca de 1887 no nordeste. Com a chegada dos nordestinos, os seringais amazônicos começaram a produzir em larga escala a borracha, abastecendo o mercado externo através de uma organização de trabalho baseada no sistema de aviamento.

Com o término da guerra e a liberação das áreas de produção de borracha asiática, cessou o interesse dos americanos pela borracha brasileira, colocando a região amazônica numa completa estagnação econômica. O fim da guerra fez com que a Amazônia transitasse entre a solidão e as raras manifestações de caridade fazendo a massa rural regredir para o sistema de trabalho de subsistência e para o regime de troca como foi o caso dos seringais do baixo Madeira que se transformaram em comunidades por volta de 1940 (SILVA, 2000).

O INCRA iniciou um processo discriminatório para regularizar e assentar agricultores na região ainda nos anos 1970-1980. Porém, após 1990 se determinou quais as áreas prioritárias para conservação na bacia Amazônica, de acordo com cinco níveis de prioridades baseadas na síntese da biodiversidade e no critério de endemismo, estabelecidas por especialistas em flora, fauna, meio físico e áreas protegidas. Para Rondônia, foram identificadas quatro regiões prioritárias entre elas a área do rio Madeira-Humaitá. Região muito extensa e extremamente heterogênea possui 121.061 km². Abrange a Estação Ecológica Samuel, a reserva Biológica Federal Jaru, além das Florestas Estaduais de Rendimento Sustentado - FERS Rio Madeira A e B, Rio Machado e a Reserva Extrativista Rio Preto/Jacundá. Nosso trabalho transcorreu nestes dois últimos locais.

Assim, os projetos de assentamento de colonos para a área foram abandonados e as pessoas que foram atraídas para a região ficaram vivendo e trabalhando sem o domínio pleno de suas posses.

O resultado encontrado na pesquisa feita por Silva e Souza Filho (2002) nos ribeirinhos que residiam no Rio Madeira, na extensão entre Porto Velho e a Vila de Calama, no limite com o estado do Amazonas e próximo a nossa área de trabalho, mostrou que 43% das famílias vivem e exploram terras sem nenhum documento e consideram-se proprietários posseiros. Outros 16% compraram suas propriedades de outros, mas não foi assinalado na pesquisa se existia documentos de registro da terra em títulos e documentos, assim como os 19% que disseram ter recebido de herança suas propriedades. Cerca de 85% trabalhavam em terras cedidas por terceiros e 5% não tinham nenhuma terra, vendiam sua força de trabalho aos demais membros da comunidade ou trabalhavam de meeiros na fabricação da farinha. Quanto à procedência dos produtores, observou-se que grande parte dos moradores antigos veio do interior do Amazonas, principalmente das cidades de Humaitá e Manicoré atraídos pela propaganda do INCRA nas décadas de 70-80 onde 43% das famílias tiveram aquela

procedência. Outros 35% eram de comunidades próximas. Tiveram origem na cidade de Porto Velho cerca de 11% das famílias. Em algumas famílias de ocupação mais recente, cerca de 11%, tiveram origem dos estados do Nordeste do Brasil e do Paraná. Não há vestígios de povos indígenas na região. Somente antigos caboclos remanescentes dos antigos seringais. Talvez não haja a presença de índios devido à região ter sido submetida a exploração desde o século XVIII.

1.3 O DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

O diagnóstico de saúde de uma população aponta para a situação presente e, se possível, também para o que aconteceu no passado, representando um quadro de referências para o futuro. Ele serve de base para orientar as ações de saúde, de modo a melhor atender as necessidades da população, em termos de prevenção e controle de doenças e promoção da saúde (GOMES, 2000).

O diagnóstico coletivo baseia-se no conhecimento adequado do que ocorreu no passado, somado ao que se observa no presente, o que possibilita uma perspectiva do futuro. Para isso é formada uma "base de dados", utilizada para gerar indicadores de modo a conhecer a situação, guiar programas, reorientar as atividades dos serviços ou formular prognósticos. Por vezes, o diagnóstico se limita a traçar o perfil de apenas uma doença; outras vezes, o diagnóstico é mais abrangente incluindo outros problemas.

1.3.1 Componentes de um diagnóstico epidemiológico

São muitas as alternativas e os aspectos a considerar em um diagnóstico coletivo, citamos como quatro componentes principais:

a) aspectos ecológicos e sócio-políticos;
b) características demográficas;
c) características do processo saúde-doença;

d) características dos recursos disponíveis.

1.4 INQUÉRITOS DOMICILIARES

Seu uso está justificado quando são necessárias informações que digam respeito a toda população como, por exemplo, perfis demográficos, educacional e socioeconômicos; freqüência de doenças ou situações mórbidas e sociais; índices e coeficientes; condições ambientais e habitacionais.

Um aspecto peculiar dos inquéritos domiciliares é fornecer dados sobre a parte da população que não procura serviços de saúde e/ou não se encontra sob alcance de instituições oficiais (TAKEDA, 2004).

O conhecimento detalhado de um problema é condição necessária para a escolha da melhor maneira de enfrentá-lo. Esta afirmação é válida tanto para iniciar o tratamento de um doente, e para isso fazemos o diagnóstico clínico, como para guiar uma ação ao nível de população, para o qual fazemos o diagnóstico epidemiológico ou coletivo (GOMES, 2000).

Para realizar o perfil nosológico desta população, usamos o diagnóstico coletivo de saúde da área como método epidemiológico aplicando inquéritos domiciliares.

Em nosso estudo, escolhemos abordar o perfil das seguintes doenças na população ribeirinha do Rio Machado: malária, hepatite viral B e C, parasitose intestinal e papiloma-vírus humano. Estas doenças foram priorizadas devido a importância clínica e epidemiológica e também escassez de estudos referentes nas populações ribeirinhas amazônicas.

Os estudos de parasitose intestinal, hepatites e papilomavírus humano, na população ribeirinha do Baixo Rio Machado se encontra descrito em detalhes nos anexos B, C e D, respectivamente.

1.5 MALÁRIA

1.5.1 A Doença

A malária é uma doença parasitária, na maioria dos casos febril e aguda, de elevada prevalência e morbidade, produzida no homem por quatro espécies de plasmódio: *Plasmodium falciparum, P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*, que se transmitem de pessoa a pessoa pela fêmea de mosquitos do gênero *Anopheles.* Em sua forma típica, a malária se caracteriza por acessos febris com intervalos de 24, 48 ou 72 horas, de acordo com a espécie de plasmódio, acompanhado de cefaléia, tremor, rubor e sudorese intensa. Formas leves da infecção e mesmo assintomática podem ocorrer em casos com baixa parasitemia e/ou em pacientes com imunidade, premunição e outros fatores impedientes da doença. Recaídas e cronicidade da malária são freqüentes, particularmente nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, quando não se esgotam as formas tissulares, por falta de tratamentos não erradicantes ou ainda por resistência a drogas como no caso do *P. falciparum*. (SUÁREZ-MUTIS et al., 2005).

A febre se relaciona com a liberaçâo dos merozoítos sanguíneos pelas hemácias rompidas, ao final da esquizogonia do plasmódio. Após os primeiros paroxismos, a febre pode passar a ser intermitente e a anemia costuma estar presente na grande maioria dos doentes. O quadro clínico do paciente pode ser leve, moderado ou grave, na dependência da espécie de parasito, do nível de parasitemia, do tempo de doença e do nível de imunidade adquirida com exposições anteriores. Em geral, as gestantes, as crianças e os primo-infectados estão sujeitos à maior gravidade da doença, conforme Gilles (1993) citado por Fontes (2007).

As infecções por *P. falciparum* são as que podem produzir formas mais graves e letais da doença. As manifestações da malária grave são principalmente anemia intensa, hipoglicemia, icterícia, distúrbios neurológicos, insuficiência renal e pulmonar e distúrbios da coagulação sangüínea. Todas essas complicações são conseqüência de uma série de fenômenos patogênicos que atuam em conjunto e são responsáveis pela evolução complicada da doença e a destruição dos eritrócitos e conseqüente liberação dos parasitos e de seus metabólitos na circulação provocam uma resposta imflamatória no hospedeiro, a qual

determina as alterações morfológicas e funcionais observadas na malária, segundo Braga et al. (2005) citado por Fontes (2007).

Na configuração da estrutura epidemiológica determinante para a produção da malária humana, temos que considerar o agente etiológico, o homem como reservatório e hospedeiro suscetível, o vetor, que são mosquitos do gênero *Anopheles*, e os fatores ambientais moduladores da reprodução desses parasitos em áreas geográficas específicas (SUÁREZ-MUTIS et al., 2007). O mosquito vetor é pertencente à ordem dos dípteros, família *Culicidae*, gênero *Anopheles*. Este gênero compreende mais de 400 espécies. Em nosso país, as principais espécies transmissoras da malária, tanto na zona rural quanto na urbana, são: *Anopheles darlingi, Anopheles aquasalis, Anopheles albitarsis, Anopheles cruzii e Anopheles bellator*. A espécie *Anopheles darlingi* é o principal vetor no Brasil, destacando-se na transmissão da doença pela distribuição geográfica, antropofilia e capacidade de ser infectado por diferentes espécies de plasmódios. Popularmente, os vetores da malária são conhecidos por “carapanã”, “muriçoca”, “sovela”, “mosquito-prego” e “bicuda” (BRASIL, 2005).

A chamada transmissão induzida representa a contaminação por meio de sangue infectado, seja por transfusões de sangue, uso compartilhado de agulhas e/ou seringas contaminadas (SUÁREZ-MUTIS et al., 2007).

Sabe-se que a transmissão da malária não ocorre em temperaturas inferiores a 16 °C ou acima de 33 °C e nem em altitudes superiores a 2.000 metros, condições estas que impossibilitam o desenvolvimento do ciclo esporogônico plasmodial no mosquito. As condições que favorecem o ciclo de transmissão do parasito no inseto vetor são a alta umidade relativa do ar (acima de 60%) e temperaturas entre 20 °C a 30 °C. Nestas condições, a esporogonia ocorre em tempo menor e o mosquito pode sobreviver por muito mais tempo, conforme Gilles et al. (1993) citado por Fontes (2007).

1.5.2 Classificação Epidemiológica da Malária

A classificação epidemiológica da malária foi estabelecida pela Organização Mundial de Saúde em 1950, com base no índice esplênico entre crianças de 2 a 9 anos de idade e na intensidade de transmissão. Desta forma, foram estabelecidos 4 níveis (COURA; MUTIS; ANDRADE, 2006):

a) **malária holoendêmica:** Quando mais do que 75% das crianças de 2 a 9 anos apresentam baço palpável e o index esplênico entre adultos é baixo. Isto ocorre em áreas com intensa e contínua transmissão;
b) **malária hiperendêmica:** quando 50 a 75% das crianças tem esplenomegalia e o índice esplênico entre adultos é alto também. Isto ocorre em áreas com transmissão intensa mas sazonal;
c) **malária mesoendêmica:** quando 10 a 50% das crianças têm baço aumentado. Esta característica se encontra em áreas com grande variação de transmissão;
d) **malária hipoendêmica:** quando menos de 10% das crianças têm o baço palpável. Isto ocorre em áreas com transmissão baixa e irregular.

Embora esta classificação seja válida para algumas áreas, particularmente África e sudeste da Ásia, onde a transmissão ocorre através de todo o ano e os casos não tem imediato acesso ao diagnóstico e tratamento, esta classificação não se aplica bem às áreas endêmicas da América Latina e do Caribe, e particularente ao Brasil, onde a transmissão é freqüentemente sazonal (SUAREZ-MUTIS et al., 2005) e o acesso ao tratamento ou a automedicação é imediato, como ocorre na região amazônica brasileira. Em tais casos, sem o constante estímulo, a resposta imune se torna bloqueada em um estágio inicial e a esplenomegalia não pode ser detectada.

De acordo com MacDonald, citado por Coura, Mutis e Andrade (2006), caracteriza-se a endemicidade da malária de acordo com sua estabilidade, classificando áreas como estáveis ou instáveis, embora exista grande diversidade epidemiológica entre elas. O mais importante elemento estabilizador na população é o desenvolvimento da imunidade. Este autor mostrou que a intensidade e regularidade da transmissão malárica em uma dada área tem influência no grau de imunidade adquirida. Em áreas de malária estável, onde a transmissão é intensa e

constante através dos meses e anos, a população exposta desenvolve alto grau de imunidade. Por outro lado, em áreas de transmissão menos intensa e irregular, variando mensalmente e anualmente a malária tende a ser instável. Assim, em áreas de endemicidade estável, a população está sujeita a milhares de picadas infectantes por homem-ano, mas epidemias são raras por causa da imunidade adquirida. Em áreas de endemicidade instável, por outro lado, os indivíduos estão sujeitos a poucas picadas infectantes, mas estas áreas sofrem epidemias por causa da baixa imunidade na população.

Em áreas estáveis, a malária se apresenta menos grave, oligossintomática ou como infecção assintomática entre adultos, mas como uma infecção menos grave em crianças. Por outro lado, em áreas instáveis, a malária tende a ocorrer em surtos epidêmicos que afetam adultos e crianças, e pode ser grave quando a epidemia é causada por *P. falciparum* (COURA; MUTIS; ANDRADE, 2006).

Existe uma série de situações epidemiológicas em cada país ou região que se deve a vários fatores. Esta realidade deve ser estudada em cada lugar. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu a estratificação epidemiológica de risco classificando as áreas em alto, médio, baixo e sem risco, dependendo do índice parasitário anual (IPA), uma medida malariométrica construída usando como numerador o número de casos de malária num ano determinado e num local específico e como denominador a população em risco desse lugar para o mesmo período de tempo por cada 1.000 pessoas. No Brasil, as áreas são divididas em: alto risco para IPA maior que 50, médio risco para IPA entre 10 e 50, baixo risco para IPA entre 1 e 10 e sem risco para IPA menor que 1.

1.5.3 A malária no contexto mundial e nas Américas

Malária é a doença parasitária mais prevalente e mais séria no planeta, sendo que 40% da população mundial (2,4 bilhões de pessoas) está exposta a esta infecção, especialmente as pessoas que vivem em países tropicais e sub-tropicais. Nestas regiões, aproximadamente 300 a 500 milhões de casos de malária são diagnosticados a cada ano, causando 1,5 a 2,7 milhões de mortes por ano, principalmente entre crianças africanas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

A malária ainda é considerada como a mais importante endemia parasitária no mundo. No início do século XX o número de habitantes expostos ao risco de adquirir a doença compreendia cerca de 77,03% da população mundial, declinando até a década de 1970 para 51,9% e em 1994 para 46,05%, chegando ao presente século com uma tendência a ascensão, já que em 2002 esse percentual atingiu 48,3% da população mundial. Na última década, o número de países com transmissão ativa da doença tem se mostrado estável, com 88 deles em situação de risco, perfazendo uma população exposta de cerca de 3 bilhões de pessoas. Em 2001, aproximadamente 396 milhões de casos de malária foram registrados, com a ocorrência de mais de 80% no continente africano; levando a óbito 1.123 milhão de pessoas, sendo as crianças as principais vítimas (HAY et al., 2004).

Segundo a Organização Panamericana de Saúde (OPAS), cerca de 36% da população do continente americano vive em zonas com risco de transmissão da doença. São 21 países com uma população estimada em 293 milhões de pessoas que vivem em condições ecológicas e socioeconômicas favorecedoras a diversos graus de transmissão da malária. Em 2000 foram notificados nas Américas 1,14 milhão de casos de malária, com 82,5% destes oriundos de apenas cinco países: Brasil com 53,6%, Colômbia com 9,45%, Equador com 8,65%, Peru com 6,12% e Guatemala com 4,68%. O *P. vivax* foi a espécie predominante, com 82,2% dos casos seguido pelo *P. falciparum* e com um percentual mínimo pelo *P. malariae* (WHO, 2002)

Nas Américas e no Caribe, 38% da população (308 milhões de pessoas), em 21 países, vivem em áreas com transmissão de malária, com uma média de 1,3 milhões de casos por ano, sendo que 36% destes casos estão no Brasil (WHO, 2002).

No Brasil, no presente século, a malária vem adquirindo uma certa estabilidade, alcançando ainda, em 2003, o registro de 397.108 casos com predomínio de 80% do *P. vivax* e com mais de 99% autóctones dos estados da Amazônia Legal (SUÁREZ-MUTIS et al., 2007).

Frente ao quadro de extrema gravidade observado na África, a malária em outros continentes parece um problema de menor importância. Entretanto, os mesmos problemas observados na África, como acometimento de grupos sociais desprivilegiados, alta resistência dos parasitas às drogas, e dificuldade de controle vetorial, são observados em outros países

em desenvolvimento. Da malária registrada fora da África, aproximadamente 4% ocorre nas Américas (ALVES et al., 2002).

1.5.4 A malária no Brasil

Desde 1970, quando 52.000 casos de malária foram registrados no Brasil, a malária tem gradualmente aumentado seu número de casos no país. Em 1999, foram notificados 610.000 casos de malária no Brasil, e 99% destes casos ocorreram na região Amazônica (BRASIL, 2003).

Nessa região existem fatores favoráveis à transmissão da doença, como temperatura, umidade, altitude e cobertura vegetal adequada à proliferação do mosquito vetor. Outros fatores, como condições precárias de habitação e de trabalho, tornam mais fácil o contacto deste vetor com os seres humanos. Por outro lado, existem dificuldades de seu controle: ausência total ou parcial de paredes para aplicação de inseticida, acesso difícil a muitas localidades e precariedade dos serviços permanentes de saúde. A mudança da estratégia global de luta contra a malária, por meio do seu controle integrado e não mais de sua erradicação, e a implantação do Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil, com descentralização das ações de assistência e controle de doenças, determinaram alteração nas atividades de combate à malária na Amazônia (TAUIL, 2002).

Considerando a subnotificação e os casos de infecção assintomática (CAMARGO et al., 1999; ALVES et al., 2002), podemos considerar que mais de 600.000 casos ocorrem anualmente no Brasil a cada ano (COURA; MUTIS; ANDRADE, 2006). O número de casos de malária registrados no Brasil diminuiu consideravelmente em 2001 e 2002, talvez devido a intensificação dos programas de controle no Brasil, mas um progressivo aumento na transmissão de malária se estabeleceu no país a partir de 2003. Em 2004, aproximadamente 500.000 casos de malária forma diagnosticados e tratados no Brasil, sendo 99% procedentes da Região Amazônica, onde fatores de natureza biológica, ecológica, social e econômica favorecem a incidência da doença e dificultam seu controle. A incidência de *P. vivax* tem sido alta, equivalendo a mais de 85% desse total de casos. O padrão de endemicidade no país é

heterogêneo, predominando áreas de alto risco nos Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Rondônia (FONTES, 2007).

Na figura 1 observamos o número de casos notificados no Brasil de 1960 até 2007.

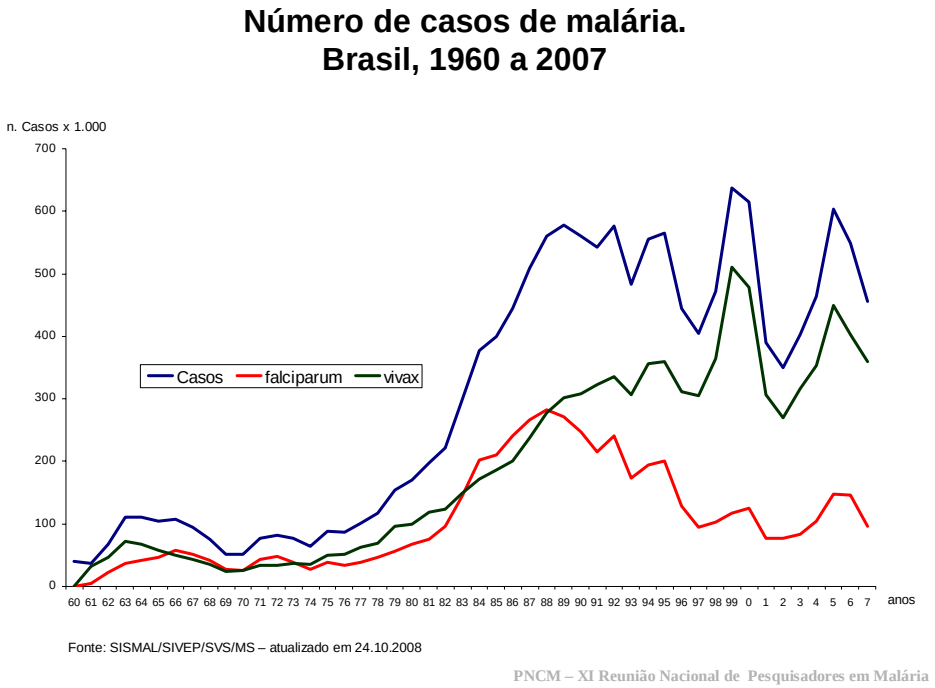


Figura 1. Numero de casos de malária no Brasil, 1960 a 2007.
Fonte: Brasil (2007).

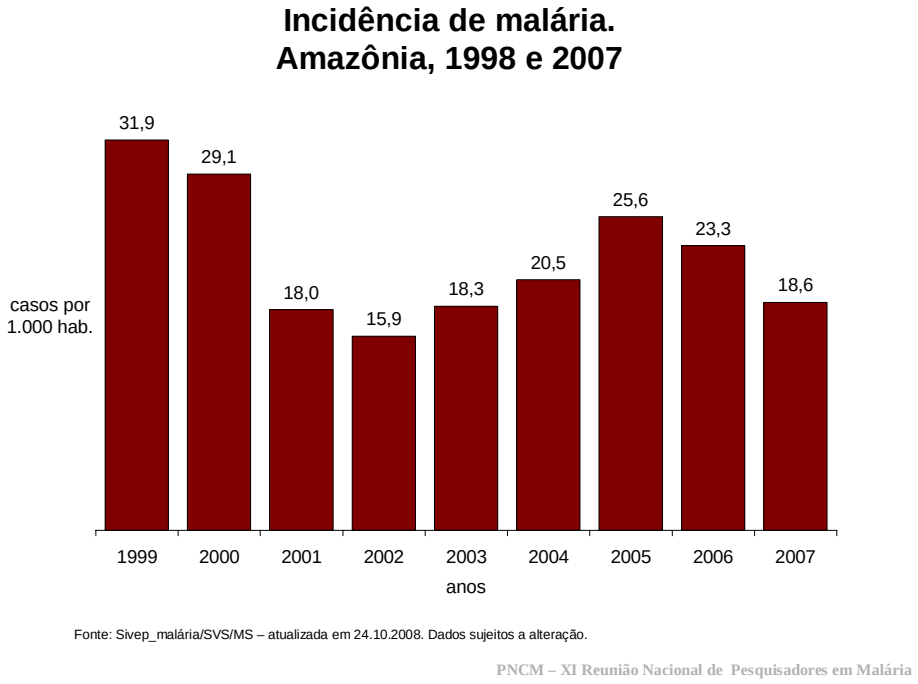


Figura 2. Incidência de malária na Amazônia, 1988 e 2007.
Fonte: Brasil (2007).

Quando da avaliação individual de cada estado da região amazônica nos anos de 1999 e 2005, observa-se uma redução no IPA em seis dos nove estados. As reduções mais significativas foram observadas no Maranhão (81,2%), Tocantins (66,5%) e Pará (56,6%) – o que representa uma queda de 31,9 para 25,2 do IPA da região no mesmo período (21,0%). Sabe-se que ainda são necessários esforços conjugados entre o Ministério da Sáude (MS), estados e municípios para melhorar esses indicadores, especialmente porque os estados do Acre, Rondônia e Amazonas não obtiveram os mesmos resultados positivos, apresentando um acréscimo no IPA, no período citado, de 89,1%, 57,7% e 5,0%, respectivamente (BRASIL, 2007).

A morbidade pela malária no Brasil tem sofrido significativas variações. Com o surgimento da resistência do *P. falciparum* à cloroquina, em meados de 1960, a morbidade pela malária aumentou, como visto pela razão entre *P. falciparum* e *P. vivax* que alcançou mais do que 50% entre 1984 e 1988. Em 1989, esta proporção começou a diminuir e caiu abaixo de 20% entre 1999 e 2003, depois disso começou a aumentar novamente. Este recente aumento do *P. falciparum* em relação ao *P. vivax* tem levado a um recente aumento na morbidade devido esta doença aqui no Brasil. A extensão da morbidade malarial é uma função da imunidade do hospedeiro, das cepas de parasitas circulando na localidade, da resistência destas cepas ao tratamento, do grau de instabilidade na área, o tipo e freqüência do controle vetorial e do quão cedo o tratamento e cuidados médicos é fornecido pelos serviços de saúde (COURA; MUTIS; ANDRADE, 2006).

Estudos prévios sobre a malária no Brasil comprovam que existem diferentes perfis epidemiológicos que variam conforme a localidade da endemia, sendo que medidas de controle baseadas em modelos para o Continente Africano, áreas urbanas brasileiras e países europeus, no passado, tendem a se mostrar ineficientes. Desta forma, torna-se necessário a discriminação caso a caso destes perfis a fim de introduzir ou reforçar medidas de controle específicas locais associadas a medidas de controle gerais de saneamento, alcançando melhor eficácia de prevenção, acompanhamento e tratamento da malária brasileira (ALVES et al., 2002).

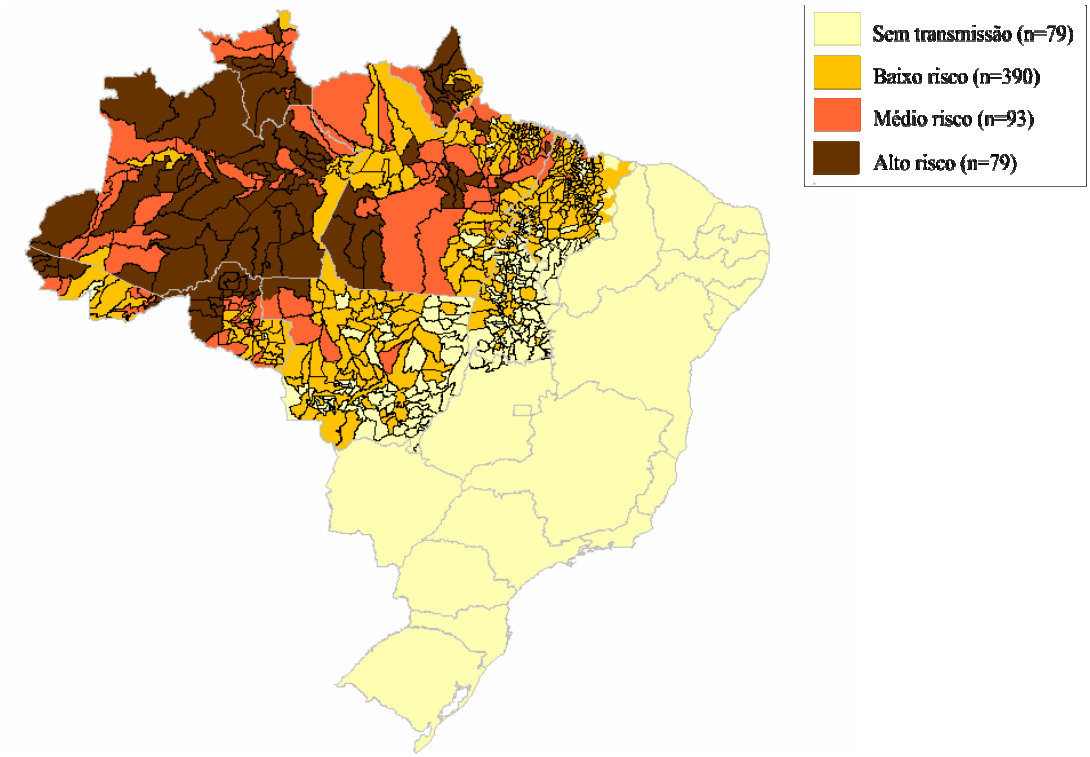


Figura 3. Mapa do Risco de Transmissão (IPA) da Malária. Brasil, 2007.
Fonte: Fonte: Brasil (2007).

1.5.5 A Malária em Rondônia

Rondônia registrou 112.165 casos de malária em 2005, correspondendo a 19% do total de casos da Amazônia Legal. Em comparação a 2004, o estado apresentou aumento de 9,8%. Em 2005, 12 dos 52 municípios existentes no estado contribuíam com 80% dos casos de malária na Amazônia Legal. Comparando com o ano anterior, seis desses municípios apresentaram aumento no número de casos, enquanto seis registraram redução (BRASIL, 2006).

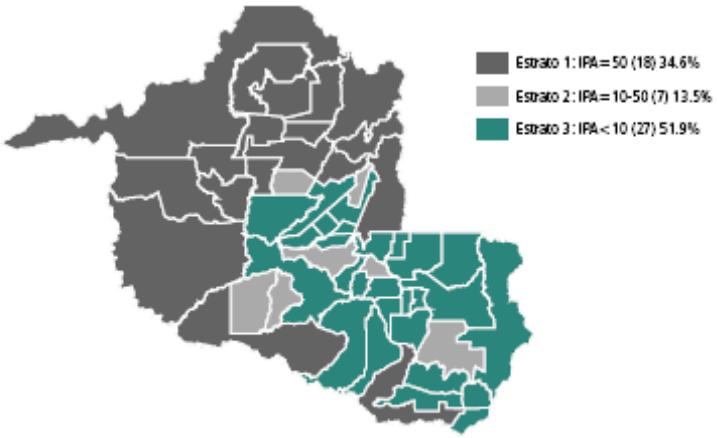
Municípios*	Total de casos		Variação de casos %	Proporção de casos de *P. falciparum* 2005	Variação de casos de *P. falciparum* %	Total de internações 2005	Variação de internações %
	2004	2005					
Porto Velho	34.489	45.050	30,6	21,2	0,1	682	25,8
Machadinho D'Oeste	9.648	9.039	-6,3	26,7	-21,9	114	-44,4
Candeias do Jamari	6.858	7.891	15,1	17,6	-28,1	45	18,4
Nova Mamoré	6.779	7.309	7,8	27,0	13,8	197	47,0
Buritis	7.436	6.642	-10,7	21,6	-32,9	33	-50,7
Itapuã do Oeste	6.661	5.444	-18,3	27,0	-35,1	11	-15,4
Ariquemes	4.320	4.888	13,1	26,6	-2,1	310	-4,3
Cujubim	4.988	4.880	-2,2	26,0	-17,6	20	25,0
Alto Paraíso	5.356	4.468	-16,6	32,9	-20,3	10	-50,0
Campo Novo de Rondônia	4.660	4.286	-8,0	20,2	-22,9	27	-28,9
Guajará-Mirim	1.730	2.782	60,8	18,1	7,7	80	40,4
Ji-Paraná	184	241	31,0	26,1	50,0	51	10,9
Total	93.109	102.920	10,5	23,0	-12,4	1.580	5,3
Rondônia	102.117	112.165	9,8	23,5	-10,8	2.540	2,7
Amazônia Legal	452.976	583.347	28,8	25,4	40,1	12.086	6,7

*Municípios que contribuem com 80% dos casos de malária da Amazônia Legal, baseados nos relatórios por local provável de infecção e por local de notificação

Fonte: Sivep-Malária em 6/2/2006, por local provável de infecção, e SIH-SUS em 13/2/2006, por local de residência, dados sujeitos a alteração

Figura 4. Distribuição de casos autóctones e internações por malária, proporção de malária por *P. falciparum* e percentual de variação no número total de casos, no número de casos por *P. falciparum* e internações. Rondônia, 2004 e 2005.
Fonte: Brasil (2006).

Além desses 12 municípios, Monte Negro, Vale do Anari, Theobroma, Costa Marques, Rio Crespo e Pimenteiras do Oeste merecem destaque por apresentarem alta incidência de malária (IPA ≥ 50/1 mil hab.) (BRASIL, 2006).



Fonte: Sivep-Malária em 6/2/2006, dados sujeitos a alteração

Figura 5. Estratificação dos municípios. Rondônia, 2005.
Fonte: Brasil (2006).

Houve diminuição no número de casos de malária por *P. falciparum* no estado (-10,8%) e nos municípios prioritários (-12,4%), enquanto na Amazônia Legal houve aumento de 40,1%. A proporção de *P. falciparum* no estado passou de 28,9% em 2004, para 23,5% em 2005. O número de internações apresentou aumento em 5,3% nos municípios prioritários e 2,7% no estado, e na Amazônia Legal houve aumento de 6,7% (BRASIL, 2006).

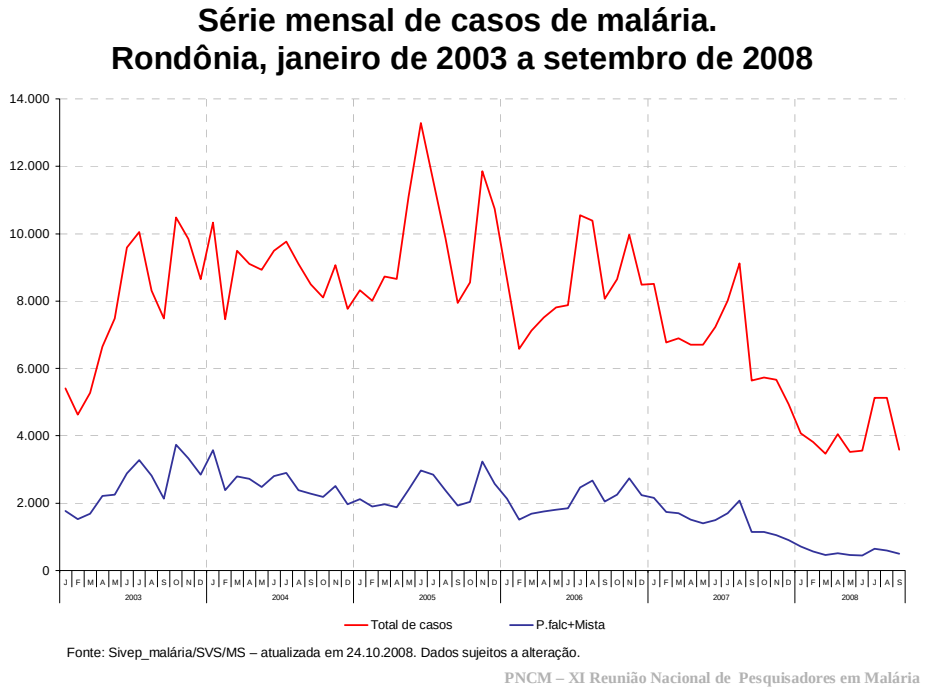


Figura 6. Série mensal de casos de malária em Rondônia, janeiro de 2003 a setembro de 2008
Fonte: Brasil (2006).

Conforme Klein et al. (1990), Sawyer (1992), Deane et al. (1948), Rachou (1958) e Tadei et al. (1982), citados por Camargo et al. (1996) o vetor predominante em Rondônia é o *Anopheles darlingi*, que tem registrado hábitos alimentares peridomiciliares comprovados por estudos deste mesmo autor no Estado.

1.6 INFECÇÕES ASSINTOMÁTICAS

Devemos salientar a importância da imunidade naturalmente adquirida no difícil controle da malária. Além de fatores genéticos do hospedeiro humano que conferem resistência contra a infecção malárica, a imunidade adquirida é obtida ao longo do tempo de exposição, e protege parcialmente contra ataques maláricos (JEFFERY, 1966; COLLINS e

JEFFERY, 1999a, 1999b, 1999c). Inicialmente há o surgimento da imunidade clínica e depois da imunidade parcial contra os parasitas. Imunidade esta, não duradoura e cepa e espécie-específica. Tal situação leva ao surgimento de pessoas, geralmente aos os 5 ou 7 anos de idade que são portadores sãos do parasita e funcionam como fontes de infecção permanente para outras pessoas não imunes, dificultando o controle da endemia.

Robert Koch (1900) citado por Harrison (1978), citado por Coura, Mutis e Andrade (2006), foi o primeiro pesquisador a descrever infecções maláricas assintomáticas, quando estudou pacientes em Papua Nova Guiné em 1900, desde então muitas questões permanecem para serem resolvidas.

De acordo com Duren (1951), Trape (1985), McGregor (1960) e Snow (1992), citados por Trape et al. (1994), a despeito da acurácia e reprodutibilidade dos métodos usados para medir a morbidade e mortalidade por malária, estudos epidemiológicos nas regiões de alta endemicidade malárica tem mostrado consistentemente que a severidade da doença diminui consideravelmente depois dos primeiros cinco anos de vida. As mortes por malária ocorrem principalmente entre crianças e jovens e se observa diminuição marcada na incidência de ataques maláricos clínicos após os 5 anos de idade. Em contraste, a prevalência e a incidência parasitária permanecem altas através da adolescência e somente diminuem lentamente nos adultos conforme Bruce-Chawatt, (1963) e Molineaux (1980) citados por Trape et al. (1994). Esta imunidade protetora não estéril tem sido progressivamente reconhecida desde os estudos históricos de Christophers (1920) citado por Trape et al. (1994).

Nas áreas hiperendêmicas e holoendêmicas, nas quais as pessoas sofrem picadas infectantes, freqüentemente observamos a aquisição progressiva de imunidade levando a diminuição do número de casos sintomáticos de malária com o aumento da idade, conforme já observado por Rogier e Trape (1993) em um estudo conduzido no leste africano numa vila chamada Dielmo no Senegal. Nesta localidade, onde a malária por *P. falciparum* é holoendêmica com transmissão intensa e perenial, uma coorte de 94 crianças foi estudada por 4 meses de junho a setembro de 1990. A análise da distribuição do número de ataques maláricos em crianças individualmente sugeriu que todas as crianças pertencentes à mesma faixa etária tinham o nível de proteção similar ou até mesmo igual. Conforme Porte et al., (1980) citado por Rogier e Trape (1993), as diferenças entre o número de ataques maláricos observados em crianças jovens e sua exposição presumida parece ser muito mais elevada para

ser explicada somente pelo fato das crianças estarem menos expostas do que adultos às picadas de mosquitos ou pela falência de alguns mosquitos infectados transmitirem esporozoítos, conforme Rosenberg (1990) citado por Rogier e Trape (1993). Portanto, neste estudo, mesmo em crianças mais jovens, provavelmente somente uma pequena proporção de pacientes infectados foram acompanhados por sintomas clínicos. Depois do primeiro ano, anticorpos maternos não possuem um papel importante na proteção aos ataques maláricos, o que sugere que outros mecanismos protetivos aparecem a partir da primeira reinfecção, o que é independente da exposição cumulativa a uma grande variedade de antígenos maláricos. Neste estudo, se observou que as diferenças entre o número de casos sintomáticos entre crianças jovens e sua exposição presumida sugerem que os mecanismos protetivos tornam-se efetivos desde a primeira reinfecção em diante, e são independentes da exposição cumulativa a uma grande variedade de antígenos.

Nas áreas hiperendêmicas e holoendêmicas, o maior número de casos de malária e de casos mais graves ocorrem entre crianças de 6 meses até 2 anos de idade que fazem infecções que evoluem com alta parasitemia, morbidade e mortalidade. A imunidade clínica começa a aparecer com o aumento da idade entre 1 e 4 anos e entre 5 e 9 anos, dependendo do nível de endemicidade na localidade, como mostrou o estudo de Bloland et al. (1999) realizado no Kenya onde 1848 crianças menores de 15 anos de idade foram monitorizadas prospectivamente por uma média de 236 dias. Durante este período, 12035 hemoscopias foram realizadas para diagnóstico de malária e somente 345 foram encontradas negativas. A prevalência de parasitas de todas as espécies diminuiu com a idade e ocorreram diminuições significativas na prevalência de infecções de alta densidade por *P. falciparum* e na malária sintomática. Crianças com menos de 1 ano de idade demonstraram 55% dos casos de anemia detectados e a anemia foi associada com alta densidade parasitária em crianças menores de 10 anos de idade, demonstrando a relação entre alta densidade parasitária e estas manifestações da malária sintomática.

No estudo longitudinal de Trape et al. (1994) realizado em Dielmo, no Senegal (uma região holoendêmica para malária), que iniciou em 1990 com uma população de 247 senegaleses investigando a relação parasita-hospedeiro e os mecanismos de imunidade à malária, dados longitudinais individuais revelaram que 98,6% dos moradores eram portadores de trofozoítas de *P. falciparum* pelo menos uma vez durante o período do estudo de 4 meses de monitorização clínica e parasitológica. Infecções por *P. malariae* e *P. ovale* foram

observadas em indivíduos de todos os grupos e as prevalências cumulativas alcançaram 50,5% e 40,3% respectivamente, a incidência de ataques maláricos era 40 vezes maior em crianças de 0-4 anos de idade do que em adultos maiores de 40 anos. Estes dados sugeriram que a imunidade estéril e a proteção clínica nunca são completamente alcançadas em humanos expostos continuadamente, desde o nascimento, à transmissão intensa de parasitas.

Conforme Daubersies et al. (1996) e Day et al. (1985), citados por Owusu-Agyei et al. (2001) as duas formas de imunidade descritas são: 1) imunidade anti-doença que permite o homem carregar carga parasitária sem ter sintomas; e 2) imunidade anti-parasitária que é responsável por uma redução marcada da densidade parasitária depois de uma certa idade. As hemoscopias para malária provenientes de adultos moradores de áreas altamente endêmicas são comumente positivas desconsiderando o contexto clínico. Critérios apropriados para decidir quando adultos devem receber tratamento para malária foram pouco discutidos e têm sido sugerido que o tratamento deve ser baseado na densidade parasitária, condição febril, história de sintomas ou uma associação de história de sintomas e parasitemia, conforme Trape et al. (1994), Hoffman et al. (1987), Rogier et al. (1996), Rougemount et al. (1991), Smith et al. (1999) e Basset (1991), citados por Owusu-Agyei et al. (2001).

Owusu-Agyei et al. (2001) realizou um estudo com adultos residentes de uma região de malária holoendêmica na África, noroeste do Ghana, onde 197 homens e mulheres sofreram terapia curativa para qualquer infecção malárica pré-existente no começo da estação de alta transmissão (estação seca). Eles foram monitorados para primeira parasitemia e primeiro episódio clínico de infecção por *Plasmodium falciparum* por um período de 20 semanas (maio-outubro de 1996). A incidência de infecção, densidade parasitária e a freqüência dos sintomas foram comparadas em homens e mulheres. Este estudo mostrou que os adultos experimentaram uma incidência sazonal de infecção por *P. falciparum* que era comparável com a das crianças que viviam nas mesmas comunidades. Dentro das 20 semanas da estações seca, todos os adultos tinham manifestado uma infecção primária patente e muitos reportaram sintomas que coincidiam com a parasitemia. Os adultos tiveram predominantemente infecções com baixa densidade parasitária, caracterizadas por doença clínica leve. Os resultados sugerem que a imunidade naturalmente adquirida não fornece, para estes adultos, defesa significativa contra rápidas re-infecções.

Conforme Gupta e Day (1994), embora exista uma grande variação nos modelos de prevalência-idade de área para área de estudo, existe uma forte tendência neste perfil de idade. Está claro que as taxas parasitárias tendem a permanecer em elevados níveis durante a infância, atingindo freqüentemente o pico entre os 5 a 9 anos de idade. Em muitas áreas hiperendêmicas, as taxas parasitárias caem depois dos 15 anos de idade e podem se manter em baixos níveis na idade adulta. A incidência de infecção, ou a taxa em que novas infecções ocorrem é difícil de medir, e não é possível identificar uma nova infecção em um individuo já parasitado. Conforme Kemp et al. (1990) citado por Gupta e Day (1994), o alto grau de polimorfismos nos parasitas da malária e o recente desenvolvimento de métodos moleculares para a detecção destes polimorfismos pode nos capacitar para distinguir uma nova infecção, e assim, nos permitir quantificar a incidência de infecção em populações atingidas. A doença malárica, por sua vez, é mais comumente registrada em termos de incidência, já que manifestações clínicas são mais prontamente observadas e os episódios de doença raramente se sobrepõem. A controvérsia entre os modelos de infecção por idade e doença sugere que a habilidade para controlar a doença se desenvolve mais cedo do que a habilidade para prevenir a infecção. Embora uma multiplicidade de respostas imunes do hospedeiro seja estimulada pelo parasita da malária, nenhuma destas parece ser imediatamente efetiva na prevenção de mais infecções ou doenças. A imunidade naturalmente adquirida para malária é alcançada através de repetidas exposições ao parasita, em ambos os casos de infeção e doença, como evidenciado por modelos estratificados por idade. Conforme Day e Marsh (1990), citado por Gupta e Day (1993), o longo período requerido para o desenvolvimento da imunidade à malária pode ser interpretado como uma conseqüência da diversidade antigênica do parasita, onde a exposição a um repertório de cepas circulantes é necessária para a proteção completa, assumindo que a imunidade é essencialmente cepa-específica. Entretanto, a dependência da exposição pode ser um atributo para o acúmulo lento de respostas imunes contra determinantes pobremente imunogênicos. Usando modelos matemáticos para estruturar as informações imunológicas e epidemiológicas, Gupta e Day (1993) forneceram uma teoria coerente para a compreensão dos componentes da imunidade naturalmente adquirida para malária, demonstrando que os modelos observados de idade-prevalência para proteção contra infecção são melhor explicados pela proposta do acúmulo de resposta imune até um certo limiar contra um determinante conservado, enquanto imunidade “anti-doença” se desenvolve mais linearmente com a exposição. Isto é compatível com a conjectura de que a população parasitária é estruturada em muitas cepas independentemente transmitidas, que cada uma confere algum grau de imunidade “anti-doença”, mas não proteje contra mais infecções pela

mesma cepa. Em resumo, os modelos matemáticos realizados por Gupta e Day (1993) demonstraram que os modelos de idade-prevalência podem ser explicados por uma variedade de mecanismos e os autores acreditam que a combinação mais satisfatória de relações são estas: (1) a imunidade "anti-infecção" se desenvolve não-linearmente em associação com resposta imune através de determinantes conservados 2) a imunidade "anti-doença" é cepa-específica 3) a "taxa de recuperação" declina com a idade, como previamente visto, com cepas parasitárias que permanecem em níveis subclínicos por longos períodos de tempo. Juntas, estas suposições fornecem um quadro coerente para a epidemiologia da malária por *P. falciparum*, que é consistente com o conhecimento imunológico atual, e pode ser usado para guiar futuras pesquisas nesta área (GUPTA; DAY, 1993).

A incidência de ataque malárico tende a diminuir uniformemente com a idade, tanto que crianças de 5 a 9 anos de idade experimentam significativamente menos episódios maláricos do que na faixa etária de 1-4 anos de idade, e as crianças que são afetadas pela doença também tem, em muitos casos, infecções assintomáticas (GREENWOOD, 1987; TRAPE et al., 1994). Crianças com menos de 6 meses de idade são freqüentemente protegidas pelas imunoglobulinas de suas mães e pela hemoglobina fetal, confome Edozien et al. (1962), Macgregor (1964) e Pasvol et al. (1997) citado por Coura, Mutis e Andrade (2006). Nestas crianças, não somente existe a presença de infecções assintomáticas, mas também existe densidade parasitária reduzida sugerindo o começo da imunidade parasitária. A partir da idade de 14 a 15 anos, uma diminuição marcada da parasitemia é observada, o que algumas vezes alcança níveis indetectáveis na hemoscopia. Entretanto, usando técnicas modernas de biologia molecular, tem sido demonstrado que a taxa de infecção tem permanecido elevada até a idade adulta, como demonstrou o estudo de Bottius et al. (1996) que estudou o estado parasitológico usando a reação em cadeia da polimerase (PCR), uma técnica que é de 100 a 1000 vezes mais sensível do que a microscopia, em uma série de amostras de Dielmo, uma área holoendêmica do Senegal. Neste estudo, dois terços dos indivíduos com hemoscopia negativa eram portadores de níveis subpatentes de *Plasmodium falciparum*, sugerindo que mais de 90% da população exposta, em algum tempo; isto é, em um corte transversal, estava cronicamente infectada. Isto também significa que o alcance da carga parasitária suportada pelos humanos com vários graus de exposição é marcadamente extenso; provavelmente refletindo o grande alcance da efetividade dos mecanismos de defesa contra os parasitas da malária, sendo que nenhum dos quais é inteiramente eficiente.

O tempo gasto para uma criança adquirir a imunidade clínica depende da intensidade da transmissão e da diversidade genética da população de parasitas na área, conforme Snow (1998) citado por Coura, Mutis e Andrade (2006).

A maturidade do sistema imune também parece ser importante, já que crianças que tem migrado da área não-endêmica para área endêmica desenvolvem proteção mais lentamente do que adultos, conforme relatado por Baird et al. (1991) que conduziu um estudo em uma comunidade no nordeste de Irian Jaya, na Indonésia; onde metade dos moradores eram naturais da província e a outra metade eram imigrantes de áreas de Java, onde há pouca ou nenhuma transmissão de malária. Este estudo demonstrou que a imunidade protetora adquirida contra *P. falciparum* não era um produto cumulativo de muitos anos de intensa exposição ao antígeno. Pelo contrário, o completo benefício da proteção parece se desenvolver rapidamente. O grau de proteção foi controlado pelas variáveis de exposição recente e idade, independente da história de exposição crônica intensa.

Então, pessoas infectadas repetidamente pelo *Plasmodium* desenvolvem um grau de imunidade adquirida naturalmente que proteje contra a doença clínica, mas não contra a infecção, conforme Baird et al. (1995) e uma vacina que lograsse este tipo de imunidade, suprimindo os parasitos do estágio sanguíneo e prevenindo a doença seria adequada para aqueles expostos à alta transmissão e poderia ser usada só ou como complemento de vacinas de estágio pré-eritrocítico, conforme Richie e Saul (2002), citados por Suárez-Mutis et al. (2007).

1.7 DIVERSIDADE GENÉTICA DO *PLASMODIUM*

O conhecimento detalhado das interações entre o hospedeiro humano e os parasitas infectantes (*Plasmodium*) é um pré-requisito para a compreensão dos mecanismos da patogênese e aquisição da imunidade contra infecções maláricas (FARNET et al., 1997). Já foi evidenciado que diferentes cepas parasitárias variam nas suas propriedades clínicas e patológicas e também na sua susceptibilidade a várias drogas. O repertório da diversidade pode variar entre e dentro das áreas geográficas e através dos anos, conforme Creasey et al. (1990) e Conway et al. (1991) citado por Farnet et al. (1997). Pouco, entretanto, se conhece

sobre a dinâmica diária de diferentes populações parasitárias da malária. Conforme Ranford-Cartwright et al. (1993) e Contamin et al. (1995) citados por Farnet et al. (1997), o desenvolvimento de testes de genotipagem baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) capacitou estudos de diversidade genética para análise de subpopulações parasitárias.

No estudo de Farnet et al. (1997), a dinâmica diária de subpopulações parasitárias foi investigada em crianças assintomáticas em uma região rural da Tanzânia. Amostras de sangue foram coletadas por 14 dias consecutivos em 20 crianças. A densidade parasitária foi detectada pela microscopia e a genotipagem do *P. falciparum* foi realizada usando a reação de nested PCR. Em oito crianças portadoras do *P. falciparum* através do estudo, as infecções encontradas foram altamente complexas com mudanças diárias na densidade parasitária e no modelo genotípico. A periodicidade, de 48 horas, nas flutuações parasitárias sugere que infecções por *P. falciparum* consistem de subpopulações parasitárias sincronizadas. Estes achados têm implicações biológicas e epidemiológicas, já que uma única amostra sanguínea pode somente parcialmente refletir a completa população parasitária do indivíduo infectado.

Muitos estudos têm documentado a presença de grandes números de clones de parasitas co-infectando o mesmo indivíduo, sendo que em áreas holoendêmicas existe uma relação inversa entre múltiplas infecções e malária clínica , conforme Contamin et al. (1996), Al Yaman et al. (1997), Beck et al. (1997) e Babiker et al. (1999), citados por Coura, Mutis e Andrade (2006). Conforme Mcgregor (1986), citado por Franks et al. (2001) a idade em que imunidade antimalárica funcional é alcançada depende principalmente dos níveis de endemicidade malárica, com a imunidade se desenvolvendo mais rapidamente em áreas de alta transmissão. Uma explicação para o lento desenvolvimento da imunidade é que isto pode ser variante-específico, isto é, infecções com diferentes variantes parasitários (genótipos) podem ser necessárias para o desenvolvimento da resposta imune contra muitas variantes de parasitas circulando na população. Daubersies et al. (1996) citado por Franks et al. (2001) demonstrou a persistência de portadores assintomáticos de infecções com um único genótipo por 2 meses. Babiker et al. (1998), citado por Franks et al. (2001), acompanhou 75 indivíduos vivendo em uma área de transmissão malárica altamente sazonal no leste do Sudão por um período de 15 meses e mostrou que infecções assintomáticas poderiam persistir por mais de 12 meses na ausência de transmissão. Estas infecções persistentes eram tipicamente vistas em crianças e jovens melhor do que em adultos. Usualmente, a infecção persistente poderia ser suplantada por um novo genótipo quando a transmissão iniciasse novamente durante a estação

chuvosa seguinte. Conforme Daubersies et al. (1996), Farnet et al. (1997) e Smith et al. (1999), citados por Franks et al. (2001), em condições de transmissão malárica contínua, estudos de curto espaço de tempo com amostragem freqüente de toda população tem registrado rápida mudança de clones parasitários. Em um estudo longitudinal realizado por Contamin et al. (1996), citado por Farnet et al. (1997) novos e diferentes alelos foram detectados durante episódios clínicos de malária, demonstrando que uma nova cepa parasitária deve ser a causa dos episódios clínicos de malária em indivíduos semi-imunes.

Algumas cepas parasitárias podem causar sintomas mais graves do que outras. Este achado, entretanto, tem um forte componente geográfico já, que diferentes genótipos parasitários foram associados a gravidade de doença em diferentes regiões, conforme Engelbrecht et al. (1995) e Kun et al. (1998), citado por Kun et al. (2002).

Kun et al. (2002) investigou o genótipo de *P. falciparum* em uma coorte de portadores assintomáticos que foram seguidos até se tornarem sintomáticos a fim de conhecer melhor se a população parasitária muda dentro do hospedeiro quando este passa de um indivíduo assintomático para sintomático. Hemoscopia e coleta de sangue em papel filtro foram coletadas diariamente em 10 crianças de Lambarené, no Gabon, uma região de floresta tropical onde a malária é hiperendêmica. Os genótipos parasitários presente nos sucessivos dias foram determinados por reação em cadeia da polimerase usando para tipagem a região polimórfica do antígeno de superfície 2 do merozoíta. Os mesmos genótipos parasitários persistiram em 8 das 10 crianças e as densidades parasitárias eram baixas durante a fase assintomática indicando a inibição do crescimento e proliferação parasitária. O aparecimento de sintomas foi associado com aumento na parasitemia e o surgimento de novos genótipos parasitários. Os resultados sugeriram que os parasitas que causavam um episódio clínico são aqueles contra os quais uma criança não tem ainda formado uma resposta imune protetora eficiente.

Entretanto, embora tenhamos décadas de pesquisa, o conceito sobre como a parasitemia resulta em doença está incompleto e ainda não temos claramente definido como o mecanismo de imunidade naturalmente adquirida para malária surge. Quando sabemos que seres humanos em área endêmica tornam-se imunes à malária ficamos encorajados na idéia de desenvolver vacinas protetoras. Entretanto, a imunidade natural é relativamente ineficiente, ocorrendo ao custo de substancial mortalidade infantil e as vacinas atuais são somente

parcialmente protetoras. Compreender potenciais alvos e mecanismos da imunidade protetora é importante no desenvolvimento e avaliação de futuras vacinas. Alguns dos problemas em identificar tais alvos e mecanismos em humanos naturalmente expostos à malária pode vir das questões conceituais e metodológicas relacionadas em definir quem é a população susceptível, em definir a resposta imune em um único período de tempo e questões relacionadas ao polimorfismo antigênico, assim como a dificuldade de muitas abordagens atuais para examinar aspectos funcionais da resposta imune (MARSH; KINYANJUI, 2006).

Para compreender a dinâmica da relação parasita – hospedeiro, seu relacionamento com a transmissão e para identificar aqueles fatores que contribuem para o desenvolvimento da doença, é essencial realizar estudos com coortes bem definidas cujos parâmetros de malária são registrados longitudinalmente (TRAPE et al., 1994).

1.8 PCR X HEMOSCOPIA

O diagnóstico laboratorial e rotineiro da malária é realizado pelo método da gota espessa, consistindo na identificação dos parasitos no sangue periférico, por meio de microscopia óptica. O aperfeiçoamento da microscopia e a introdução de corantes biológicos que permitem identificar a espécie, estágio de desenvolvimento, viabilidade e quantificação dos parasitos tornou o método simples, rápido e satisfatório quanto à sua sensibilidade e especificidade (BRASIL, 2001). Entretanto, discute-se a baixa sensibilidade da técnica para o diagnóstico de baixas parasitemias (comuns em portadores assintomáticos de plasmódio) e de infecções mistas, conforme Lorenzetti et al. (2008) citado por Costa et al. (2008).

O uso da microscopia para detectar os parasitas da malária em esfregaços sangüíneos corados foi introduzido logo após a descoberta destes organismos em 1880, e permanece ainda hoje como o meio mais prático e confiável pelos quais os parasitas são detectados nas amostras sangüíneas. As vantagens da microscopia são numerosas. O método é barato e pode ser usado em praticamente qualquer condição de campo e, com experiência, a detecção e identificação dos parasitas pode ser alcançada com alto grau de acurácia. A desvantagem do método é a quantidade de tempo requerido para detectar os parasitas em pessoas com baixo nível de parasitemia, ou que são infectadas com 2 ou mais espécies de *Plasmodium*, em

particular quando uma espécie predomina numericamente. Embora a microscopia seja adequada para os propósitos de muitas pesquisas epidemiológicas, o número de amostras envolvidas, assim como o desejo por maior sensibilidade na detecção e identificação parasitária, têm estimulado os pesquisadores a procurar métodos alternativos (SNOUNOU, 1996). Protocolos baseados na detecção de anticorpos circulantes dos parasitas, de seus antígenos no sangue humano ou no mosquito vetor têm sido sucessivamente criados e melhorados desde a década de 50, conforme Beier et al. (1987) e Taylor et al. (1993) citados por Snounou (1996). A explosão das técnicas de biologia molecular culminou com o uso da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) conforme Saiki et al. (1988) citado por Snounou (1996) que representa potencialmente o método mais sensível para a detecção de uma seqüência particular de DNA em uma amostra, já que teoricamente somente uma cópia da seqüência alvo necessita estar presente na amostra para a amplificação ter êxito. O protocolo de Snounou (1996) para PCR demonstra a presença, em qualquer amostra, de menos do que 10 parasitas das quatro espécies de malária humana: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (SNOUNOU et al., 1993b). A detecção do produto amplificado é alcançada somente através da coloração com o brometo de etídio, seguindo eletroforese em gel de agarose. O alvo da amplificação da PCR é o gene que codifica para a subunidade ribossomal RNA, ssRNA. Estes genes consistem de regiões cuja seqüência é conservada entre diferentes espécies, interespaçadas com regiões contendo seqüências específicas de cada uma das espécies, conforme McCutchan (1988) e Guman (1991) citado por Snounou (1996). Estas diferenças tem sido exploradas para desenhar primers oligonucleotídeos gênero e espécie-específicos apropriados para a análise de PCR. O uso da chamada nested-PCR têm sido adotada para obter o nível de sensibilidade desejado. Conseqüentemente 5 pares de primers oligonucleotídeos são necessários: 1 gênero-específico e 4 espécies-específicos (SNOUNOU, 1996). Brevemente, em uma reação inicial de amplificação (Nest 1), o DNA purificado de uma amostra a ser analisada, é usada como uma template para a amplificação de uma grande porção do gene plasmodial ssrRNA, devendo a amostra ter pelo menos um parasita. Os pares de primers oligonucleotídeos usados nesta reação são genes-específicos e podem, portanto, amplificar o alvo das 4 espécies. Por outro lado, para determinar qual espécie parasitária está presente na amostra, quatro reações separadas de amplificação (Nest 2) devem ser realizadas para cada uma das quatro espécies. A base para estas reações é uma pequena porção da amplificação do produto obtido na reação da Nest1. Assim, para estabelecer a presença ou ausência das quatro espécies de malária humana em uma amostra, cinco reações de

amplificação separadas de PCR são necessárias. Entretanto, somente uma alíquota do DNA genômico preparada da amostra é necessária (SNOUNOU, 1996).

Desde 1990, vários estudos têm ressaltado a aplicação da PCR no diagnóstico molecular da malária, nos inquéritos epidemiológicos, no rastreamento de doadores infectados em bancos de sangue, na determinação de portador assintomático de plasmódio e no monitoramento da resposta terapêutica, conforme Alves et al. (2002), Cavasine et al. (2000), Laerson et al. (1994), Tirasophon et al. (1991), Torres et al. (2006), Vieira et al. (2004), Vinetz et al. (1998) e Vu et al. (1995), citados por Costa et al. (2008). Mas, apesar de inúmeras experiências demonstrarem que a PCR apresenta maior sensibilidade que o exame microscópico conforme Barker et al. (1992), Brown et al. (1992), Postigo et al. (1998), Singh et al. (1996), Snounou et al. (1993), Wataya et al. (1993) e Zali et al. (1996) citados por Costa et al. (2008), é necessária infra-estrutura sofisticada e alto-custo para a sua realização; sendo ainda escassos os dados referentes ao desempenho da PCR em áreas endêmicas de malária no Brasil. A gota espessa é um método sensível capaz de detectar 0,001% de parasitemia, ou seja, acima de 1 parasita/microlito de sangue, confome Wataya et al. (1993) citado por Costa et al. (2008). Contudo, o método se torna pouco sensível quando os parasitas estão presentes em um número muito reduzido (menor do que 1/ microlitro de sangue) ou quando o indivíduo está infectado por mais de uma espécie de plasmódio, e inúmeros estudos têm relatado a maior sensibilidade da PCR na detecção de baixas parasitemias conforme Black et al. (1994), Brown et al. (1992), Purnomo et al. (1999) e outros citados por Costa et al. (2008) sendo que estudos realizados com PCR na Tailândia por Tirasophon et al. (1991), Venezuela por Morassin et al. (2002) e Brasil por Cavasini et al. (2000) demonstraram a ocorrência de infecção mista em proporções acima das evidenciadas à gota espessa (COSTA et al., 2008).

1.9 A INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA NO BRASIL

Nas Américas, os estudos de infecções assintomáticas são relativamnete recentes.

Há 30 anos, além de algumas cidades, as populações ribeirinhas colaboraram para muitos dos assentamentos em Rondônia (RO); um estado a noroeste do Brasil, fronteira com a Bolívia. Nos anos 70, Rondônia recebeu de forma súbita 277000 imigrantes dos estados do sul do Brasil, que significava três vezes o tamanho de sua população estimada naquela época. Assim, além das condições sanitárias totalmente inadequadas, ocorreu uma explosão de malária que elevou em 40 vezes o aumento do número de casos por ano, conforme Marques (1986, 1987), McGreevy et al. (1989), Sawyer (1992, 1993) citados por Camargo et al. (1999). Desde então, a epidemiologia da malária em Rondônia tem mudado, exibindo consideráveis polimorfismos mostrados em estudos prévios (CAMARGO et al., 1999), conforme será descrito abaixo.

Na década de 90, Camargo et al. (1994) e Camargo (1998) investigaram a epidemiologia da malária na área urbana e periurbana de Candeias do Jamari que é um distrito de Porto Velho (capital do Estado de Rondônia) e em um assentamento agro-industrial deste distrito chamado Fazenda Urupá; com a população constituída principalmente por migrantes da região Sul e Sudeste do Brasil, onde foram caracterizadas com uma malária hipoendêmica, com surtos epidêmicos no período da seca. A baixa endemicidade e alta mobilidade da população não ofereciam condições para a aquisição de imunidade, e todos os infectados evoluíam com ataque malárico, nunca sendo identificado um portador assintomático; sendo denominado um perfil de malária instável ou “malária residual”. Em ambas as localidades, a distribuição dos casos por sexo e idade mostrou pouca incidência de malária em crianças principalmente abaixo de 10 anos. Homens adultos entre 16 e 40 anos de idade representaram o grupo de risco principal. A observação dos agrupamentos de casos permitiu identificar o lugar de trabalho como um fator responsável pela alta incidência de malária entre adultos. O perfil epidemiológico indicou que a transmissão de malária intradomiciliar pelo vetor *Anopheles* era baixa ou ausente nesta localidade.

Em 1994-1995, Camargo (1998) realizou um estudo de caracterização epidemiológica da malária na comunidade ribeirinha de Portochuelo, na margem direita do Rio Madeira-RO,

onde se observou que, diferente da “malária de fronteiras” e da “malária residual”, o grupo de risco era de indivíduos menores de 16 anos de idade, particularmente na faixa etária do primeiro ano de vida, com 4 casos de malária sintomática entre crianças abaixo de 1 ano de idade, indicando também a transmissão intradomiciliar pelo vetor, diferente dos estudos prévios do mesmo autor. Os adultos foram relativamente mais poupados, particularmente aqueles acima dos 50 anos; e foi evidenciado, entre adultos, casos de indivíduos com hemoscopia positiva e sem os sintomas clássicos da malária durante 3 dias de acompanhamento. Supôs-se, na ocasião, que os ribeirinhos adquiriam imunidade contra a malária durante a infância, o que resultava em casos assintomáticos entre adultos, um perfil mais parecido com o africano do que com a “malária de fronteiras” ou a “malária residual”. Foi também sugerido que os ribeirinhos com infecção assintomática atuariam como “reservatórios” da doença, e poderiam disseminá-la para outros grupos como garimpeiros e migrantes. Portuchuelo é uma pequena comuidade ribeirinha representativa do tipo de população que predominou em Rondônia antes da chegada dos imigrantes em 1970. A maioria absoluta destes habitantes era nascida na região amazônica. A epidemiologia da malária nesta localidade mostrou-se bastante distinta das localidades dos estudos prévios realizados pelo mesmo autor, revelando o extremo polimorfismo da malária na região amazônica e suas implicações para os programas de controle desta doença (CAMARGO et al., 1999).

Em estudo realizado por Alves et al. (2002) sobre a epidemiologia da malária em 6 comunidades ribeirinhas do Rio Machado e 1 comunidade ribeirinha do Rio Madeira (Portuchuelo), no estado de Rondônia. Foi verificado que a técnica de PCR era 6 a 7 vezes mais eficiente do que a microscopia para detectar infecções causadas por *Plasmodium*. Pela técnica de PCR, a prevalência de infecções assintomáticas foi de 4-5 vezes maior do que a de infecções sintomáticas, alcançando de 20% e 4.6% em Portuchuelo e 49,5% e 10% respectivamente no Rio Machado, sendo que a maioria das infecções sintomáticas ocorreu em crianças e a maioria dos portadores assintomáticos era adulta (média de 26,5 e 21 anos, para Portochuelo e Rio Machado respectivamente) e a idade média para malária sintomática foi 14 e 8 anos para as duas localidades respectivamente. As infecções assintomáticas eram também mais freqüentes entre pessoas que tinham vivido por longo tempo na área (média de 25,5 anos e 18 anos em Portuchuelo e no Rio Machado, respectivamente) e as infecções sintomáticas foram mais prevalentes nos grupos que viviam menos tempo na Amazônia (13 a 4 anos, respectivamente para Portochuelo e Rio Machado). Foi possível a infecção do *A. darlingi*,

principal vetor da região, a partir de infecções experimentais com portadores assintomáticos, o que sugeriu sua atuação como fonte de infecção para o vetor. Neste estudo, 15 pacientes com infecção malárica assintomática (somente com PCR positivo) foram selecionados e foram realizadas as infecções experimentais em mosquitos através de alimentação direta e também por um sistema de alimentação por uma membrana. 17 pacientes adultos sintomáticos com altas parasitemias foram usados como controles. Foi encontrada uma taxa de infecção em *An. Darlingi* de 1,2% para os portadores assintomáticos e 22% para os portadores sintomáticos. Embora o grupo assintomático tenha infectado os mosquitos numa taxa muito menor, estes pacientes permanecem infectantes por um período de tempo maior do que os que têm tratamento e são sintomáticos (ALVES et al., 2002). No Rio Machado, após a reavaliação dos pacientes e classificação em infecção sintomática e assintomática, este estudo optou por tratar todos os indivíduos infectados, independente de sua condição clínica, devido à distância e isolamento da região. Após a intervenção (tratamento dos assintomáticos) foi feito o seguimento da população através dos casos de malária registrados pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), sendo que no ano de 2001 não houve pico de transmissão da malária e houve redução do número de caso de malária de janeiro a julho de 2001 em comparação com o mesmo período em 2000, na área de intervenção; enquanto na área de não intervenção observou-se um pico tardio e aumento estatisticamente significativo do número de casos de malária no mesmo período de 2000 e 2001, evidenciando que os portadores assintomáticos constituem uma fonte importante de transmissão. Nas mesmas populações, Alves et al. caracterizou que a diversidade de cepas parasitárias era pequena, fato que corroborava para o surgimento da imunidade e, conseqüentemente, a existência de portadores assintomáticos (ALVES et al., 2002).

Pithan et al. (2002), citado por Alves et al. (2002) realizou um estudo no estado de Roraima, no território dos índios Yanomami, onde se observava a maior incidência de casos e mortalidade por malária no estado. Nesta área, o Programa de Intensificação das Ações de Controle da Malária (PIACM) foi elaborado de acordo com as suas peculiaridades epidemiológicas, e introduzido a partir de agosto de 2000. Foi implementada uma estratégia de esgotamento das fontes infectante através da busca ativa sistemática de casos sintomáticos e assintomáticos e concomitante controle vetorial, identificando alta prevalência de casos assintomáticos ou oligossintomáticos (50%). Houve redução de 70,1% dos casos autóctones no ano de 2001 em relação ao mesmo período do ano de 2000 e em algumas áreas houve a perspectiva de esgotamento de transmissão a médio prazo.

No Brasil, Andrade et al. (1995), citado por Coura, Mutis e Andrade (2006) demonstrou que 70% dos casos entre mineradores no Mato Grosso eram assintomáticos, e Suárez-Mutis et al. (2007) demonstrou que 20,4% dos casos entre populações envolvidas com atividades de extração no médio e alto Rio Negro eram assintomáticas. Outro estudo recente realizado por Ladeia-Andrade et al. (2005) citado por Coura, Mutis e Andrade (2006) no Parque Nacional do Jaú, no médio Rio Negro no estado do Amazonas (área hipoendêmica ou mesoendêmica), encontrou entre 144 casos de malária diagnosticados por hemoscopia ou PCR, uma prevalência de 72,4% de assintomáticos que iniciaram um estudo longitudinal onde 31,3% continuou assintomático por 30 dias e 25% permaneceram assintomáticos por 150 dias de seguimento.

CONCLUSÕES

a) Existe alta prevalência de infecções assintomáticas nas comunidades ribeirinhas estudadas.

b) A prevalência de infecções assintomática é maior do que de infecções sintomáticas.

c) As variáveis relacionadas com tempo de exposição à malária estão associadas com maior probabilidade de infecção assintomática.

d) O diagnóstico por PCR é mais sensível do que a hemoscopia para detectar a prevalência de infecção pelo *Plasmodium*.

e) O *Anopheles darlingi* é o vetor predominante na região.

f) O tratamento de portadores assintomáticos nas comunidades ribeirinhas do Rio Machado teve impacto sobre a transmissão da malária na área estudada.

g) Medidas complementares devem ser adotadas para melhorar o tratamento para os hipnozoítas de *P. vivax* que permanecem no fígado do hospedeiro humano, para poder reduzir a transmissão por *P. vivax*.

h) Existe a necessidade de realizar estudos longitudinais na população afetada pela malária.

i) O diagnóstico de infecções assintomáticas, em populações de zonas endêmicas de malária, deve ser realizado para melhor controle da doença na região.

j) Os programas de controle da malária devem ser adaptados a cada região, baseados nas peculiaridades locais e no perfil epidemiológico da área afetada.

k) O inquérito epidemiológico é necessário quando existe a manutenção da malária residual, principalmente em comunidades com pouca mobilidade espacial, como são as comunidades ribeirinhas amazônicas.

l) Quanto ao manejo do portador assintomático do parasita, sugerimos que este paciente deve sempre receber tratamento específico e imediato quando houver o diagnóstico de sua parasitemia (seja por hemoscopia, PCR ou outro método), tanto na situação de busca ativa ou passiva do paciente ou quando ocorrer nos inquéritos epidemiológicos.

REFERÊNCIAS[1]

ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based technique. **Nucl. Acids. Res.,** v. 25, n. 22, p. 4692-4693, 1997.

ALVES, F. P. **Epidemiologia da malária em populações nativas da Amazônia Brasileira: a ocorrência de infecções assintomáticas**. 108 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Parasitologia, São Paulo, 2002.

ALVES, F. P. et al. High prevalence of asyntomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazon populations. **Am. J. Trop. Med. Hyg.,** v. 66, p. 641-648, 2002.

ALVES, F. P. et al. Asyntomatic carriers of *Plasmodium spp*. as infection source for malaria vectors in Brazilian Amazon. **J. Med. Entomol.,** v. 42, p. 777-779, 2005.

ARNOT, D. E. The influence of the genetic complexity of *Plasmodium falciparum* infections on the epidemiology of malaria. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**., v. 96, p. 131-136, 2002. Suppl. 1.

BABIKER, H. A.; RANFORD-CARTWRIGHT, L. C.; WALLIKER, D. Genetic structure and dynamics of *Plasmodium falciparum* infections in the Kilombero region of Tanzania. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**., v. 93, p. 11-14, 1999. Suppl. 1.

BAIRD, J. K. et al. Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in people having two years exposure to hyperendemic malaria. **Am. J. Med. Hyg.**, v. 45, n. 1, p. 65-76, 1991.

BLOLAND, B. P. et al. Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission II. Descriptive epidemiology of malaria infection and disease among children. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, n. 4, p. 641-648, 1999.

BOTTIUS, E. et al. Malaria: even more chronic in nature than previously thougt; evidence for subpatent parasitaemia detectable by the polymerase chain reaction. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**.; v. 90, p. 15-19, 1996.

[1] De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de terapêutica da malária**. Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema nacional de vigilância em saúde**: relatório de situação de Rondônia. 2. ed. Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Situação epidemiológica da malária no Brasil**: 2007. Brasília, DF, 2007.

CAMARGO, L. M. A. et al. Hypoendemic malaria in Rondônia (Brazil, western Amazon region): seasonal variation and risk groups in na urban locality. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 55, n. 1. p. 32-38, 1996.

CAMARGO, L. M. A. et al. Unstable hypoendemic malaria in Rondônia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in na agro-industrial riral settlement**. Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 51, n. 1, p. 16-25, 1994.

CAMARGO, L. M. A. **Aspectos epidemiológicos da malária em populações típicas da Amazônia brasileira no estado de Rondônia (Brasil, Amazônia Ocidental)**. 1998. 117 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Departamento de Parasitologia, São Paulo, 1998.

CAMARGO, L. M. et al. The epidemiology of malaria in Rondônia (Western Amazon region, Brazil): study of a riverine population**. Acta Trop**., v. 72, p. 1-11, 1999.

CAMARGO, E. P.; ALVES, F. P.; SILVA, L. H. P. Symptomless *Plasmodium vivax* infections in native Amazonians. **Lancet**, v. 353, p. 1415-1416, 1999.

COLLINS, W. E.; JEFFERY, G. M. A retrospective examination of sporozoite- and trofozoite-induced infections with *Plasmodium falciparum:* development of parasitologic and clinical immunity during primary infection**. Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 61, p. 4-9, 1999a.

COLLINS, W. E.; JEFFERY, G. M. A retrospective examination of sporozoite- and trofozoite-induced infections with *Plasmodium falcipatum* in patient previosly infected with heterologous species of Plasmodium: effect on development of parasitologic and clinical immunity**. Am J. Trop. Med. Hyg**., v. 61, p. 36-43, 1999b.

COLLINS, W. E.; JEFFERY, G. M. A retrospective examination of sporozoite- and trofozoite-induced infections with *Plasmodium falcipatum*: development of parasitologic and clinical immunity following secondary infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 61, p. 20-35, 1999c.

COSTA, M. R. F. et al. Diagnóstico molecular da malária em uma unidade de atenção terciária na Amazônia Brasileira. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**., v. 41, n. 4, p.381-385, jul./ago. 2008.

COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2005.

COURA, J. R.; MUTIS, S. M.; ANDRADE, S. L. A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic *Plasmodium* infection – a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 229-237, May 2006.

DAUBERSIES, P. et al. PCR characterization of isolates from various endemic areas: diversity and turn over of *Plasmodium falciparum* populations are correlated with transmission. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 9-12, 1994. Supl. 2.

DEAN, W. **A luta pela borracha no Brasil**: um estudo de história ecológica. São Paulo: Nobel, 1989.

DEANE, L. M. Malaria studies and control in Brazil. **Am. J. Med. Hyg**., v. 38, n. 2, p. 223-230, 1988.

DE CARLI, G. A. **Parasitologia clínica**: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. 2. ed. São Paulo: Atheney, 2001.

FARNET, A. et al. Daily dynamics of Plasmodium falciparum subpopulations in asymptomatic children in a holoendemic area. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 56, n. 5, p. 538-547, 1997.

FONTES, C. J. F. Plasmodium spp. In: de CARLI, G. **A. Parasitologia clínica**: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 351-363.

FRANKS, S. et al. Frequent and persistent, asymptomatic Plasmodium falciparum infections in african infants, characterized by multilocus genotyping. **J. Infect. Dis.**, v. 183, p. 796-804, 2001.

GENARO, O.; FERRARONI, J. J. Estudo sobre malária e parasitoses intestinais em indígenas da tribo Nadëb-Maku, estado do Amazonas, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 18, n. 2, p. 162-169, abr. 1984.

GOMES, M. P. Indicadores de saúde. In: EPIDEMIOLOGIA: teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 49-75.

GREENWOOD, B. M. Asymptomatic malaria infections-Do They matter? **Parasitol. Today**, v. 3, n. 7, p. 206-214, 1987.

GREENWOOD, B.; MUTABINGWA, T. Malária in 2002. **Nature**, v. 415, p. 670-672, 2002.

GUPTA, S. et al. Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p. 3715-3719, Apr. 1994.

HAY, S. I. et al. The global distribution and population at risc of malaria: past, present, and future. **Lancet Infect. Dis.**, v. 4, p. 327-336, Jun. 2004.

JARRA, W.; SNOUNOU, G. Only viable parasites are detected by PCR following clearance of rodent malarial infections by drug treatment or immune responses**. Infect. Immun**., v. 66, n. 8, p. 3783-3787, Aug. 1998.

JEFFERY, G. M. Epidemiological significance of repeated infections with homologous and heterologous strains and species of *Plasmodium*. **Bull. World Health Organ**, v. 35, p. 873-882, 1966.

KUN, J. F. J. et al. New emerging Plasmodium falciparum genotypes in children during the transition phase from asymptomatic parasitemia to malaria. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 66, n. 6, p. 653-658, 2002.

LADEIA-ANDRADE, S. et al. Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 80, n. 3, p. 452-459, Mar. 2009.

MARSH, K.; KINYANJUI, S. Immune effector mechanisms in malaria. **Parasite Immunol.**, v. 28, p. 51-60, 2006.

MILLER, L. H. et al. The pathogenic basis of malaria. **Nature**, v. 415, p. 673-678, Feb. 2002.

MUTIS-SUÁREZ, M. C. et al. Cross sectional study reveals a high percentage of asymptomatic Plasmodium vivax infection in the amazon Rio Negro area, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 49, n. 3, p. 159-164, maio/jun. 2007.

NASCIMENTO, M. G. S. **O espaço ribeirinho**. São Paulo: Terceira Margem, 2000.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

NTOUMI, F. et al. Age-dependent carriage of multiple Plasmodium falciparum merozoite surface antigen-2 alleles in asymptomatic malaria infections. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 52, p. 81-88, 1995.

OWUSU-AGYEI, S. et al. Incidence of symptomatic and asymptomatic *Plasmodium falciparum* infection following curative therapy in adult residents of Northern Ghana. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 63, n. 3, p. 197-203, 2001.

POSTIGO, M.; MENDOZA-LEON, A.; PEREZ, H. A. Malaria diagnosis by the polymerase chain reaction: a field study in south-eastern Venezuela. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,** v. 92, p. 509-511, 1998.

REY, L.; GARCIA L. S. **Parasitologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001.

RODRIGUES, J. J. S.; SILVA, R. C.; SIQUEIRA, M. M. Técnicas de biologia molecular aplicadas ao diagnóstico. In: ROSSETI, M. L. et al. **Doenças infecciosas**: diagnóstico molecular. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006.

ROGIER, C.; TRAPE, J. F. Malaria attacks in children exposed to high transmission: Who is protected? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**., v. 87, p. 245-246, 1993.

ROGIER, C. et al. *Plasmodium falciparum* clinical malaria in Dielmo, a holoendemic area in Senegal: no influence of acquired immunity on initial symptomatology and severity of malaria attacks. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 60, p. 410-420, 1999.

ROPER, C. et al. Detection of very low level Plasmodium falciparum infections using the nested polymerase chain reaction and a reassessment of epidemiology of unstable malaria in Sudan. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 54, p. 325-331, 1996.

ROSSETTI, M. L.; DA SILVA, C. M. D.; RODRIGUES, J. J. S. **Doenças infecciosas**: diagnóstico molecular. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006.

RUBIO, J. M. et al. Semi-nested, multiplex polymerase chain reaction for detection of human malaria parasites and evidence of *Plasmodium vivax* infection in Equatorial Guinea. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 60, n. 2, p. 183-187, 1999.

SANDERS, B. S. Measuring community health levels. **Am. J. Public Health**, v. 54, p. 1063-1070, 1964.

SAYEG, M. A. Diagnóstico de saúde. In: **A saúde da comunidade**: a estatística como instrumento de trabalho (Anais do Seminário). Manguinhos, RJ: ABEM, 1969. p. 221-239.

SALCEDO, J. M. V. et al. Malaria control in an agro-industrial settlement of Rondônia (western Amazon region, Brazil). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 2, p. 139-145, mar./ apr. 2002.

SAWYER, D. **Frontier malaria in the amazon region of Brazil**: types of malaria situations and some implications for control. Brasília, DF: PAHO/WHO/TDR, 1988. (Technical Consultation on Research in Support of Malaria Control in the Amazon).

SILVA, J. C. **O rio, a comunidade e o viver.** 2000. Tese (Doutorado) – Departamento de Geografia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SILVA, J. C.; SOUZA FILHO, T. A. S. O viver ribeirinho. In: SILVA, J.C. et al. **Nos banzeiros do rio**: ação interdisciplinar em busca da sustentabilidade em comunidades ribeirinhas da Amazônia. Porto Velho: EDUFRO, 2002. p. 23-40.

SNOUNOU, G. et al. The importance of sensitive detection of malaria parasites in human and insect hosts in epidemiological studies, as shown by the analysis of field samples from Guinea Bissau. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**., v. 87, p. 649-653, 1993a.

SNOUNOU, G. et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. **Mol. Biochem. Parasitol**., v. 61, p. 315-320, 1993b.

SNOUNOU, G. Detection and identification of the four malaria parasite species infecting humans by PCR amplification**. Methods Mol. Biol**.; v. 50, n. 5, p. 263-291, 1996.

SNOW, R. W.; MARSH, K. New insights into the epidemiologic of malaria relevant for disease control. **Br. Med. Bull.**, v. 54, p. 293-309, 1998.

SOARES, J. L. M. F. et al. **Métodos diagnósticos**: consulta rápida. Porto Alegre: Artmed, 2002.

STEVENSON, M. M.; RILEY, E. M. Innate immunity to malaria. **Nature**, v. 4, p. 169-180, Mar. 2004.

SUÁREZ-MUTIS, M. C. et al. Cross sectional study reveals a high percentage of asymptomatic *Plasmodium vivax* infection in the amazon Rio Negro area, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 43, n. 3, p. 159-164, maio/jun. 2007.

SUÁREZ-MUTIS, M. C. et al. Malária. In: COURA, J. R. (Org.). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 833-858.

TAKEDA, S. A. Organização de Serviços de Atenção Primária à Saúde. In: DUNCAN, B. B; SCHIMIDT, M. I; GIUGLIANI, E. R. J. **Medicina ambulatorial**: condutas de atenção primária baseadas em evidências. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 81-82.

TAUIL, P. **Avaliação de uma nova estratégia de controle da malária na Amazônia brasileira**. 2002. 113 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2002.

TRAPE, J. F. et al. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. **Parasitol. Today**, v. 12, p. 236-240, 1996.

TRAPE, J. F.; ROGIER, C. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. **Parasitol. Today**, v. 12, n. 6, p. 236-240, 1996.

TRAPE, J. F. et al. The Dielmo Project: a longitudinal study of natural malária infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 51, n. 2, p. 123-137, 1994.

VIRYAKOSOL, S. et al. Genotyping of Plasmodium falciparum isolates by the polymerase chain reaction and potential uses in epidemiological studies. **Bull. World Health Organ**, v. 73, p. 85-95, 1995.

ZWETYENGA, J. et al. No influence of age on infection complexity and allelic distribution in *Plasmodium Falciparum* infectionsin Ndiop, a senegalese village with seazonal, mesoendemic malaria. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 59, n. 5, p. 726-735, 1998.

WALLACE, P.; PASVOL, G. **Atlas of tropical medicine and parasitology**. 6. ed. Philadelphia: Mosbi- Elsevier, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global malária control. **Bull. WHO**, v. 71, p. 281-284, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert Commitee on Malária**: twentieth repport. Geneva, 2000. (WHO Technical Report, series n. 892).

WORLD HEALTH ORGANIZATION 2002. The global malaria situation: current tools for prevention & control. 55th World Health Assembly. Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis & Malaria. Disponível em: <http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ea55id6.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em: <http://www.who.int/en>. Acesso em: 20 maio 2004.