NATAL SANTOS DA SILVA

**Epidemiologia da malária: incidência,
distribuição espacial e fatores de risco
em uma coorte rural amazônica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo
2011

NATAL SANTOS DA SILVA

**Epidemiologia da malária:
incidência, distribuição espacial e
fatores de risco em uma coorte rural
amazônica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do 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: Prof. Dr. Marcelo Urbano Ferreira

Versão corrigida. Versão original em poder do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

São Paulo
2011

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Da Silva, Natal Santos.

Epidemiologia da malária: incidência, distribuição espacial e fatores de risco em uma coorte rural amazônica / Natal Santos da Silva. -- São Paulo, 2010.

Orientador: Marcelo Urbano Ferreira.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Parasitologia. Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro. Linha de pesquisa: Epidemiologia e controle de doenças infecciosas e parasitárias.

Versão do título para o inglês: Epidemiology of malaria: incidence, spatial distribution and risk factors in a rural Amazon cohort.

Descritores: 1. Malária 2. Fatores de risco 3. Distribuição espacial 4. Epidemiologia 5. Sobrevida 6. Assentamento rural I. Ferreira, Marcelo Urbano II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia III. Título.

ICB/SBIB09/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Natal Santos da Silva.

Título da Tese: Epidemiologia da malária: incidência, distribuição espacial e fatores de risco em uma coorte rural amazônica.

Orientador(a): Marcelo Urbano Ferreira.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

() Aprovado(a)

() Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 16 de agosto de 2007.

PARECER 791/CEP

Prezado Senhor,

Atendendo sua solicitação, a *Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB*, em sua 77ª reunião realizada em 15.08.07, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: "**Epidemiologia da malária: fatores de risco, distribuição espaço-temporal e resposta ao tratamento em uma coorte rural na Amazônia**".

Informo a V.Sa. que, após análise e discussão, o referido projeto foi **aprovado por esta Comissão**.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final), de acordo com a resolução 196/06 do Conselho Nacional da Saúde, item IX.2 letra c.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **15 de agosto de 2008**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. PAOLO M.A ZANOTTO
Vice-Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

Ilmo. Sr.
NATAL SANTOS DA SILVA
Departamento de Parasitologia
Instituto de Ciências Biomédicas -USP

Aos meus pais, Expedita e Alício, pelas sábias lições transmitidas desde o meu nascimento.

À Simone Lima pelo companheirismo durante o meu doutorado.

Às minhas filhas, Beatriz, Carolina e Bárbara, pelas futuras lições que me ajudarão a evoluir.

AGRADECIMENTOS

À população do Ramal do Granada, sem a qual esse trabalho não seria possível, além de tornar minha permanência na região por 24 meses extremamente agradável.

À equipe da FUNASA de Acrelândia, fundamental no trabalho de vigilância: Aquino, Duarte, Naila, Fofão, Guimarães, Natalício, Marcos Botelho, Marinalda Andreatto, Sebastião Gomes, Terezinha de Jesus, Valdecir Euclides, José Nascimento e Cleide.

À Prefeitura Municipal e à Secretaria de Saúde de Acrelândia pelo apoio logístico durante os trabalhos em campo.

Ao Prof. Dr. Pascoal Torrez Muniz, vice-reitor da Universidade Federal do Acre, pelos vários oportunos apoios durante minha permanência em Acrelândia e que permitiram que esse trabalho chegasse ao final.

À Prof^a. Dr^a. Rosely Malafronte, Prof. Dr. Carlos Cavasini, Maria José Menezes e Vítor Muniz pela ajuda nos estudos transversais.

À Prof^a. Dr^a. Mônica da Silva Nunes que lançou a pedra fundamental deste trabalho e seus estudos proporcionaram a concretização desta tese.

À Maria José Menezes e Pamela Orjuela pelas PCRs realizadas.

À Prof^a. Dr^a. Claudia Codeço, da FIOCRUZ do Rio de Janeiro, e ao Prof. Dr. José Antônio Cordeiro, da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, os quais foram meus co-orientadores de fato e proporcionaram o desenho e o desfecho da análise de sobrevivência.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Pedroso de Lima e à Prof^a. Dr^a. Gisela Tunes da Silva, do Instituto de Matemática e Estatística, da Universidade de São Paulo, e ao Prof. Dr. Enrico Colosimo, do Departamento de Estatística, da Universidade Federal de Minas Gerais pelas valiosas ajudas na análise de sobrevivência.

Aos funcionários do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP), fornecedores das bases logísticas laboratoriais e administrativas para esta tese; em especial para Sandra Alexandre

que tanto fez e solucionou vários problemas administrativos durante minha passagem por Acrelândia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnologia (CNPq) pelo fornecimento da Bolsa de Doutorado Direto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro ao projeto em Acrelândia.

Especial agradecimento à Maria José Menezes, que foi mais do que uma eficiente funcionária do ICB. Foi aquela que me abrigou durante minhas várias passagens por São Paulo, foi aquela que me ouviu quando precisei nos momentos de dificuldades do doutorado... foi aquela que se tornou minha amiga.

Ao Prof. Dr. Marcelo Urbano Ferreira por acreditar que eu seria capaz de desenvolver este projeto e pela amizade e convivência desde a minha iniciação científica.

“A coisa mais indispensável a um homem
é reconhecer o uso que deve fazer do seu
próprio conhecimento.”

Platão

RESUMO

Da Silva NS. Epidemiologia da malária: incidência, distribuição espacial e fatores de risco em uma coorte rural amazônica. [tese (Doutorado em Parasitologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

Um estudo foi desenvolvido numa coorte localizada em um assentamento agrícola no Acre, Brasil, com o objetivo de identificar fatores de risco de malária. Ao longo de 70 meses, acompanharam-se 531 indivíduos, que contribuíram com 2.281,53 pessoas-ano. Registraram-se 443 casos de malária por *Plasmodium vivax*, 129 por *P. falciparum* e 27 de malária mista (*P. vivax* e *P. falciparum*). A análise espacial de varredura identificou *clusters* de malária no final da área de estudo, próximo ao limite da floresta. Nessa análise, 69,1% de todos os casos de malária ocorreram em apenas 27 domicílios (22,3% do total), os quais estavam dentro de um raio de 2,2 Km ao centro do *cluster*. Quatro estudos transversais foram realizados ao longo do seguimento e infecções assintomáticas foram detectadas pela PCR aninhada. Modelos de fragilidade identificaram o local de moradia como a principal covariável relacionada ao risco de aquisição de malária tanto nos modelos não ajustado quanto nos ajustado. Este tipo de análise pode otimizar as ações de combate à malária e reduzir custos operacionais.

Palavras-chaves: Malária. Fatores de Risco. Distribuição espacial. Epidemiologia. Sobrevida. Assentamento rural.

ABSTRACT

Da Silva NS. Epidemiology of malaria: incidence, spatial distribution and risk factors in a rural Amazon cohort. [PhD thesis (Parasitology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

A study was developed in a cohort located in an agricultural settlement in Acre, Brazil, aiming to identify risk factors of malaria. Over 70 months followed up 531 individuals who contributed 2281.53 people-years. It was recorded 443 cases of malaria by *Plasmodium vivax*, 129 by *P. falciparum* and 27 mixed malaria (*P. vivax* and *P. falciparum*). The spatial analysis canning identified clusters of malaria at the end of the study area, near the forest border. In this analysis, 69.1% of all malaria cases occurred in only 27 households (22.3% of total), which were within a radius of 2.2 km from the cluster's center. Four cross-sectional studies were conducted along the follow-up and asymptomatic infections were detected by nested PCR. Frailty models identified the housing location as the main covariate related risk of acquiring malaria in both unadjusted and adjusted models. This type of analysis may optimize actions against malaria, and reduce operational costs.

Keywords: Malaria. Risk Factors. Spatial distribution. Epidemiology. Survival. Rural settlement.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Situação da malária no final de 2008 nos diversos países endêmicos.....	33
Figura 2 – Custo global para controle e erradicação da malária.....	37
Figura 3 – Custo anual por região do globo.....	37
Figura 4 – Distribuição da incidência parasitária anual (número de casos de malária registrados por 1.000 habitantes durante um ano) nos municípios brasileiros localizados em áreas endêmicas de malária.....	43
Figura 5 – Estratificação do risco de transmissão de malária nos municípios do Acre no ano de 2006.....	46
Figura 6 – Crescimento populacional da Amazônia legal entre os anos de 1808 e 2000	52
Figura 7 – Desmatamento até 2002 e nos anos de 2002 e 2003 nos projetos de assentamentos agrícolas do INCRA	54
Figura 8 – (a) Taxa de desmatamento anual e (b) desmatamento bruto total na Amazônia Legal.....	55
Figura 9 – Mapa do Estado de Acre mostrando o PAD Pedro Peixoto.....	56
Figura 10 – Avanço do desmatamento no PAD Pedro Peixoto no Ano de (a) 1988, (b) 2000 e (c) 2007.....	57
Figura 11 – Localização dos postos governamentais de diagnóstico de malária (triângulos) e dos domicílios (círculos) pertencentes à coorte.....	61
Figura 12 – Descrição esquemática da coorte bidirecional dos fatores de risco (70 meses de seguimento), apresentando seus componentes retrospectivo e prospectivo.	62
Figura 13 – Processo de seleção das covariáveis pertencentes ao modelo final..	77
Figura 14 – Distribuição das idades médias individuais entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 dos participantes da coorte	83
Figura 15 – Densidade de incidência de malária de acordo com a espécie do parasita (número de episódios/100 pessoas-ano em situação de risco) em relação à idade dos indivíduos	88
Figura 16 – Domicílios onde ocorreu pelo menos um caso de malária.....	94

Figura 17 – Intervalo de tempo entre duas malárias consecutivas da mesma espécie em indivíduos da coorte durante o seguimento	95
Figura 18 – Densidade de incidência (número de episódios por 100 pessoas-mês sob risco) dos casos de malária no Granada entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 em relação à pluviosidade mensal (mm) medida na estação meteorológica mais próxima.....	97
Figura 19 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2001 em 123 domicílios.....	99
Figura 20 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2002 em 123 domicílios.....	100
Figura 21 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2003 em 123 domicílios.....	101
Figura 22 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2004 em 123 domicílios.....	102
Figura 23 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2005 em 123 domicílios.....	103
Figura 24 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2006 em 123 domicílios.....	104
Figura 25 – <i>Clusters</i> de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 em 123 domicílios.....	105
Figura 26 – Densidade de incidência (100 pessoas-ano sob risco) de malária de qualquer espécie entre 2001 e 2006 em relação à distância (em Km) de cada domicílio ao centro do <i>cluster</i>	106
Figura 27 – Função sobrevida até o primeiro evento e para múltiplos eventos de malária para qualquer espécie, malária vívax e malária falcíparum.....	129
Figura 28 – Função sobrevida até o primeiro evento de malária para qualquer espécie.....	130
Figura 29 – Função sobrevida até o primeiro evento de malária vívax.....	139
Figura 30 – Função sobrevida até o primeiro evento de malária falcíparum.	148
Figura 31 – Função sobrevida para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.....	157
Figura 32 – Função sobrevida para múltiplos eventos de malária vívax.....	166
Figura 33 – Função sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum	175

Figura 34 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária de qualquer espécie.	191
Figura 35 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.....	194
Figura 36 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária vívax.....	203
Figura 37 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.1 do primeiro evento de malária vívax.	206
Figura 38 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária falcíparum.	217
Figura 39 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.....	220
Figura 40 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.....	228
Figura 41 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.mult dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.....	231
Figura 42 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária vívax.	240
Figura 43 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.mult dos múltiplos eventos de malária vívax.....	243
Figura 44 – Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária falcíparum.....	254
Figura 45 – Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.mult dos múltiplos eventos de malária falcíparum.....	257
Figura 46 – Centro de Saúde de Acrelândia. Veículo utilizado nos trabalhos em campo....	330
Figura 47 – Posto de saúde do quilômetro 16	330
Figura 48 – Posto de saúde do quilômetro 24	330
Figura 49 – Posto de saúde do quilômetro 30	330
Figura 50 – Casa na Reserva da Linha 14	331
Figura 51 – Linha 14 no inverno	331

Figura 52 – Reserva da Linha 14 no inverno. Motocicleta utilizada nos trabalhos em campo	331
Figura 53 – Visita domiciliar.....	331
Figura 54 – Ramal próximo à linha 14	332
Figura 55 – Coleta de gota espessa.....	332
Figura 56 – Limpeza da terra pelo fogo	332
Figura 57 – Linha 14 no verão.....	332

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Casos de malária por espécie na Amazônia Legal entre os anos de 2007 e 2009.	41
Tabela 2 – Casos de malária por espécie no Estado do Acre entre os anos de 2003 e 2009.	45
Tabela 3 – Casos de malária por espécie no município de Acrelândia entre os anos de 2003 e 2009	47
Tabela 4 – Casos de lâminas positivas e de malária na coorte no período entre 2001 e 2006	84
Tabela 5 – Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano	85
Tabela 6 – Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo o sexo.	87
Tabela 7 – Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo a atividade	59
Tabela 8 – Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo o índice de riqueza.....	91
Tabela 9 – Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo a localização.	92
Tabela 10 – Número de repetidos episódios de malária com a mesma espécie de parasita diagnosticado entre 2001 e 2006 no Granada, Acre, Brasil	93
Tabela 11 – Quantidade de episódios entre duas malárias sucessivas de mesma espécie no período de seguimento.....	95
Tabela 12 – Número de infecções detectadas pela microscopia convencional e pela PCR durante os quatro estudos transversais consecutivos da população com idade entre cinco ou mais anos no Granada	110
Tabela 13 – Distribuição dos indivíduos por estratos da idade em relação às demais covariáveis.....	113
Tabela 14 – Distribuição dos indivíduos por estratos do sexo em relação às demais covariáveis.....	114
Tabela 15 – Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável anos de estudo em relação às demais covariáveis.....	116

Tabela 16 – Distribuição dos indivíduos por estrato da covariável atividade em relação às demais covariáveis.....	117
Tabela 17 – Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável índice de riqueza em relação às demais covariáveis.	119
Tabela 18 – Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável localização do domicílio em relação às demais covariáveis	120
Tabela 19 – Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável número de moradores em relação ao uso de mosquiteiro.	121
Tabela 20 – Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável local da pescaria em relação ao local da plantação	122
Tabela 21 – Distribuição dos domicílios segundo o material do telhado em relação às demais covariáveis.....	123
Tabela 22 – Distribuição dos domicílios segundo o tipo de parede em relação ao material utilizado piso	123
Tabela 23 – Distribuição dos domicílios segundo forração ou não do teto em relação às demais covariáveis.....	124
Tabela 24 – Distribuição dos domicílios segundo o índice de riqueza em relação às demais covariáveis.....	125
Tabela 25 – Distribuição dos domicílios segundo a localização do domicílio em relação às demais covariáveis	126
Tabela 26 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.....	134
Tabela 27 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária vívax pelos testes log-rank e Peto	143
Tabela 28 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.....	152
Tabela 29 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.....	161
Tabela 30 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária vívax pelos testes log-rank e Peto.....	170

Tabela 31 – Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.....	179
Tabela 32 – Associação entre as covariáveis duas a duas	184
Tabela 33 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária de qualquer espécie.....	188
Tabela 34 – Covariáveis do modelo m4.mal.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico	190
Tabela 35 – Avaliação do modelo mFinal.mal.1 para o primeiro evento de malária de qualquer espécie	192
Tabela 36 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.mal.1 para o primeiro evento de malária de qualquer espécie	193
Tabela 37 – Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária de qualquer espécie	197
Tabela 38 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária vívax	200
Tabela 39 – Covariáveis do modelo m4.viv.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico	202
Tabela 40 – Avaliação do modelo mFinal.viv.1 para o primeiro evento de malária vívax..	204
Tabela 41 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.viv.1 para o primeiro evento de malária vívax	205
Tabela 42 – Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária vívax.....	209
Tabela 43 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária falcíparum	213
Tabela 44 – Covariáveis do modelo m5.fal.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico	216
Tabela 45 – Avaliação do modelo mFinal.fal.1 para o primeiro evento de malária falcíparum.....	218
Tabela 46 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.fal.1 para o primeiro evento de malária falcíparum.....	218

Tabela 47 – Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária falcíparum	223
Tabela 48 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.....	226
Tabela 49 – Avaliação do modelo mFinal.mal.mult para os múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.....	229
Tabela 50 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.mal.mult para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie	230
Tabela 51 – Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie	234
Tabela 52 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária vívax	237
Tabela 53 – Covariáveis do modelo m4.viv.mult que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico	239
Tabela 54 – Avaliação do modelo mFinal.viv.mult para os múltiplos eventos de malária vívax	241
Tabela 55 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.viv.mult para múltiplos eventos de malária vívax	242
Tabela 56 – Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária vívax	247
Tabela 57 – Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária falcíparum.....	250
Tabela 58 – Covariáveis do modelo m3.fal.mult que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico	253
Tabela 59 – Avaliação do modelo mFinal.fal.mult para os múltiplos eventos de malária falcíparum.....	255
Tabela 60 – Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.fal.mult para múltiplos eventos de malária falcíparum	256
Tabela 61 – Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária falcíparum.....	261

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
AG	Agricultura
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AnoEstNat	Anos de Estudo
Ati	Atividade ocupacional
β -HCG	Fração beta da gonadotrofina coriônica humana
CEM	Campanha de Erradicação da Malária
CEP	Comissão de Ética em Pesquisas em Seres Humanos
CozSep	Cozinha Separada
d.C.	Depois de Cristo
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DI	Densidade de Incidência
DIq	Derrubada no Iquiri
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DNERu	Departamento Nacional de Endemias Rurais
DOL	Derrubada em outro local
EMx	Malárias do primeiro episódio que eram vívax ou falcíparum e foram convertida em mistas
EUA	Estados Unidos da América
ForTet	Forração do Teto
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GMAP	<i>The Global Malaria Action Plan</i>
HR	<i>Hazard Ratio</i>
ha	Hectare
IC	Intervalo de Confiança
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
IdaCat	Idade Categorizada
INCRA	Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária
IndRiqQua	Índice de Riqueza em Quartil
IPA	Índice Parasitário Anual
JK	Juscelino Kubitschek

Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
LDB	Lei de Diretrizes Bases da Educação Nacional
LocKm	Localização do Domicílio
LocPesDor	Local da Pescaria
LocPlaRoç	Local da Plantação ou Roça
LP	Lâminas positivas
MalE	Malárias admitidas no estudo após exclusão dos eventos de suspeita de recrudescência e de malária mista.
MatPis	Material do Piso
MatTel	Material do Telhado
mg	Miligrama
MILD	Mosquiteiros com Inseticidas de Longa Duração
Mos	Uso de Mosquiteiro
Mx	Malárias excluídas com intervalo menor ou igual a 28 dias entre duas malárias de espécies
NumMorQua	Número de Moradores no Domicílio em Quartil
OMS	Organização Mundial da Saúde
ODT	<i>Oblique Decision Tree</i>
PAD	Projeto de Assentamento Dirigido
PAR	Projeto de Assentamento Rápido
PCMAM	Projeto de Controle da Malária na Bacia Amazônica
PEGM	Programa de Erradicação Global da Malária
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PIACM	Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária na Amazônica Legal
PIC	Projetos Integrados de Colonização
PITS	Programa de Interiorização do Trabalho em Saúde
Pluv	Pluviosidade
<i>Pm</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Po</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
PRI	Pulverização Residual Interna
PSF	Programa de Saúde da Família

<i>Pf</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P v</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
RBM	<i>Roll Back Malaria</i>
SESACRE	Secretaria de Saúde do Acre
Sex	Sexo
SIVEP	Sistema de Informações de Vigilância Epidemiológica
TCA	Terapia de Combinação de Artemisinina
TemAcrIcat	Tempo de Acrelândia Categorizada
TiPa	Tipo de Parede
TPI	Tratamento Preventivo Intermitente
TRV	Teste de Razão de Verossimilhança
USP	Universidade de São Paulo
ZFM	Zona Franca de Manaus

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta : vetor de parâmetros a serem estimados
ξ	Csi: variância
G6PD	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
$\lambda_0(t)$	Risco basal
$\lambda(t)$	Função de risco
μ	Mu: média aritmética
$N_i(t)$	Número de eventos observados pela pessoa i até o tempo t
χ^2	Qui-quadrado
r^2	Coefficiente de determinação
R^2	Poder explicativo das covariáveis no tempo de ocorrência do evento em
um	estudo
$R(t)$	Número de pessoas no grupo de risco no tempo t
$\hat{S}KM(t)$	Probabilidade de sobrevivência
$S(t)$	Função de Sobrevida

SUMÁRIO

1	Introdução	28
1.1	Breve histórico	28
1.2	Epidemiologia da malária no mundo	45
1.2.1	<i>O Programa de Erradicação Global da Malária (PEGM) de 1955 e o ressurgimento do sonho pela Roll Back Malaria (RBM) em 2008</i>	13
1.2.2	<i>Resistência ao medicamentos antimaláricos</i>	38
1.3	Descrição da malária no Brasil	40
1.4	A malária no Acre	44
1.5	A ocupação da Amazônia brasileira	47
1.5.1	<i>A exploração das “drogas do sertão” e o surgimento da oligarquia fundiária na Amazônia</i>	47
1.5.2	<i>O ciclo da borracha: do eldorado à desilusão</i>	48
1.5.3	<i>Os grandes projetos na Amazônia após o ciclo da borracha</i>	51
1.5.3.1	<i>Os projetos de assentamentos dirigidos na Amazônia e a íntima relação com o desmatamento</i>	52
1.5.3.2	<i>O PAD Pedro Peixoto: da criação à destruição</i>	56
1.6	Objetivos	58
1.6.1	Gerais	58
1.6.2	Específicos da coorte bidirecional dos fatores de risco	58
2	Materiais e métodos	60
2.1	Área de estudo	60
2.2	Coorte bidirecional dos fatores de risco	62
2.2.1	Características do estudo	62

2.2.2	<i>Componente retrospectivo</i>	63
2.2.3	<i>Componente prospectivo</i>	63
2.3	Critérios para os indivíduos ingressarem na coorte bidirecional dos fatores de risco	65
2.3.1	<i>Critérios de inclusão</i>	65
2.3.2	<i>Critérios de exclusão ou de perda após início do estudo</i>	65
2.4	Diagnóstico de malária	65
2.5	Termo de consentimento informado e esclarecido	66
2.6	Perda de seguimento	67
2.7	Saídas voluntárias e involuntárias	67
2.8	Tratamento da malária	67
2.9	Análise estatística	68
2.9.1	<i>Estudo descritivo</i>	69
2.9.2	<i>Análise espacial</i>	70
2.9.3	<i>Análise de sobrevivência</i>	71
2.9.3.1	<i>Avaliação inicial da proporcionalidade dos riscos das covariáveis</i>	73
2.9.3.2	<i>Comparação das curvas de sobrevida pelos testes de hipóteses</i>	74
2.9.3.3	<i>Associação entre as covariáveis</i>	75
2.9.3.4	<i>Selecionando as covariáveis</i>	75
2.9.3.5	<i>Modelagem do tempo de sobrevida</i>	78
2.9.3.6	<i>Avaliando a qualidade do ajuste do modelo</i>	80
2.10	Riscos	81
2.11	Benefícios	81
2.12	Considerações Éticas	82

3	Resultados	83
3.1	Malárias na coorte	83
3.2	Pluviosidade e malária	96
3.3	Aglomerados (<i>clusters</i>) espacial de malária	98
3.4	Prevalência do plasmódio nos inquéritos transversais	107
3.5	A análise de sobrevivência	111
3.5.1	<i>O gráfico de Kaplan-Meier das covariáveis</i>	127
3.5.1.1	<i>Primeiro evento de malária para qualquer espécie</i>	127
3.5.1.2	<i>Primeiro evento de malária vivax</i>	138
3.5.1.3	<i>Primeiro evento de malária falcíparum</i>	147
3.5.1.4	<i>Múltiplos eventos de malária de qualquer espécie</i>	156
3.5.1.5	<i>Múltiplos eventos de malária vivax</i>	165
3.5.1.6	<i>Múltiplos eventos de malária falcíparum</i>	174
3.5.2	<i>Associação entre as covariáveis</i>	183
3.5.3	<i>Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária de qualquer espécie</i>	186
3.5.4	<i>Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária vivax</i>	199
3.5.5	<i>Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária falcíparum</i>	211
3.5.6	<i>Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie</i>	225
3.5.7	<i>Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária vivax</i>	236
3.5.8	<i>Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária falcíparum</i>	249
4	Discussão	263
4.1	A malária como um problema de saúde pública	263
4.2	Análise espacial: uma ferramenta auxiliar no combate à malária	265

4.3	Fatores de risco associados à malária	
	<i>Malária de fronteira é um risco inerente no Granada ?</i>	268
5	Conclusões	275
	REFERÊNCIAS	278
	ANEXO A - Publicações no período diretamente relacionadas	
	à tese	290
	ANEXO B - Ficha de avaliação clínica do paciente com malária	311
	ANEXO C - Questionário de avaliação socioeconômica	323
	ANEXO D - Registro fotográfico do Ramal do Granada	330

1 Introdução

1.1 Breve histórico

Estima-se que desde a época do Pleistoceno¹ a malária vem assolando o ser humano (Garnham, 1966² apud Kiple, 1993; Rich et al., 2009). Contudo (a exemplo do que ocorre atualmente) o homem passou a ser um hospedeiro ocasional ao ocupar os espaços onde antes existiam apenas os animais, alvos preferidos dos mosquitos transmissores da malária. O início da atividade agrícola há 10.000 anos contribuiu mais ainda para o adelgaçamento da tênue fronteira entre o homem e a malária (Faustino, 2006).

A histórica e íntima relação entre o homem e o *Plasmodium sp*, agente etiológico da malária, é evidenciada por antigos escritos chineses, hindus e gregos. Segundo Bruce-Chwatt (1988)³ apud França (2008), o cânon chinês⁴ de medicina, o Nei Ching, datado de 2.700 a.C. discute sintomas que podem ser atribuídos à malária e estes relacionados a melancolias prolongadas vivenciadas pelos indivíduos acometidos (França et al., 2008).

Manuscritos datados do século VII a.C. retirados de escavações da biblioteca real de Assurbanípal⁵, onde hoje é a região do Iraque, referem-se a febres mortais que atingiam a população da antiga Mesopotâmia, as quais, segundo arqueólogos, apresentam semelhança com os sinais e sintomas da malária (Bruce-Chawatt, 1988 apud França et al., 2008).

¹ Época do período Quaternário, da era Cenozoica, que está compreendida entre 1.806.000 e 11.500 anos atrás. Para alguns autores mais precisos, o início dos registros da malária data de fósseis de 50.000 anos.

² Garnham PCC. Malaria parasites and other haemosporidia. Oxford. 1966

³ Bruce-Chwatt L J. History of malaria from prehistory to eradication. In: Wernsdorfer WH, McGregor I. Malaria: Principles and Practice of Malariology. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988. vol. 1, p.1-59.

⁴ Um dos três cânones do budismo: O cânon pali, o cânon chinês e o cânon tibetano. O Nei Ching, o livro do imperador amarelo, é o cânone básico voltado à medicina.

⁵ Reinou a Babilônia de 668 a 627 a.C. . Ordenou a criação de uma biblioteca de tábuas de barro, com escrita em linguagem cuneiforme, sobre inscrições reais, crônicas, mitologia, religião, contratos, entre outros.

Acredita-se que por volta do século IV a.C. a malária foi endêmica na Grécia. Coube a Hipócrates (460-377 a.C.), um asclepiade⁶, a primeira rejeição ao misticismo até então vigente sobre a causa dessa doença, a qual era atribuída a um castigo dos deuses. Ele documentou os acessos febris característicos da doença e os relacionou à proximidade dos indivíduos às coleções de água estagnadas (França et al., 2008). Foi justamente essa ligação da febre com áreas alagadas que, séculos mais tarde, exatamente no século XIV, os italianos passaram chamá-la de *mal aria* (mau ar), pois se acreditava que era transmitida pelo odores fétidos que emanavam dos pântanos.

Embora séculos antes Hipócrates já se opusesse à ligação dos casos de febre à superstição, amuletos e rituais continuavam comuns tanto na Grécia antiga quanto na Itália romana. A própria origem da palavra “abracadabra” está ligada diretamente à malária. Conta-se que o médico romano Quintus Serenus Sammonicus, falecido em 211 d.C., indicava o uso de um amuleto com essa palavra escrita em um cone vertical para curar da febre (Sallares et al., 2004).

Durante o Império Romano (27 a.C.-395 d.C.) foram documentados casos de febre relacionada à malária. Celsus, escritor romano do século I d.C., descreveu com extrema exatidão a diferenciação entre as febres terçã e a quartã (Marchiafava, 1894⁷ apud Sallares et al., 2004). Observou ainda que os pacientes que adquiriam a febre terçã frequentemente evoluíam para o coma.

Para Mirko Grmek (1979)⁸ apud Sallares et al. (2004), a malária na Itália antiga pode ser um advento relacionado aos gregos. Várias colônias gregas foram montadas no sul da Itália por volta dos anos 800 a 600 a.C., onde posteriormente houve registros de pessoas com sinais e sintomas atribuídos à malária por historiadores. Em particular a província de Siracusa, na região da Sicília, reunia condições ambientais propícias à proliferação da malária (Sallares et al., 2004). Outra contribuição, além dos escritos de Hipócrates, à afirmação de que na Grécia antiga a malária fora endêmica são os relatos de que essa possa ter sido a epidemia que atingiu o exército ateniense durante a Guerra do

⁶ Seguidor de Asclepius, deus grego da medicina. Para os romanos, era chamado de Esculápio, deus da cura.

⁷ Marchiafava E, Bignami A. On summer–autumn malarial fevers, transl. J Thompson, London: New Sydenham Society; 1894, p. 231.

⁸ Grmek M. ‘Les ruses de guerre biologiques dans l’antiquité’. Revue des Études Grecques. 1979;92: 141–63.

Peloponeso⁹.

A origem da malária no Novo Mundo permanece ainda sob questionamento. Entretanto, afirmar que possa ter origem mesmo antes do contato dos ameríndios com os europeus carece de melhor justificativa, pois a entrada do homem primitivo no continente americano através da Sibéria e com ele a malária pode ser descartada, tendo em vista que as condições para transmissão da malária já não eram favoráveis desde a época do Pleistoceno no extremo hemisfério no norte do planeta. Qualquer outra forma de inserção da malária no Novo Mundo, seja através dos vikings ou viajantes do Pacífico Central, não se justifica, pois esses pertenciam a regiões livres de malária, na oportunidade (Kiple, 1993). O que existe, portanto, de mais consistente é que essa doença era totalmente desconhecida pelas populações das novas terras, como relatam os documentos coloniais. Entretanto, há evidências que foi a partir do contato com o conquistador europeu tanto na América do Norte, quanto na Central e do Sul que os casos de malária surgiram nas Américas (Kiple, 1993), assim como o sarampo, catapora a varíola e tantas outras doenças infecciosas.

A malária constituiu-se em real problema para os ameríndios, mas também para a ocupação e conquista do novo continente pelos conquistadores. Ela foi a responsável pelo não desenvolvimento de muitas colônias norte-americanas (Duffy, 1953¹⁰, 1988 apud França et al., 2008).

Para Russel (1968)¹¹ apud França et al. (2008), o *Plasmodium vivax* e o *P. malariae* foram introduzidos pelos ingleses na América do Norte, mas foi somente em 1620 que o *P. falciparum* foi levado pelos escravos africanos (Kiple, 1993).

À medida que as colônias avançavam em direção ao interior da América do Norte a malária assentava-se junto. Já nos séculos XVIII e XIX a doença era endêmica em boa parte da terra ocupada. A situação era visivelmente de assombro diante daquela doença de grande morbidade e que muitas vezes levava a morte. O desespero dos desbravadores era tanto que um certo colono escocês, chamado George Hume, em 1723, em uma carta endereçada à sua família escreveu: “Estou sempre com febres e calafrios...este lugar só é bom para médicos e padres” (França et al., 2008).

⁹ Conflito armado entre Atenas e Esparta, de 431 a 404 a.C.

¹⁰ Duffy J. Epidemics in Colonial America. Baton Rouge: Louisiana State University Press; 1953.

¹¹ Russel PF. Bulletin of the New York Academy of Medicine. 1968; 44: 623.

O avanço da malária no novo continente teve como dois dos principais limitadores a latitude e a longitude, as quais regulavam a proliferação dos vetores. Ao passo que, em outras regiões com condições geográficas mais favoráveis, a doença tornava-se endêmica. Por volta do século XVIII e XIX ela atingia da Califórnia ao Mississippi e deste ao extremo sul da América do Sul (Kiple, 1993).

A calamidade da malária na América do Norte já era tamanha que durante a Guerra Civil norte-americana (1861-1865) houve o registro de 10.000 óbitos de soldados que morreram devido à malária e mais de 1,3 milhões de casos entre as duas tropas: da Confederação e da União (Ognibene, 1982¹², apud França et al., 2008). Algo semelhante ocorreu na campanha francesa em Madagascar, em 1895, na qual o plasmódio alvejou mais soldados franceses do que as armas do inimigo. Nessa campanha houve apenas 13 mortos em combate e acima de 4 mil mortes relacionadas à malária¹³.

Não somente os soldados das infindáveis guerras, colonos e ameríndios anônimos foram acometidos e sucumbiram à malária. Nos anais da história, há relatos de conhecidos personagens que provavelmente morreram de malária, como: Alexandre, o Grande, Santo Agostinho, Dante Alighieri, Carlos V, imperador do Sacro império Romano, o papa Sixtus V, o papa Urbano VII (Celli, 1925) e o jovem faraó Tutankamon (Hawass et al., 2010).

Apesar do longo período anterior de convivência do homem com a malária, foi somente a partir de 1880 que o avanço da ciência tornou possível o entendimento da natureza da doença. Foi o médico do exército francês Charles Louis Alphonse Laveran quem identificou o agente da malária em sangue de pacientes. A esse organismo Laveran chamou de *Oscillaria malariae*. Esta descoberta, bem como o reconhecimento dos mosquitos anofelinos como vetores da doença deram início à era moderna da malariologia. A partir desses conhecimentos, buscou-se aprofundar o luta contra doença não somente através da procura por medicamentos sintéticos eficazes tanto no tratamento como na profilaxia do agente etiológico, mas também, na década de 1940, por inseticidas de ação residual, como o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), capazes de matar o vetor (Kiple, 1993).

¹² Ognibene AJ, Barret O. Internal Medicine in Vietnam, Washington, D. C., Office of the Surgeon General and Center for Military History, U. S. Army eds., 1982, vol. 2.

¹³ http://www.malariasite.com/malaria/history_wars.htm, acessado em setembro de 2010.

1.2 Epidemiologia da malária no mundo

O impacto da malária na saúde e no desenvolvimento econômico das populações humanas é maior nas regiões tropicais e subtropicais. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou no ano de 2000 que a cada ano ocorressem entre 300 e 500 milhões de novos casos clínicos e houve 2,7 milhões de mortes (World Health Organization, 2000). Contudo, o relatório da OMS em 2009 mostrou uma redução nos casos de malária ao redor do mundo. Para 2008, a estimativa foi de 243 milhões de casos de malária. A maioria deles (85%) ocorrendo na África, onde 98% dos casos são devidos ao *P. falciparum*. Neste continente, pelas estimativas da OMS, em 2008 houve 767.000 óbitos devidos à malária e em todo o mundo foram cerca de 863.000 mortes, com 733.550 óbitos em crianças com menos de 5 anos de idade que tiveram a malária como causa (WHO, 2009). Entretanto, reduções importantes da taxa de mortalidade infantil devido à malária vêm acontecendo em vários países, como, por exemplo, no Quênia (O'meara et al., 2008).

Incrivelmente, a maioria dos óbitos concentra-se em apenas 35 países. Dentre estes, somente cinco são responsáveis por 50% das mortes em todo o mundo e 47% dos casos de malária, a saber: Nigéria, República Democrática do Congo, Uganda, Etiópia e Tanzânia (Roll Back Malaria, 2008).

Atualmente, há 109 países que estão em risco para a malária, a maioria deles localizados no continente africano. Estima-se que há nessas regiões aproximadamente 3,6 bilhões de pessoas (Guerra et al., 2006) localizadas em apenas 27% da superfície terrestre (Hay et al., 2004). Felizmente, sucessos já foram obtidos no programa de controle da malária. Três países (Egito, Armênia e Turquemenistão) não registraram nenhum caso autóctone de malária em três anos e passaram da fase de eliminação para a prevenção da reintrodução. Enquanto seis outros (Geórgia, Azerbaijão, Quirguistão, Tadjiquistão, Uzbequistão e Turquia) caminhavam para a mudança de fase em 2009, de pré-eliminação para eliminação (RBM, 2008) (Figura 1).

Figura 1- Situação da malária no final de 2008 nos diversos países endêmicos.
 Fonte: WHO (2009)

1.2.1 O Programa de Erradicação Global da Malária (PEGM) de 1955 e o ressurgimento do sonho pela Roll Back Malaria (RBM) em 2008.

Em 1955, a OMS lançou o Programa de Erradicação Global da Malária (PEGM), o qual se baseava principalmente no tratamento a base de cloroquina e na utilização do DDT intradomiciliar com ação residual sobre os anofelinos, atuando dessa forma na prevenção dos novos casos (WHO, 1956). Apesar do sucesso do programa em áreas de baixa transmissão, preferencialmente, bem como na redução da incidência em muitas regiões, o PEGM sofre até hoje duras críticas por não ter atingido certas regiões da África, onde a malária apresentava-se de forma epidêmica (Greenwood et al., 2008).

No Sexto Informe do Comitê de Malária da OMS (1956) foram definidas as diretrizes para a transformação dos programas de controle da malária, como o existente no Brasil durante o governo de Juscelino Kubitschek (JK) (1956-1961), em programas de erradicação. Estas campanhas seguiriam as seguintes orientações: (i) eliminação total e persistente da transmissão em todos os locais; (ii) operações exclusivas cujos custos fossem vistos como investimento e não como gastos e (iii) diagnóstico e estratificação dos casos (Silva, 2008). Para o sucesso do PEGM quatro fases consecutivas deveriam ser seguidas: a fase preparatória, a fase de ataque, a fase de consolidação e a fase de manutenção (Pampana, 1966).

O equívoco adotado pela OMS dentro do PEGM foi o de utilizar a mesma metodologia para todas as regiões malarígenas. Peculiaridades geográficas, econômicas, políticas e comportamentais não foram levadas em consideração. Acreditava-se que a técnica e o conhecimento científico garantiriam o sucesso do programa (Silva, 2008). Contudo, em 1969 a estratégia de erradicação da malária foi oficialmente abandonada pela OMS e a incidência da doença retornou a níveis alarmantes em certas regiões, como na Tailândia (Chareonviriyaphap et al., 2000) e no Sri Lanka em 1968 e 1969 e em Madagascar em 1987 e 1988 (Roberts et al., 2000).

A resistência desenvolvida pelo agente etiológico à cloroquina e do vetor ao DDT figuram como uma das causas do fim do PEGM. No entanto, a vontade política representa um grande contribuinte para o insucesso do programa (Brito, 2001). Além disso, a malária em certos países passou a ser moeda de barganha internacional para obtenção de mais recursos que nem sempre eram utilizados exclusivamente na erradicação da malária, como aconteceu no governo de JK, cujos recursos obtidos também serviriam para auxiliar a sustentar a meta de desenvolvimento econômico de cinquenta anos em cinco. O comprometimento do presidente com o programa da OMS foi marcado mais por discursos e promessas do que por efetivas realizações para erradicar a malária (Silva, 2008).

A mudança na estratégia de combate à malária no Brasil e consequente adesão ao PEGM da OMS foi efetivada somente em 1965, com a mudança do enfoque de controle para erradicação e paralela criação da Campanha de Erradicação da Malária (CEM) através da lei nº 4.709/65 (Brasil, 1965¹⁴ apud Silva, 2008).

¹⁴ Brasil. Ministério da Saúde. Relatório do Plano Nacional de Erradicação da Malária: operações para quinquênio 1967-1971.

Contudo, a CEM, assim como o Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu), foram extintos em 1970, ano de criação da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), sem ter conseguido atingir a erradicação da malária no território brasileiro; embora tenha obtido grande avanço na interrupção da transmissão no Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul do Brasil (Silva, 2008).

A malária manteve-se em níveis elevados nas áreas endêmicas remanescentes do globo após o PEGM. A política de erradicação da malária foi abandonada pela OMS em prol do controle da mesma, através do combate ao vetor, diagnóstico e tratamento precoces e adequados dos pacientes. Até que em 2008, com o intuito de promover uma parceria entre todos os países endêmicos e eliminar a malária do mundo a longo prazo, foi criado o Plano de Ação Global contra a Malária (GMAP – do inglês, *The Global Malaria Action Plan*) promovido pela Roll Back Malaria (RBM), a qual é uma organização que congrega mais de 500 parceiros, desde países endêmicos, organizações não governamentais, fundações e instituições de pesquisa e acadêmicas (RBM, 2008).

O GMAP tem por objetivo a curto e médio prazos a redução de 50% dos casos e dos óbitos evitáveis em 2010 e de 75% dos casos de malária e para perto de zero as mortes em 2015, tendo como os níveis do ano de 2000 como referência. A longo prazo, o GMAP visa erradicar a malária em todo o mundo, utilizando a eliminação progressiva nos países (RBM, 2008).

A estratégia utilizada pelo GMAP para alcançar suas metas divide-se em três partes: (i) Controle da malária com o objetivo de reduzir os níveis atuais e mantê-los baixos pelo tempo necessário; (ii) eliminar a malária gradativamente em cada país e (iii) desenvolvimento de pesquisas e novas ferramentas e abordagens para apoiar o controle global e os esforços de eliminação (RBM, 2008). Essa estratégia pode ser corroborada por modelos matemáticos que sugerem ser possível a erradicação em momentos e locais específicos de atuação (Aguas et al., 2008).

O diferencial do enfoque utilizado pelo GMAP é a compreensão que as regiões globais endêmicas de malária são diferentes entre si. Possuem características geográficas, socioeconômicas, políticas, comportamentais e religiosas não obrigatoriamente semelhantes e nem tampouco iguais. Entende-se e se aceita, acima de tudo, que a utilização dos pacotes de intervenção a serem implementados em cada região é, antes de tudo, uma decisão de cada país. A abordagem urge ser diferente em áreas de alta e de moderada a baixa transmissão de

P. falciparum, e em locais de elevada incidência de *P. vivax* ou de transmissão mista (RBM, 2008; WHO, 2009).

As diferenças regionais podem ser fatores limitantes para o sucesso de uma intervenção. Medidas profiláticas ou de tratamento devem ser criteriosamente avaliadas, não somente levando-se em conta o conhecimento acerca das características relacionadas ao agente etiológico e ao vetor, mas, acima de tudo, ao homem e seus costumes. As principais ferramentas utilizadas pela RBM para a prevenção e o tratamento da malária baseiam-se na utilização de mosquiteiros com inseticidas de longa duração (MILD), pulverização residual interna (PRI), lançando-se mão inclusive do DDT, administração do tratamento preventivo intermitente de mulheres grávidas (TPI) para prevenir a infecção (RBM, 2008). Para a aplicação dessas ferramentas é imperativo a parceria direta com o indivíduo sob risco.

A estimativa da RBM é que em 2010 aproximadamente 80% das pessoas em risco de aquisição de malária utilizaria alguma forma de profilaxia contra a malária, como o MILD e PRI, além de 80% dos pacientes com diagnóstico e tratamento eficazes e 100% das mulheres em área de alta transmissão em uso de tratamento preventivo intermitente. Para 2015, a mortalidade global deverá estar próxima de zero e pelos menos oito ou dez países que estão atualmente em fase de eliminação deverão alcançar a zero os casos autóctones. Já além de 2015, devem-se manter os ganhos conquistados nos anos anteriores e os países que estão hoje na fase de pré-eliminação seguirão para a fase de eliminação. Por conseguinte, para data não estipulada ainda, a malária seria erradicada em todo o mundo (RBM, 2008).

Os sustentáculos do êxito do GMAP foram lançados pela RBM ao contar com a participação e compromisso de aproximadamente 500 colaboradores, desde entidades governamentais e não governamentais a instituições de pesquisa. Contudo, a garantia de financiamento para o combate à malária deve ser um fato ao longo de todo o programa.

Estima-se que cerca de US\$5,3 bilhões seriam necessários para o GMAP em 2009 e US\$6,2 bilhões para 2010. Recursos gradativamente inferiores, porém relevante, deverão ser necessários nos anos seguintes, calculando-se que de 2011 a 2020 a média anual prevista é de US\$5,1 bilhões, de 2021 a 2030 de US\$3,3 bilhões e de 2031 a 2040 de US\$1,5 bilhão. Desses valores ao longo do tempo, a prevenção corresponde a aproximadamente 70% do custo total (Figura 2) e , obviamente, o maior percentual de recursos deverão ser destinados às regiões com maior incidência de malária: África e Ásia (Figura 3) (RBM, 2008; WHO, 2009).

Figura 2- Custo global para controle e erradicação da malária.
Fonte: RBM (2008).

Figura 3- Custo anual por região do globo.
Fonte: RBM (2008).

Contudo, existe uma discordância entre o que é necessário de recurso financeiro para o projeto e o que existe realmente. Embora o financiamento internacional tenha mais que quadruplicado de 2004 (US\$249 milhões) para 2007 (US\$ 1,127 bilhões), ainda estão abaixo do que necessita para alcançar as metas do GMAP. No entanto, felizmente, o Fundo Global de Combate à AIDS, Tuberculose e Malária e o Banco Mundial mantêm contínuo reabastecimento de parte dos recursos, assim como os Estados Unidos da América, que assinaram em julho de 2008 um compromisso de financiamento de US\$5 bilhões nos cinco anos seguintes. Responsabilidade semelhante também assumiram entidades doadoras, como o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos e a Fundação Bill e Melinda Gates, os quais representam atualmente aproximadamente 40% do financiamento para as pesquisas em malária e 60% destes valores são destinados à pesquisa exclusiva de medicamentos e vacinas (RBM, 2008; Feachem e Sabot, 2008).

Os esforços mundiais para a redução na incidência dos casos de malária vêm obtendo êxito segundo a OMS (WHO, 2009). Contudo, não se deve acreditar que a guerra foi ganha. Desacertos ocorridos no Programa de Erradicação Global da Malária (PEGM) de 1955 estão sob vigilância. Porém, a disseminação de anofelinos resistentes aos inseticidas em uso, bem como a resistência do plasmódio aos medicamentos antimaláricos, ressurgem como importante ameaça. Nesse contexto, certamente, a monoterapia com derivados de artemisininas, ainda em curso em várias regiões do globo, pode contribuir com o insucesso do tratamento e com o desenvolvimento de resistência a essa poderosa arma farmacológica contra a malária (RBM, 2008; WHO, 2009).

1.2.2 Resistência aos medicamentos antimaláricos

A OMS recomenda que monoterapia à base de artesimininas não sejam mais utilizadas em todo o mundo, passando a fazer uso da terapia de combinação de artemisinina (TCA). Embora ainda aconteça principalmente na África. Esse tipo de terapia tem levado o *P. falciparum* à resistência a esses fármacos, como documentado na Tailândia e no Camboja (WHO, 2009).

Além da redução dos casos de plasmódio resistente às artemisininas, a TCA também tem relevante papel na redução da transmissão dos casos de malária ao atuar como importante farmacoterapia gametocitocida (Okell et al., 2008).

A maioria dos países das Américas tem adotado a Estratégia Global para o Controle da Malária da OMS, a qual se baseia principalmente no tratamento antimalárico

oportuno e efetivo como o melhor meio para reduzir a morbidade e mortalidade por malária (WHO, 1993). O êxito desta estratégia depende do fornecimento pelo Ministério da Saúde de medicamentos eficazes. Devido à extensão e intensificação da resistência a muitos dos medicamentos antimaláricos atualmente disponíveis, a decisão sobre que medicamento recomendar como primeira e segunda escolha no tratamento se torna a cada ano mais complexa.

Embora exista uma variedade de métodos para avaliar a resistência aos medicamentos antimaláricos (métodos *in vivo*, provas de sensibilidade *in vitro* e análises moleculares), a maioria dos programas nacionais para o controle da malária depende dos dados de estudos de eficácia *in vivo* para avaliar a eficácia dos medicamentos de primeira e segundo escolha para decidir se necessita fazer mudanças na política de tratamento para a malária. Os métodos mais usados para esses estudos seguem os delineamentos da OMS (WHO, 1996) com modificações recomendadas pela Organização Panamericana de Saúde para estudos nas Américas (PAHO/WHO, 1998). Posteriormente, esses delineamentos foram revisados para os estudos de eficácia de medicamentos contra *P. vivax* (WHO, 2002).

Em contraste com a África, a meta da terapia antimalárica nas Américas é eliminar a parasitemia em vez de somente acabar com os sintomas da infecção. Por essa razão, a ênfase na avaliação da eficácia dos medicamentos antimaláricos nas Américas está na eliminação da parasitemia, embora também se avalie a resposta clínica dos pacientes.

P. vivax resistente à cloroquina foi relatado pela primeira vez em Papua Nova Guiné em 1989 nos soldados australianos (Rieckmann et al., 1989). Em 1995, um estudo em Irian Jaya, Indonésia, mostrou resistência em pelo menos 44% dos casos de *P. vivax* tratados com cloroquina (Baird et al., 1995). Na última década, diversos investigadores têm relatado casos de *P. vivax* resistente à cloroquina na América do Sul. Em 1996, na Guiana, Phillips et al. (1996) (Phillips et al., 1996) relataram três pacientes nos quais o tratamento com 25 mg/Kg de cloroquina fracassou em eliminar a parasitemia apesar dos níveis séricos serem adequados. Três anos mais tarde na região amazônica do Brasil, Alecrim et al. (1999) (Alecrim et al., 1999) relataram uma jovem de 12 anos de idade com malária por *P. vivax* que continuou apresentando parasitemia depois de haver recebido um regime supervisionado de 25 mg/Kg de cloroquina. Posteriormente, Soto et al. (2001) (Soto et al., 2001) relataram três casos de *P. vivax* resistente à cloroquina na Colômbia. Infelizmente, nestes dois últimos estudos não foram medidos os níveis de cloroquina no sangue. Por isso, não se pode confirmar se alcançaram os níveis terapêuticos adequados. Outros estudos sobre infecções por *P. vivax*

resistente à cloroquina nas Américas são menos convincentes, citam que as reaparições da parasitemia ocorreram depois de 28 dias de tratamento e, portanto, provavelmente foram devido a recaídas (Soto et al., 2001; Castillo et al., 2002; Ruebush et al., 2003).

Os dados disponíveis nos arquivos do Ministério da Saúde do Brasil atualmente não permitem distinguir entre novas infecções e as recaídas ou recrudescências parasitárias de infecções prévias. O diagnóstico de recaídas de *P. vivax*, que são extremamente comuns mesmo quando se emprega a primaquina, droga hipnozoítica, é particularmente importante no estudo de distribuição espacial e de fatores de risco para a malária, pois um único episódio malárico pode ser computado diversas vezes a cada nova recaída. Em saúde pública, a detecção de recaídas e recrudescências é ainda mais importante, pois desses dados podem originar-se estimativas sobre a aderência e a eficácia dos esquemas terapêuticos atualmente em uso no país.

1.3 Descrição da malária no Brasil

A malária permanece entre as principais endemias parasitárias brasileiras. Entre 1970 e meados da década de 90, a incidência anual de malária no Brasil multiplicou-se por dez, estabilizando-se daí em diante em torno de 500.000 casos anuais, dos quais mais de 99% são adquiridos na Amazônia.

É fato que as diversas estratégias adotadas pelos órgãos governamentais do Brasil envolvidos no combate à malária, mesmo antes da criação da CEM em 1965, apresentaram algum efeito sobre a redução da incidência da malária no país, alguns com maior impacto, outros nem tanto. Contudo, a sustentação das ações de controle da doença não esteve presente e foram perdendo efeito as diversas iniciativas tomadas a cabo dentro do território brasileiro: a Estratificação Epidemiológica (1980), a Operação Impacto (1986), o Projeto de Controle da Malária na Bacia Amazônica (PCMAM - 1989), o Programa de Controle Integrado da Malária (PCIM - 1992, ainda dentro do PCMAM) e o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária nas Áreas de Alto Risco da Amazônia Legal (1996), a qual é formada pelos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão. Nessas iniciativas, a intersetorialidade, o controle seletivo de vetores, o envolvimento dos estados e a sustentabilidade das ações não foram alcançados (Loiola et al., 2002).

Diante desse quadro, em 1999 observou-se novo aumento expressivo de incidência, chegando-se ao recorde histórico de 630.000 casos notificados (Fundação Nacional de Saúde, 2000). Em 2000 implementou-se o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária na Amazônia Legal (PIACM), com o objetivo de diminuir expressivamente o número de casos na Amazônia nos dois anos seguintes. Este plano resultou em grande redução da incidência de malária na maior parte dos estados, com importante exceção de Rondônia.

Em 2003 foram registrados cerca de 350.000 casos (Braz e Pereira, 2004). Outra mudança epidemiológica substancial, em anos recentes, ocorreu na distribuição das espécies de plasmódios: em meados da década de 1980, as infecções por *P. falciparum* e *P. vivax* eram igualmente prevalentes, mas em 2003 quase 80% dos casos notificados deviam-se a *P. vivax* (Braz e Pereira, 2004). De 2007 a 2009, a incidência da malária na Amazônia Legal manteve-se relativamente constante para *P. vivax* e tendência de queda no número de casos de *P. falciparum* a partir de 2007 (Tabela 1) (Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010).

Tabela 1- Casos de malária por espécie na Amazônia Legal entre os anos de 2003 e 2009.

Espécie	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Pv	320.378	354.365	449.033	402.494	257.592	266.451	257.600
Pf	83.776	104.396	146.926	136.605	63.811	46.200	47.635
Pv+Pf	4.398	6.026	8.018	8.991	3.417	2.985	3.040
Pm	298	216	211	228	103	78	97
Po ^a	24	1	7	6	4	2	3
Total	408.874	465.004	604.195	548.324	324.927	315.716	308.375

Pv: *P. vivax* Pm: *P. malariae*

Pf: *P. falciparum* Po: *P. ovale*

^a não há registros no Ministério da Saúde sobre a origem dos casos de *P. ovale*. Contudo, os casos, bem provavelmente, sejam importados ou até mesmo erro de digitação.

Fonte: SIVEP (SVS, 2010)

Na Amazônia brasileira, bem como em diversas áreas endêmicas do mundo, a distribuição da malária apresenta grande heterogeneidade espacial (Figura 4). Esta heterogeneidade torna-se ainda mais evidente nos inquéritos realizados em unidades espaciais

menores, como vilarejos e pequenas comunidades rurais. Pode ser explicada por diversos fatores, como a presença de criadouros de anofelinos e a distância entre eles e os domicílios humanos, as características de construção dos domicílios (que, em última instância, são determinadas por variáveis socioeconômicas), a densidade demográfica e o uso de medidas de proteção contra o mosquito (repelentes, mosquiteiros) e contra o parasita (quimioprofilaxia) (Gamage-Mendis et al., 1991; Trape et al., 1992; Adiamah et al., 1993; Koram et al., 1995; Thompson et al., 1997; Snow et al., 1998; Van Der Hoek et al., 1998; Ghebreyesus et al., 1999; Carter et al., 2000; Thomas e Lindsay, 2000; Clarke et al., 2002; Brooker et al., 2004) . No Brasil, são raros os estudos realizados com metodologia epidemiológica adequada para determinar fatores de risco para a malária. Algumas dessas informações provêm de um estudo de coorte publicado por Duarte et al. (2004), realizado em uma área de assentamento agrícola no norte do Mato Grosso. Trata-se, no entanto, de uma população de migração recente e de alta mobilidade, seguida por somente sete meses, um período relativamente curto. Nesse estudo prévio, não foi possível detectar qualquer associação significativa e independente entre as variáveis analisadas e o risco de malária (Duarte et al., 2004).

* Dados referentes ao ano de 2007. Os municípios foram estratificados em categorias de alto risco, médio risco, baixo risco e sem transmissão de acordo com os valores de incidência parasitária anual (IPA).

Figura 4- Distribuição da incidência parasitária anual (número de casos de malária registrados por 1.000 habitantes durante um ano) nos municípios brasileiros localizados em áreas endêmicas de malária.

Fonte: Sivep_malária/SVS/MS, 2008.

São raros os estudos de coorte realizados no Brasil sobre a distribuição espaço-temporal dos casos de malária e seus determinantes em uma escala microgeográfica (vilarejo, localidade). Os dados usualmente analisados provêm dos arquivos do Ministério da Saúde. Esses dados permitem a visualização de tendências temporais e espaciais, mas não propiciam uma análise integrada de fatores de risco de natureza diversa (ambientais, socioeconômicos, demográficos, genéticos, comportamentais) em uma mesma população, nem permitem detectar a heterogeneidade existente no interior da comunidade. A ausência de dados dessa natureza é surpreendente, diante de sua importância para orientar as prioridades de aplicação de medidas de controle da malária em cada localidade (Carter et al., 2000).

1.4 A malária no Acre

O Estado do Acre tem uma área de 153.149,9 km² (3% da Amazônia Legal), com população de 655.385 habitantes (2,4% da população da Amazônia Legal) em 2007 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2008). Ele é dividido em duas mesorregiões (Vale do Acre e Vale do Juruá), cinco microrregiões (Cruzeiro do Sul, Tarauacá, Sena Madureira, Rio Branco e Brasileia) e 22 municípios (Cruzeiro do Sul, Mâncio Lima, Marechal Thaumaturgo, Porto Walter, Rodrigues Alves, Feijó, Jordão, Tarauacá, Sena Madureira, Santa Rosa do Purus, Manoel Urbano, Rio Branco, Acrelândia, Bujari, Capixaba, Plácido de Castro, Porto Acre, Senador Guiomard, Brasileia, Assis Brasil, Eritaciolândia e Xapuri) (IBGE, 1998).

O Vale do Acre possuía população estimada em 488.751 habitantes (IBGE, 2008) no ano de 2006 e é formado pelas microrregiões de Sena Madureira, Rio Branco e Brasileia. A primeira é composta pelos municípios de Sena Madureira, Santa Rosa do Purus e Manoel Urbano. A segunda pelos municípios de Rio Branco (capital do estado), Acrelândia, Bujari, Capixaba, Plácido de Castro, Porto Acre e Senador Guiomard. A última pelos municípios de Brasileia, Assis Brasil, Eritaciolândia e Xapuri (IBGE, 1998).

Em 2006, o Vale do Juruá possuía população estimada em 197.901 habitantes (IBGE, 2008). Essa mesorregião é formada pelas microrregiões de Cruzeiro do Sul e de Tarauacá. Na primeira estão os municípios de Cruzeiro do Sul, Mâncio Lima, Marechal Thaumaturgo, Porto Walter e Rodrigues Alves. Na segunda, estão os municípios de Tarauacá, Feijó e Jordão (IBGE, 1998).

Nos anos de 2001, 2002 e 2003, foram registrados no Acre entre 5.150 e 12.264 casos de malária, que correspondem a 2,1-3,0% dos casos de malária registrados na Amazônia Legal nesse período. Nos anos seguintes houve considerável aumento nos casos no Estado: 2004 (31.720 casos), 2005 (57.242 casos), 2006 (93.855 casos) e em 2007 (51.292 casos). No ano de 2006, a proporção dos casos de malária no Acre atingiu o maior valor: 17,1% dos casos registrados no resto da Amazônia Legal. Porém, após 2007, a incidência da doença passou a apresentar intensa queda: 2008 (27.730) e em 2009 (27.621) (Tabela 2) (SVS, 2010).

Tabela 2- Casos de malária por espécie no Estado do Acre entre os anos de 2003 e 2009.

Espécie	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Pv	9.087	23.346	42.519	61.025	41.363	23.369	23.653
Pf	3.129	8.215	14.295	31.314	9.592	4.202	3.880
Pv+Pf	48	159	428	1.524	339	159	88
Pm	0	0	0	0	0	0	0
Po	0	0	0	0	0	0	0
Total	12.264	31.720	57.242	93.863	51.294	27.730	27.621
Pv: <i>P. vivax</i>		Pm: <i>P. malariae</i>					
Pf: <i>P. falciparum</i>		Po: <i>P. ovale</i>					

Fonte: SIVEP (SVS, 2010)

A malária no Estado do Acre concentra-se preferencialmente na mesorregião do Vale do Juruá, de onde se originam até 80% dos casos, embora em algumas outras regiões tenham o índice parasitário anual (IPA) considerado elevado, como observado em 2006 (Figura 5) (Secretaria de Saúde do Estado do Acre, 2007). Nessa mesorregião o Ministério de Saúde do Brasil, em conjunto com as autoridades em saúde locais, vem administrando desde junho de 2006 a associação dos medicamentos artesunato e mefloquina, com resultados promissores até o momento na redução dos casos de malária por *P. falciparum* desde junho de 2006 (Tabela 2).

Figura 5- Estratificação do risco de transmissão de malária nos municípios do Acre no ano de 2006.
Fonte: SESACRE (2007).

Acrelândia, no extremo leste do Estado, durante a fase deste estudo foi um dos municípios acreanos de alto risco para malária, segundo o critério adotado pela FUNASA (IPA acima de 50 casos por 1.000 habitantes) (Figura 5). Com 1,8% da população do estado, Acrelândia contribuiu em 2009 com 0,6% dos casos de malária notificados no Acre. Apresentando queda desde 2003, quando o município respondeu por 6,3% das malárias do Estado. Essa mudança relativa deveu-se basicamente ao aumento da incidência malária no período no extremo oeste do Acre, nos municípios de Cruzeiro do Sul, Mâncio Lima e Rodrigues Alves. Embora a incidência de malária em Acrelândia também tenha diminuído substancialmente (Tabela 3), (SVS, 2010).

Tabela 3- Casos de malária por espécie no município de Acrelândia entre os anos de 2003 e 2009.

Espécie	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Pv	593	1.054	703	966	664	270	128
Pf	173	425	194	319	290	65	33
Pv+Pf	2	7	1	8	4	1	2
Pm	0	0	0	0	0	0	0
Po	0	0	0	0	0	0	0
Total	768	1.486	898	1293	958	336	163

Pv: *P. vivax*Pm: *P. malariae*Pf: *P. falciparum*Po: *P. ovale*

Fonte: SIVEP (SVS, 2010)

1.5 A ocupação da Amazônia brasileira

O entendimento acerca do processo de ocupação da Amazônia brasileira passa necessariamente por três grandes ciclos econômicos nos quais a região esteve inserida e, de certa forma, ainda faz parte da atual realidade local: a exploração das “drogas do sertão”, o ciclo da borracha e os grandes projetos.

1.5.1 A exploração das “drogas do sertão” e o surgimento da oligarquia fundiária na Amazônia

O termo “drogas do sertão” foi cunhado na época do Brasil colonial durante o processo de interiorização da ocupação portuguesa e referia-se a especiarias consideradas exóticas e não existiam na Europa dos séculos XVI e XVII, que eram a canela, a castanha, o cravo, o guaraná, a pimenta, o urucum e a baunilha.

Nesse contexto, as Entradas e as Bandeiras realizaram importante papel no processo de ocupação das regiões ainda inexploradas pelos portugueses. A primeira recebia financiamento direto da Coroa de Portugal, já a segunda, eram iniciativas de particulares, os chamados bandeirantes. Ambas foram expedições organizadas para explorar o interior da

colônia e procurar riquezas minerais, como ouro, prata e pedras preciosas. Também tinha o objetivo de caçar e apresar índios destinados à escravidão.

As primeiras Entradas datam de 1505, com o nobre e militar português Martim Afonso de Souza, e declinaram no final do século XVII. Neste período surgiram as Bandeiras e se estenderam por todo o século seguinte. As expedições organizadas por particulares dedicaram-se, a princípio, à caça e apresar índios e escravos fugitivos.

A foz do rio Amazonas era uma região de intenso contrabando realizado por holandeses, franceses e ingleses, os quais tinham imenso interesse nos produtos típicos da região e que alcançavam grande preço na Europa. Nesse contexto e com o objetivo de conter o contrabando, em 1616 o capitão-mor português Francisco Caldeira Castelo Branco fundou o Forte do Presépio, originando a atual cidade de Belém (Wikipédia, 2010).

Com a criação da companhia Geral de Comércio do Grão-Pará e Maranhão, empresa monopolista, no governo do primeiro-ministro Marques de Pombal, em 1755, o caráter mercantil na Amazônia fica mais patente. Os jesuítas foram expulsos em 1759 e a escravidão da mão de obra indígena foi intensificada dentro das sesmarias, grandes áreas de terra que foram distribuídas a militares e àqueles com algum laço com a nobreza portuguesa. Contudo, ainda em 1756, iniciou-se uma nova realidade econômica onde agricultura tomava cada vez mais destaque com a exploração da cana-de-açúcar, do cacau, do café, do algodão, do fumo, do anil e do arroz a mão de obra indígena foi substituída pelo trabalho escravo do negro africano. Além da agricultura na região do Grão-Pará e Maranhão, aconteceu nesse período a implantação da pecuária nos campos de Rio Branco (atual Roraima), Baixo Amazonas e no arquipélago de Marajó (Sacramento e Costa, 2008). A partir da atividade agrícola na região surgiu a oligarquia latifundiária que se tornou importante no cenário geográfico, político e econômico da Amazônia (Gonçalves, 2001).

1.5.2 O ciclo da borracha: do eldorado à desilusão

No final do século XIX, o Brasil passou a suprir a necessidade da emergente indústria automobilística, principalmente a norte-americana. Para atender a demanda do hemisfério norte, um grande contingente de brasileiros da região nordeste do país foi deslocado para a região amazônica, mais precisamente para os estados do Amazonas e do Pará, em busca do eldorado. Formava-se assim o primeiro ciclo da borracha.

Esses nordestinos, a maioria paupérrimos fugindo da seca da década de 1870, invadiram seringais nativos descobertos na região onde hoje é o Estado do Acre, o que levou a

um conflito armado entre seringueiros e militares bolivianos: A Revolução Acreana ¹⁵.

No início do século seguinte, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial de borracha, chegando a exportar, em 1910, em torno de 40 mil toneladas do “ouro branco” beneficiado.

A Amazônia passou a apresentar grande crescimento econômico devido à exploração da seringueira. Cidades, como Manaus e Belém, ganharam vida. Prédios, estradas, escolas e teatro foram construídos; o comércio interno fervilhava e a renda dos habitantes melhorou significativamente. Essas cidades possuíam na época infraestruturas que outras cidades do Brasil não possuíam. Belém, conhecida na oportunidade como Paris n’América, possuía bondes elétricos e avenidas construídas sobre pântanos aterrados que em outras cidades brasileiras ainda não era realidade. Além de também possuírem, tanto Belém quanto Manaus, luz elétrica e sistema de água encanada e esgoto. Em Manaus, a renda per capita era duas vezes maior que a da região produtora de café no sudeste do Brasil (São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo) (Dean, 1989).

Benchimol (1981) ¹⁶ apud Sacramento e Costa (2008), levantou dados censitários no período do primeiro ciclo da borracha e encontrou que na Amazônia havia 332.847 habitantes em 1872, passando para 1.439.052 habitantes em 1920, correspondendo ao crescimento de 332,0% da população local.

No começo da década de 1920 a exportação da borracha brasileira declinou levando a diminuição da produção na Amazônia, devido à produção asiática, no Ceilão, Indonésia e Malásia, realizada por empresários holandeses e ingleses. Com a redução da produção brasileira, a economia na Amazônia enfraqueceu, as cidades se esvaziaram e entraram em plena decadência. Como consequência, houve queda na receita dos Estados, levando a altos índices de desemprego e ao êxodo rural e urbano. Os seringueiros passaram a se fixar nas periferias das cidades. Encerrava-se assim o primeiro ciclo da borracha.

O segundo ciclo da borracha aconteceu de 1942 a 1945, reacendido pela necessidade da indústria bélica durante a II Guerra Mundial, pois os seringais no Pacífico Sul estavam ocupados militarmente pelos japoneses, levando à queda de 97% da produção da borracha asiática. Com isso, houve novo crescimento das principais cidades da Amazônia

¹⁵ Revolta popular armada brasileira que ocupava o que é hoje o Estado do Acre contra a Bolívia, a qual possuía a soberania da área. Iniciou em 1899 e terminou em 1903, com o Tratado de Petrópolis, pelo qual a Bolívia entregou a região ao Brasil em troca de 2 milhões libras esterlinas e da construção de uma estrada de ferro que ligaria Porto Velho a cidade de Guajará-Mirim na fronteira com a Bolívia: a ferrovia Madeira-Mamoré.

¹⁶ Benchimol S. Amazônia Legal na década de 70/80: Expansão e concentração demográfica. Manaus, CEDEAM/UA, 1991.

com grandes investimentos, principalmente dos Estados Unidos, em infraestrutura, como a construção de hotéis de luxo, do aeroporto e da base aérea de Belém (Sacramento e Costa, 2008).

O presidente Getúlio Vargas encontrava-se, na oportunidade, com dois grandes problemas: a seca no Nordeste do Brasil e a carência de trabalhadores para a extração da borracha nos seringais da Amazônia para garantir a borracha aos aliados. A solução encontrada foi o alistamento de nordestinos, muitas vezes arrancados do seio familiar, para trabalharem nos seringais da Amazônia, levando a um novo “ânimo” na colonização da região. Tal operação ficou conhecida como a Batalha da Borracha e aqueles que para a região foram deslocados eram chamados de soldados da borracha.

O governo brasileiro necessitava cumprir o acordo com os Estados Unidos e passar a elevar a produção de 18 mil para 45 mil toneladas de borracha e, para isso, o Brasil recebia dos EUA US\$100,00 para cada trabalhador deslocado para a região amazônica. A necessidade para cumprir a meta era de aproximadamente 100 mil homens. Milhares de trabalhadores foram deslocados para a região, sendo que o maior contingente era do Nordeste. Estima-se que em torno de 54 mil o número de soldados da borracha na época, sendo a maioria deles formada por cearenses, que corresponderam a aproximadamente 30 mil homens. Eles recebiam “treinamento” sobre a Amazônia e a extração do látex somente quando chegavam à região. Completamente ignorantes acerca das reais condições de trabalhos a que seriam submetidos, fincavam-se nos seringais em regimes de escravidão (Dean, 1989).

Ao final da guerra, as promessas do governo federal de reconhecimento como heróis, com aposentadoria equiparada à dos militares e o retorno à terra natal, não se cumpriram. Em torno apenas de seis mil deles conseguiram retornar aos seus antigos lares, e quase sempre por meios próprios. A grande parte deles morreu vítima de assassinato atribuído aos seringalistas, de doenças como a malária, febre amarela, hepatite ou por animais perigosos da selva. Calcula-se em 30 mil o número de combatentes mortos nos seringais, enquanto que nos campos europeus houve aproximadamente dois mil homens mortos em ação (Sacramento e Costa, 2008).

Aqueles que sobreviveram ficaram retidos na região por não ter dinheiro para a viagem de volta, ou devido ao fato de estarem completamente endividados com os seringalistas, que eram os donos dos seringais. Essas dívidas eram adquiridas em uma relação econômica extremamente desvantajosa para os seringueiros, os quais se mantinham atrelados

ao comércio dominado pelos barões da borracha, que ficavam com cerca 40% de toda a produção obtida com a extração do látex (Dean, 1989).

Somente em 1988 os soldados da borracha foram reconhecidos como combatentes da II Guerra Mundial, diferentemente dos soldados que foram para os campos de combate na Europa, que receberam tal reconhecimento prontamente ao final da guerra e cujas pensões ainda superam em muito os valores que são atualmente pagos àqueles que foram aos “campos de combate” na Amazônia.

1.5.3 Os grandes projetos na Amazônia após o ciclo da borracha

Em 1966, logo no início do governo militar (1964 a 1985), houve mudança na orientação em relação à Amazônia. Contudo, o processo de ocupação e a compreensão sobre as diversidades geográficas não foram menos desastrosas do que aquelas implementadas em anos anteriores.

Nesse contexto de ocupação e desenvolvimento da região amazônica a qualquer custo, foi criada a Zona Franca de Manaus (ZFM) em 1967, para promover a industrialização de Manaus, de cidades e de estados vizinhos. Contudo, coube à ZFM boa parte da responsabilidade de um novo êxodo do interior para capital do Amazonas, nesse período. Camponeses e ribeirinhos, tanto do Amazonas quando de outros estados, deslocaram-se para a periferia de Manaus em busca de melhores condições de vida e se juntaram àqueles que para lá já haviam se deslocado após os dois ciclos da borracha.

Também foi criado o Projeto Carajás, para a exploração mineral, numa área de 900 mil Km² entre os rios Xingu, Tocantins e Araguaia, implantado entre os anos de 1979 a 1986, levando com frequência a conflitos de terra com os camponeses e com os índios e a grandes prejuízos ao meio ambiente.

Houve expansão da rede de telecomunicação e de hidrelétricas e novas estradas foram construídas, como a BR 364 e a Transamazônica. O governo federal tomou posse, então, de 100 Km de faixa de terra em ambos os lados das rodovias para assentamento de 100 mil trabalhadores. Contudo, alcançaram-se somente 10 mil assentados. Com isso, o governo concentrou forças sobre os polos de desenvolvimento, principalmente aqueles ligados à mineração e aos projetos agropecuários, cujo enfoque era mais pecuário que agrícola (Sacramento e Costa, 2008).

Os vários projetos de exploração e ocupação da Amazônia levaram, sem dúvida, a um grande crescimento demográfico quase sempre desordenado. Dos 332.847

habitantes em 1872 saltou para cerca de 20 milhões no ano de 2000 (Figura 6) (Ferreira e Salati, 2005).

Figura 6- Crescimento populacional da Amazônia legal entre os anos de 1808 e 2000.

Fonte: Ferreira e Salati, 2005 .

1.5.3.1 Os Projetos de Assentamentos Dirigidos na Amazônia e a íntima relação com o desmatamento

O Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), órgão do governo federal, nomeou inicialmente, na década de 1970, os projetos de distribuição de terra como Projetos Integrados de Colonização (PIC). Nestes projetos, era de total responsabilidade do INCRA o fornecimento dos lotes, a organização do território e da infraestrutura de apoio aos colonos. Esses lotes possuíam 100 ha de área e eram destinados claramente aos camponeses. Contudo, os Projetos de Assentamentos Dirigidos, possuíam lotes bem maiores, da ordem de 250, 500 e 1.000 ha, com a característica de favorecer aos profissionais liberais, cuja experiência em aquisição de créditos bancários de incentivo à produção era bem maior do que a dos camponeses (Lisboa, 2009).

A política de ocupação desencadeada pelo governo federal não levava em conta o meio ambiente. Ao contrário, o INCRA institucionalizou as derrubadas ao fornecer o título definitivo da terra àqueles posseiros que moravam no local, possuíam alguma cultura

vegetal e que tivessem derrubado 50% de área da floresta (Fearnside, 2005 ¹⁷ apud Lisboa, 2009).

A propaganda do INCRA veiculada na oportunidade foi tão intensa e desgovernada que milhares de trabalhadores de todos os lugares do Brasil, principalmente das regiões sul e sudeste migraram para a região. O fluxo migratório foi tão intenso que o órgão não conseguia suprir a procura por terra. Tem-se assim a criação do Projeto de Assentamento Rápido (PAR), com o objetivo de regularizar as ocupações clandestinas em curso e para prestar maior assistência técnica e de infraestrutura a essas populações. Contudo, mesmo nos assentamentos oficiais essa assistência não era a realidade. De tal forma que os colonos eram (e ainda são) entregues à própria sorte das inóspitas condições da floresta (Lisboa, 2009).

As precárias condições a que ficaram submetidos os colonos, sem condições adequadas para o plantio e a alta valorização das propriedades agrícolas favoreceram a intensificação da especulação fundiária da década de 1980. Isso proporcionou o surgimento de grandes latifúndios na Amazônia e a migração dos trabalhadores rurais para as áreas urbanas, geralmente nas periferias, e para as áreas de garimpo que afloravam principalmente no Pará e Rondônia.

A estratégia de exploração da área fornecida ao colono e estimulada pelo governo militar no Brasil outrora ainda reflete atualmente no comportamento dos assentados. Não há mais a exigência estatal para que 50% de área de floresta sejam derrubados dentro do lote fornecido. Contudo, o abandono a que frequentemente fica submetido o colono, no que diz respeito ao fornecimento de infraestrutura ao plantio, faz com que se utilize o fogo para a limpeza das áreas destinadas ao plantio e, em anos posteriores, realiza-se o mesmo com outras áreas ainda não exploradas, tendo em vista que as áreas anteriormente queimadas tornam-se de baixa produtividade nos anos seguintes.

Para Brandão Jr e Souza Jr (2006), a taxa de desmatamento nos assentamentos é quatro vezes maior do que a taxa média do desmatamento em outras áreas da Amazônia. A maioria da floresta destruída concentra-se no chamado arco do desmatamento, onde estão localizados os 1.354 assentamento registrados entre 1970 e 2002, correspondendo a uma área que acompanha as principais rodovias da região e tem parte dos Estados do Maranhão, Pará, Mato Grosso, Amazonas, Rondônia e Acre como principais contribuintes da destruição da

¹⁸ INPE, PRODES digital. Disponível em <http://www.obt.inpe.br/prodes/index.html>. Acessado em 16 de outubro de 2010.

mata (81%) (Figura 7). O Acre, Amapá e Roraima, por sua vez, contribuíram juntos com 15% de todo o desmatamento da Amazônia Legal, sendo que a área total acumulativa do desmatamento na região até 2004 correspondeu a 696 mil Km² (Brandão Jr e Souza Jr, 2006).

Figura 7- Desmatamento até 2002 e nos anos de 2002 e 2003 nos projetos de assentamentos agrícolas do INCRA.

Fonte: INPE, PRODES digital, 2004¹⁸.

¹⁸ INPE, PRODES digital. Disponível em <http://www.obt.inpe.br/prodes/index.html>. Acessado em 16 de outubro de 2010.

A área disponibilizada pelo INCRA para os projetos de assentamento na Amazônia aumentaram de dois milhões para 14 milhões de hectares entre os anos de 1995 e 2002, saltando de 161.500 famílias assentadas em 1994 para 528.571 no ano de 2002 (Barreto, 2005 ¹⁹ apud Silva-Nunes, 2008) . Essa rápida pressão da ocupação dos assentamentos reflete-se na elevação do desmatamento na região (Figura 8) (Ferreira e Salati, 2005).

Figura 8- (a) Taxa de desmatamento anual e (b) desmatamento bruto total na Amazônia Legal.
Fonte: INPE, 2002 ²⁰ apud Ferreira e Salati, 2005.

¹⁹ Barreto P, Souza JR C, Noguerón R, Anderson A, Salomão R. Pressão Humana na Floresta Amazônica Brasileira. Belém: World Resources Institute; 2005. 84 p.

²⁰ INPE. Disponível em <http://www.obt.inpe.br>. Acessado em 18 de outubro de 2010.

1.5.3.2 O PAD Pedro Peixoto: da criação à destruição

O PAD Pedro Peixoto foi criado em 1977 dentro da política de rápida ocupação da Amazônia promovida pelo governo militar da época. Localiza-se no Estado do Acre, entre os paralelos 9° 05' e 10° 30' S e meridianos 66° 41' e 67° 40' W. Limita-se ao norte e nordeste pelo Estado do Amazonas, a leste e sudeste pelo rio Abunã, na fronteira com a Bolívia, e a oeste pela BR-317 (Figura 9) (Silva-Nunes, 2008).

Figura 9- Mapa do Estado de Acre mostrando o PAD Pedro Peixoto.

Esse PAD possui área de 367.686,62 ha, os quais estão distribuídos ao longo dos municípios de Acrelândia, Senador Guiomard, Rio Branco e Plácido de Castro, onde se encontravam assentadas 4.225 famílias em 4.025 lotes até 1999 (Silva-Nunes, 2008). Ele é considerado o mais antigo e maior projeto de assentamento do Acre e vem desde sua criação passando por grandes modificações em sua paisagem, proporcionadas pelo avanço do desmatamento com o objetivo de abrir áreas para a agricultura e para a pecuária, a qual, segundo Barbosa (2003) é a atividade produtiva que mais exerce pressão sobre a

taxa de desmatamento na região, elevando de 2,6% ao ano no período de 1992 a 1996 (Barbosa, 2003). De tal forma que entre 1988 e 2007 foram desmatados 277.108,51 ha, correspondendo a 75,37% da área total ²¹ (Figura 10).

Figura 10- Avanço do desmatamento no PAD Pedro Peixoto no ano de (a) 1988, (b) 2000 e (c) 2007.

Fonte: SEMA/IMAC, 2008.

²¹ SEMA/IMAC – Secretaria do Meio Ambiente/Instituto do Meio Ambiente do Acre, 2008.

A epidemiologia da malária no Acre não vem sendo investigada de modo sistemático em anos recentes. As publicações disponíveis referem-se a estudos sobre a susceptibilidade a antimaláricos, em isolados de *P. falciparum* da região de Rio Branco, na década de 80 (Kremsner et al., 1988; Kremsner et al., 1989) e ao papel de diferentes anofelinos na transmissão da malária, na década de 90 (Branquinho et al., 1993; Branquinho et al., 1996). No entanto, o Acre apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento de estudos epidemiológicos longitudinais sobre a malária: (a) continuidade administrativa no sistema estadual de saúde e sua integração com os programas de controle de endemias previamente gerenciados pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), (b) implantação do Programa de Saúde da Família (PSF) e do Programa de Interiorização do Trabalho em Saúde (PITS) em todos os municípios, incluindo as áreas rurais e (c) existência de uma universidade federal com profissionais e cursos da área de saúde, incluindo residência médica.

São raros os estudos nos quais a malária é estudada de dois modos durante o acompanhamento: em estudos transversais consecutivos e em estudo de coorte em que o desfecho (casos de malária) é analisado de duas formas diferentes (tempo para o primeiro evento e tempo entre os eventos recorrentes). Para a situação em que se consideram os eventos recorrentes de malária em uma coorte, não há na literatura relato de estudos semelhantes.

1.6 Objetivos

1.6.1 Geral

Identificar fatores de risco para aquisição de malária em uma população de um projeto de assentamento agrícola antigo na Amazônia brasileira.

1.6.2 Específicos

1. Descrever a densidade de incidência de malária em uma coorte sob risco contínuo de aquisição de malária;

2. Avaliar a distribuição espacial dos casos de malária na área da coorte sob estudo;
3. Investigar fatores demográficos, socioeconômicos, comportamentais e ambientais associados, de modo independente, ao risco de contrair malária em uma comunidade rural da Amazônia brasileira. Baseando-se na análise de: (a) dados originados de uma coorte de 531 indivíduos, com seguimento iniciado em março de 2004 e encerrado em outubro de 2006, que correspondem ao componente prospectivo do estudo, e (b) dados provenientes de registros de casos de malária diagnosticados nesses 531 indivíduos nos 38 meses que antecedem o estudo prospectivo (janeiro de 2001 a fevereiro de 2004), que constituem o componente retrospectivo do estudo.

2 Materiais e métodos

2.1 Área de estudo

Acrelândia, município instalado em janeiro de 1993, tem população de 11.520 habitantes (IBGE, 2007), com apenas cerca de um terço de sua população adulta nascida no local. Ocupa área de 1.607,5 km² situada entre os rios Abunã e Iquiri (também conhecido como Ituxi), no Vale do Rio Acre. A sede do município situa-se a 116 km a leste de Rio Branco, capital do estado do Acre. A Secretaria de Saúde do Acre (SESACRE) mantém onze postos de diagnóstico de malária no município, todos com microscopistas treinados; dez deles situam-se na zona rural. No município não há laboratórios privados.

A área de estudo compreende as localidades rurais conhecidas como Linha 14 Gleba Q e Reserva da Linha 14, definidas pela Coordenação de Controle de Endemias da SESACRE. A Linha 14 Gleba Q compreende ambas as margens dos dezesseis quilômetros finais da Linha 14, estrada não-pavimentada que se inicia na rodovia que liga Rio Branco a Porto Velho (BR-364). A Reserva da Linha 14 compreende as margens de uma estrada não-pavimentada que se origina no final (km 30) da Linha 14, perpendicularmente a ela, com curso paralelo ao do Rio Iquiri (Figura 9 e Figura 11). Neste estudo, essas localidades serão designadas coletivamente como Ramal do Granada, nome empregado pela população local para referir-se à Linha 14.

Encontram-se na área três postos de diagnóstico de malária mantidos pela SESACRE, no Km 16, Km 24 e Km 30 do Ramal do Granada. O maior deles, no Km 16, conta também com auxiliares de enfermagem treinados para a atenção primária à saúde (Figura 11).

Figura 11- Localização dos postos governamentais de diagnóstico de malária (triângulos) e dos domicílios (círculos) pertencentes à coorte.

O Ramal do Granada localiza-se no maior assentamento agrícola do estado do Acre, o Projeto de Assentamento Dirigido (PAD) Pedro Peixoto, criado pelo Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA) em meados da década de 1970 está localizado de 30 a 50 Km da área urbana do município de Acrelândia. As principais atividades econômicas são o cultivo de café e banana e a pecuária leiteira e de corte.

Mais de dois terços dos diagnósticos de malária no município são feitos através de busca passiva dos casos, a qual se caracteriza pela ida espontânea do indivíduo ao posto de diagnóstico. O vetor primário de malária na área é *Anopheles darlingi*, que corresponde a mais de 80% dos anofelinos capturados no local; *An. oswaldoi* é considerado relativamente raro na região (Secretaria de Estado da Saúde do Acre, dados não-publicados), ainda que tenha sido implicado como vetor primário de malária na região no início da década de 1990 (Branquinho et al., 1993; Branquinho et al., 1996).

A área de estudo foi dividida em quatro subáreas: do 14 ao 20 Km, do 20 ao 24 Km, do 24 ao 30 Km e do 30 Km ao final da Reserva da Linha 14. A distribuição dos ramais, por sua vez, segue uma ordem cronológica de ocupação da área, sendo que os

primeiros 10 km da área são compostos por assentamentos mais antigos, ocupados por famílias com melhor poder aquisitivo do que aquelas localizadas entre o quilômetro 24 e a Reserva da Linha 14. Além desse fator socioeconômico relacionado à posse da terra, a porcentagem de mata residual era maior após o 24 Km, devido às leis ambientais mais recentes que permitem o desmatamento de apenas 20% do lote para atividades agropecuárias. Cerca de 24,2% dos indivíduos residiam entre o 14 e o 20 Km; 26,5% residiam entre o 20 e o 24 Km; 36,1 % residiam entre o 24 e o 30 Km e 13,2 % residiam na Reserva da Linha 14.

2.2 Coorte bidirecional dos fatores de risco

2.2.1 Características do estudo

As principais características deste estudo de uma coorte aberta composta por 531 indivíduos seguidos até o final do estudo são:

- (a) o desenho epidemiológico de coorte prospectiva (32 meses: março de 2004 a outubro de 2006), com vigilância das infecções incidentes em uma população bem delimitada através de buscas ativa e passiva, associado a uma coorte retrospectiva (38 meses: janeiro de 2001 a fevereiro de 2004) constituída pela mesma população, formando assim a coorte bidirecional dos fatores de risco com 70 meses de seguimento (Figura 12);
- (b) a análise simultânea de parâmetros demográficos, socioeconômicos, comportamentais e ambientais potencialmente associados ao risco de contrair malária;
- (d) o controle estatístico adequado de possíveis variáveis de confusão.

Figura12- Descrição esquemática da coorte bidirecional dos fatores de risco (70 meses de seguimento), apresentando seus componentes retrospectivo e prospectivo. Os asteriscos indicam as datas de realização dos inquéritos domiciliares abrangendo toda a população da coorte.

2.2.2 Componente retrospectivo

O componente retrospectivo do estudo baseia-se em registros de casos de malária diagnosticados em todos os postos de diagnóstico existentes no município, entre os 531 indivíduos que compõem nossa população sob análise. Estes dados provêm predominantemente de busca passiva, entre janeiro de 2001 e fevereiro de 2004.

Os dados referentes a esse estudo retrospectivo constituem, juntamente com aqueles do estudo prospectivo, todas as informações que foram submetidas à análise estatística objetivada.

A partir dos dados obtidos no primeiro corte transversal em março de 2004, como idade, data de nascimento e tempo de moradia na casa, foi possível identificar todos os indivíduos que já estavam na área desde janeiro de 2001, início do estudo retrospectivo, e os que entraram posterior a esta data, para, dessa forma, calcular o tempo de permanência na área e, conseqüentemente, obter pessoa-tempo para cada indivíduo.

2.2.3 Componente prospectiva

Visitas domiciliares: O censo populacional realizado pela equipe de campo em março-abril de 2004 incluiu todas as edificações (habitadas ou não) situadas na área de estudo. Inicialmente, foram identificados 473 habitantes (226 do sexo masculino e 247 do sexo feminino), com idade variando entre um dia e 90 anos (média de 23,5 anos), distribuídos em 114 domicílios. Esses indivíduos foram considerados elegíveis para ingresso em nossa coorte e convidados a participar do estudo. Ingressaram na coorte 98,7% dos indivíduos elegíveis; quatro indivíduos do sexo masculino e dois do sexo feminino declinaram da participação ou não foram encontrados em suas residências depois de pelo menos três visitas.

No final do estudo em outubro de 2006, essa coorte contou com 531 indivíduos distribuídos em 123 domicílios (média de 4,32 indivíduos por domicílio). Portanto, esses foram os representantes da população alvo do nosso estudo para efeito de análise da coorte bidirecional dos fatores de risco.

No primeiro inquérito transversal realizado por nossa equipe de campo, em março-abril de 2004, os objetivos do estudo foram expostos a cada família, para obtenção de

consentimento informado. Os seguintes procedimentos adicionais foram realizados quando houve consentimento: (a) aplicação de questionário para obtenção de dados demográficos, comportamentais, socioeconômicos e de morbidade pregressa, bem como uma descrição detalhada dos domicílios, (b) exame clínico de todos os habitantes do domicílio por um médico da equipe de campo, (c) coleta de amostra sanguínea venosa de todos os habitantes do domicílio com mais de cinco anos de idade para diagnóstico microscópico e molecular da malária, e (d) determinação da localização do domicílio com um equipamento portátil de global positioning system (GPS) Garmin eTrex, com precisão de 15 metros. As amostras sanguíneas foram obtidas independentemente do estado clínico atual dos indivíduos (busca ativa de infecção malárica).

Todos os domicílios foram revisitados em setembro-outubro de 2004 (segundo corte transversal), fevereiro-março de 2005 (terceiro corte transversal) e outubro de 2006 (quarto corte transversal), independentemente da ocorrência de agravos à saúde notificados ou diagnosticados pela equipe de campo, sendo seus habitantes submetidos aos procedimentos realizados no primeiro inquérito transversal.

Os objetivos destes inquéritos transversais complementares foram: (a) atualizar os dados demográficos, (b) diagnosticar infecções maláricas assintomáticas através de busca ativa e (c) diagnosticar outros agravos à saúde que tenham escapado à vigilância de morbidade.

Seguimento: A partir da visita inicial, todas as famílias foram mantidas sob vigilância de morbidade, através de pelo menos cinco visitas semanais (segunda a sexta-feira) da equipe de campo à área de estudo. Os indivíduos com febre e outros agravos à saúde foram orientados a procurar a equipe de campo (composta por um médico e um agente comunitário de saúde, ambos sediados em Acrelândia) para exame clínico e coleta de amostras sanguíneas daqueles com quadro clínico compatível com malária. Uma alíquota era destinada a exame microscópico no local, para instituir-se tratamento imediato (FUNASA, 2001) se o diagnóstico fosse confirmado.

O seguimento teve como finalidade detectar todos os episódios clínicos de malária incidentes entre habitantes da área de estudo. Esta busca foi complementada com: (a) uma verificação semanal de todas as notificações de malária no município para que as infecções contraídas na área, porém diagnosticadas em outros postos, não deixassem de ser computadas e (b) busca ativa de infecções, com o uso de microscopia convencional e

diagnóstico molecular, em inquéritos domiciliares abrangendo toda a população do estudo. Deste modo, a detecção de casos incidentes de malária entre março de 2004 e outubro de 2006 realizou-se com base tanto em busca passiva (situação em que os pacientes buscavam o serviço de diagnóstico de malária ou a equipe de campo por apresentarem sintomas), como em busca ativa (situação em que os agentes de saúde localizavam e coletavam amostras sanguíneas dos casos suspeitos sintomáticos) e também em busca ativa agressiva (situação em que os pesquisadores investigavam a presença de infecção malárica, durante os inquéritos transversais, independentemente da presença de sintomas).

A intensidade dos sintomas associados aos casos incidentes de malária foi avaliada com questionário estruturado desenvolvido e validado por Kurunaweera et al. (1998). Os sintomas clínicos pesquisados foram: cefaleia, mialgia, artralgia, calafrios, sensação de frio, sudorese, náusea, vômitos, anorexia, dor nas costas e dor em hipocôndrios, com intensidade definida pelos pacientes como ausente, leve, moderada ou intensa.

2.3 Critérios para os indivíduos ingressarem na coorte bidirecional dos fatores de risco

2.3.1 Critérios de inclusão

1. Morar na área do ramal do Granada: linha 14, reserva da linha 14 e suas adjacências;
2. Idade maior ou igual a cinco anos para coleta sanguínea e inferior a 5 anos, não sendo estes submetidos à coleta de sangue;
3. Consentimento informado do paciente ou de seus pais ou tutor legal (em caso de menores de idade), e ainda a concomitante aceitação dos pacientes menores de idade;
4. Aceitação do paciente em ser submetido a punções venosas ou em polpa digital.

2.3.2 Critérios de exclusão ou de perda após início do estudo

1. Recusa do indivíduo, de seus pais (em caso de menores de idade) ou de seu tutor legal em continuar no estudo;
2. Mudança do participante para fora da área de estudo;
3. Óbito do indivíduo.

2.4 Diagnóstico de malária

O diagnóstico microscópico de malária foi realizado em lâminas com gotas espessas e coradas com Giemsa segundo a técnica de Walker (FUNASA, 1995). Pelo menos 200 campos microscópicos de grande aumento foram examinados antes de definir-se o resultado de cada lâmina (Trape, 1985). Quando possível, as amostras de DNA dos indivíduos localizados e dispostos a serem examinados nos estudos transversais foram testadas para a presença de DNA de plasmódios humanos através da reação em cadeia da polimerase (PCR) aninhada descrita por Kimura et al. (1997) e modificada por Win et al. (2002). Todas as infecções diagnosticadas pela gota espessa foram tratadas segundo os protocolos atualmente preconizados pelo Ministério da Saúde (FUNASA, 2001).

Episódios de malária da mesma espécie com intervalo menor ou igual a 28 dias entre duas malárias sucessivas foram computados como um único caso e aqueles com espécies diferentes, possuindo intervalo de tempo igual ao da situação anterior, foram registradas como malária mista.

Malárias mistas (*P. vivax* e *P. falciparum*) foram somadas tanto para os casos relativos a uma espécie quanto para a outra, quando efetuados estudos isolados para cada um dos tipos de malária. Contudo, no estudo sem distinção do plasmódio, não houve essa inclusão simultânea, mas sim tratadas como eventos distintos (falcíparum, vívax e mista).

2.5 Termo de consentimento informado e esclarecido

Foram explicados em detalhes aos voluntários os objetivos e procedimentos do estudo, assim como seus direitos como participantes em linguagem acessível. Como a maioria no Brasil é de 18 anos, foi pedido àqueles que tinham 18 anos ou mais e estavam de acordo em participar que assinassem o Termo de Consentimento Esclarecido para Adultos. No caso dos pacientes menores de idade, foram explicados o propósito e os procedimentos do estudo aos pais ou tutores legais e lhes pedido a permissão para incluir seu filho no estudo, após, então, foi-lhes solicitado que assinassem o Termo de Consentimento Esclarecido para Menores de Idade. Quando possível, os termos foram assinados também por duas testemunhas, as quais eram pessoas não ligadas à equipe de estudo. No caso de pessoas analfabetas, foram-lhes pedido um consentimento verbal e a impressão digital sobre o termo após a leitura em linguagem apropriada.

Todas as informações dos participantes são confidenciais e qualquer paciente que decidisse não participar do estudo foi avaliado pelo pessoal de saúde de campo de maneira usual, recebendo o tratamento antimalárico padrão fornecido pela Fundação Nacional de Saúde. O médico de campo do estudo se prontificou a atender esse tipo de paciente, caso fosse solicitado.

2.6 Perda de seguimento

Considerou-se como perda quando, apesar dos esforços da equipe de campo, o paciente que não pôde mais ser encontrado durante o estudo, pelos mais diversos motivos, para seu seguimento e respectivas coletas sanguíneas. Deve-se diferenciar a perda do paciente da saída voluntária do estudo.

2.7 Saídas voluntárias e involuntárias

A retirada do estudo poderia ser voluntária, quando o paciente, pais ou tutor, decidissem não participar mais do estudo. Já a retirada involuntária ocorreu, por exemplo, quando apareceu uma enfermidade concomitante que pudesse interferir com a interpretação dos resultados ou na impossibilidade da continuidade no estudo, por motivos atribuídos ao participante.

2.8 Tratamento da malária

Todos os indivíduos com diagnóstico positivo pela gota espessa receberam tratamento segundo a posologia definida pelo Ministério da Saúde, de acordo com as recomendações de dezembro de 2001. Pacientes com malária por *P. vivax* receberam como tratamento de primeira escolha a cloroquina (250 mg do sal e 150 mg de base), administrando-se 10 mg de base/Kg no primeiro dia e 7,5 mg de base/Kg no segundo e igual dose no terceiro dia de tratamento, acompanhado de primaquina (comprimido de 8,8 mg do sal e 5,0 mg de base e comprimido de 26,4 mg do sal e 15,0 mg de base), fornecendo-se a dosagem de 0,5 mg de base/Kg diariamente, por sete dias contínuos desde o início do tratamento com cloroquina. Já para a malária por *P. falciparum* os agentes de saúde do Ramal do Granada utilizavam como primeira escolha a mefloquina (274 mg de cloridrato de mefloquina, equivalente a 250 mg de mefloquina-base), com posologia de 15-20 mg de base/Kg, dose única, e primaquina 0,75 mg/Kg no segundo dia. Quanto à malária por ambas

as espécies (*P. vivax* e *P. falciparum*), o esquema de tratamento mais utilizado na região era o de 15 a 20 mg/Kg de mefloquina no primeiro dia, seguido de 0,5 mg/Kg de primaquina por sete dias, desde o início do tratamento com mefloquina (Fundação Nacional de Saúde, 2001)

Para os indivíduos que apresentavam dificuldade de acesso até as suas residências os agentes de endemia da FUNASA forneciam todo o tratamento antimalárico e os orientavam sobre a posologia correta. Porém, para os demais, os comprimidos eram fornecidos diariamente em domicílio ou no posto de diagnóstico de malária. Contudo, aos finais de semana e feriados os comprimidos eram fornecidos previamente.

2.9 Análise estatística

Todos os dados foram digitados em planilhas Excel e/ou no SPSS 16.0. Quatro planilhas foram criadas para o armazenamento dos seguintes dados relativos ao estudo do componente prospectivo da coorte: (a) dados censitários (questionários aplicados a cada unidade familiar, n=123), (b) dados socioeconômicos, comportamentais, ambientais e de caracterização dos domicílios (questionários aplicados a cada família), (c) dados clínicos e laboratoriais (questionários aplicados a cada indivíduo, n=531) e (d) dados clínicos e laboratoriais sobre os casos incidentes de malária, na população de estudo, entre março de 2004 e outubro de 2006. Uma quinta planilha foi criada para armazenar os dados relativos aos casos de malária diagnosticados na população entre janeiro de 2001 e fevereiro de 2004 (componente retrospectivo da coorte). Todas as planilhas são interligadas através de variáveis comuns (número de registro dos indivíduos e número atribuído a cada domicílio visitado).

A caracterização do índice de riqueza de cada participante da coorte foi construída a partir da pontuação dos bens individuais presentes no domicílio de cada participante, da posse ou não da terra, do tipo de material empregado na construção da residência e do número de habitantes por cômodos, atribuindo-se peso a cada variável conforme descrito por Filmer (2001) e utilizado por Silva-Nunes et al. (2008) para dados da mesma área deste estudo. Os escores de cada variável foram somados para compor a pontuação do índice de riqueza de cada agregado familiar. Os índices foram estratificados em quartis em ordem decrescente, onde o primeiro quartil correspondeu aos 25% indivíduos mais ricos (Silva-Nunes et al., 2008).

Os dados relativos à pluviosidade de Acrelândia não são registrados por nenhuma instituição governamental ou privada. Por isso, para o estudo de malária *versus*

chuva no Ramal do Granada utilizaram-se informações dos índices pluviométricos de Rio Branco, distante 116 Km a oeste da área de estudo. Esses índices foram agrupados em três categorias: (a) baixa pluviosidade, meses de junho a setembro, (b) média pluviosidade, de março a maio e (c) alta pluviosidade, correspondendo aos meses de outubro a fevereiro, conforme utilizado por Silva-Nunes et al. (2008).

As atividades ocupacionais dos indivíduos foram categorizadas em derrubada no Iquiri, derrubada em outro local, agricultura/pecuária e outras ocupações não especificadas, agrupando aquelas que teoricamente apresentariam riscos semelhantes de aquisição de malária. Nas categorias outras ocupações não especificadas encontram-se aquelas que teriam menor risco para malária, como professor, estudante e agente de saúde e realizar derrubada no Iquiri seriam as com maior risco.

Para o estudo de sobrevivência, a idade e o tempo de Acrelândia foram categorizadas conforme estudo prévio, cujos estratos utilizados em modelos multivariados mostraram que o risco de ter malária por qualquer uma das espécies aumentou nos primeiros cinco anos de residência na área e depois declinou posteriormente. Algo semelhante também ocorreu com a idade dos participantes, mostrando maior risco nos primeiros cinco anos de vida (Silva-Nunes et al., 2008; Silva-Nunes, 2008). As categorias utilizadas para a idade, portanto, foram menor que 6 anos, de 6 a 10 anos, de 11 a 15 anos, de 16 a 30 anos e maior que 30 anos; para o tempo de Acrelândia foram menor que 6 anos, de 6 a 10 anos, de 11 a 15 anos, de 16 a 20 anos e maior que 20 anos.

A escolaridade (anos de estudo) foi estratificada em menos de um ano de estudo, de 1 a 4 anos, de 5 a 8 anos e mais de 9 anos de estudo, correspondendo, respectivamente, a analfabeto ou semi-analfabeto, aos quatro primeiros anos do primeiro grau, aos quatro últimos anos do primeiro grau e ao segundo grau (completos ou incompletos), pela Lei de Diretrizes Bases da Educação Nacional (LDB), número 5.692, de 11 de agosto de 1971.

2.9.1 Estudo descritivo

O estudo descritivo da densidade de incidência de malária foi realizado em coorte aberta (ou seja, cujos participantes podem entrar ou sair no decorrer do estudo), sendo o denominador calculado com base em número de pessoas-tempo.

A data de entrada na coorte foi considerada como: (a) a data de nascimento, (b) a data de chegada na área de estudo ou (c) 01 de janeiro de 2001, tomando-se desta forma a data mais recente das três possíveis entradas. Indivíduos que deixaram a área de estudo antes de outubro de 2006 foram considerados perdidos para seguimento desde a data em que se afastou. As datas de entrada e saída foram consideradas para estimar o número de pessoas-ano em risco durante o seguimento.

As idades e o tempo de Acrelândia sofreram correções ano a ano ao longo dos 70 meses de seguimento, por admitir que o comportamento e a imunidade do indivíduo podem sofrer alterações dentro deste período, de tal forma que um recém-nascido no Granada teria esses fatores bem diferente de uma criança de quase 6 anos de vida.

2.9.2 Análise espacial

A análise espacial da incidência de malária foi realizada através do programa de domínio público SaTScan 7.0.3, escrito por M. Kulldorf e disponível em <http://www.satscan.org>. O objetivo desta análise foi determinar se os casos de malária se distribuíam de maneira aleatória no espaço da área de estudo. Caso a distribuição não fosse aleatória, o programa permite testar a significância estatística dos aglomerados (*clusters*) encontrados. A investigação de aglomerados no espaço foi feita com base em janelas circulares centradas em cada domicílio da área de estudo. O raio da janela circular que o programa analisa em torno de cada ponto geográfico varia até um limite pré-definido pelo investigador em termos do percentual máximo de pontos (ou seja, domicílios) a serem incluídos no aglomerado (limite: 50%). A localização e as dimensões da janela associada com o maior valor de verossimilhança são utilizadas para definir o *cluster* mais provável, ou seja, avalia se as infecções são mais predominantes dentro dessa janela específica do que fora delas. A significância desse *cluster* e do segundo mais provável foi testada através de simulações de Monte Carlo, com 100.000 replicações e utilizando Poisson como modelo de probabilidade. Foram considerados estatisticamente significantes *clusters* com valor-p inferior a 0,05. Foram analisadas separadamente: (1) infecção por qualquer espécie de parasita da malária durante o acompanhamento; (2) infecções por *P. falciparum* e (3) infecções por *P. vivax*.

2.9.3 Análise de sobrevivência

Somente os casos diagnosticados pela gota espessa durante o acompanhamento longitudinal e nos quatro estudos transversais foram submetidas à análise de sobrevivência (bem como para o estudo descritivo e para a análise espacial). Portanto, casos diagnosticados pela PCR durante os estudos transversais não entraram nessa análise.

Inicialmente, foram apresentadas as distribuições dos indivíduos por estratos de uma determinada covariável em relação às demais estudadas. Porém, aquelas sem sentido lógico não foram mostradas, como, por exemplo, distribuição do sexo dos indivíduos por pluviosidade.

Para a análise de sobrevivência, foram utilizadas as seguintes covariáveis: idade categorizada (IdaCat), sexo (Sex), tempo de Acrelândia categorizada (TemAcriCat), pluviosidade (Pluv), atividade ocupacional (Ati), anos de estudo (AnoEstNat), índice de riqueza em quartil (IndRiqQua), localização do domicílio (LocKm), número de moradores no domicílio em quartil (NumMorQua), material do telhado (MatTel), tipo de parede (TipPar), material do piso (MatPis), forração do teto (ForTet), cozinha separada (CozSep), local da pescaria (LocPesDor), local da plantação ou roça (LocPlaRoç), uso de mosquiteiro (Mos) e as interações Sex*Ati e IndRiqQua*LocKm, que, logicamente, só foram analisadas se as covariáveis pertencentes a elas também fizessem parte do nível hierárquico em estudo.

Foram utilizadas somente essas duas interações por tê-las como as mais relevantes para a área e a população em estudo. O gênero do indivíduo pode ser determinante de qual tipo de atividade ele irá desenvolver dentro da comunidade local, bem como o poder econômico da família, no Ramal do Granada, tende a definir a localização do domicílio de cada família, ou seja, indivíduos mais abastados têm propensão a localizarem-se nos quilômetros iniciais do Granada. Além da relevância epidemiológica, utilizar grande número de interações, muitas sem relação entre si, não necessariamente produzirão modelos mais explicativos. Pelo contrário, o entendimento desses modelos quase sempre serão extremamente difícil ou, muitas vezes, impossível.

Os dados das covariáveis disponíveis para cada um dos 531 indivíduos pertencentes ao estudo, distribuídos em 123 domicílios dentro da área sob vigilância, foram

dispostos em seis planilhas em Excel: três planilhas para o primeiro evento de malária (uma para qualquer espécie, uma para malária vívax e outra para falcíparum) e três planilhas para múltiplos eventos de malária (uma para qualquer espécie, uma para malária vívax e outra para falcíparum). Com exceção da covariável pluviosidade, todas as demais covariáveis das seis planilhas foram tratadas como não dependentes do tempo, seja por não existir dados suficientes para ajustá-las ao longo dos 70 meses de seguimento, ou seja por não serem, simplesmente, em sua essência, dependentes do tempo. Dessa forma, para as covariáveis idade, tempo de Acrelândia e anos estudo os dados de cada indivíduo coletados no momento de sua entrada do estudo foram tomados para todo o tempo de seguimento.

Embora se reconheça que nem sempre o primeiro evento de malária a partir da entrada do sujeito no estudo fosse necessariamente a única infecção por plasmódio que o mesmo tivesse adquirido até então, o primeiro caso de malária diagnosticado dentro do período de seguimento foi chamado de primeiro evento de malária do indivíduo. Contudo, o primeiro caso real foi somente para aqueles que nasceram no Granada e para os que estavam imigrando de uma região sabidamente livre de malária. Entretanto, essa última informação nem sempre estava tão fielmente disponível, de tal sorte que todos os primeiros casos dos indivíduos da coorte foram considerados como a primeira malária.

Dois grupos de modelos foram construídos para comparação. No primeiro grupo montaram-se três modelos levando em conta o tempo até o primeiro evento (um para malária de qualquer espécie, um para vívax e outro para falcíparum); o segundo grupo correspondeu aos modelos para eventos recorrentes (um para malária de qualquer espécie, outro para malária vívax e um terceiro para falcíparum). Ao considerar os múltiplos eventos de malária, eleva-se, obviamente, o número de observações registradas e melhora-se o poder estatístico dos modelos construídos quando comparados com os modelos do primeiro evento; no entanto, as recaídas e recrudescência acabam, infelizmente, fazendo parte da análise como sendo um novo evento.

Na análise de eventos recorrentes, o indivíduo permaneceu no grupo de risco mesmo após a ocorrência do desfecho. Diferente do que ocorre na análise de evento único, na qual o participante saiu do estudo após a malária. A questão a ser respondida na análise de eventos múltiplos é: quais são os fatores de risco que estão associados aos tempos até às ocorrências de casos recorrentes em um mesmo indivíduo (Carvalho et al., 2005) ?

Na análise de eventos múltiplos para malária de qualquer espécie, para vívax e para falcíparum, as malárias adquiridas pelos indivíduos foram consideradas como eventos recorrentes não pontuais, os quais são caracterizados pela ausência de risco quando o indivíduo está passando por um evento.

Toda a análise de sobrevivência foi realizada utilizando-se o pacote estatístico R , versão 2.9.2, pacote survival. O R é uma linguagem e ambiente para computação estatística e para gráficos e está disponível em livre acesso em <http://www.r-project.org> .

2.9.3.1 Avaliação inicial da proporcionalidade dos riscos das covariáveis

Na situação hipotética em que todos os indivíduos fossem acompanhados até a ocorrência do evento, a função de sobrevida $S(t)$ é definida como a probabilidade de um indivíduo sobreviver além de um determinado tempo t (Carvalho et al., 2005), ou, em outras palavras, $S(t)$ é a probabilidade de uma observação não falhar até certo tempo t , ou seja, a probabilidade de o tempo de falha T ser maior do que o tempo t (Colosimo e Giolo, 2006) e é escrita como:

$$S(t) = Pr(T > t) \quad (3.1)$$

Entretanto, em estudos epidemiológicos o acompanhamento de todos os indivíduos até a ocorrência do evento quase sempre se torna impraticável. A estimação de $S(t)$ onde há indivíduos censurados é realizada através do estimador de Kaplan-Meier, o qual utiliza os conceitos de independência de eventos e de probabilidade condicional para encontrar a probabilidade de sobreviver até o tempo t (Carvalho et al., 2005) e na forma de produto é escrita como:

$$\hat{S}_{KM}(t) = \prod_{i: t_i \leq t} \frac{R(t_i) - \Delta N(t_i)}{R(t_i)} \quad (3.2)$$

Onde $N_i(t)$ é o número de eventos observados pela pessoa i até o tempo t e $R(t)$ é definido como o número de pessoas no grupo de risco no tempo t e, dessa forma, fica estabelecido que a cada tempo t_i em que houver um evento, a probabilidade de sobrevivência

$(\hat{S}_{KM}(t))$ será estimada pelo número de sobreviventes até aquele tempo $(R(t_i) - \Delta N(t_i))$ sobre os que estavam em risco naquele tempo $(R(t_i))$ (Carvalho et al., 2005).

O gráfico da função de sobrevida determinada por $\hat{S}_{KM}(t)$ gera uma função em escada onde a cada tempo em que ocorreu um evento há um salto, o qual possui tamanho diferente dependendo do número de eventos observados nesse tempo em particular, bem como do número de observações censuradas antes do salto.

Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier com estratificação das covariáveis foram geradas como ferramenta exploratória inicial para verificação visual do pressuposto de proporcionalidade do risco das covariáveis que serão incluídas no modelo. Curvas paralelas ao longo do tempo indicam proporcionalidade do risco; em contrapartida, curvas que apresentam entrelaçamento ou variação no paralelismo entre elas sugerem ausência de proporcionalidade. Contudo, essas condições devem ser avaliadas com prudência, pois pequenos entrelaçamentos ou distanciamentos mesmo assim podem denotar proporcionalidade. Pequeno número de observações pode fazer com que as curvas se distanciem em determinado momento.

2.9.3.2 Comparação das curvas de sobrevida pelos testes de hipóteses

As curvas de sobrevida foram comparadas pelo teste log-rank e pelo teste de Peto.

O teste log-rank é também conhecido como teste de Mantel-Haenzel. Ele compara os valores observados e esperados dos estratos das covariáveis sob a hipótese de que o risco é o mesmo em todos os estratos. A rejeição do teste representa que pelo menos uma curva é diferente das demais em algum momento do tempo. A estatística do teste segue uma distribuição χ^2 , com $k - 1$ graus de liberdade. Quando não há diferença estatisticamente significativa (valor-p $\geq 0,05$), diz-se que a curva de sobrevivência dos indivíduos pertencentes ao estrato é equivalente à curva de sobrevivência dos indivíduos em geral, ou, em outras palavras, a covariável não em efeito na sobrevida (Carvalho et al., 2005). Nesse teste há uma atribuição de igual peso para todo o eixo do tempo, reforçando o enfoque nos tempos maiores (Colosimo e Giolo, 2006).

Entretanto, o teste de Peto atribui maior peso aos eventos ocorridos no início da curva, quando ela é mais informativa e concentra a maior parte dos dados. Essa estatística também segue uma distribuição χ^2 , com $k - 1$ graus de liberdade (Carvalho et al., 2005).

2.9.3.3 Associação entre as covariáveis

As covariáveis foram testadas duas a duas através do teste do qui-quadrado, com valor- $p < 0,05$. Contudo, a avaliação foi feita somente para as comparações que faziam sentido lógico, ignorando as demais, como pluviosidade e idade, por exemplo.

Com essa comparação tem-se evidência se as covariáveis não são independentes, ou seja, se elas ocorrem na população de maneira associada. Variáveis fortemente associadas tendem a interferir na estimativa dos betas (β) do modelo. Contudo, neste estudo, mesmo aquelas covariáveis fortemente associadas permaneceram no estudo nas fases seguintes de seleção das covariáveis, sempre levando em conta *a priori* a importância epidemiológica das mesmas em detrimento da relevância estatística. Contudo, para a permanência ou das mesmas no modelo final a associação também foi levado em conta.

2.9.3.4 Selecionando as covariáveis

Quadros conceituais hierárquicos já foram propostos em outro estudo (Victora et al., 1997) para seleção das covariáveis que participarão do modelo final. Determinantes distais, como fatores socioeconômicos, podem afetar diretamente ou indiretamente todos os demais níveis, com exceção do sexo e da idade, os quais são mantidos em todas as fases do processo de seleção. Neste estudo, a pluviosidade também foi fixada como uma covariável obrigatória e livre de influência das demais covariáveis.

Segundo Victora et al. (1997), construir o quadro conceitual hierárquica exige conhecimento sobre os determinantes sociais e biológicos acerca da doença, bem como sobre os fatores temporais. Logo, tudo que foi aprendido sobre o Ramal do Granada durante o período de seguimento auxiliou diretamente na elaboração do processo de seleção das covariáveis.

Embora a teia de causalidade tenha sido mantida, conforme sugestão de Victora et al. (1997), na qual as covariáveis socioeconômicas foram mantidas no primeiro nível e as comportamentais e ambientais no nível subsequente, algumas modificações foram

realizadas neste estudo com o objetivo de chegar ao modelo mais parcimonioso possível e, portanto, possuindo também melhor poder explicativo.

O quadro hierárquico foi construído utilizando-se um nível de significância de 20% entre cada nível para a seleção das covariáveis que participaram do nível seguinte. As covariáveis socioeconômicas foram os determinantes distais; já, no estágio seguinte, as comportamentais e as domiciliares foram fixadas no mesmo nível e admitidas, portanto, como não tendo fatores hierárquicos determinantes entre ambas. Os dois pares de interações foram testados na presença das covariáveis selecionadas tanto nos determinantes distais quanto nos proximais (Figura 13).

Em cada um dos níveis hierárquicos as covariáveis, além do valor- $p < 0,20$, também foram investigadas quanto à inclusão da covariável e a mudança produzida na associação entre as demais covariáveis e o desfecho, capturando-se a modificação do efeito.

As covariáveis que apresentaram problemas de convergência no R, como o TemAcrlCat, não participaram do estágio seguinte mesmo que fossem estatisticamente significantes, pois caso contrário os betas das demais covariáveis seriam estimados erroneamente.

Figura 13- Processo de seleção das covariáveis pertencentes ao modelo final. Não mostrada avaliação do efeito da inclusão de cada uma das covariáveis nos níveis hierárquicos sobre as demais covariáveis e o desfecho.

2.9.3.5 Modelagem do tempo de sobrevida

No modelo de regressão de Cox a resposta objetivada é o tempo até a ocorrência de um determinado evento de interesse, ajustando por covariáveis, e utiliza dados oriundos de tempo de vida (Colosimo e Giolo, 2006). Esse modelo é dito semiparamétrico por não assumir nenhuma distribuição estatística para o risco basal $\lambda_0(t)$. Nele as covariáveis agem multiplicativamente sobre o risco. É escrito da mesma forma que o modelo de riscos proporcionais, ou seja, inclui um vetor de covariáveis x , um vetor de parâmetros a serem estimados (β) e considera um risco basal $\lambda_0(t)$, de tal forma que ajusta a função de risco $\lambda(t)$ (Carvalho et al., 2005), então:

$$\begin{aligned}\lambda(t|x) &= \lambda_0(t) \exp(x_1\beta_1 + x_2\beta_2 + \dots x_p\beta_p) \\ &= \lambda_0(t) \exp(x\beta)\end{aligned}\tag{3.3}$$

O vetor de parâmetro β mede os efeitos das covariáveis sobre a função de taxa de falha e é estimado pela verossimilhança parcial, a qual é o produto das verossimilhanças individuais e assume que os tempos de sobrevivência são contínuos, excluindo, dessa forma, a possibilidade de empates nos valores observados. Quando ocorrem empates entre falhas e censuras, convencionou-se que a censura aconteceu após a falha (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

Valores de β negativos indicam covariáveis que contribuem para a redução do risco do evento em questão; em contrapartida, os valores positivos indicam variáveis que contribuem para aumento desse risco.

A saída do R, além do β , apresenta também o HR, o qual nada mais é do que a razão de riscos (*Hazard Ratio*). Sua interpretação é simples: valores acima de 1 indicam sobre-risco, enquanto valores abaixo de 1 sinalizam como proteção.

O pressuposto da falta de alguma covariável que não foi coletada e, conseqüentemente, não incluída na análise múltipla, refletindo, assim, na limitação da capacidade de explicação do modelo fez com que neste estudo fosse utilizado o modelo de fragilidade.

Os indivíduos apresentam naturalmente grande heterogeneidade ou diferentes fragilidades que não são atribuídas a nenhuma característica medida. É claro que a coleta mais precisa e completa diminui ou até elimina a heterogeneidade. Contudo, na prática isso se torna impossível. Para amenizar essa situação, no modelo de fragilidade inclui-se um efeito aleatório, denominado fragilidade, para cada paciente.

A forma como esses efeitos aleatórios são incluídos parte do modelo de riscos proporcionais com o efeito aleatório atuando multiplicativamente sobre o risco de base (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

A fragilidade de um determinado indivíduo ou de um grupo é representada pela variável aleatória desconhecida Z , com média igual a 1 e variância ξ . Dessa forma, um indivíduo com covariável x e efeito aleatório $Z=z$ a função de risco será:

$$\lambda(t|x) = z\lambda_0(t) \exp(x\beta) \quad (3.4)$$

Variâncias com valores elevados indicam maior heterogeneidade, sugerindo que seja necessária a inclusão de um termo aleatório no modelo, que no caso dessa tese foi utilizado o domicílio como variável de fragilidade. No caso contrário, baixos valores de ξ indicam baixa heterogeneidade (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006). Entretanto, para calcular essa variância é necessário, antes de tudo, escolher a distribuição estatística para a variável aleatória. No caso deste estudo, a distribuição escolhida foi a gama. A escolha dessa distribuição baseia-se na plausibilidade biológica e, portanto, no que se conhece acerca do problema da malária no Ramal do Granada. É coerente admitir que na região houvesse uma proporção menor de indivíduos com riscos muito altos, justamente aqueles residentes na Reserva da Linha 14, e que existisse uma proporção maior de indivíduos com riscos excepcionalmente baixos, como os que moram entre os quilômetros 14 e 24, principalmente. Contudo, é de difícil aceitação admitir que na localidade houvesse alguma residência com risco nulo.

O entendimento acerca dos resultados obtidos no modelo de Cox usual e dos modelos de fragilidade difere basicamente no fato que no primeiro há a estimativa do risco médio populacional de um determinado evento ao comparar duas amostras aleatórias, enquanto no segundo realiza-se a estimativa do risco desse evento dado os indivíduos

pertencerem a uma mesma unidade agregadora, no caso, o domicílio (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

O teste de razão de verossimilhança, além de ter sido o teste de escolha para a seleção das covariáveis ao nível de 20%, também foi utilizado para avaliação da medida global do ajuste do modelo selecionado, com valor- $p < 0,05$.

As covariáveis pertencentes ao modelo final foram avaliadas através da função *summary* no R, fazendo-se uso do teste de Wald, o qual segue uma distribuição qui-quadrado, com nível de significância de 5% dentro dos estratos das covariáveis.

2.9.3.6 *Avaliando a qualidade do ajuste do modelo*

O poder explicativo das covariáveis no tempo de ocorrência do evento em um estudo (R^2) foi calculado para os modelos. Essa medida é um valor que está compreendido entre dois extremos: o menor valor que é o R^2 do modelo sem covariáveis (modelo nulo) e o limite superior de explicação, o qual seria um modelo em que cada indivíduo estaria completamente explicado, sem nenhum resíduo (modelo saturado). Dessa forma, o percentual de variabilidade explicada pelas covariáveis é simplesmente o R^2 de cada modelo dividido pelo R^2 do modelo saturado. Para Carvalho et al. (2005), esse valor muito raramente ultrapassa os 34,6%, devido ao fato que cada pessoa possui uma grande variabilidade individual impossível de ser medida.

Os modelos foram submetidos à análise dos resíduos de Schoenfeld com o intuito de investigar se a proporcionalidade do risco foi respeitada. Variáveis com forte inclinação tempo-dependente tendem a não possuir um efeito constante durante todo o tempo de observação (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

O gráfico de Schoenfeld facilita a interpretação do resultado. De acordo com a densidade de pontos, obtém-se uma linha que acompanha essa densidade e a essa linha adiciona-se o intervalo de confiança, permitindo avaliar se as oscilações estão não significativamente afastadas do zero. Quando o pressuposto do risco proporcional não é violado, a linha horizontal, que representa o efeito constante da covariável, deve estar dentro do intervalo de confiança. (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

Outra forma de avaliar a proporcionalidade dos riscos é através da correlação linear entre o tempo de sobrevida e o resíduo de Schoenfeld. Se houver a rejeição da hipótese

nula, que é de correlação igual a zero, para um qui-quadrado e valor- $p < 0,05$, rejeita-se, então, a proporcionalidade dos riscos (Carvalho et al., 2005; Colosimo e Giolo, 2006).

2.10 Riscos

Existiu um risco mínimo associado ao presente estudo. O indivíduo poderia experimentar um breve momento de incômodo e/ou temor durante a punção venosa e o local da punção poderia teoricamente infectar-se.

Uma minoria de pacientes poderia experimentar efeitos colaterais dos medicamentos. Os efeitos mais comuns à cloroquina compreendem náusea, dor de cabeça, visão borrada e prurido. Os efeitos colaterais comumente associados à primaquina são anorexia, náusea, vômito, dores abdominais e cólicas, os quais estão relacionados com a dose e são relativamente raros com as doses diárias de 0,50 mg de base/kg. Sintomas inespecíficos, tais como fraqueza e mal-estar, podem também ser relatados por pacientes.

As reações adversas mais graves, com doses mais elevadas, estão relacionadas com o efeito da primaquina nos elementos formados no sangue e medula óssea, resultando em leucopenia, anemia, supressão da atividade mieloide e meta-hemoglobinemia. Nas doses normalmente empregadas, a primaquina não costuma causar granulocitopenia. A ação hemolítica da primaquina aumenta em pessoas com deficiência de G6PD; em geral ela é leve e autolimitada.

2.11 Benefícios

Os pacientes que ingressaram na coorte puderam se beneficiar de acompanhamento médico durante o estudo, inclusive sendo examinados e tratados também de outras enfermidades concomitantes que porventura estivessem lhes acometendo ou aos moradores de sua residência, tendo em vista que o acompanhamento dos casos era realizado no domicílio dos pacientes com malária. Exames laboratoriais foram realizados pela equipe com o intuito de promover melhor assistência clínica aos integrantes do estudo. Os exames foram: Dosagem de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), β -HCG e hemograma.

Afora isso, compreender a densidade de incidência da malária em um período tão longo de seguimento de uma coorte, a sua distribuição espacial e os fatores de risco associados à sua aquisição podem ser fatores contribuintes para reduzir a morbidade e a mortalidade relacionadas a essa doença nessa e em outras populações.

2.12 Considerações Éticas

Este projeto é parte de um amplo programa de pesquisa sobre malária no Acre, previamente analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Possui parecer favorável da Comissão de Ética em Pesquisas em Seres Humanos – ICB/USP nº 791/CEP.

3 Resultados

3.1 Malárias na coorte

Dentre os 531 indivíduos seguidos ao longo dos 70 meses do estudo, exatos 277 (52,2%) foram do sexo masculino e 254 (47,8%) do sexo feminino (razão de masculino:feminino, 1,09:1), seguidos por uma média de 4,30 anos (mínimo de 30 dias e máximo de 5,83 anos) e, dessa forma contribuíram com 2281,53 pessoas-ano no seguimento.

Esses participantes caracterizaram-se por serem basicamente jovens com mínimo de 0,5 ano, máximo de 89,5 anos, média aritmética (μ) de 21,8 anos, mediana igual a 16,5 anos, desvio padrão (s) de 18,4 anos e variância (ξ) igual a 339,4. Essa característica de uma coorte constituída por população jovem também é visualizada em ambos os sexos, com distribuições bem parecidas (figura 14).

Figura 14- Distribuição das idades médias individuais entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 dos participantes da coorte.

Um total de 329 (62%) participantes do estudo permaneceram sem ocorrência de malária durante o estudo ($\mu=4,26$ anos de seguimento). Nenhum episódio de malária grave ou complicada foi diagnosticado.

Em 652 lâminas houve o diagnóstico de malária. Contudo, para efeito de estudo sem distinguir as espécies, foram consideradas 599 malárias após a utilização do

critério de malária única para episódios sucessivos com tempo inferior ou igual a 28 dias; correspondendo à média de 4,87 casos de malária por domicílio. A malária vívax, com 443 (74,0%), foi a de maior ocorrência no período do estudo. Nenhum caso de malária causada pelo *Plasmodium malariae* foi diagnosticada na coorte pela gota espessa (Tabela 4). Levando-se em consideração que para as análises por espécie os casos de malárias mistas foram computados simultaneamente para ambos os tipos de malária, o número total de vívax e de falcíparum passou a corresponder a 470 e 156 casos, respectivamente, com uma razão de 3,01:1 entre malária vívax e falcíparum (IC 95%, 2,51:1 a 3,63:1).

Tabela 4- Casos de lâminas positivas e de malária na coorte no período entre 2001 e 2006.

Espécie	LP	R	Mx	EMx	MalE
<i>P. v</i>	487(74,7%)	19(70,4%)	8(30,8%)	17(77,3%)	443(74%)
<i>P. f</i>	160(24,5%)	8(29,6%)	18(69,2%)	5(22,7%)	129(21,5%)
<i>P. v e P. f</i>	5(0,8%)	-	-	-	27(4,5%)*
Total	652(100%)	27(100%)	26(100%)	22(100%)**	599(100%)

P. v : Plasmodium vivax

P. f: Plasmodium falciparum

LP: Lâminas positivas

R: Episódios suspeitos de recrudescência excluídos (intervalo de tempo menor ou igual a 28 dias entre duas malárias da mesma espécie) e, portanto, admitidos como eventos de uma mesma malária

Mx: Malárias excluídas com intervalo menor ou igual a 28 dias entre duas malárias de espécies diferentes, e, portanto, admitidos como eventos de uma malária mista não diagnosticada anteriormente.

EMx: Malárias do primeiro episódio que eram vivax ou falcíparum e foram convertida em mistas após uso do critério de intervalo de tempo menor ou igual a 28 dias entre duas malárias de espécies diferentes.

MalE: Malárias admitidas no estudo após exclusão dos eventos de suspeita de recrudescência e de malária mista.

* Corresponde a 24 malárias mistas a partir do critério de 28 dias entre duas malárias de espécies diferentes (inclusive duas malárias mistas das cinco diagnosticadas pela gota espessa) e mais três malárias mistas restantes pela microscopia sem outras malárias subsequentes.

** Este valor não faz parte da parcela do somatório do total de MalE, EMx e R para corresponder ao total de LP, pois essas vinte e duas malárias de EMx (sem distinguir espécie) mantiveram-se inalteradas no total de LP após a transformação do primeiro evento que era de uma das duas espécies e passou para mista.

A densidade de incidência de malária ano a ano evidenciou tendência de queda no período para as malárias diferenciadas ou não por espécie, com destaque para os valores apresentados pela malária vívax com densidade de malária para cada 100 pessoas-ano que foi de 48,3 pessoas-ano em 2001 e 9,0 pessoas-ano em 2006 (Tabela 5).

Tabela 5- Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano.

	DI	IC 95%
Período		
V ou F 2001_2006	26,3	24,2 – 28,5
V 2001_2006	20,6	18,8 – 22,6
F 2001_2006	6,8	5,8 – 8,0
Ano		
Vou F 2001	52,9	44,7 – 62,0
Vou F 2002	28,4	22,8 – 34,8
Vou F 2003	16,8	12,9 – 21,5
Vou F 2004	42,4	36,7 – 48,7
Vou F 2005	10,6	7,8 – 14,0
Vou F 2006	12,0	8,7 – 16,1
V 2001	48,3	40,6 – 57,1
V 2002	20,0	15,4 – 25,5
V 2003	13,7	10,2 – 17,9
V 2004	31,1	26,3 – 36,6
V 2005	7,7	5,4 – 10,7
V 2006	9,0	6,2 – 12,7
F 2001	8,1	5,1 – 12,1
F 2002	9,2	6,2 – 13,2
F 2003	3,2	1,6 – 5,5
F 2004	13,3	10,2 – 17,1
F 2005	3,3	1,8 – 5,5
F 2006	3,5	1,9 – 6,1

DI: densidade de incidência

IC: intervalo de confiança

V: vívax

F: Falcíparum

No sexo masculino foram documentados 365 (60,9%) casos de malária de qualquer espécie, contra 234 (39,1%) no sexo oposto. A distribuição das espécies, incluindo as mistas, mostrou 279 (73,8%) de malária *vívax* e 99 (26,2%) de *falciparum* entre os homens, enquanto que no sexo feminino 191 (77,0%) casos de malária *vívax* e 57 (23,0%) de *falciparum*.

A mais elevada densidade de incidência de malária foi evidenciada no sexo masculino (30,7/100 pessoas-ano, IC 95% de 27,6 a 34,0/100 pessoas-ano) quando comparado com o feminino (21,1/100 pessoas-ano, IC 95% de 18,7 a 24,3/100 pessoas-ano) (Tabela 6), com o razão de 1,39 (IC 95%, 1,17 a 1,64, valor-p < 0,001 pelo teste exato de Fisher).

Como em outras áreas onde ambas as espécies coexistem (Luxemburger et al., 1996; Phimpraphi et al., 2008), a incidência de *P. vivax* atinge o pico mais cedo do que o de *P. falciparum* (Figura 15a), mas se esses padrões da incidência de acordo com a idade refletem diferenças espécies-específicas na exposição, ou na imunidade adquirida ou em ambas, permanece obscuro. A maioria dos adultos da coorte são migrantes de regiões livres de malária, logo a idade deles não se traduz em exposição acumulativa à malária (Silva-Nunes et al., 2008).

A incidência de malária atingiu o pico entre os colonos com menos de 6 anos de residência no Granada e depois declinou, sem malária por *P. falciparum* diagnosticada entre aqueles com mais de 15 anos de residência na região (Figura 15b).

Em relação às atividades desenvolvidas pelos participantes do estudo, mostrou-se que realizar derrubada próximo ao Rio Iquiri, área de ocupação humana mais recente, contribuiu para elevar a densidade de incidência nesta região. De fato, a densidade de incidência para malária de qualquer espécie no período do estudo foi maior no grupo que desenvolveu atividades relacionadas à derrubada próximo ao Iquiri (46,4/100 pessoas ano) do que nos demais grupos; o que também ocorreu ao diferenciar as espécies: 31,6/100 pessoas-ano (malária *vívax*) e 15,8/100 pessoas-ano (malária *falciparum*) (Tabela 7).

Tabela 6- Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas- ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo o sexo.

	Sexo	
	Masculino	Feminino
Período		
M 2001_2006	30,7	21,4
IC 95%	27,6 – 34,0	18,7 – 24,3
V 2001_2006	23,5	17,5
IC 95%	20,8 – 26,4	15,1 – 20,2
F 2001_2006	8,3	5,2
IC 95%	6,8 – 10,1	3,9 – 6,8
Ano		
M 2001	62,2	42,8
IC 95%	50,2 – 76,4	32,6 – 55,2
M 2002	33,5	22,9
IC 95%	26,3 – 43,5	16,0 – 31,7
M 2003	21,0	12,4
IC 95%	15,1 – 28,5	7,9 – 18,7
M 2004	49,2	34,8
IC 95%	40,8 – 58,8	27,5 – 43,5
M 2005	11,7	9,3
IC 95%	7,8 – 16,9	5,7 – 14,4
M 2006	13,5	10,4
IC 95%	8,8 – 19,8	6,1 – 16,4
V 2001	56,1	39,9
IC 95%	44,7 – 69,6	30,0 – 51,9
V 2002	23,3	16,5
IC 95%	16,6 – 31,9	10,8 – 24,3
V 2003	17,9	9,2
IC 95%	12,5 – 24,9	5,3 – 14,7
V 2004	34,3	27,7
IC 95%	27,4 – 42,4	21,2 – 35,5
V 2005	7,1	8,4
IC 95%	4,1 – 11,4	4,9 – 13,2
V 2006	10,4	7,5
IC 95%	6,3 – 16,1	4,0 – 12,8
F 2001	8,8	7,3
IC 95%	4,7 – 15,0	3,5 – 13,3
F 2002	12,0	6,4
IC 95%	7,3 – 18,5	3,0 – 11,7
F 2003	3,1	3,2
IC 95%	1,1 – 6,7	1,2 – 7,1
F 2004	16,5	9,8
IC 95%	11,9 – 22,4	6,1 – 14,9
F 2005	4,6	1,9
IC 95%	2,3 – 8,2	0,5 – 4,8
F 2006	4,2	2,9
IC 95%	1,8 – 8,2	0,9 – 6,7

DI: densidade de incidência IC: intervalo de confiança V: vivax F: Falciparum

Figura 15- Densidade de incidência de malária de acordo com a espécie do parasita (número de episódios/100 pessoas-ano em situação de risco) em relação à idade dos indivíduos **(a)** e tempo de residência na área de estudo **(b)**. O número de pessoas-ano sob risco em cada faixa etária é: <6 anos, 421,5; 6-10 anos, 338,1; 11-15 anos, 287,2; 16-30 anos, 516,6; >30 anos, 718,2. O número de pessoas-anos nos estratos de exposição acumulada é: <6 anos, 1646,2; 6-10 anos, 322,1; 11-15 anos, 177,91; 16-20 anos, 55,9; > 20 anos, 29,0 (tempo de exposição foi perdido para 50,4 pessoas-ano).

Tabela 7- Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo a atividade.

	Ocupação			
	DIq	DOL	AG	Outra
Período				
M 2001_2006	46,4	26,7	26,9	24,6
IC 95%	34,0 – 61,7	19,0 – 36,5	22,7 – 31,8	22,2 – 27,3
V 2001_2006	31,6	19,2	20,2	20,1
IC 95%	21,6 – 44,6	12,7 – 27,7	16,5 – 24,5	17,9 – 22,5
F 2001_2006	15,8	8,2	8,1	5,7
IC 95%	9,0 – 25,6	4,2 – 14,4	5,8 – 10,9	4,5 – 7,0
Ano				
M 2001	66,4	42,8	51,7	53,4
IC 95%	28,6 – 130,9	18,5 – 84,4	36,4 – 71,3	43,3 – 65,1
M 2002	29,1	35,9	19,5	30,7
IC 95%	7,9 – 74,6	15,5 – 70,9	10,9 – 32,2	23,7 – 39,1
M 2003	40,4	11,9	19,7	14,9
IC 95%	14,8 – 87,9	2,4 – 34,7	11,5 – 31,6	10,6 – 20,5
M 2004	76,4	51,5	41,3	39,6
IC 95%	43,6 – 124,0	28,8 – 85,0	29,9 – 55,7	33,0 – 47,2
M l2005	36,4	10,7	17,9	6,3
IC 95%	15,7 – 71,7	2,2 – 31,2	10,6 – 28,4	3,8 – 9,8
M 2006	28,2	8,8	12,4	11,0
IC 95%	9,1 – 65,8	1,1 – 31,9	5,9 – 22,9	7,3 – 16,0
V 2001	49,8	32,1	44,7	51,2
IC 95%	18,2 – 108,4	11,8 – 69,9	30,5 – 63,1	41,4 – 62,7
V 2002	7,3	22,5	15,6	22,2
IC 95%	0,2 – 40,6	7,3 – 52,4	8,1 – 27,3	16,3 – 29,5
V 2003	40,4	3,9	15,1	12,6
IC 95%	14,8 – 87,9	0,1 – 22,0	8,0 – 25,8	8,6 – 17,8
V 2004	42,9	37,8	29,8	30,2
IC 95%	19,6 – 81,6	18,8 – 67,6	20,3 – 42,3	24,5 – 36,9
V 2005	22,7	10,7	11,9	4,9
IC 95%	7,4 – 53,0	2,2 – 31,2	6,2 – 20,9	2,8 – 8,2
V 2006	28,2	8,8	6,2	8,6
IC 95%	9,1 – 65,8	1,1 – 31,9	2,0 – 14,5	5,3 – 13,1
F 2001	16,6	16,1	11,1	5,5
IC 95%	2,0 – 59,9	3,3 – 46,9	4,8 – 22,0	2,6 – 10,0
F l2002	21,8	13,5	5,2	9,4
IC 95%	4,5 – 63,9	2,8 – 39,4	1,4 – 13,3	5,8 – 15,6
F l2003	0,0	7,9	4,6	2,3
IC 95%	0,0 – 0,0	1,0 – 28,6	1,3 – 11,9	0,9 – 5,1
F 2004	38,2	13,7	13,5	11,6
IC 95%	16,5 – 75,3	3,7 – 35,2	7,3 – 22,6	8,2 – 16,0
F 2005	13,6	0,0	6,0	2,0
IC 95%	2,8 – 39,9	0,0 – 0,0	2,2 – 13,0	0,7 – 4,3
F l2006	0,0	0,0	7,5	2,9
IC 95%	0,0 – 20,8	0,0 – 0,0	2,7 – 16,3	1,1 – 5,9

DIq: derrubada no Iquiri DOL: derrubada em outro local AG: agricultura IC: intervalo de confiança
V: vivax F: Falcíparum

A ocorrência de malária parece manter uma relação direta com o poder aquisitivo da população. Indivíduos com índices de riqueza mais baixos apresentaram maiores densidades de incidência de malária de qualquer espécie no período na maioria dos anos avaliados. A tabela 8 apresenta esses resultados agrupados em quartis. Observa-se, por exemplo, que 25% da população mais pobre (primeiro quartil) possuiu densidade de incidência para malária de qualquer espécie bem superior (56,6/100 pessoas-ano) aos 25% mais ricos (último quartil) (11,1/100 pessoas-ano). Essa situação persiste na análise ano a ano tanto para malária de qualquer espécie ou para malária por *vívax* ou por *falcíparum*; com destaque para o ano de 2001, momento em que se registram as maiores densidades de incidência e maiores diferenças entre os moradores mais pobres e os mais ricos do Granada (Tabela 8).

As regiões de assentamento humano mais recentes no Ramal do Granada (24° ao 30° Km e na Reserva da Linha 14) possuem maiores densidades de incidência de malária do que localidades mais antigas, como o trecho entre os quilômetros 14 e 20. Vê-se na tabela 9 que em todos os anos e indistintamente da espécie de malária essa diferença foi confirmada. De fato, dentro do período, para malária de qualquer espécie, para malária *vívax* e para malária *falcíparum* houve uma densidade de incidência mais de dez vezes maior na localidade do quilômetro 30 até a Reserva da Linha 14 do que entre os quilômetros 14 e 20. Contudo, foi no ano de 2001 onde aconteceram as maiores diferenças entre as duas localidades, independentemente do tipo de malária diagnosticada, chegando a ter mais que 22 vezes mais malária nas localidades de colonização mais recente (Km 30-R) do que naquelas de ocupação mais antigas (Km 14-20) (Tabela 9).

Tabela 8- Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano segundo índice de riqueza.

	Índice de Riqueza			
	-4,87 a -1,29	-1,28 a 0,28	0,29 a 1,57	1,58 a 5,41
Período				
M 2001_2006	56,6	30,0	20,2	11,1
IC 95%	49,4 – 64,4	25,6 – 34,9	16,8 – 24,2	8,7 – 14,0
V 2001_2006	42,8	25,2	15,3	8,8
IC 95%	36,6 – 49,7	21,2 – 29,7	12,3 – 18,8	6,7 – 11,4
F 2001_2006	16,2	6,4	6,1	2,4
IC 95%	12,5 – 20,6	4,5 – 8,8	4,2 – 8,4	1,4 – 3,9
Ano				
M 2001	140,2	62,4	45,6	12,8
IC 95%	106,4 – 181,2	45,3 – 83,8	32,1 – 62,9	6,4 – 22,9
M 2002	86,4	37,0	16,8	5,1
IC 95%	62,2 – 116,9	24,9 – 52,8	9,4 – 27,7	1,6 – 11,9
M 2003	37,6	13,7	8,9	15,2
IC 95%	24,1 – 55,9	7,3 – 23,4	4,1 – 16,9	8,8 – 24,3
M 2004	79,1	43,9	34,6	20,3
IC 95%	62,6 – 98,7	32,6 – 57,9	24,7 – 47,1	13,4 – 29,5
M 2005	18,7	16,0	52,6	6,3
IC 95%	10,6 – 30,3	9,5 – 25,4	1,9 – 114	2,7 – 125,1
M 2006	16,3	15,4	14,1	4,9
IC 95%	8,1 – 29,2	8,4 – 25,9	7,5 – 24,1	1,6 – 11,6
V 2001	132,9	56,7	40,7	10,5
IC 95%	100,0 – 173,1	40,5 – 77,2	27,9 – 57,2	4,8 – 19,9
V 2002	57,6	32,0	8,9	3,1
IC 95%	38,3 – 83,3	20,9 – 46,9	3,8 – 17,7	0,6 – 8,9
V 2003	29,8	10,5	7,9	12,5
IC 95%	17,9 – 46,5	5,0 – 19,4	3,4 – 15,6	6,8 – 20,9
V 2004	54,1	34,3	26,8	15,8
IC 95%	40,6 – 70,6	24,4 – 46,9	18,2 – 38,0	9,8 – 24,1
V 2005	11,7	14,3	17,5	5,5
IC 95%	5,6 – 21,5	8,1 – 23,2	0,2 – 6,3	2,2 – 11,4
V 2006	11,9	12,1	9,7	3,9
IC 95%	5,1 – 23,4	6,1 – 21,7	4,5 – 18,5	1,1 – 10,1
F 2001	16,9	8,5	9,9	2,3
IC 95%	6,8 – 34,9	3,1 – 18,5	4,2 – 19,4	0,3 – 8,4
F 2002	30,9	6,2	8,9	2,0
IC 95%	17,3 – 50,9	2,0 – 14,4	3,9 – 17,7	0,2 – 7,4
F 2003	7,8	3,2	1,0	2,7
IC 95%	2,5 – 18,3	0,6 – 9,2	0,0 – 0,6	0,6 – 7,8
F 2004	30,0	12,3	8,6	5,3
IC 95%	20,2 – 42,9	6,7 – 20,6	4,1 – 15,9	2,1 – 10,8
F 2005	7,0	3,6	3,5	0,8
IC 95%	2,6 – 15,2	1,0 – 9,1	1,0 – 8,9	0,0 – 4,4
F 2006	4,4	4,4	5,4	1,0
IC 95%	1,0 – 13,0	1,2 – 11,3	1,8 – 12,6	0,0 – 5,5

IC: intervalo de confiança V: vivax F: Falciparum

Tabela 9- Densidade de incidência de malária de qualquer espécie e por espécie para cada 100 pessoas-ano no período (janeiro de 2001 a outubro de 2006) e ano a ano, segundo localização.

Período	Localização			
	Km 14-20	Km 20-24	Km 24-30	Km 30-R
M 2001_2006	8,0	5,2	33,7	81,3
IC 95%	5,9 – 10,7	3,3 – 7,7	30,1 – 37,7	70,7 – 93,1
V 2001_2006	6,2	3,9	26,0	65,8
IC 95%	4,4 – 8,6	2,4 – 6,2	22,8 – 29,5	56,3 – 76,5
F 2001_2006	1,8	1,7	9,2	19,7
IC 95%	1,0 – 3,2	0,7 – 3,3	7,4 – 11,4	14,7 – 25,9
Ano				
M 2001	8,3	3,3	68,9	187,1
IC 95%	3,1 – 18,2	0,4 – 12,0	54,9 – 85,4	142,4 – 241,4
M 2002	6,1	2,7	30,0	123,7
IC 95%	2,0 – 14,3	0,3 – 9,8	21,4 – 40,9	90,2 – 165,6
M 2003	10,9	11,6	17,5	38,6
IC 95%	5,4 – 19,5	5,5 – 21,3	11,4 – 25,6	22,5 – 61,9
M 2004	15,7	8,3	59,1	107,1
IC 95%	9,7 – 24,0	3,6 – 16,4	48,5 – 71,3	82,0 – 137,3
M 2005	3,3	2,2	14,7	28,5
IC 95%	0,9 – 8,4	0,3 – 7,9	9,8 – 21,4	15,6 – 47,8
M 2006	2,1	1,4	18,1	33,1
IC 95%	0,2 – 7,4	0,0 – 7,6	12,0 – 26,1	17,6 – 56,6
V 2001	8,3	3,3	61,5	174,4
IC 95%	3,0 – 18,2	0,4 – 12,0	48,4 – 77,1	131,4 – 227,1
V 2002	4,9	0,0	21,8	88,0
IC 95%	1,3 – 12,6	0,0 – 5,0	14,6 – 31,3	60,1 – 124,2
V 2003	7,9	10,4	14,1	31,8
IC 95%	3,4 – 15,6	4,7 – 19,7	8,7 – 21,6	17,4 – 53,4
V 2004	12,0	6,2	40,7	86,3
IC 95%	6,8 – 19,4	2,3 – 13,6	31,9 – 51,0	64,1 – 114
V 2005	1,6	2,2	11,0	20,4
IC 95%	0,2 – 5,0	0,3 – 7,9	6,8 – 16,8	9,7 – 37,5
V 2006	2,1	0,0	14,2	22,9
IC 95%	0,2 – 7,4	0,0 – 5,0	8,9 – 21,5	10,5 – 43,5
F 2001	0,0	1,7	10,7	28,5
IC 95%	0,0 – 5,0	0,0 – 9,2	5,7 – 18,2	13,0 – 54,2
F 2002	1,2	2,7	9,0	41,2
IC 95%	0,0 – 6,8	0,3 – 9,8	4,6 – 15,7	23,0 – 68,0
F 2003	3,0	1,2	3,4	6,8
IC 95%	0,6 – 8,7	0,0 – 6,4	1,1 – 7,9	1,4 – 19,9
F 2004	3,7	3,1	21,7	25,9
IC 95%	1,2 – 8,7	0,6 – 9,1	15,5 – 29,5	14,5 – 42,7
F 2005	1,6	0,0	4,2	10,2
IC 95%	0,2 – 5,9	0,0 – 4,0	1,8 – 8,3	3,3 – 23,8
F 2006	0,0	1,4	5,2	10,2
IC 95%	0,0 – 3,8	0,0 – 7,6	2,2 – 10,2	2,8 – 26,0

R: reserva da Linha 14 IC: intervalo de confiança V: vivax F: Falcíparum

Os 599 episódios clínicos de malária foram diagnosticados em 202 (38,0%) indivíduos (média de 1,13 episódios por membro da coorte; durante os 5,83 anos de seguimento; $s=2,2$ malárias, $\xi=5,1$). A maioria (91 de 178; 51,1%) com lâminas confirmadas para infecção por *P. vivax* diagnosticadas durante o seguimento teve duas ou mais infecções com a mesma espécie. Um indivíduo teve 15 episódios de infecções por *P. vivax*. A média de pessoas com infecção por esta espécie foi de 0,89 malária ($s=1,9$ caso; $\xi=3,6$) e para falcíparum foi de 0,3 caso por pessoa ($s=0,7$ caso; $\xi=0,5$) (Tabela 10). Portanto, recorrentes episódios de infecção por *P. vivax* foram mais frequentes do que aqueles por *P. falciparum*. Isso pode ser devido ao fato da existência na região de recrudescências, recaídas ou novas infecções recorrentes por *P. vivax*.

Tabela 10- Número de repetidos episódios de malária com a mesma espécie de parasita diagnosticado entre 2001 e 2006 no Granada, Acre, Brasil.

Episódios	Vou F	Vivax	Falciparum
	N (%)	N(%)	N(%)
0	329(62,0%)	353(66,5%)	432(81,3%)
1	78(14,7%)	87(16,4%)	63(11,9%)
2	46(8,7%)	33(6,2%)	21(4,0%)
3	34(6,4%)	18(3,4%)	11(2,1%)
4	6(1,1%)	6(1,1%)	3(0,5%)
5	7(1,3%)	9(1,7%)	-
6	6(1,1%)	9(1,7%)	1(0,2%)
7	7(1,3%)	7(1,3%)	-
8	7(1,3%)	4(0,7%)	-
9	5(0,9%)	2(0,4%)	-
11	1(0,2%)	-	-
12	1(0,2%)	-	-
13	1(0,2%)	2(0,4%)	-
14	1(0,2%)	-	-
15	1(0,2%)	1(0,2%)	-
17	1(0,2%)	-	-
Total	531(100%)	531(100%)	531(100%)

V: vivax

F: Falciparum

Os casos de malária diagnosticados ao longo do período de estudo dispuseram-se amplamente pelos 123 domicílios da região. Notoriamente, nas residências localizadas no final do Ramal do Granada foi encontrado o maior número de domicílios onde teve pelo menos um caso de malária (Figura 16)

Figura 16- Domicílios onde ocorreu pelo menos um caso de malária. (a) Com caso de malária de qualquer espécie; (b) com casos de malária *vivax* e (c) com casos de malária *falciparum*.

A análise dos dias entre dois episódios sucessivos de malária na coorte mostra que padrões sugestivos de recrudescências (menor ou igual a 28 dias entre malárias de mesma espécie) pode ser comum na região, como sugere a tabela 11. Para *vivax* houve 19 casos e 8 episódios suspeitos de recrudescência para *falciparum*. Como características de recaídas para malária *vivax* foram admitidos 180 dias como limite entre duas malárias sucessivas. Nessa situação, foram 180 casos encontrados (Tabela 11). Embora a avaliação meramente temporal sugira padrões característicos, nestes dados não é possível determinar com certeza se estas repetições são principalmente devido às recrudescências (falhas terapêuticas para 28 dias de seguimento após tratamento), recaídas ou reinfecções.

A figura 17 mostra o intervalo de tempo entre episódios consecutivos de malária por *P. vivax* e por *P. falciparum* nos sujeitos da coorte que tinham mais que uma lâmina confirmada com infecção por uma mesma espécie durante o seguimento.

Tabela 11- Quantidade de episódios entre duas malárias sucessivas de mesma espécie no período de seguimento.

Espécie	≤ 28 dias*	29-180 dias	≥ 180 dias	Total
Vivax	19(5,9%)	180(56,3%)	121(37,8%)	320(100)
Falciparum	8(12,3%)	23(35,4%)	34(52,3%)	65(100)

* Valores adicionados como único episódio para efeito de estudo do número de malária na coorte

Figura 17- Intervalo de tempo entre duas malárias consecutivas da mesma espécie em indivíduos da coorte durante o seguimento.

3.2 Pluviosidade e malária

Observou-se claramente uma variação sazonal na densidade de incidência de malária (propensão de picos no início e no final da estação chuvosa), com uma tendência descendente na incidência anual durante o período do estudo. Contudo, essa associação entre densidade de incidência e pluviosidade mensais não foi observada de forma clara. A densidade de incidência anual de malária por *P. vivax* variou entre 7,7 (2005) e 48,3 (2001) episódios/100 pessoas-ano sob risco, enquanto que malária por *P. falciparum* variou entre 3,2 (2003) e 13,3 (2004) episódios/100 pessoas-ano em situação de risco. Quando se comparam valores para 2001 e 2006, observa-se um decréscimo em 81,4% na densidade de incidência de *P. vivax* e uma diminuição de 56,8% na densidade de incidência de *P. falciparum* (Figura 18).

Figura 18- Densidade de incidência (número de episódios por 100 pessoas-mês sob risco) dos casos de malária no Granada entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 em relação à pluviosidade mensal (mm) medida na estação meteorológica mais próxima: (a) para malária de qualquer espécie, (b) para malária vívax e (c) para malária falcíparum. Linhas correspondem à pluviosidade e barras à densidade de incidência.

3.3 Aglomerados (*clusters*) espaciais de malária

Primeiramente, foram analisados separadamente os dados compreendendo informações sobre a morbidade em 2001 (Figura 19), 2002 (Figura 20), 2003 (Figura 21), 2004 (Figura 22), 2005 (Figura 23) e 2006 (Figura 24), para evidência de *clusters* espaciais da densidade de incidência. Padrões de *clusters* espaciais bastante similares foram encontrados ao longo do período do estudo para uma determinada espécie e para a malária, independente da espécie. Tanto a localização quanto o tamanho dos *clusters* estatisticamente significantes permaneceram notavelmente constantes ao longo do tempo.

Os resultados obtidos com o conjunto de dados, compreendendo informações acerca da morbidade coletadas entre 2001 e 2006, revelaram um único *cluster* altamente significativo (valor- $p < 0,001$) com 414 casos de malária de qualquer tipo (151,9 casos esperados). Portanto, 69,1% de todos os casos de malária ocorreram em apenas 27 domicílios (22,3% do total), contribuindo com 579 pessoas-ano sob risco (25,4% do total). Esses domicílios estavam dentro de um raio de 2,2 Km ao centro do *cluster*. O único *cluster* estatisticamente significativo de malária por *P. falciparum* (valor- $p < 0,001$), com 69,2% do total de infecção por esta espécie diagnosticada durante o seguimento (108 casos observados contra 39,2 esperados), compreendendo 25 domicílios (20,7% do total), contribuindo com 573 pessoas-ano sob risco (25,1% do total). Estas residências estavam situadas dentro de um raio de 2,1 Km ao centro do *cluster* e, com exceção de um domicílio, também tinham sido incluídas no *cluster* maior de malária devido a qualquer espécie. Malária por *P. vivax* também foi espacialmente avaliada. A análise detectou um único *cluster* estatisticamente significativo (valor- $p < 0,001$), com 74,0% das infecções por esta espécie (348 casos observados contra 134,0 esperados), compreendendo 31 (25,6%) domicílios situados dentro de um raio de 2,3 Km ao centro do *cluster*, contribuindo 651 (28,5%) pessoas-ano de seguimento. Somente quatro desses domicílios não foram incluídos no *cluster* de malária para qualquer espécie (Figura 25).

A localização do *cluster* representa importante fator na dispersão da malária na região, pois à medida que se afasta do centro dele há uma diminuição exponencial na densidade de incidência de malária entre 2001 e 2006, atingindo um platô depois de 8 Km de distância (Figura 26). Este padrão é consistente com o conhecido alcance de dispersão nas Américas do principal vetor local, o *Anopheles darlingi* (5 Km ou até mais) (Charlwood e Alecrim, 1989), mas contrasta com o típico gradiente de declínio da incidência observado na

África, que se estende não mais que 2 a 3 Km de distância da área de maior transmissão (Carter et al., 2000).

Figura 19- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2001 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 20- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2002 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 21- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2003 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 22- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2004 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 23- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2005 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 24- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte no ano de 2006 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 25- *Clusters* de malária para ambas as espécies e por espécie na região da coorte entre janeiro de 2001 e outubro de 2006 em 123 domicílios. Triângulos: postos governamentais de diagnóstico de malária; círculos brancos: residências não pertencentes aos *clusters*.

Figura 26- Densidade de incidência (100 pessoas-ano sob risco) de malária de qualquer espécie entre 2001 e 2006 em relação à distância (em Km) de cada domicílio ao centro do *cluster*. Uma função foi ajustada aos dados (coeficiente de determinação $r^2 = 0,576$, valor- $p < 0,001$).

3.4 Prevalência do plasmódio nos inquéritos transversais

Foram examinadas 1.496 lâminas de gota espessa e 1.427 amostras de DNA coletadas durante os quatro estudos transversais. A PCR aninhada revelou 5,4 vezes mais infecções do que a microscopia convencional (Tabela 12), com todas as amostras positivas pela microscopia também apresentando positividade pela PCR. A maioria das amostras positivas pela microscopia (17 de 30; 56,7%) apresentaram parasitemias baixas (<200 parasitas/ μ l de sangue). Infecções mistas foram detectadas pela PCR em 22,8% das amostras com DNA positivo. Em todos os estudos transversais não foi detectado nenhuma infecção mista ou por *P. malariae* pela microscopia.

Primeiro estudo transversal

No primeiro estudo transversal foram colhidas 388 lâminas dos indivíduos pertencentes à coorte. Sete lâminas foram positivas para *P. vivax* (1,8%), seis lâminas foram positivas para *P. falciparum* (1,5%) e as demais foram consideradas negativas (96,7%). Sangue (venoso ou capilar) desses indivíduos também foi colhido, e somente dois não foram submetidos ao diagnóstico molecular de malária.

Dos 375 indivíduos com microscopia negativa, vinte e três foram positivos para *P. vivax* (6,1%), vinte e nove foram positivos para *P. falciparum* (7,7%) quando submetidos a PCR aninhada. Dos sete indivíduos com lâmina positiva para *P. vivax* que foram testados pela PCR, somente 5 foram confirmadas como *vivax*, sendo que dois indivíduos tiveram PCR positiva para infecção mista (*P. vivax* e *P. falciparum*). Dentre os 6 indivíduos com lâminas positivas para *P. falciparum*, todos foram confirmados pela PCR. Dessa forma, a prevalência de malária no primeiro estudo transversal elevou-se ao comparar os diagnósticos pela gota espessa e pela PCR (Tabela 12).

Em relação à presença de sintomas, 36,4% dos indivíduos com malária *vivax* e 70% dos indivíduos com malária *falciparum* não apresentavam sintomas no dia da coleta de sangue.

Segundo estudo transversal

Durante o segundo estudo transversal, foram colhidas 378 lâminas dos indivíduos pertencentes à coorte. Três lâminas foram positivas para *P. vivax* (0,8%), seis lâminas foram positivas para *P. falciparum* (1,6%), sendo as restantes consideradas negativas

(97,6%). O sangue venoso ou capilar também foi colhido dos indivíduos para diagnóstico pela PCR, sendo que somente um paciente não foi submetido à análise molecular.

Dentre os 369 indivíduos com microscopia negativa, trinta e duas foram positivos para *P. vivax* (8,7 %), vinte e sete foram positivos para *P. falciparum* (7,3 %) e dois apresentaram infecção por *P. falciparum* e *P. malariae* (0,5%) quando submetidos à PCR aninhada. Os três indivíduos com lâmina positiva para *P. vivax* foram confirmadas pela PCR. Dos seis indivíduos com lâminas positiva para *P. falciparum*, dois foram confirmados pela PCR, um foi positivo para *P. vivax* e os demais apresentaram infecção mista (*P. falciparum* e *P. vivax*) quando testados pela PCR. Assim, a prevalência de malária aumentou ao comparar os dois métodos (Tabela 12).

Quanto à presença ou não de sintomas, 72,7% dos indivíduos com diagnóstico de malária vivax e 73,9% dos indivíduos com diagnóstico de malária falciparum não apresentavam sintomas no dia da coleta de sangue. Dentre os indivíduos com malária mista, 92,9% dos pacientes com infecção por *P. falciparum* e *P. vivax* e ambos os indivíduos com infecção por *P. falciparum* e *P. malariae* estavam assintomáticos no dia da coleta.

Terceiro estudo transversal

No terceiro estudo transversal foram colhidas 329 lâminas para diagnóstico microscópico de malária, além de 328 amostras de sangue para efetuar o diagnóstico molecular de malária. Neste corte transversal quatro lâminas foram positivas para *P. vivax* (1,2%) e 325 lâminas negativas (98,8%), sendo que 33,6% dos participantes da coorte inicial não tiveram lâmina colhida por estarem ausentes, terem recusado a coleta ou terem saído do estudo.

Dos 325 indivíduos com lâmina negativa, vinte e quatro (7,4%) tiveram PCR positiva para *P. vivax* e vinte e dois (6,8%) tiveram PCR positiva para *P. falciparum*. Todos os quatro indivíduos com diagnóstico microscópico de malária vivax tiveram confirmação molecular da espécie. Assim sendo, a prevalência de malária no terceiro corte modificou-se ao ser realizado o diagnóstico molecular (Tabela 12).

No tocante à presença ou não de sintomas no terceiro corte transversal, 42,1% dos indivíduos com diagnóstico de malária vivax e 81,8% dos indivíduos com diagnóstico de malária falciparum não apresentavam sintomas no dia da coleta de sangue. Dentre os indivíduos com malária mista, 88,9% dos pacientes com infecção por *P. falciparum* e *P. vivax* estavam assintomáticos no dia da coleta.

Quarto estudo transversal

Neste corte transversal foram colhidas 351 lâminas para pesquisa de plasmódio. Três lâminas foram positivas para *P. vivax* (0,9%), uma lâmina foi positiva para *P. falciparum* (0,3%), as demais foram consideradas negativas (98,9%). Também foi colhido sangue (venoso ou capilar) dos indivíduos para diagnóstico pela PCR.

Entre os 347 indivíduos com microscopia negativa, cinco foram positivos para *P. vivax* (1,4%) e sete foram positivos para *P. falciparum* (2,0%) ao submeterem-se à PCR aninhada. Dos três indivíduos com lâmina positiva para *P. vivax*, somente em um foi confirmada pela PCR e um teve PCR negativa e no terceiro não foi realizado o exame molecular. O indivíduo com lâmina positiva para *P. falciparum* apresentou PCR negativa. Esse resultado alterou a prevalência de malária no quarto estudo transversal para 2,4% para *P. vivax* e 2,4% para *P. falciparum* (Tabela 12).

Quanto à presença ou não de sintomas, todos os indivíduos com diagnóstico por PCR de malária vivax e 7 (87,5%) dos indivíduos com diagnóstico de malária falciparum não apresentavam sintomas no dia da coleta de sangue.

Tabela 12- Número de infecções detectadas pela microscopia convencional e pela PCR durante os quatro estudos transversais consecutivos da população com idade entre cinco ou mais anos no Granada.

		Estudos transversais (data)							
Sintomas?	Espécies	A (mar-abr 2004)		B (set-out 2004)		C (fev-mar 2005)		D (out-nov 2006)	
		Giemsa	PCR	Giemsa	PCR	Giemsa	PCR	Giemsa	PCR
Sim	<i>P. falciparum</i>	3	12 ^a	5	9 ^d	0	2 ^h	0	1
	<i>P. vivax</i>	7	14 ^a	3	8 ^d	4	11 ^h	0	0
	Testado	19	19	17	17	28	28	7	7
Não	<i>P. falciparum</i>	3	23 ^b	1	26 ^e	0	20 ⁱ	1	7
	<i>P. vivax</i>	0	16 ^b	0	25 ^{e,f}	0	17 ⁱ	3	8
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	2 ^f	0	0	0	0
	Testado	369	367	361	362	301	300	344	327
Total	<i>P. falciparum</i>	6	35 ^c	6	33 ^g	0	22 ^j	1	8
	<i>P. vivax</i>	7	30 ^c	3	35 ^{f,g}	4	28 ^j	3	8
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	2 ^f	0	0	0	0
	Testado	388	386	378	379	329	328	351	334
Prevalência geral de parasitas ^k									
	<i>P. falciparum</i>	1,5%	9,1%	1,6%	8,7%	0%	6,7%	0,3%	2,4%
	<i>P. vivax</i>	1,8%	7,8%	1,0%	9,2%	1,2%	8,5%	0,8%	2,4%
	<i>P. malariae</i>	0%	0%	0%	0,5%	0%	0%	0%	0%

^a Incluídas 7 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^b Incluídas 8 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^c Incluídas 15 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^d Incluídas 3 infecções mistas *P. falciparum* e *P. vivax*
^e Incluídas 10 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^f Incluídas 2 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. malariae*

^g Incluídas 13 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^h Incluída 1 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
ⁱ Incluídas 8 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^j Incluídas 9 infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax*
^k Incluídas tanto infecções por única espécie quanto mistas

3.5 A análise de sobrevivência

A distribuição das faixas etárias dos indivíduos em relação às demais covariáveis analisadas na análise de sobrevivência evidencia que há uma disposição semelhante dos indivíduos em todas as faixas independente do sexo. Somente na última categoria (idade > 30 anos) houve diferença significativa estatisticamente [para < 6 anos ($\chi^2=0,06$; valor-p = 0,815), de 6 a 10 anos ($\chi^2=0,07$; valor-p = 0,787), de 11 a 15 anos ($\chi^2=2,10$; valor-p = 0,148), de 16 a 30 anos ($\chi^2=1,14$; valor-p = 0,285) e para >30 anos ($\chi^2=6,34$; valor-p = 0,012)] (Tabela 13).

Contudo, ao comparar os diferentes grupos etários em relação às duas localidades extremas do Ramal do Granada (14-20 Km e 30 Km-Reserva), observa-se que somente no primeiro extrato para a idade não houve diferença estatisticamente significativa, mostrando que essa distribuição não ocorre ao acaso para idades superiores a 6 anos entre essas duas localidades, que representam duas regiões de colonização mais antiga e outra mais recente, respectivamente [para < 6 anos ($\chi^2=1,81$; valor-p = 0,178), de 6 a 10 anos ($\chi^2=5,30$; valor-p = 0,021), de 11 a 15 anos ($\chi^2=5,55$; valor-p = 0,019), de 16 a 30 anos ($\chi^2=8,17$; valor-p = 0,004) e para >30 anos ($\chi^2=24,51$; valor-p <0,001)]. (Tabela 13).

O número de indivíduos que usavam mosquiteiro em todas as faixas etárias foi menor do que a quantidade daqueles que não faziam uso dessa proteção contra o mosquito transmissor da malária, com significância estatística em todos os estratos [para < 6 anos ($\chi^2=61,62$; valor-p < 0,001), de 6 a 10 anos ($\chi^2=25,54$; valor-p <0,001), de 11 a 15 anos ($\chi^2=62,12$; valor-p <0,001), de 16 a 30 anos ($\chi^2=62,10$; valor-p <0,001) e para >30 anos ($\chi^2=107,96$; valor-p <0,001)] (Tabela 13).

Embora tanto indivíduos do sexo feminino quanto os do sexo masculino localizavam-se mais na região compreendida entre os quilômetros 24 e 30, com 98 mulheres (38,58%) e 111 homens (40,07%), a distribuição dos sexos nos quilômetros 14-20 e 30-Reserva foi comparada por corresponderem a duas áreas epidemiologicamente distintas. Mostrando que em ambos os sexos a distribuição não ocorre ao acaso nas duas localidades: $\chi^2=21,49$; valor-p <0,001, para o sexo feminino e $\chi^2=17,84$; valor-p <0,001, para o sexo masculino (Tabela 14).

Também foi significativa a diferença entre o uso e o não uso de mosquiteiro tanto para o sexo feminino ($\chi^2=130,09$; valor-p <0,001) quanto para o masculino ($\chi^2=203,99$; valor-p <0,001) (Tabela 14).

Tabela 13- Distribuição dos indivíduos por estratos da idade em relação às demais covariáveis.

(continua)

covariáveis	IdaCat				
	< 6 anos N(%)	6 a 10 anos N(%)	11 a 15 anos N(%)	16 a 30 anos N(%)	>30 anos N(%)
Sex					
feminino	77(50,66)	30(47,62)	38(56,72)	52(46,02)	57(41,91)
masculino	75(49,34)	33(52,38)	29(43,28)	61(53,98)	79(58,09)
total	152	63	67	113	136
TemAcrI Cat ^a					
< 6 anos	152(100,00)	25(39,68)	27(42,19)	47(41,96)	42(31,82)
6 a 10 anos	0(0,00)	38(60,32)	13(20,31)	13(11,61)	28(21,21)
11 a 15 anos	0(0,00)	0(0,00)	24(37,50)	27(24,11)	35(26,52)
16 a 20 anos	0(0,00)	0(0,00)	0(0,00)	23(20,54)	22(16,67)
> 20 anos	0(0,00)	0(0,00)	0(0,00)	2(1,79)	5(3,79)
total	152	63	64	112	132
AnoEstNat ^b					
< 1 ano	119(78,29)	0(0,00)	2(3,08)	3(2,70)	35(26,12)
1 a 4 anos	33(21,71)	44(69,84)	13(20,00)	49(44,14)	55(41,04)
5 a 8 anos	0(0,00)	19(30,16)	38(58,46)	41(36,94)	23(17,16)
9 a 12 anos	0(0,00)	0(0,00)	12(18,46)	18(16,22)	21(15,67)
total	152	63	65	111	134
Ati					
outra	152(100,00)	58(92,06)	50(74,63)	49(43,36)	57(41,91)
agricultura/ pecuária	0(0,00)	1(1,59)	10(14,93)	40(35,40)	62(45,59)
derrubada no Iquiri	0(0,00)	2(3,17)	2(2,99)	9(7,96)	9(6,62)
derrubada em outro local	0(0,00)	2(3,17)	5(7,46)	15(13,27)	8(5,88)
total	152	63	67	113	136

Tabela 13- Distribuição dos indivíduos por estratos da idade em relação às demais covariáveis.

(conclusão)					
covariáveis	IdaCat				
	< 6 anos N(%)	6 a 10 anos N(%)	11 a 15 anos N(%)	16 a 30 anos N(%)	>30 anos N(%)
LocKm					
14-20 Km	38(25,00)	18(28,57)	23(34,33)	27(23,89)	49(36,03)
20-24 Km	25(16,45)	12(19,05)	16(23,88)	22(19,47)	25(18,38)
24-30 Km	62(40,79)	26(41,27)	18(26,87)	54(47,79)	49(36,03)
30 Km- Reserva	27(17,76)	7(11,11)	10(14,93)	10(8,85)	13(9,56)
total	152	63	67	113	136
LocPesDor ^c					
não pesca	114(91,20)	36(64,29)	32(59,26)	54(52,94)	76(59,84)
Amazonas/Iquiri	3(1,97)	5(7,94)	6(8,96)	22(19,47)	14(10,29)
outro local	8(6,40)	15(26,79)	16(29,63)	26(25,49)	37(29,13)
total	125	56	54	102	127
LocPlaRoc ^d					
não vai para a	121(96,80)	34(60,71)	35(64,81)	59(57,28)	69(54,33)
Amazonas/Iquiri	0(0,00)	1(1,79)	2(3,70)	6(5,83)	8(6,30)
outro local	4(3,20)	21(37,50)	17(31,48)	38(36,89)	50(39,37)
total	125	56	54	103	127
Mos ^e					
sim	20(21,05)	12(23,53)	5(9,80)	15(17,65)	17(15,04)
não	75(78,95)	39(76,47)	46(90,20)	70(82,35)	96(84,96)
total	95	51	51	85	113

IdaCat: idade categorizada

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

Ati: atividade

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

^a 8 informações perdidas (*missing*)^c 67 informações perdidas (*missing*)^e 136 informações perdidas (*missing*)

Sex: sexo

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

LocPlaRoc: local da plantação e da roça

^b 6 informações perdidas (*missing*)^d 66 informações perdidas (*missing*)

Tabela 14- Distribuição dos indivíduos por estratos do sexo em relação às demais covariáveis.

covariáveis	Sex	
	feminino N(%)	masculino N(%)
TemAcrlCat ^a		
< 6 anos	145(57,54)	148(54,61)
6 a 10 anos	41(16,27)	51(18,82)
11 a 15 anos	40(15,87)	46(16,97)
16 a 20 anos	21(8,33)	24(8,86)
> 20 anos	5(1,98)	2(0,74)
total	252	271
AnoEstNat ^b		
< 1 ano	74(29,25)	85(31,25)
1 a 4 anos	91(35,97)	103(37,87)
5 a 8 anos	64(25,30)	57(20,96)
9 a 12 anos	24(9,49)	27(9,93)
total	253	272
Ati		
outra	222(87,40)	144(51,99)
agricultura/ pecuária	32(12,60)	81(29,24)
derrubada no Iquiri	0(0,00)	22(7,94)
derrubada em outro local	0(0,00)	30(10,83)
total	254	277
LocKm		
14-20 Km	74(29,13)	81(29,24)
20-24 Km	52(20,47)	48(17,33)
24-30 Km	98(38,58)	111(40,07)
30 Km- Reserva	30(11,81)	37(13,36)
total	254	277
LocPesDor ^c		
não pesca	175(79,55)	137(56,15)
Amazonas/Iquiri	4(1,82)	46(18,85)
outro local	41(18,64)	61(25,00)
total	220	244
LocPlaRoç ^d		
não vai para a Amazonas/Iquiri	206(93,64)	112(45,71)
outro local	0(0,00)	17(6,94)
total	14(6,36)	116(47,35)
total	220	245
Mos ^e		
sim	37(20,11)	32(15,17)
não	147(79,89)	179(84,83)
total	184	211

AnoEstNat: anos de estudo

Ati: atividade

LocKm: localização do domicílio

Mos: uso de mosquiteiro

^a 8 informações perdidas (*missing*)^c 67 informações perdidas (*missing*)^e 136 informações perdidas (*missing*)

Sex: sexo

TemAcrlCat: tempo de Acrelândia categorizado

LocPesDor: local da pescaria

LocPlaRoç: local da plantação e da roça

^b 6 informações perdidas (*missing*)^d 66 informações perdidas (*missing*)

Os participantes com maior tempo de estudo escolar (9 a 12 anos) apresentaram a maior diferença entre os 25% com menor poder aquisitivo e os 25% com maior poder aquisitivo ($\chi^2=28,97$; valor-p <0,001), sugerindo uma associação positiva entre anos de estudo e índice de riqueza na coorte, ou seja, indivíduos com maior escolaridade tendem a ter melhor nível socioeconômico (Tabela 15).

O uso ou não de mosquiteiro não demonstra sofrer influência da escolaridade. Mesmo aquelas pessoas com elevado grau de instrução (9 a 12 anos) apresentaram maior percentual entre os que não usavam o mosquiteiro (86,67% contra 13,33%, respectivamente) com elevada significância estatística ($\chi^2=46,37$; valor-p <0,001). Os demais estratos também apresentaram valor-p abaixo de 5% [para < 1 ano de estudo ($\chi^2=58,62$; valor-p <0,001); para 1 a 4 anos ($\chi^2=138,79$; valor-p <0,001) e para 5 a 8 anos ($\chi^2=78,56$; valor-p <0,001)] (Tabela 15).

Quanto às atividades desenvolvidas pelos participantes, observa-se através da tabela 16 que a distribuição não foi ao acaso entre os que desenvolveram alguma atividade relacionada à terra (agricultura/pecuária, derrubada no Iquiri e derrubada em outro local) e moravam na localidade do 14-20 Km (n=41, total=165, somatório dos totais das três categorias das atividades ligadas à terra) e daqueles que exerciam a mesma atividade e moravam no final do ramal, 30 Km-Reserva (n=15, total=165) ($\chi^2=13,86$; valor-p <0,001). Resultado semelhante ocorreu para a distribuição daqueles que não praticavam nenhuma atividade que tinha a terra como meio de sustento (estrato “outra”) e que moravam nas duas regiões do Granada em discussão ($\chi^2=13,85$; valor-p <0,001). Diferenças estatisticamente significantes também foram encontradas ao comparar tanto aqueles indivíduos que moravam no início do ramal (14-20 Km) quanto os que moravam no final dele (30 Km-Reserva) quando avaliada a atividade desenvolvida (atividade não relacionada à terra – outra, e aquelas relacionadas à terra – agricultura/pecuária, derrubada no Iquiri e derrubada em outro local) ao tomar o local de moradia como referência [para 14-20 Km (total=155, $\chi^2=69,52$; valor-p <0,001) e para 30 Km-Reserva (total=67, $\chi^2=39,81$; valor-p <0,001)] (Tabela 16).

Tabela 15- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável anos de estudo em relação às demais covariáveis.

covariáveis	AnoEstNat			
	< 1 ano N(%)	1 a 4 anos N(%)	5 a 8 anos N(%)	9 a 12 anos N(%)
TemAcrLCat ^a				
< 6 anos	133(86,36)	101(52,06)	45(37,19)	12(23,53)
6 a 10 anos	6(3,90)	48(24,74)	32(26,45)	5(9,80)
11 a 15 anos	6(3,90)	23(11,86)	33(27,27)	24(47,06)
16 a 20 anos	8(5,19)	19(9,79)	9(7,44)	9(17,65)
> 20 anos	1(0,65)	3(1,55)	2(1,65)	1(1,96)
total	154	194	121	51
Ati ^b				
outra	132(83,02)	119(61,34)	79(65,29)	35(68,63)
agricultura/ pecuária	24(15,09)	48(24,74)	27(22,31)	10(19,61)
derrubada no Iquiri	2(1,26)	11(5,67)	7(5,79)	1(1,96)
derrubada em outro local	1(0,63)	16(8,25)	8(6,61)	5(9,80)
total	159	194	121	51
IndRiqQua ^c				
-4,87 a -1,29	30(21,28)	46(23,71)	33(27,50)	26(50,98)
-1,28 a 0,28	26(18,44)	43(22,16)	30(25,00)	16(31,37)
0,29 a 1,57	32(22,70)	32(16,49)	29(24,17)	8(15,69)
1,58 a 5,41	53(37,59)	73(37,63)	28(23,33)	1(1,96)
total	141	194	120	51
LocKm ^d				
14-20 Km	36(22,64)	40(20,62)	44(36,36)	34(66,67)
20-24 Km	26(16,35)	40(20,62)	23(19,01)	11(21,57)
24-30 Km	68(42,77)	85(43,81)	47(38,84)	5(9,80)
30 Km- Reserva	29(18,24)	29(14,95)	7(5,79)	1(1,96)
total	159	194	121	51
LocPesDor ^e				
não pesca	112(87,50)	112(63,64)	65(59,09)	22(46,81)
Amazonas/Iquiri	6(4,69)	25(14,20)	16(14,55)	3(6,38)
outro local	10(7,81)	39(22,16)	29(26,36)	22(46,81)
total	128	176	110	47
LocPlaRoc ^f				
não vai para a Amazonas/Iquiri	111(86,72)	101(57,39)	76(68,47)	28(59,57)
1(0,78)		9(5,11)	5(4,50)	1(2,13)
outro local	16(12,50)	66(37,50)	30(27,03)	18(38,30)
total	128	176	111	47
Mos ^g				
sim	21(21,65)	24(15,69)	18(18,18)	6(13,33)
não	76(78,35)	129(84,31)	81(81,82)	39(86,67)
total	97	153	99	45

AnoEstNat: anos de estudo

Ati: atividade

Mos: uso de mosquito

IndRiqQua: índice de riqueza em quartil

^a 11 informações perdidas (*missing*)^c 25 informações perdidas (*missing*)^f 69 informações perdidas (*missing*)

TemAcrLCat: tempo de Acrelândia categorizado

LocKm: localização do domicílio

LocPlaRoc: local da plantação e da roça

LocPesDor: local da pescaria

^{b,d} 6 informações perdidas (*missing*)^e 70 informações perdidas (*missing*)^g 137 informações perdidas (*missing*)

Tabela 16- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável atividade em relação às demais covariáveis.

covariáveis	Ati			
	outra N(%)	agricultura /pecuária N(%)	derrubada no Iquiri N(%)	derrubada em outro local N(%)
TemAcrIcat ^a				
< 6 anos	240(65,75)	31(28,97)	9(42,86)	13(43,33)
6 a 10 anos	61(16,71)	22(20,56)	4(19,05)	5(16,67)
11 a 15 anos	44(12,05)	34(31,78)	2(9,52)	6(20,00)
16 a 20 anos	17(4,66)	16(14,95)	6(28,57)	6(20,00)
> 20 anos	3(0,82)	4(3,74)	0(0,00)	0(0,00)
total	365	107	21	30
IndRiqQua ^b				
1,58 a 5,41	92(26,21)	25(23,36)	8(38,10)	10(33,33)
0,29 a 1,57	79(22,51)	24(22,43)	4(19,05)	8(26,67)
1,28 a 0,28	71(20,23)	18(16,82)	5(23,81)	7(23,33)
-4,87 a -1,29	109(31,05)	40(37,38)	4(19,05)	5(16,67)
total	351	107	21	30
LocKm				
14-20 Km	114(31,15)	24(21,24)	4(18,18)	13(43,33)
20-24 Km	66(18,03)	26(23,01)	4(18,18)	4(13,33)
24-30 Km	134(36,61)	54(47,79)	10(45,45)	11(36,67)
30 Km- Reserva	52(14,21)	9(7,96)	4(18,18)	2(6,67)
total	366	113	22	30
LocPesDor ^c				
não pesca	236(76,13)	60(58,25)	7(33,33)	9(30,00)
Amazonas/Iquiri	17(5,48)	12(11,65)	11(52,38)	10(33,33)
outro local	57(18,39)	31(30,10)	3(14,29)	11(36,67)
total	310	103	21	30
LocPlaRoç ^d				
não vai para a plantação/roça	271(87,42)	41(39,81)	2(9,09)	4(13,33)
Amazonas/Iquiri	1(0,32)	4(3,88)	12(54,55)	0(0,00)
outro local	38(12,26)	58(56,31)	8(36,36)	26(86,67)
total	310	103	22	30

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza em quartil

LocPlaRoç: local da plantação e da roça

^a 8 informações perdidas (*missing*)^c 67 informações perdidas (*missing*)

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

LocKm: localização do domicílio

LocPesDor: local da pescaria

^b 22 informações perdidas (*missing*)^d 67 informações perdidas (*missing*)

Indivíduos com menos de 6 anos de residência em Acrelândia foram maioria em todos os estratos para do índice de riqueza como mostra a tabela 17. Para aqueles participantes pertencentes ao grupo dos 25% com menor poder aquisitivo, 35,56% estavam a menos de 6 anos no local e 2,96 com mais de 20 anos morando no município ($\chi^2=44,75$; valor-p <0,001). Para os 25% mais ricos 67,72% moravam a menos de 6 anos no município e 1,27% a mais de 20 anos ($\chi^2=152,98$; valor-p <0,001) (Tabela 17).

Fixando-se o local da residência como referência na tabela 17, observa-se que 42,67% (n=64, total=150) dos indivíduos que moravam no 14-20 Km pertenciam ao estrato dos 25% com menor poder aquisitivo, enquanto 16,67% (n=25, total=150) dos que moravam na mesma localidade faziam parte dos 25% com maior índice de riqueza ($\chi^2=22,92$; valor-p <0,001). Dos participantes que residiam no 30 Km-Reserva, 4,69% (n=3, total=64) estavam contidos no grupo dos 25% mais pobres e 70,31% (n=45, total=64) no grupo dos 25% mais ricos ($\chi^2=54,95$; valor-p <0,001) (Tabela 17).

Entre os indivíduos com menor poder aquisitivo e aqueles com maior, o uso de mosquitoireiro foi baixo. Para os 25% mais pobres, apenas 5% faziam uso dessa proteção e 95% a ignoravam ($\chi^2=190,81$; valor-p <0,001). Já nos 25% mais ricos 17,80% usavam mosquitoireiro e 82,20% não o utilizava ($\chi^2=95,32$; valor-p <0,001). Extrai-se da tabela 17 a informação que 7,35% (n=6, total=68) dos indivíduos que usavam mosquitoireiro são do grupo dos 25% menos ricos e 30,88% (n=21, total=68) do grupo dos 25% mais ricos ($\chi^2=11,21$; valor-p <0,001) e 35,29% (n=114, total=323) dos que não utilizavam o mosquitoireiro estavam incluídos na categoria dos 25% menos ricos e 30,03% (n=97, total=323) pertenciam ao último quartil do índice de riqueza ($\chi^2=1,62$; valor-p =0,203) (Tabela 17).

Tabela 17- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável índice de riqueza em relação às demais covariáveis.

covariáveis	IndRiqQua			
	-4,87 a -1,29 N(%)	-1,28 a 0,28 N(%)	0,29 a 1,57 N(%)	1,58 a 5,41 N(%)
TemAcrIcat ^a				
< 6 anos	48(35,56)	68(59,13)	57(56,44)	107(67,72)
6 a 10 anos	28(20,74)	18(15,65)	20(19,80)	26(16,46)
11 a 15 anos	30(22,22)	24(20,87)	13(12,87)	18(11,39)
16 a 20 anos	25(18,52)	4(3,48)	11(10,89)	5(3,16)
> 20 anos	4(2,96)	1(0,87)	0(0,00)	2(1,27)
total	135	115	101	158
LocKm ^b				
14-20 Km	64(47,41)	25(21,74)	36(35,64)	25(15,82)
20-24 Km	42(31,11)	17(14,78)	14(13,86)	23(14,56)
24-30 Km	26(19,26)	69(60,00)	39(38,61)	65(41,14)
30 Km- Reserva	3(2,22)	4(3,48)	12(11,88)	45(28,48)
total	135	115	101	158
LocPesDor ^c				
não pesca	84(63,64)	71(95,74)	62(71,26)	93(69,92)
Amazonas/Iquiri	6(4,55)	15(13,89)	15(17,24)	13(9,77)
outro local	42(31,82)	22(20,37)	10(11,49)	27(20,39)
total	132	108	87	133
LocPlaRoç ^d				
não vai para a	90(68,18)	78(72,22)	64(72,73)	84(63,16)
Amazonas/Iquiri	3(2,27)	5(4,63)	4(4,55)	4(3,01)
outro local	39(29,55)	25(23,15)	20(22,73)	45(33,83)
total	132	108	88	133
Mos ^e				
sim	6(5,00)	22(26,19)	19(27,54)	21(17,80)
não	114(95,00)	62(73,81)	50(72,46)	97(82,20)
total	120	84	69	118

IndRiqQua: índice de riqueza em quartil

LocKm: localização do domicílio

LocPesDor: local da pescaria

^{a,b} 22 informações perdidas (*missing*)^d 71 informações perdidas (*missing*)

-4,87 a -1,29: primeiro quartil

0,29 a 1,57: terceiro quartil

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

LocPlaRoç: local da plantação e da roça

Mos: uso de mosquiteiro

^c 71 informações perdidas (*missing*)^e 140 informações perdidas (*missing*)

-1,28 a 0,28: segundo quartil

1,58 a 5,41: quarto quartil

O uso de mosquiteiro foi menor no trecho compreendido entre os quilômetros 14 e 20 do Granada. Dos 121 indivíduos investigados sobre o uso de mosquiteiro, 103 (85,12%) afirmaram não usá-lo, enquanto 18 (14,88%) disseram que usavam essa proteção contra mosquitos ($\chi^2=115,80$; valor-p <0,001). Já no final do Ramal do Granada a proporção de pessoas que usavam o mosquiteiro foi maior do que no início dele. Naquela localidade, dos 45 participantes que tiveram essa informação colhida 19(42,22%) relataram usar o mosquiteiro e 26(57,78%) referiram não usá-lo ($\chi^2=1,71$; valor-p =0,191) (Tabela 18).

Tabela 18- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável localização do domicílio em relação às demais covariáveis.

covariáveis	LocKm			
	14-20 Km N(%)	20-24 Km N(%)	24-30 Km N(%)	30 Km- Reserva N(%)
TemAcrLCat ^a				
< 6 anos	73(47,71)	38(38,38)	125(61,27)	57(85,07)
6 a 10 anos	23(15,03)	21(21,21)	41(20,10)	7(10,45)
11 a 15 anos	33(21,57)	32(32,32)	18(8,82)	3(4,48)
16 a 20 anos	23(15,03)	5(5,05)	17(8,33)	0(0,00)
> 20 anos	1(0,65)	3(3,03)	3(1,47)	0(0,00)
total	153	99	204	67
LocPesDor ^b				
não pesca	77(58,33)	67(72,83)	129(69,35)	39(72,22)
Amazonas/Iquiri	8(6,06)	2(2,17)	27(14,52)	13(24,07)
outro local	47(35,61)	23(25,00)	30(16,13)	2(3,70)
total	132	92	186	54
LocPlaRoç ^c				
não vai para a plantação/roça	85(64,39)	66(71,74)	131(70,05)	36(66,67)
Amazonas/Iquiri	4(3,03)	1(1,09)	7(3,74)	5(9,26)
outro local	43(32,58)	25(27,17)	49(26,20)	13(24,07)
total	132	92	187	54
Mos ^d				
sim	18(14,88)	10(11,63)	22(15,38)	19(42,22)
não	103(85,12)	76(88,37)	121(84,62)	26(57,78)
total	121	86	143	45

TemAcrLCat: tempo de Acrelândia categorizado

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

^a 8 informações perdidas (*missing*)

^c 66 informações perdidas (*missing*)

LocKm: localização do domicílio

LocPlaRoç: local da plantação e da roça

^b 67 informações perdidas (*missing*)

^d 136 informações perdidas (*missing*)

O uso de mosquiteiro nas residências com menor número de moradores foi tão baixo quanto naquelas com maior quantidade, sugerindo que o não uso dessa proteção não é consequência de maior número de pessoas dentro do domicílio a disputar um mosquiteiro. Nos lares onde foi investigado o uso dessa proteção, havia 16(17,98%) pessoas usando mosquiteiro e 73(82,02%) que não usavam nas moradias com 1 a 3 pessoas ($\chi^2=70,37$; valor- $p < 0,001$); já naquelas residências onde havia maior número de pessoas (6 a 13 moradores) 22(14,19%) disseram que usavam o mosquiteiro e 133 (85,81%) afirmaram o contrário ($\chi^2=153,46$; valor- $p < 0,001$) (Tabela 19).

Tabela 19- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável número de moradores em relação ao uso de mosquiteiro.

covariáveis	NumMorQua			
	1 a 3 moradores N(%)	4 moradores N(%)	5 moradores N(%)	6 a 13 moradores N(%)
Mos ^a				
sim	16(17,98)	19(23,17)	12(17,39)	22(14,19)
não	73(82,02)	63(76,83)	57(82,61)	133(85,81)
total	89	82	69	155

NumMorQua: número de moradores por quartil

Mos: uso de mosquiteiro

^a 136 informações perdidas (*missing*)

A tabela 20 mostra que dos indivíduos que foram investigados, quanto à atividade de realizar pescaria ou não, e em qual local, 80,45% não realizavam essa atividade e nem tampouco iam também para a plantação em qualquer lugar. Entretanto, cerca de 22% daqueles que tinham por hábito pescar no rio Iquiri também frequentavam plantações localizadas no Amazonas e às margens do referido rio (Tabela 20).

Tabela 20- Distribuição dos indivíduos por estratos da covariável local da pescaria em relação ao local da plantação.

covariáveis	LocPesDor		
	não pesca N(%)	Amazonas/Iquiri N(%)	outro local N(%)
LocPlaRoç ^a			
não vai para a plantação/roça	251(80,45)	15(30,00)	52(50,98)
Amazonas/Iquiri	3(0,96)	11(22,00)	2(1,96)
outro local	58(18,59)	24(48,00)	48(47,06)
total	312	50	102

LocPesDor: local da pescaria

LocPlaRoç: local da plantação e da roça

^a 67 informações perdidas (*missing*)

As covariáveis relacionadas aos domicílios mostram que as casas do Ramal do Granada eram de construções modestas, sendo que a maioria que possuía telha (amianto ou barro) como telhado não tinha o teto forrado (97,22%), apresentava frestas em suas paredes (92,16%) e continha a madeira como material do piso (86,92%) (Tabela 21). A maior parte desses domicílios (91,51%) apresentava frestas em suas paredes e tinham o piso feito de madeira (Tabela 22) e 92,92% não tinham o teto forrado e possuíam frestas em suas paredes (Tabela 23). Vê-se na tabela 24 que a característica humilde das habitações é independente nível socioeconômico, pois em todos os estratos do índice de riqueza o que prevalece são as características de construções mais simples e muitas vezes com favorecimento à elevação do risco de contato intradomiciliar do homem com o anofelino, como a presença de frestas nas paredes da maioria dos domicílios em todos os níveis socioeconômicos e em todas as regiões do Ramal do Granada, mesmo naquelas localidades de ocupação mais antiga, como entre os quilômetros 14-20 e do 20-24 (Tabela 25).

Tabela 21- Distribuição dos domicílios segundo o material do telhado em relação às demais covariáveis.

covariáveis	MatTel		
	amianto/telha de barro N(%)	madeira N(%)	palha N(%)
ForTet			
sim	3(2,78)	0(0,00)	0(0,00)
não	105(97,22)	14(100,00)	1(100,00)
total	108	14	1
TipPar ^a			
sem frestas	8(7,84)	2(15,39)	0(0,00)
com frestas	94(92,16)	11(84,61)	1(100,00)
total	102	13	1
MatPis ^b			
cerâmica/mosaico			
cimento/tijolo	10(9,34)	0(0,00)	0(0,00)
madeira	93(86,92)	13(92,86)	1(100,00)
terra batida	4(3,74)	1(7,14)	0(0,00)
total	107	14	1

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

^a 7 informações perdidas (*missing*)^b 1 informação perdida (*missing*)

Tabela 22- Distribuição dos domicílios segundo o tipo de parede em relação ao material utilizado no piso.

covariáveis	TipPar	
	sem frestas N(%)	com frestas N(%)
MatPis ^a		
cerâmica/mosaico		
cimento/tijolo	6(60,00)	4(3,77)
madeira	4(40,00)	97(91,51)
terra batida	0(0,00)	5(4,72)
total	10	106

TipPar: tipo de parede

MatPis: material do piso

^a 7 informações perdidas (*missing*)

Tabela 23- Distribuição dos domicílios segundo forração ou não do teto em relação às demais covariáveis.

covariáveis	ForTet	
	sim N(%)	não N(%)
TipPar ^a		
sem frestas	2(66,67)	8(7,08)
com frestas	1(33,33)	105(92,92)
total	3	113
MatPis ^b		
cerâmica/mosaico		
cimento/tijolo	2(66,67)	8(6,72)
madeira	1(33,33)	106(89,08)
terra batida	0(0,00)	5(4,20)
total	3	119

ForTet: forração do teto

TipPar: tipo de parede

MatPis: material do piso

^a 7 informações perdidas (*missing*)

^b 1 informação perdida (*missing*)

Tabela 24- Distribuição dos domicílios segundo o índice de riqueza em relação às demais covariáveis.

covariáveis	IndRiqQua			
	-4,87 a - 1,29 N(%)	-1,28 a 0,28 N(%)	0,29 a 1,57 N(%)	1,58 a 5,41 N(%)
MatTel				
amianto/telha	30(90,91)	27(93,10)	21(80,77)	30(85,71)
madeira	3(9,09)	2(6,90)	5(19,23)	4(11,43)
palha	0(0,00)	0(0,00)	0(0,00)	1(2,86)
total	33	29	26	35
ForTet				
sim	2(6,06)	0(0,00)	0(0,00)	1(2,86)
não	31(93,94)	29(100,00)	26(100,00)	34(97,14)
total	33	29	26	35
TipPar ^a				
sem frestas	8(24,24)	1(3,45)	0(0,00)	1(3,23)
com frestas	25(75,76)	28(96,55)	23(100,00)	30(96,77)
total	33	29	23	31
MatPis ^b				
cerâmica/mosaico	8(24,24)	1(3,45)	0(0,00)	1(2,86)
madeira	25(75,76)	25(86,21)	25(100,00)	32(91,43)
terra batida	0(0,00)		0(0,00)	2(5,71)
total	33	29	25	35
CozSep				
não	29(87,88)	27(93,10)	23(88,46)	27(77,14)
sim	4(12,12)	2(6,90)	3(11,54)	8(22,86)
total	33	29	26	35

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

^a 7 informações perdidas (*missing*)^b 1 informação perdida (*missing*)

TipPar: tipo de parede

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

Tabela 25- Distribuição dos domicílios segundo a localização do domicílio em relação às demais covariáveis.

covariáveis	LocKm			
	14-20 Km N(%)	20-24 Km N(%)	24-30 Km N(%)	30 Km- Reserva N(%)
MatTel				
amianto/telha de				
barro	35(89,74)	19(90,48)	43(86,00)	11(84,62)
madeira	4(10,26)	2(9,52)	6(12,00)	2(15,38)
palha	0(0,00)	0(0,00)	1(2,00)	0(0,00)
total	39	21	50	13
ForTet				
sim	2(5,13)	0(0,00)	0(0,00)	1(7,69)
não	37(94,87)	21(100,00)	50(100,00)	12(92,31)
total	39	21	50	13
TipPar ^a				
sem frestas	7(19,44)	2(9,52)	0(0,00)	1(7,69)
com frestas	29(80,56)	19(90,48)	46(100,00)	12(92,31)
total	36	21	46	13
MatPis ^b				
cerâmica/mosaico				
cimento/tijolo	7(18,42)	2(9,52)	1(2,00)	0(0,00)
madeira	29(76,32)	18(85,72)	48(96,00)	12(92,31)
terra batida	2(5,26)	1(4,76)	1(2,00)	1(7,69)
total	38	21	50	13
CozSep				
não	33(84,62)	17(80,95)	44(88,00)	12(92,31)
sim	6(15,38)	4(19,05)	6(12,00)	1(7,69)
total	39	21	50	13
NumMorQua				
1 a 3 moradores	18(46,15)	7(33,33)	21(42,00)	3(23,08)
4 moradores	11(28,21)	3(14,29)	9(18,00)	5(38,46)
5 moradores	6(15,38)	4(19,05)	8(16,00)	1(7,69)
6 a 13 moradores	4(10,26)	7(33,33)	12(24,00)	4(30,77)
total	39	21	50	13

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

^a 7 informações perdidas (*missing*)^b 1 informação perdida (*missing*)

TipPar: tipo de parede

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

NumMorQua: numero de moradores por quartil

3.5.1 O gráfico de Kaplan-Meier das covariáveis

Os indivíduos acompanhados tenderam a experimentar o primeiro evento de malária vívax mais precocemente do que para o primeiro evento de falcíparum. Em outras palavras, o risco para malária vívax parece ser maior do que para malária falcíparum no Ramal do Granada, dentro do período de seguimento. Observa-se na figura 27 que 70% dos indivíduos levaram aproximadamente 900 dias para apresentar o primeiro evento de malária de qualquer espécie dentro do período de acompanhamento da coorte, enquanto que para o primeiro evento de malária vívax 70% dos indivíduos sobreviveram por aproximadamente 1100 dias. Já para falcíparum, um pouco mais de 80% dos indivíduos não experimentaram nenhum evento de malária para esta espécie e aproximadamente 85% dos indivíduos sobreviveram até próximo de 1000 dias de observação (Figura 27).

Olhando-se para o tempo até múltiplos eventos de malária, vê-se que a função sobrevida é ligeiramente menor, tanto sem distinguir a espécie quanto as distinguindo, comparando-se com o tempo até o primeiro evento. Observa-se que 50% dos pacientes estavam sem malária por qualquer espécie até o dia 738 e que 70% deles sobreviveram por aproximadamente 250 dias, enquanto 80% levaram aproximadamente 1000 dias para adquirir malária falcíparum e repetir novos eventos (Figura 27). Esta redução na função sobrevida é esperada, pois como a cada evento ocorre um salto na função tipo escada característica do Kaplan-Meier (K-M) para um determinado tempo e como o tamanho desse salto depende do número de eventos acontecidos nesse tempo é lógico admitir que a função $S(t)$ será diferente quando se trabalha com múltiplos eventos e não com evento único.

3.5.1.1 Primeiro evento de malária para qualquer espécie

A avaliação da proporcionalidade dos riscos das covariáveis que foram testadas para os modelos mostrou que para o primeiro evento de malária de qualquer espécie não teve grandes desvios da proporcionalidade. Algumas covariáveis apresentaram cruzamentos ou ligeiros distanciamentos em seus paralelismos (Figura 28), mas deve-se ter cautela em retirá-las, pois leves quebras no pressuposto de proporcionalidade podem ser devidas ao tamanho da amostra para um determinado estrato e em um determinado momento do tempo. A análise deve prosseguir.

Covariáveis como idade e sexo não apresentaram grandes desvios no gráfico de Kaplan-Meier e tanto pelo teste log-rank quanto pelo de Peto não apresentaram significância

estatística, mostrando que as diferenças vistas entre os estratos dessas covariáveis na coorte não diferencia ao que seria visto na população em geral.

O tempo de Acrelândia foi limítrofe para o teste log-rank (valor- $p=0,056$) e significativo para o teste de Peto (valor- $p=0,022$). O gráfico de K-M mostra que indivíduos com mais de 20 anos de residência na região tendem a desviar acentuadamente dos demais, mas isso se deve à ausência de falhas nesse estrato em todo o período de estudo. Consideração semelhante se aplica na avaliação da pluviosidade, a qual apresenta poucas falhas em uma de suas categorias (jun-set) e com suspeita de desrespeito à proporcionalidade, com diferença significativa entre os estratos tanto pelo log-rank (valor- $p=0,001$) quanto pelo Peto (valor- $p=0,001$) (Figura 28, Tabela 26).

Observam-se ainda na figura 28 que a probabilidade de sobreviver por mais tempo é sempre menor para os homens do que para as mulheres durante todo o período de estudo e que o risco para o primeiro evento de malária dentro do período de seguimento da coorte para os indivíduos que possuíam menor poder aquisitivo parece ser maior do que para aqueles mais abastados, assim como também parece ser maior o risco para os indivíduos que moravam nas localidades situadas mais próximas ao final do ramal (24-30 Km e 30 Km-Reserva) do que para as mais distantes (14-20 Km e 20-24 Km) (Figura 28).

Figura 27- Função sobrevida até o primeiro evento e para múltiplos eventos de malária para qualquer espécie, malária vivax e malária falciparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.1.Geral (primeiro evento de malária de qualquer espécie), viv.1.Geral (primeiro evento de malária vivax), fal.1.Geral (primeiro evento de malária falciparum), mal.mult.Geral (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie), viv.mult.Geral (múltiplos eventos de malária vivax), fal.mult.Geral (múltiplos eventos de malária falciparum).

Figura 28- Função sobrevida até o primeiro evento de malária para qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.1.IdaCat (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por idade), mal.1.Sex (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por sexo), mal.1.Ati (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por atividade), mal.1.AnoEstNat (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por anos de estudo).

Figura 28 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária para qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.1.TemAcriCat (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por tempo de Acrelândia), mal.1.IndRiqQua (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por índice de riqueza), mal.1.Pluv (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado pluviosidade), mal.1.LocKm (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por localização do domicílio).

Figura 28 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária para qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.1.CozSep (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por cozinha separada), mal.1.ForTet (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por forração do teto), mal.1.MatPis (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por material do piso), mal.1.MatTel (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por material do telhado).

Figura 28 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária para qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.1.TipPar (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por tipo de parede), mal.1.NumMorQua (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por número de morador), mal.1.LocPesDor (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por local da pescaria), mal.1.LocPlaRoç (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por local da plantação), mal.1.Mos (primeiro evento de malária de qualquer espécie estratificado por uso de mosquitoire).

Tabela 26- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(continua)

			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
IdaCat				4,90	4	0,293		4,00	4	0,406
< 6 anos	152	44	3,06				2,03			
6 a 10 anos	63	30	2,25				2,27			
11 a 15 anos	67	27	0,13				0,03			
16 a 30 anos	113	48	0,68				0,47			
> 30 anos	136	53	0,12				0,17			
Sex				2,30	1	0,130		3,00	1	0,084
feminino	254	89	2,30				3,00			
masculino	277	113	2,30				3,00			
Ati				7,70	3	0,052		6,60	3	0,085
outra	366	123	5,30				4,31			
agricultura/ pecuária	113	52	2,41				2,30			
derrubada no Iquiri	22	14	4,31				3,60			
derrubada em outro local	30	13	0,01				0,02			
AnoEstNat ^a				6,80	3	0,080		7,90	3	0,050
< 1 ano	159	51	1,27				0,98			
1 a 4 anos	194	85	3,67				4,12			
5 a 8 anos	121	49	0,24				0,18			
9 a 12 anos	51	14	3,76				4,98			

IdaCat: idade categorizada

Ati: atividade

^a 6 informações perdidas (*missing*)

Sex: sexo

AnoEstNat: anos de estudo

Tabela 26- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto. (continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrIcat ^a				9,20	4	0,056		11,50	4	0,022
< 6 anos	293	116	5,94				8,23			
6 a 10 anos	92	37	0,08				0,21			
11 a 15 anos	86	30	1,72				2,11			
16 a 20 anos	45	16	1,18				2,15			
> 20 anos	7	0	3,76				3,67			
IndRiqQua ^b				41,00	3	<0,001		45,70	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	35	19,25				22,56			
0,29 a 1,57	115	42	1,39				1,43			
1,28 a 0,28	101	41	0,06				0,03			
-4,87 a -1,29	158	80	34,54				38,23			
Pluv				13,90	2	0,001		13,70	2	0,001
jun-set	46	2	13,32				13,25			
mar-mai	164	59	0,00				0,00			
out-fev	321	141	4,40				4,05			
LocKm				157,00	3	<0,001		168,00	3	<0,001
14-20 Km	155	31	29,90				32,30			
20-24 Km	100	16	27,00				29,20			
24-30 Km	209	104	19,90				17,50			
30 Km- Reserva	67	51	109,80				120,60			
CozSep				0,10	1	0,734		0,00	1	0,854
não	456	171	0,12				0,03			
sim	75	31	0,12				0,03			
TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 26- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				0,90	1	0,351		0,80	1	0,358
sim	12	6	0,87				0,84			
não	519	196	0,87				0,84			
MatPis ^a				11,30	2	0,004		11,40	2	0,003
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	5	7,02				6,94			
madeira	482	190	2,19				1,91			
terra batida	12	7	4,67				4,84			
MatTel				16,30	2	<0,001		18,90	2	<0,001
amianto/telha de										
barro	469	171	7,71				10,35			
madeira	54	25	3,17				4,55			
palha	8	6	12,75				13,82			
TipPar ^b				2,20	1	0,140				
sem frestas	40	11	2,18				1,50	1,50	1	0,220
com frestas	448	188	2,18				1,50			
NumMorQua				16,80	3	0,001		19,00	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	37	4,74				5,35			
4 moradores	119	41	0,15				0,01			
5 moradores	96	33	3,27				4,68			
6 a 13 moradores	192	91	15,59				16,70			
ForTet: forração do teto			MatPis: material do piso				MatTel: material do telhado			
TipPar: tipo de parede			NumMorQua: número de moradores por quartil							
^a 4 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 43 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 26- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(conclusão)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
LocPesDor ^a								19,00	2	<0,001
não pesca	312	117	2,16	16,10	2	<0,001	2,06			
Amazonas/Iquiri	50	31	15,99				18,67			
outro local	102	38	1,02				1,68			
LocPlaRoç ^b				5,70	2	0,059		5,20	2	0,073
não vai para a plantação/roça	318	118	2,46				2,17			
Amazonas/Iquiri	17	11	4,59				4,34			
outro local	130	58	0,62				0,49			
Mos ^c				4,10	1	0,042		6,50	1	0,011
sim	69	35	4,14				6,51			
não	326	131	4,14				6,51			
LocPesDor: local da pescaria			LocPlaRoç: local da plantação							
Mos: uso de mosquito										
^a 67 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 66 informações perdidas (<i>missing</i>)							
^c 136 informações perdidas (<i>missing</i>)										

3.5.1.2 Primeiro evento de malária vivax

O K-M, o log-rank e o Peto para as covariáveis estratificadas em relação ao primeiro evento de malária vivax, de uma forma geral, seguiram o padrão semelhante ao apresentado no estudo para o primeiro evento de malária de qualquer espécie. A idade e o sexo não mostraram grandes distorções nas curvas de K-M que rompessem com o pressuposto de proporcionalidade dos riscos (Figura 29). Contudo, tanto o teste log-rank quanto o de Peto não apresentaram significância entre os estratos dessas covariáveis, ou seja, essas covariáveis não têm efeito sobre a sobrevida (Tabela 27).

A covariável “cozinha separada” apresentou cruzamento entre os traçados de seus estratos, entretanto, não tão expressivo, pois para o tempo inferior a 200 dias e superior a 1100 dias a proporcionalidade dos riscos foi respeitada (Figura 29). As diferenças notadas entre os estratos dessa covariável não foram significantes pelo teste log-rank (valor-p=0,583) e nem tampouco pelo teste de Peto (valor-p =0,661), mostrando que as curvas de sobrevivência pertencentes aos estratos dessa covariável são equivalentes àquelas dos pacientes em geral, ou seja, não há uma negação da hipótese nula (Tabela 27).

Outras covariáveis (Ati, AnoEstNat, ForTet e TipPar) também não apresentaram significância estatística pelos testes de log-rank e nem de Peto (Tabela 27) e os gráficos de K-M não mostraram fortes evidências de desvio do pressuposto de proporcionalidade para essas covariáveis. Mesmo para TipPar até o tempo 400 dias aproximadamente as duas curvas estão praticamente sobrepostas, ficando praticamente paralelas após esse tempo (Figura 29).

Indivíduos do sexo masculino apresentam menor sobrevida em todo o período de tempo estudo do que as mulheres, assim como aqueles pertencentes aos níveis socioeconômicos mais baixos, quando comparados com os mais elevados, e os moradores das localidades situadas mais próximas ao rio Iquiri (24-30 Km e 30 Km-Reserva), comparando-as com as mais distantes (14-20 Km e 20-24 Km) (Figura 29), com diferenças estatisticamente significantes vistas somente entre os estratos das covariáveis IndRiqQua e LocKm tanto pelo teste log-rank quanto pelo Peto (Tabela 27).

Figura 29- Função sobrevida até o primeiro evento de malária vivax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.1.IdaCat (primeiro evento de malária vivax estratificado por idade), viv.1.Sex (primeiro evento de malária vivax estratificado por sexo), viv.1.Ati (primeiro evento de malária vivax estratificado por atividade), viv.1.AnoEstNat (primeiro evento de malária vivax estratificado por anos de estudo).

Figura 29 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.1.TemAcrlCat (primeiro evento de malária vívax estratificado por tempo de Acrelândia), viv.1.IndRiqQua (primeiro evento de malária vívax estratificado por índice de riqueza), viv.1.Pluv (primeiro evento de malária vívax estratificado pluviosidade), viv.1.LocKm (primeiro evento de malária vívax estratificado por localização do domicílio).

Figura 29 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.1.CozSep (primeiro evento de malária vívax estratificado por cozinha separada), viv.1.ForTet (primeiro evento de malária vívax estratificado por forração do teto), viv.1.MatPis (primeiro evento de malária vívax estratificado por material do piso), viv.1.MatTel (primeiro evento de malária vívax estratificado por material do telhado).

Figura 29 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.1.TipPar (primeiro evento de malária vívax estratificado por tipo de parede), viv.1.NumMorQua (primeiro evento de malária vívax estratificado por número de morador), viv.1.LocPesDor (primeiro evento de malária vívax estratificado por local da pescaria), viv.1.LocPlaRoç (primeiro evento de malária vívax estratificado por local da plantação), viv.1.Mos (primeiro evento de malária vívax estratificado por uso de mosquiteiro).

Tabela 27- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária vívax pelos testes log-rank e Peto.

(continua)										
covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
IdaCat				3,80	4	0,439		3,70	4	0,447
< 6 anos	152	44	0,35				0,18			
6 a 10 anos	63	28	3,23				3,16			
11 a 15 anos	67	22	0,02				0,06			
16 a 30 anos	113	40	0,10				0,10			
> 30 anos	136	44	0,77				0,89			
Sex				1,70	1	0,192		2,40	1	0,124
feminino	254	79	1,70				2,37			
masculino	277	99	1,70				2,37			
Ati				5,10	3	0,167		4,70	3	0,191
outra	366	113	1,69				1,54			
agricultura/										
pecuária	113	44	1,15				1,25			
derrubada no										
Iquiri	22	12	3,21				2,71			
derrubada em										
outro local	30	9	0,58				0,72			
AnoEstNat ^a				2,90	3	0,409		3,90	3	0,273
< 1 ano	159	49	0,06				0,03			
1 a 4 anos	194	71	1,13				1,52			
5 a 8 anos	121	42	0,03				0,02			
9 a 12 anos	51	13	2,38				3,25			

IdaCat: idade categorizada
Ati: atividade

Sex: sexo
AnoEstNat: anos de estudo

^a 6 informações perdidas (*missing*)

Tabela 27- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária vívax pelos testes log-rank e Peto.

			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrICat ^a				11,60	4	0,020		13,70	4	0,008
< 6 anos	293	105	7,32				9,45			
6 a 10 anos	92	34	0,01				0,03			
11 a 15 anos	86	25	2,17				2,50			
16 a 20 anos	45	11	3,38				4,35			
> 20 anos	7	0	3,18				3,12			
IndRiqQua ^b				32,60	3	<0,001		37,70	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	31	15,16				17,83			
0,29 a 1,57	115	36	1,70				1,99			
1,28 a 0,28	101	37	0,19				0,14			
-4,87 a -1,29	158	70	27,00				31,29			
Pluv				11,00	2	0,004		10,90	2	0,004
jun-set	46	2	10,77				10,80			
mar-mai	164	53	0,03				0,09			
out-fev	321	123	2,73				2,43			
LocKm				135,00	3	<0,001		145,00	3	<0,001
14-20 Km	155	26	26,20				27,50			
20-24 Km	100	13	24,10				25,60			
24-30 Km	209	92	15,60				13,20			
30 Km- Reserva	67	47	94,70				106,00			
CozSep				0,30	1	0,583		0,20	1	0,661
não	456	150	0,30				0,19			
sim	75	28	0,30				0,19			
TemAcrICat:tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 27- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária vívax pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				0,40	1	0,534		0,40	1	0,519
sim	12	5	0,39				0,42			
não	519	173	0,39				0,42			
MatPis ^a				11,40	2	0,003		11,50	2	0,003
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	5	5,05				5,13			
madeira	482	166	0,85				0,76			
terra batida	12	7	6,73				6,75			
MatTel				19,90	2	<0,001		21,20	2	<0,001
amianto/telha de										
barro	469	148	10,10				11,96			
madeira	54	24	4,40				5,38			
palha	8	6	15,00				15,27			
TipPar ^b				1,50	1	0,226		1,00	1	0,311
sem frestas	40	10	1,47				1,03			
com frestas	448	165	1,47				1,03			
NumMorQua				22,30	3	<0,001		23,60	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	31	5,24				5,71			
4 moradores	119	34	0,65				0,28			
5 moradores	96	27	4,20				5,45			
6 a 13 moradores	192	86	21,47				21,95			
ForTet: forração do teto			MatPis: material do piso				MatTel: material do telhado			
TipPar: tipo de parede			NumMorQua: número de moradores por quartil							
^a 4 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 43 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 27- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária vívax pelos testes de log-rank e Peto.

(conclusão)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
LocPesDor ^a				6,40	2	0,041		9,20	2	0,010
não pesca	312	106	0,76				0,96			
Amazonas/Iquiri	50	24	6,30				8,97			
outro local	102	34	0,54				0,91			
LocPlaRoç ^b				3,60	2	0,168		3,60	2	0,167
não vai para a										
plantação/roça	318	104	2,23				2,17			
Amazonas/Iquiri	17	9	2,31				2,40			
outro local	130	52	0,88				0,82			
Mos ^c				7,40	1	0,007		9,60	1	0,002
sim	69	34	7,39				9,63			
não	326	112	7,39				9,63			

LocPesDor: local da pescaria
Mos: uso de mosquiteiro
^a 67 informações perdidas (*missing*)
^c 136 informações perdidas (*missing*)

LocPlaRoç: local da plantação
^b 66 informações perdidas (*missing*)

3.5.1.3 Primeiro evento de malária falcíparum

As covariáveis avaliadas para o primeiro evento de malária falcíparum obedeceram ao pressuposto de proporcionalidade dos riscos. Mesmo aquelas que em pelo menos um de seus estratos não tiveram nenhuma falha, como Pluv e TemAcrlCat, tenderam a não apresentar grandes desvios. Contudo, MatPis e MatTel devem ser observadas atentamente durante a construção dos modelos, pois possuem em um de seus estratos sinais sugestivos de não paralelismo (Figura 30). Modelo mal ajustado e que porventura essas covariáveis estejam presentes devem ser ponderados quanto à permanência das mesmas. Os testes de log-rank e Peto mostram que as diferenças observadas nos estratos dessas duas covariáveis são significantes estatisticamente (Tabela 28) e, portanto, não são semelhantes ao que seria observado na população em geral.

No tempo até o primeiro evento de malária falcíparum, o sexo masculino continua a experimentar o primeiro episódio de malária no estudo mais rápido do que o feminino, assim como ocorreu para o primeiro evento de malária vívax e para o primeiro evento de malária de qualquer espécie. Contudo, no caso da malária falcíparum, a função sobrevida para os homens é bem mais próxima à função sobrevida para as mulheres do que nas duas situações anteriores (Figuras 28, 29 e 30).

O período do ano com maior pluviosidade (out-fev) tende a estar sob maior risco para a transmissão de malária do que nos demais, pois nesse período os indivíduos apresentam menor sobrevida (Figura 30), assim como visto para o primeiro evento de malária vívax e por qualquer uma das espécies. Os testes log-rank e de Peto mostram que as diferenças observadas entre os estratos da pluviosidade do tempo até o primeiro evento de malária falcíparum são estatisticamente significantes (valor- $p=0,017$; para log-rank e valor- $p=0,010$; para Peto) (Tabela 28).

Curiosamente, o uso de mosquiteiro se mostrou como um potencial fator de risco para aquisição do primeiro evento de malária falcíparum (Figura 30), assim como para malária vívax (Figura 29) e para malária por qualquer espécie (Figura 28). Entretanto, esse inesperado resultado pode ser devido ao número pequeno de informações coletadas para esta covariável, cujos dados ausentes somam 136, o que corresponde a 25,6% do total de indivíduos acompanhados durante o estudo.

Figura 30- Função sobrevida até o primeiro evento de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.1.IdaCat (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por idade), fal.1.Sex (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por sexo), fal.1.Ati (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por atividade), fal.1.AnoEstNat (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por anos de estudo).

Figura 30 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.1.TemAcrlCat (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por tempo de Acrelândia), fal.1.IndRiqQua (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por índice de riqueza), fal.1.Pluv (primeiro evento de malária falcíparum estratificado pluviosidade), fal.1.LockKm (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por localização do domicílio).

Figura 30 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.1.CozSep (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por cozinha separada), fal.1.ForTet (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por forração do teto), fal.1.MatPis (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por material do piso), fal.1.MatTel (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por material do telhado).

Figura 30 (cont.)- Função sobrevida até o primeiro evento de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.1.TipPar (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por tipo de parede), fal.1.NumMorQua (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por número de morador), fal.1.LocPesDor (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por local da pescaria), fal.1.LocPlaRoç (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por local da plantação), fal.1.Mos (primeiro evento de malária falcíparum estratificado por uso de mosquitoireo).

Tabela 28- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.

(continua)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
IdaCat				3,70	4	0,444		3,70	4	0,453
< 6 anos	152	19	2,99				3,00			
6 a 10 anos	63	12	0,01				0,00			
11 a 15 anos	67	12	0,01				0,00			
16 a 30 anos	113	26	1,63				1,56			
> 30 anos	136	30	0,34				0,35			
Sex				1,90	1	0,171		1,80	1	0,185
feminino	254	41	1,88				1,76			
masculino	277	58	1,88				1,76			
Ati				5,50	3	0,136		5,50	3	0,137
outra	366	57	4,65				4,41			
agricultura/ pecuária	113	28	2,17				1,91			
derrubada no Iquiri	22	7	2,29				2,59			
derrubada em outro local	30	7	0,17				0,14			
AnoEstNat ^a				8,80	3	0,032		9,20	3	0,027
< 1 ano	159	21	2,54				2,73			
1 a 4 anos	194	48	6,44				6,63			
5 a 8 anos	121	23	0,02				0,04			
9 a 12 anos	51	5	3,29				3,46			

IdaCat: idade categorizada
Ati: atividade

Sex: sexo
AnoEstNat: anos de estudo

^a 6 informações perdidas (*missing*)

Tabela 28- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto. (continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrlCat ^a				11,80	4	0,019		11,80	4	0,019
< 6 anos	293	65	11,03				11,06			
6 a 10 anos	92	13	2,43				2,36			
11 a 15 anos	86	12	2,40				2,40			
16 a 20 anos	45	7	0,81				0,94			
> 20 anos	7	0	1,63				1,62			
IndRiqQua ^b				31,10	3	<0,001		31,00	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	9	21,54				21,75			
0,29 a 1,57	115	24	0,00				0,01			
1,28 a 0,28	101	21	0,17				0,12			
-4,87 a -1,29	158	43	21,12				20,91			
Pluv				8,20	2	0,017		8,40	2	0,010
jun-set	46	0	6,57				6,56			
mar-mai	164	25	0,65				0,79			
out-fev	321	74	4,25				4,68			
LocKm				86,00	3	<0,001		85,80	3	<0,001
14-20 Km	155	8	24,80				24,90			
20-24 Km	100	7	11,90				12,20			
24-30 Km	209	54	10,40				10,20			
30 Km- Reserva	67	30	58,10				57,70			
CozSep				2,10	1	0,148		2,10	1	0,147
não	456	80	2,10				2,10			
sim	75	19	2,10				2,10			
TemAcrlCat:tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 28- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para o primeiro evento de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				0,80	1	0,364		0,80	1	0,369
sim	12	1	0,82				0,81			
não	519	98	0,82				0,81			
MatPis ^a				8,20	2	0,017		8,40	2	0,015
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	0	7,31				7,27			
madeira	482	96	3,89				3,50			
terra batida	12	3	1,02				1,38			
MatTel				45,90	2	<0,001		48,00	2	<0,001
amianto/telha de										
barro	469	83	4,08				4,52			
madeira	54	10	0,05				0,06			
palha	8	6	45,72				47,81			
TipPar ^b				4,70	1	0,030		4,80	1	0,029
sem frestas	40	2	4,70				4,75			
com frestas	448	97	4,70				4,75			
NumMorQua				19,40	3	<0,001		18,90	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	16	3,54				3,80			
4 moradores	119	17	0,73				0,60			
5 moradores	96	12	4,81				4,59			
6 a 13 moradores	192	54	18,65				18,10			

ForTet: forração do teto
TipPar: tipo de parede
^a 4 informações perdidas (*missing*)

MatPis: material do piso
NumMorQua: número de moradores por quartil
^b 43 informações perdidas (*missing*)

MatTel: material do telhado

3.5.1.4 Múltiplos eventos de malária de qualquer espécie

Alarmantes padrões de desvio do pressuposto de proporcionalidade não foram vistos na análise dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie. Mesmo as covariáveis CozSep, ForTet e MatPis, apesar de parecerem romper com esse pressuposto devem ser motivo de cautela e não condená-las prontamente, pois em alguns momentos há o entrelaçamento das mesmas, como na covariável CozSep e ForTet, e em outros instantes parece haver ausência de paralelismo, mas ainda assim mantêm certa tendência, como até aproximadamente o tempo 700 dias da covariável MatPis (Figura 31). Essas diferenças vistas nos estratos dessas covariáveis somente divergem daquilo que seria visto na população em geral para a covariável MatPis; as outras duas (CozSep e ForTet) não foram significantes ao nível de 5% (Tabela 29).

Indivíduos do sexo masculino tendem a apresentar maior risco para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie do que o sexo oposto. No tempo 556 dias 50% dos homens tinham sobrevivido a malária, enquanto que as mulheres apresentaram mediana da sobrevida em tempo bem superior: 1102 dias (Figura 31), com diferenças estatisticamente significantes entre as curvas tanto pelo teste log-rank (valor-p <0,001) quanto pelo teste de Peto (valor-p <0,001) (Tabela 29).

O risco de adquirir múltiplos eventos de malária parece ser sempre maior às pessoas com menor poder aquisitivo do que para os mais ricos, pois 50% dos indivíduos pertencentes ao estrato dos 25% mais pobres (-4,87 a -1,29) sobreviveram somente até o tempo 325 dias, enquanto que neste mesmo momento quase 85% dos mais ricos (1,58 a 5,41) haviam sobrevivido a múltiplos eventos de malária por qualquer espécie (Figura 31), com diferença significativa tanto pelo teste log-rank (valor-p <0,001) quanto pelo teste de Peto (valor-p <0,001) (Tabela 29).

Os indivíduos que moravam no final do ramal (24-30 Km e 30 Km-Reserva) também pareceram apresentar maior risco de adquirir múltiplos eventos de malária do que aqueles que moravam em áreas localizadas mais no início do Granada (14-20 Km e 20-24 Km) (Figura 31) (valor-p <0,001; tanto pelo teste log-rank quanto pelo teste de Peto) (Tabela 29). Os que moravam entre o trecho do quilômetro 30 e a Reserva da linha 14 apresentaram o tempo mediano de sobrevida de 153 dias, enquanto que neste mesmo tempo quase 100% dos que moravam entre o quilômetro 14 e 20 haviam sobrevivido (Figura 31).

Figura 31- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.mult.IdaCat (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por idade), mal.mult.Sex (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por sexo), mal.mult.Ati (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por atividade), mal.mult.AnoEstNat (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por anos de estudo).

Figura 31 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.mult.TemAcriCat (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por tempo de Acrelândia), mal.mult.IndRiqQua (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por índice de riqueza), mal.mult.Pluv (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados pluviosidade), mal.mult.LocKm (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por localização do domicílio).

Figura 31 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.mult.CozSep (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por cozinha separada), mal.mult.ForTet (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por forração do teto), mal.mult.MatPis (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por material do piso), mal.mult.MatTel (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por material do telhado).

Figura 31 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, mal.mult.TipPar (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por tipo de parede), mal.mult.NumMorQua (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por número de morador), mal.mult.LocPesDor (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por local da pescaria), mal.mult.LocPlaRoç (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por local da plantação), mal.mult.Mos (múltiplos eventos de malária de qualquer espécie estratificados por uso de mosquiteiro).

Tabela 29- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(continua)

[illegible]

Tabela 29- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto. (continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrICat ^a				59,10	4	0,000		65,90	4	<0,001
< 6 anos	293	419	47,80				54,17			
6 a 10 anos	92	98	1,33				2,20			
11 a 15 anos	86	48	23,55				25,52			
16 a 20 anos	45	28	11,80				14,96			
> 20 anos	7	0	6,22				5,84			
IndRiqQua ^b				74,00	3	<0,001		76,100	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	73	48,21				51,19			
0,29 a 1,57	115	117	4,24				4,61			
1,28 a 0,28	101	144	3,51				3,24			
-4,87 a -1,29	158	258	44,83				44,88			
Pluv				2,10	2	0,351		2,200	2	0,329
jun-set	46	113	1,02				0,88			
mar-mai	164	192	0,46				0,63			
out-fev	321	294	1,93				2,15			
LocKm				266,00	3	<0,001		235,000	3	<0,001
14-20 Km	155	51	83,30				84,20			
20-24 Km	100	23	63,10				63,00			
24-30 Km	209	315	19,00				13,40			
30 Km- Reserva	67	210	158,20				150,10			
CozSep				0,20	1	0,641		0,300	1	0,554
não	456	510	0,22				0,35			
sim	75	89	0,22				0,35			
TemAcrICat:tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 29- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				0,30	1	0,557		0,60	1	0,444
sim	12	11	0,34				0,59			
não	519	588	0,34				0,59			
MatPis ^a				19,30	2	<0,001		18,80	2	<0,001
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	6	19,23				18,72			
madeira	482	579	12,04				11,32			
terra batida	12	14	0,17				0,12			
MatTel				10,20	2	0,006		10,70	2	0,005
amianto/telha de										
barro	469	528	0,29				0,40			
madeira	54	52	0,56				0,60			
palha	8	19	9,78				10,34			
TipPar ^b				15,00	1	<0,001		13,30	1	<0,001
sem frestas	40	13	15,00				13,30			
com frestas	448	582	15,00				13,30			
NumMorQua				97,50	3	<0,001		103,00	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	78	25,00				28,30			
4 moradores	119	79	13,90				13,70			
5 moradores	96	81	10,90				13,10			
6 a 13 moradores	192	361	96,70				101,90			
ForTet: forração do teto			MatPis: material do piso				MatTel: material do telhado			
TipPar: tipo de parede			NumMorQua: número de moradores por quartil							
^a 4 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 43 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 29- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie pelos testes log-rank e Peto.

(conclusão)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
LocPesDor ^a				58,50	2	<0,001		60,80	2	<0,001
não pesca	312	369	0,71				0,69			
Amazonas/Iquiri	50	135	45,73				45,73			
outro local	102	68	23,42				26,64			
LocPlaRoç ^b				4,50	2	0,107		3,60	2	0,166
não vai para a										
plantação/roça	318	354	4,35				3,59			
Amazonas/Iquiri	17	28	0,86				0,28			
outro local	130	191	3,09				2,99			
Mos ^c				22,60	1	<0,001		26,00	1	<0,001
Sim	69	151	22,60				26,00			
Não	326	377	22,60				26,00			
LocPesDor: local da pescaria			LocPlaRoç: local da plantação							
Mos: uso de mosquitoireiro										
^a 67 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 66 informações perdidas (<i>missing</i>)							
^c 136 informações perdidas (<i>missing</i>)										

3.5.1.5 Múltiplos eventos de malária vivax

O comportamento dos gráficos de K-M para os múltiplos eventos de malária vivax assemelha-se sobremaneira àquele que foram vistos para múltiplos eventos de malária por qualquer espécie. De tal modo que não foram evidenciados grandes desvios na proporcionalidade dos riscos para nenhuma covariável. Contudo, assim como na situação anterior, atenção maior tem que ser dada para as covariáveis CozSep, ForTet e MatPis durante a construção dos modelos, por não seguirem padrões tão claros de paralelismo de não cruzamento de suas curvas (Figura 32).

O sexo masculino permanece como sendo o de menor sobrevida dentro do período de seguimento da coorte. Nesta situação, o tempo de sobrevida para 60% dos homens foi de aproximadamente 360 dias, enquanto que o tempo que 60% das mulheres ficaram isentas de malária foi de aproximadamente 1100 dias (Figura 32) (valor-p=0,006; pelo teste log-rank e valor-p=0,004; pelo teste de Peto) (Tabela 30).

As pessoas com menor índice de riqueza (-4,87 a -1,29) parecem apresentar maior risco para aquisição de malária do que aquelas mais abastadas e pertencentes ao último quartil do índice de riqueza (1,58 a 5,41) (Figura 32), com elevado nível de significância tanto pelo teste log-rank (valor-p <0,001) quanto pelo teste de Peto (valor-p <0,001) (Tabela 30).

Indivíduos que moravam no início do Ramal do Granada (14-20 Km e 20-24 Km) possuíam maior tempo de sobrevida quando comparados com aqueles moradores do final do ramal (24-30 Km e 30 Km-Reserva), localidade sabidamente de ocupação mais recente e com maior área de cobertura vegetal nativa (Figura 32). Essa diferença vista entre os estratos dessa covariável foi estatisticamente significativa ao nível de 5% (valor-p <0,001; pelo teste log-rank e valor-p <0,001; pelo teste de Peto) (Tabela 30).

Figura 32- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.mult.IdaCat (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por idade), viv.mult.Sex (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por sexo), viv.mult.Ati (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por atividade), viv.mult.AnoEstNat (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por anos de estudo).

Figura 32 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.mult.TemAcrICat (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por tempo de Acrelândia), viv.mult.IndRiqQua (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por índice de riqueza), viv.mult.Pluv (múltiplos eventos de malária vívax estratificados pluviosidade), viv.mult.LockKm (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por localização do domicílio).

Figura 32 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.mult.CozSep (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por cozinha separada), viv.mult.ForTet (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por forração do teto), viv.mult.MatPis (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por material do piso), viv.mult.MatTel (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por material do telhado).

Figura 32 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária vívax. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, viv.mult.TipPar (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por tipo de parede), viv.mult.NumMorQua (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por número de morador), viv.mult.LocPesDor (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por local da pescaria), viv.mult.LocPlaRoç (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por local da plantação), viv.mult.Mos (múltiplos eventos de malária vívax estratificados por uso de mosquiteiro).

Tabela 30- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária vivax pelos testes log-rank e Peto.

(continua)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
IdaCat				6,40	4	0,171		7,10	4	0,132
< 6 anos	152	127	0,10				0,35			
6 a 10 anos	63	80	4,97				4,92			
11 a 15 anos	67	46	1,78				2,11			
16 a 30 anos	113	97	0,18				0,60			
> 30 anos	136	120	0,44				0,30			
Sex				7,60	1	0,006		8,20	1	0,004
feminino	254	191	7,58				8,20			
masculino	277	279	7,58				8,20			
Ati				3,00	3	0,395		1,90	3	0,589
outra	366	305	0,91				0,70			
agricultura/ pecuária	113	105	0,01				0,00			
derrubada no Iquiri	22	32	2,78				1,59			
derrubada em outro local	30	28	0,04				0,20			
AnoEstNat ^a				17,60	3	0,001		20,50	3	<0,001
< 1 ano	159	115	2,05				1,60			
1 a 4 anos	194	222	12,86				14,22			
5 a 8 anos	121	103	0,33				0,55			
9 a 12 anos	51	25	8,88				11,39			
IdaCat: idade categorizada		Sex: sexo								
Ati: atividade		AnoEstNat: anos de estudo								
^a 6 informações perdidas (<i>missing</i>)										

Tabela 30- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária vivax pelos testes log-rank e Peto. (continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrICat ^a				56,20	4	0,000				
< 6 anos	293	336	46,74				53,83	63,30	4	<0,001
6 a 10 anos	92	75	1,64				2,75			
11 a 15 anos	86	36	21,78				24,26			
16 a 20 anos	45	19	11,67				13,85			
> 20 anos	7	0	5,16				4,94			
IndRiqQua ^b				63,40	3	<0,001		67,90	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	58	40,80				45,41			
0,29 a 1,57	115	88	4,86				5,12			
1,28 a 0,28	101	121	6,48				6,58			
-4,87 a -1,29	158	198	33,76				35,00			
Pluv				1,40	2	0,500		1,20	2	0,546
jun-set	46	88	0,32				0,16			
mar-mai	164	155	0,65				0,70			
out-fev	321	227	1,39				1,19			
LocKm				237,00	3	<0,001		236,00	3	<0,001
14-20 Km	155	40	69,90				72,30			
20-24 Km	100	17	54,40				55,50			
24-30 Km	209	243	14,50				10,40			
30 Km- Reserva	67	170	150,30				151,00			
CozSep				0,20	1	0,688		0,10	1	0,715
não	456	407	0,16				0,13			
sim	75	63	0,16				0,13			
TemAcrICat: tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 30- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária vívax pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				0,00	1	0,874		0,10	1	0,798
sim	12	10	0,03				0,07			
não	519	460	0,03				0,07			
MatPis ^a				14,50	2	0,001		14,30	2	0,001
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	6	14,37				14,29			
madeira	482	453	9,04				8,87			
terra batida	12	11	0,17				0,12			
MatTel				2,60	2	0,272		2,70	2	0,266
amianto/telha de										
barro	469	416	0,09				0,129			
madeira	54	43	0,11				0,090			
palha	8	11	2,54				2,60			
TipPar ^b				11,60	1	0,001		10,10	1	0,001
sem frestas	40	11	11,60				10,10			
com frestas	448	455	11,60				10,10			
NumMorQua				85,70	3	<0,001		88,30	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	58	23,00				25,03			
4 moradores	119	61	11,30				9,84			
5 moradores	96	63	9,60				12,15			
6 a 13 moradores	192	288	84,80				87,18			
ForTet: forração do teto		MatPis: material do piso				MatTel: material do telhado				
TipPar: tipo de parede		NumMorQua: número de moradores por quartil								
^a 4 informações perdidas (<i>missing</i>)		^b 43 informações perdidas (<i>missing</i>)								

Tabela 30- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária vivax pelos testes log-rank e Peto.

testes log-rank e Peto.						(conclusão)				
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
LocPesDor ^a				52,30	2	<0,001		61,50	2	<0,001
não pesca	312	297	0,04				0,10			
Amazonas/Iquiri	50	100	38,21				44,47			
outro local	102	50	23,73				28,41			
LocPlaRoç ^b				2,50	2	0,282		2,40	2	0,303
não vai para a										
plantação/roça	318	282	2,32				1,88			
Amazonas/Iquiri	17	17	0,00				0,09			
outro local	130	149	2,50				2,38			
Mos ^c				29,10	1	<0,001		33,60	1	<0,001
Sim	69	129	29,10				33,60			
Não	326	285	29,10				33,60			
LocPesDor: local da pescaria			LocPlaRoç: local da plantação							
Mos: uso de mosquito										
^a 67 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 66 informações perdidas (<i>missing</i>)							
^c 136 informações perdidas (<i>missing</i>)										

3.5.1.6 Múltiplos eventos de malária falcíparum

As covariáveis avaliadas para múltiplos eventos de malária falcíparum não apresentaram alterações relevantes indicativas da quebra do pressuposto da proporcionalidade dos riscos. No entanto, as covariáveis MatPis e MatTel possuem comportamento que sugerem que esse pressuposto não foi respeitado (Figura 33). Não obstante a isso, elas permaneceram nos passos seguintes da análise de sobrevivência, por não apresentarem comportamento tão grosseiro quanto a cruzamentos e não paralelismo, e foram seguidas cautelosamente durante todo o processo de construção do modelo para múltiplos eventos de malária falcíparum.

A sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum foi maior para mulheres do que aquelas apresentadas pelos homens (Figura 33) com diferenças estatisticamente significantes pelo teste log-rank (valor-p =0,005) e pelo teste de Peto (valor-p =0,004) (Tabela 31).

Indivíduos mais pobres que residiam no Ramal do Granada durante o seguimento da coorte parecem ter apresentado maior risco para aquisição de múltiplos eventos de malária por *P. falciparum* do que aqueles com melhor nível socioeconômico, como visto na figura 33. Essas diferenças vistas entre os estratos para essa covariável apresentaram significância estatística tanto pelo teste log-rank (valor-p <0,001) quanto pelo teste de Peto (valor-p <0,001) (Tabela 31).

As pessoas que moravam no início do Ramal do Granada (14-20 Km e 20-24 Km) apresentaram maior sobrevida do que as que moravam no final dele (24-30 Km e 30 Km-Reserva), com diferenças significantes observadas entre os estratos (valor-p <0,001, tanto pelo teste log-rank quanto pelo teste de Peto) (Tabela 31). Ademais, os moradores das localidades 14-20 Km e 20-24 Km parece que possuíam o mesmo risco entre si para aquisição de múltiplos eventos de malária falcíparum, pois suas curvas estão praticamente justapostas, como mostra a figura 33.

Em acordo com as expectativas e com a literatura (Silva-Nunes et al., 2008), indivíduos com menor tempo de permanência em uma área malarígena parecem possuir maior risco para aquisição de malária. Esse comportamento foi observado tanto para múltiplos eventos de malária falcíparum (Figura 33) quanto para as outras cinco situações anteriores [primeiro evento de malária de qualquer espécie (Figura 28), primeiro evento de malária vívax (Figura 29), primeiro evento de malária falcíparum (Figura 30), múltiplos eventos de malária de qualquer espécie (Figura 31) e múltiplos eventos de malária vívax (Figura 32)].

Figura 33- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.mult.IdaCat (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por idade), fal.mult.Sex (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por sexo), fal.mult.Ati (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por atividade), fal.mult.AnoEstNat (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por anos de estudo).

Figura 33 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.mult.TemAcrlCat (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por tempo de Acrelândia), fal.mult.IndRiqQua (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por índice de riqueza), fal.mult.Pluv (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados pluviosidade), fal.mult.LockKm (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por localização do domicílio).

Figura 33 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.mult.CozSep (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por cozinha separada), fal.mult.ForTet (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por forração do teto), fal.mult.MatPis (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por material do piso), fal.mult.MatTel (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por material do telhado).

Figura 33 (cont.)- Função sobrevida para múltiplos eventos de malária falcíparum. Os símbolos + localizam as censuras, $S(t)$ (função sobrevida), tempo em dias, fal.mult.TipPar (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por tipo de parede), fal.mult.NumMorQua (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por número de morador), fal.mult.LocPesDor (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por local da pescaria), fal.mult.LocPlaRoç (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por local da plantação), fal.mult.Mos (múltiplos eventos de malária falcíparum estratificados por uso de mosquiteiro).

Tabela 31- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.

(continua)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
IdaCat				6,70	4	0,153		6,60	4	0,157
< 6 anos	152	28	4,69				4,61			
6 a 10 anos	63	18	0,19				0,19			
11 a 15 anos	67	19	0,00				0,00			
16 a 30 anos	113	43	3,40				3,43			
> 30 anos	136	48	0,50				0,50			
Sex				7,90	1	0,005		8,30	1	0,004
Feminino	254	56	7,94				8,35			
masculino	277	100	7,94				8,35			
Ati				13,60	3	0,003		13,60	3	0,004
Outra	366	86	8,89				8,86			
agricultura/										
pecuária	113	42	1,77				1,53			
derrubada no										
Iquiri	22	16	9,10				9,03			
derrubada em										
outro local	30	12	0,67				0,92			
AnoEstNat ^a				13,10	3	0,004		13,90	3	0,003
< 1 ano	159	30	4,79				4,94			
1 a 4 anos	194	78	8,41				8,75			
5 a 8 anos	121	39	0,24				0,29			
9 a 12 anos	51	7	4,80				5,32			

IdaCat: idade categorizada
Ati: atividade
^a 6 informações perdidas (*missing*)

Sex: sexo
AnoEstNat: anos de estudo

Tabela 31- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária
malária falciparum pelos testes log-rank e Peto. (continuação)

covariáveis	N	eventos	log-rank				Peto			
			teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
TemAcrICat ^a				19,50	4	0,001		19,50	4	0,001
< 6 anos	293	108	17,35				17,35			
6 a 10 anos	92	23	1,53				1,49			
11 a 15 anos	86	13	7,85				7,95			
16 a 20 anos	45	10	1,58				1,72			
> 20 anos	7	0	2,12				2,10			
IndRiqQua ^b				34,00	3	<0,001		33,50	3	<0,001
1,58 a 5,41	135	16	21,95				21,70			
0,29 a 1,57	115	36	0,17				0,16			
1,28 a 0,28	101	32	0,02				0,00			
-4,87 a -1,29	158	70	24,47				24,20			
Pluv				0,20	2	0,898		0,40	2	0,799
jun-set	46	29	0,06				0,01			
mar-mai	164	45	0,21				0,44			
out-fev	321	82	0,06				0,28			
LocKm				93,60	3	<0,001		90,90	3	<0,001
14-20 Km	155	11	32,00				31,40			
20-24 Km	100	8	18,90				19,20			
24-30 Km	209	86	12,50				12,30			
30 Km- Reserva	67	51	54,00				51,40			
CozSep				2,40	1	0,124		2,20	1	0,139
Não	456	127	2,36				2,19			
Sim	75	29	2,36				2,19			
TemAcrICat: tempo de Acrelândia categorizado			IndRiqQua: índice de riqueza por quartil				Pluv: pluviosidade			
LocKm: localização do domicílio			CozSep: cozinha separada							
^a 8 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 22 informações perdidas (<i>missing</i>)							

Tabela 31- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.

(continuação)										
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
ForTet				1,70	1	0,192		1,70	1	0,192
Sim	12	1	1,70				1,70			
Não	519	155	1,70				1,70			
MatPis ^a				9,50	2	0,009		9,40	2	0,009
cerâmica/mosaico										
cimento/tijolo	33	0	9,49				9,40			
madeira	482	153	7,19				6,74			
terra batida	12	3	0,00				0,02			
MatTel				22,10	2	<0,001		22,50	2	<0,001
amianto/telha de										
barro	469	135	0,95				1,00			
madeira	54	12	0,67				0,76			
Palha	8	9	21,74				22,00			
TipPar ^b				6,10	1	0,014		6,10	1	0,014
sem frestas	40	3	6,07				6,06			
com frestas	448	153	6,07				6,06			
NumMorQua				32,90	3	<0,001		32,70	3	<0,001
1 a 3 moradores	124	23	5,51				5,92			
4 moradores	119	21	4,41				4,39			
5 moradores	96	19	5,67				5,32			
6 a 13 moradores	192	93	32,89				32,64			
ForTet: forração do teto		MatPis: material do piso				MatTel: material do telhado				
TipPar: tipo de parede		NumMorQua: número de moradores por quartil								
^a 4 informações perdidas (<i>missing</i>)		^b 43 informações perdidas (<i>missing</i>)								

Tabela 31- Comparação da distribuição da ocorrência dos eventos em cada estrato das covariáveis para múltiplos eventos de malária falcíparum pelos testes log-rank e Peto.

						(conclusão)				
			log-rank				Peto			
covariáveis	N	eventos	teste	χ^2	gl	valor-p	teste	χ^2	gl	valor-p
LocPesDor ^a				26,20	2	<0,001		25,30	2	<0,001
não pesca	312	94	1,26				1,19			
Amazonas/Iquiri	50	39	23,30				22,34			
outro local	102	19	6,87				6,93			
LocPlaRoç ^b				6,40	2	0,041		6,40	2	0,042
não vai para a										
plantação/roça	318	90	3,77				3,82			
Amazonas/Iquiri	17	11	4,41				4,37			
outro local	130	51	1,24				1,26			
Mos ^c				0,60	1	0,454		0,60	1	0,421
Sim	69	29	0,56				0,65			
Não	326	109	0,56				0,65			
LocPesDor: local da pescaria			LocPlaRoç: local da plantação							
Mos: uso de mosquitoireiro										
^a 67 informações perdidas (<i>missing</i>)			^b 66 informações perdidas (<i>missing</i>)							
^c 136 informações perdidas (<i>missing</i>)										

3.5.2 Associação entre as covariáveis

A associação entre as variáveis que participaram dos modelos foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado de Pearson. Os dados entre as associações das covariáveis analisadas apontam para fortes associações duas a duas entre as covariáveis. Vê-se, por exemplo, que a idade tem forte associação com o tempo de Acrelândia (valor-p <0,001), com a atividade desenvolvida pelos indivíduos (valor-p <0,001) , pelos anos de estudo (valor-p <0,001), pelo local da pescaria (valor-p <0,001) e pelo local da plantação (valor-p <0,001), mas não é associada à localização do domicílio (valor-p =0,139) e nem tampouco ao sexo (valor-p =0,323) e ao uso de mosquiteiro (valor-p =0,321) (Tabela 32).

Covariáveis com fortes associações tendem a interferir na estimativa do beta em análise de sobrevivência. Porém, como a maioria das covariáveis apresentou forte associação duas a duas, optou-se por deixá-las como participantes do processo seletivo dos modelos e ponderar a inclusão final das mesmas no modelo final, caso inconsistências fossem apresentadas.

Tabela 32- Associação entre as covariáveis duas a duas.

(continua)

covariáveis	χ^2	gl	valor-p
IdaCat vs Sex	4,67	4	0,323
IdaCat vs TemAcrlCat	298,15	16	<0,001
IdaCat vs AnoEstNat	333,31	12	<0,001
IdaCat vs Ati	179,00	12	<0,001
IdaCat vs LocKm	17,28	12	0,139
IdaCat vs LocPesDor	54,10	8	<0,001
IdaCat vs LocPlaRoç	68,05	8	<0,001
IdaCat vs Mos	4,69	4	0,321
Sex vs TemAcrlCat	2,34	4	0,674
Sex vs AnoEstNat	1,40	3	0,706
Sex vs Ati	89,04	3	<0,001
Sex vs LocKm	1,022	3	0,796
Sex vs LocPesDor	42,70	2	<0,001
Sex vs LocPlaRoç	123,83	2	<0,001
Sex vs Mos	1,34	1	0,247
AnoEstNat vs TemAcrlCat	135,37	12	<0,001
AnoEstNat vs Ati	27,40	9	0,001
AnoEst Nat vs IndRiqQua	40,95	9	<0,001
AnoEst Nat vs LocKm	61,55	9	<0,001
AnoEst Nat vs LocPesDor	46,83	6	<0,001
AnoEst Nat vs LocPlaRoç	32,95	6	<0,001
AnoEst Nat vs Mos	2,08	3	0,557
Ati vs TemAcrlCat	74,70	12	<0,001
Ati vs IndRiqQua	7,57	9	0,578
Ati vs LocKm	14,61	9	0,102
Ati vs LocPesDor	79,10	6	<0,001
Ati vs LocPlaRoç	314,20	6	<0,001
IndRiqQua vs TemAcrlCat	51,21	12	<0,001
IndRiqQua vs LocKm	120,53	9	<0,001
IndRiqQua vs MatTel	19,86	6	0,003
IndRiqQua vs ForTet	12,70	3	0,005
IndRiqQua vs TipPar	55,24	3	<0,001
IndRiqQua vs MatPis	74,03	6	<0,001
IndRiqQua vs CozSep	36,78	3	<0,001
IndRiqQua vs LocPesDor	20,44	6	0,002
IndRiqQua vs LocPlaRoç	5,86	6	0,440
IndRiqQua vs Mos	22,31	3	<0,001

Tabela 32- Associação entre as covariáveis duas a duas.

		(conclusão)		
covariáveis		χ^2	gl	valor-p
LocKm	vs TemAcrIcat	71,29	12	<0,001
LocKm	vs MatTel	17,23	3	0,001
LocKm	vs ForTet	17,23	3	0,001
LocKm	vs TipPar	36,70	3	<0,001
LocKm	vs MatPis	36,00	6	<0,001
LocKm	vs CozSep	7,40	3	0,060
LocKm	vs NumMorQua	48,46	9	<0,001
LocKm	vs LocPesDor	45,26	6	<0,001
LocKm	vs LocPlaRoç	8,53	6	0,202
LocKm	vs Mos	22,16	3	<0,001
MatTel	vs ForTet	1,62	2	0,444
MatTel	vs TipPar	15,18	2	0,001
MatTel	vs MatPis	11,53	4	0,021
ForTet	vs TipPar	48,21	1	<0,001
ForTet	vs MatPis	76,37	2	<0,001
TipPar	vs MatPis	129,51	2	<0,001
NumMorQua	vs Mos	3,02	3	0,389
LocPesDor	vs LocPlaRoç	108,26	4	<0,001

IdaCat: idade categorizada

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizada

Ati: atividade

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

NumMorQua: número de moradores por quartil

LocPlaRoç: local da plantação

Sex: sexo

AnoEstNat: anos de estudo categorizada

LocKm: localização do domicílio

LocPlaRoç: local da plantação

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocKm: localização do domicílio

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

CozSep: cozinha separada

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

3.5.3 Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária de qualquer espécie

As covariáveis selecionadas para o modelo m3.mal.1, simultaneamente à avaliação da significância estatística ao nível de 20% (Tabela 33), foram estudadas quanto ao efeito de suas inclusões sobre as demais covariáveis do modelo. Observou-se que Ati e AnoEstNat não mudaram o padrão de associação entre as demais, não alterando, portanto, a significância do teste individualmente e nem tampouco apresentou grandes variações na razão de risco. Dessa forma, elas foram excluídas do estágio posterior. Entretanto, IndRiqQua, além de apresentar o valor-p $<0,001$, a sua potencial exclusão do modelo altera o valor-p e a razão de risco de Ati derrubada no Iquiri (HR=2,36 ; valor-p=0,047 para HR=1,88; valor-p=0,150).

Ao testar as covariáveis mais proximais, em m4.mal.1, ao nível de 20% pelo teste de razão de verossimilhança (TRV) e pela mudança no efeito das demais covariáveis em relação ao desfecho (Tabelas 33 e 34), resistiram as covariáveis LocKm e MatTel. Então, no modelo final restaram somente as covariáveis IdaCat, Sex, Pluv, IndRiqQua, LocKm e MatTel (Tabela 33).

O teste de razão de verossimilhança (TRV) para o modelo final foi de 298, com 49,6 graus de liberdade e valor-p $<0,001$. Isso sugere um bom ajuste global do modelo e que ele é significativamente melhor do que o modelo nulo, ou seja, sem nenhuma covariável. Esse modelo conseguiu explicar 15,79% da variabilidade dos dados ($R^2=0,054$; máximo possível=0,342).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo final (mFinal.mal.1) foi de 0,416 , representando, assim, possuir heterogeneidade entre os indivíduos, o que evidencia a necessidade de incluir um termo aleatório ao modelo. Esse termo aleatório, a fragilidade, pelo teste de Wald foi estatisticamente significativa (teste de Wald=70,55; valor-p=0,001) (Tabela 33).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 65 domicílios apresentaram risco baixo, 44 tiveram risco alto e 14 com risco nulo (fragilidade=0) (Figura 34).

Dado que um indivíduo pertencia a um determinado domicílio (variável de fragilidade), o risco daqueles com idade entre 6 e 10 anos adquirirem o primeiro evento de malária dentro do período de seguimento da coorte foi 86% maior do que aqueles com menos de 6 anos de vida (valor-p =0,022). O sexo masculino teve risco 33% maior do que o sexo feminino com nível de significância limítrofe (valor-p=0,060). Um quarto dos participantes, correspondendo aos de menor poder aquisitivo, apresentaram risco 90% (valor-p=0,041)

maior do que os mais ricos do Ramal do Granada, ao mesmo tempo em que os moradores das regiões mais próximas da fronteira de floresta possuíram maior risco, assim como os moradores de casa coberta com madeira (Tabela 35).

O teste de correlação linear entre o tempo de sobrevivência e o resíduo de Schoenfeld mostra que todos os estratos de todas as covariáveis não rejeitaram a hipótese nula de risco proporcional, assim como o ajuste global do modelo (Tabela 36). Esse padrão de proporcionalidade dos riscos também foi observado na análise gráfica (Figura 35).

A tabela 37 mostra que, de uma forma geral, a análise múltipla melhorou o poder estatístico em relação à análise simples. Destaca-se que a localização do domicílio, mesmo na ausência das demais covariáveis, já se caracteriza como um importante fator de risco para a transmissão de malária, assim como indivíduos com menor poder aquisitivo e casas com o piso de madeira ou com terra batida; porém esta última não fez parte do modelo final. É curioso o fato de IndRiqQua perder tanta força estatística na presença dos determinantes proximais (Tabelas 33 e 37).

Tabela 33- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

(continua)				
níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.mal.1	IdaCat	3,09	4	0,543
	Sex	2,30	1	0,129
	Pluv	0,83	2	0,660
m2.mal.1	IdaCat	3,37	4	0,498
	Sex	1,76	1	0,184
	Pluv	0,84	2	0,657
	TemAcrlCat ^b	39,36	4	<0,001
	Ati	5,77	3	0,123
	AnoEstNat	3,44	3	0,328
	IndRiqQua	46,03	3	<0,001
m3.mal.1	IdaCat	3,37	4	0,498
	Sex	1,76	1	0,184
	Pluv	0,84	2	0,657
	Ati ^c	5,35	3	0,148
	AnoEstNat ^c	6,56	3	0,087
	IndRiqQua	53,94	3	<0,001
m4.mal.1	IdaCat	4,60	4	0,331
	Sex	1,88	1	0,170
	Pluv	1,11	2	0,574
	IndRiqQua	39,23	3	<0,001
	LocKm	91,17	3	<0,001
	NumMorQua ^c	5,22	3	0,156
	MatTel	4,67	2	0,097
	TipPar ^c	0,51	1	0,473
	MatPis ^c	13,62	2	0,001
	ForTet ^c	1,01	1	0,314
	CozSep ^c	0,13	1	0,717
	LocPesDor ^c	2,12	2	0,347
	LocPlaRoç ^c	2,25	2	0,324
	Mos ^c	0,53	1	0,466

Tabela 33- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

		(conclusão)		
níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.mal.1	IdaCat	3,51	4	0,476
	Sex	1,92	1	0,166
	Pluv	0,85	2	0,655
	IndRiqQua	62,17	3	<0,001
	LocKm	106,52	3	<0,001
	MatTel	11,12	2	0,004
	IndRiqQua*LocKm	-7,84	9	1,000
mFinal.mal.1	IdaCat	3,51	4	0,476
	Sex	1,92	1	0,166
	Pluv	0,85	2	0,655
	IndRiqQua	62,17	3	<0,001
	LocKm	106,52	3	<0,001
	MatTel	11,12	2	0,004
mFinal.mal.1	fragilidade ^e	70,55 ^f	38,6	0,001

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

Sex: sexo

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^e fragilidade do modelo final^f valor calculado pelo teste de Wald

Tabela 34- Covariáveis do modelo m4.mal.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico.

	LocKm		MatTel	
	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado
estratos das covariáveis ^a	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b
IndRiqQua -4,87 a -1,29	1,58 (0,200)	4,32(0,001)	-	-
NumMorQua 6 a 13 moradores	2,01(0,024)	1,91(0,100)	-	-
MatPis terra batida	9,50(0,100)	3,84(0,041)	9,50(0,100)	12,94(0,059)
LocPesDor Amazonas/Iquiri	1,50(0,200)	2,44(0,008)	-	-

LocKm: localização do domicílio

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: numero de moradores

MatTel: material do telhado

LocPesDor: local da pescaria

^a representados somente os estratos com modificação do efeito

^b razão de risco. O valor entre parênteses representa o valor-p

Figura 34- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

Tabela 35- Avaliação do modelo mFinal.mal.1 para o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ^2 ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	0,62	0,27	1,86	5,28	1	0,022	1,10	3,17
Ida 11 a 15 anos	0,36	0,27	1,43	1,78	1	0,180	0,85	2,42
Ida 16 a 30 anos	0,37	0,23	1,45	2,65	1	0,100	0,93	2,27
Ida > 30 anos	0,21	0,23	1,24	0,86	1	0,350	0,79	1,94
Sex masculino	0,29	0,15	1,33	3,53	1	0,060	0,99	1,80
Pluv mar-mai	1,07	1,13	2,91	0,90	1	0,340	0,32	26,45
Pluv out-fev	0,58	1,15	1,78	0,25	1	0,620	0,19	16,93
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,10	0,33	0,91	0,09	1	0,770	0,47	1,74
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,41	0,33	1,51	1,61	1	0,200	0,80	2,86
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,64	0,31	1,90	4,18	1	0,041	1,03	3,51
LocKm 20-24 Km	-0,46	0,38	0,63	1,44	1	0,230	0,30	1,34
LocKm 24-30 Km	1,24	0,29	3,45	18,45	1	<0,001	1,96	6,07
LocKm 30 Km- Reserva	2,25	0,37	9,50	37,52	1	<0,001	4,62	19,54
MatTel madeira	0,71	0,31	2,04	5,18	1	0,023	1,10	3,75
MatTel palha	0,75	0,81	2,13	0,86	1	0,350	0,43	10,46

IdaCat: idade categorizada
LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

Pluv: pluviosidade
MatTel: material do telhado

^a erro padrão da estimativa do beta
^b razão de risco
^c teste de Wald

Tabela 36- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.mal.1 para o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

estratos das covariáveis	ρ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	-0,01	0,03	0,857
Ida 11 a 15 anos	0,08	1,41	0,235
Ida 16 a 30 anos	0,03	0,19	0,667
Ida > 30 anos	-0,07	1,21	0,271
Sex masculino	-0,10	2,46	0,117
Pluv mar-mai	-0,04	0,07	0,792
Pluv out-fev	0,12	0,94	0,332
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,07	0,71	0,398
IndRiqQua -1,28 a 0,28	-0,04	0,18	0,671
IndRiqQua -4,87 a -1,29	-0,08	0,86	0,353
LocKm 20-24 Km	0,05	0,39	0,532
LocKm 24-30 Km	-0,07	0,68	0,409
LocKm 30 Km- Reserva	-0,05	0,30	0,586
MatTel madeira	0,02	0,08	0,783
MatTel palha	0,05	0,17	0,679
Global	NA	55,5	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

^a coeficiente de correlação

Figura 35- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.

Figura 35 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.

Figura 35 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.

Tabela 37- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária de qualquer espécie.

(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	1,86	0,022
11 a 15 anos	0,94	0,820	1,43	0,180
16 a 30 anos	1,40	0,140	1,45	0,100
> 30 anos	0,99	0,970	1,24	0,350
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,33	0,060
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	-	-
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	-	-
derrubada em outro local	0,88	0,700	-	-
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	-	-
5 a 8 anos	1,25	0,320	-	-
9 a 12 anos	0,98	0,950	-	-
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	0,91	0,770
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	1,51	0,200
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	1,90	0,041
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	2,91	0,340
out-fev	1,56	0,730	1,78	0,620
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,63	0,230
24-30 Km	3,49	<0,001	3,45	<0,001
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	9,50	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 37- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária de qualquer espécie.
(conclusão)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	2,04	0,023
palha	3,48	0,430	2,13	0,350
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	-	-
5 moradores	0,76	0,520	-	-
6 a 13 moradores	2,02	0,046	-	-
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

Sex: sexo

TemAcrlCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco

^b beta não estimado neste estrato

3.5.4 Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária vivax

IndRiqQua foi a única covariável selecionada no modelo m3.viv.1 tanto pela avaliação da significância estatística ao nível de 20% (Tabela 38) quanto pela modificação do efeito das demais covariáveis em relação ao desfecho ao incluir as covariáveis do nível mais distal uma a uma. Essa covariável alterou significativamente a razão de risco de Ati derrubada no Iquiri ao testar a sua ausência (HR=2,28 ; valor-p=0,089; não ajustado, para HR=2,43; valor-p=0,043; modelo ajustado).

No teste da inclusão das covariáveis mais proximais no modelo m4.mal.1 ao nível de 20% pelo teste de razão de verossimilhança e pela mudança no efeito das demais covariáveis em relação ao desfecho (Tabelas 38 e 39) resistiram as covariáveis LocKm, NumMorQua e MatTel. Então, no modelo final as seguintes covariáveis fizeram parte: IdaCat, Sex, Pluv, IndRiqQua, LocKm, NumMorQua e MatTel (Tabela 38).

O teste de razão de verossimilhança para o modelo final sugere um bom ajuste global do modelo e que ele é significativamente melhor do que o modelo nulo (TRV=278; gl=49,9; valor-p <0,001). Esse modelo conseguiu explicar 16,22% da variabilidade dos dados ($R^2=0,048$; máximo possível= 0,296).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo final (mFinal.viv.1) foi de 0,507 , o que mostra heterogeneidade entre os indivíduos, evidenciando a necessidade de incluir um termo aleatório ao modelo. A fragilidade pelo teste de Wald foi estatisticamente significativa (teste de Wald=69,83; valor-p <0,001) (Tabela 38).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 71 domicílios apresentaram risco baixo, 45 tiveram risco alto e 7 com risco nulo (Figura 36).

Dado que um indivíduo pertencia a um determinado domicílio, o risco dos moradores das regiões mais distantes do Ramal do Granada (24-30 Km e 30 Km-Reserva) foi consideravelmente maior do que para aqueles que residiam no início do ramal, local de ocupação mais antiga, principalmente quando possuíam casas com o telhado feito de madeira (Tabela 40)

O teste de correlação linear entre o tempo de sobrevida e o resíduo de Schoenfeld constata que todas as covariáveis não rejeitaram a hipótese nula de risco proporcional, apresentando também um bom ajuste global do modelo (Tabela 41). Os gráficos de Schoenfeld também evidenciam esse padrão de proporcionalidade dos riscos (Figura 37).

Na presença de outras covariáveis, o poder estatístico de algumas visto na análise simples não sofreu mudanças consideráveis, como visto na tabela 42. Chama atenção o fato de IndRiqQua ser tão influenciado pela presença das demais covariáveis proximais presentes no modelo (Tabelas 38 e 42).

Tabela 38- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária vivax.

níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.viv.1	IdaCat	4,62	4	0,329
	Sex	1,86	1	0,173
	Pluv	1,70	2	0,427
m2.viv.1	IdaCat	4,93	4	0,294
	Sex	1,29	1	0,256
	Pluv	1,76	2	0,415
	TemAcrlCat ^b	30,91	4	<0,001
	Ati	6,53	3	0,089
	AnoEstNat	1,09	3	0,780
	IndRiqQua	34,74	3	<0,001
m3.viv.1	IdaCat	4,93	4	0,294
	Sex	1,29	1	0,256
	Pluv	1,76	2	0,415
	Ati ^c	5,42	3	0,143
	AnoEstNat ^c	3,19	3	0,364
	IndRiqQua	41,04	3	<0,001
m4.viv.1	IdaCat	6,22	4	0,183
	Sex	2,12	1	0,145
	Pluv	1,98	2	0,372
	IndRiqQua	27,28	3	<0,001
	LocKm	74,06	3	<0,001
	NumMorQua	9,61	3	0,022
	MatTel	4,57	2	0,102
	TipPar ^c	1,04	1	0,308
	MatPis ^c	16,94	2	<0,001
	ForTet	0,66	1	0,417
	CozSep	0,10	1	0,753
	LocPesDor ^c	2,04	2	0,361
	LocPlaRoç ^c	0,48	2	0,787
	Mos ^c	3,91	1	0,048

Tabela 38- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária vivax.

(conclusão)				
níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.viv.1	IdaCat	4,95	4	0,292
	Sex	1,45	1	0,229
	Pluv	1,76	2	0,416
	IndRiqQua	45,79	3	<0,001
	LocKm	92,27	3	<0,001
	NumMorQua	10,06	3	0,018
	MatTel	10,45	2	0,005
	IndRiqQua*LocKm	-6,72	9	1,000
mFinal.viv.1	IdaCat	4,95	4	0,292
	Sex	1,45	1	0,229
	Pluv	1,76	2	0,416
	IndRiqQua	45,79	3	<0,001
	LocKm	92,27	3	<0,001
	NumMorQua	10,06	3	0,018
	MatTel	10,45	2	0,005
mFinal.viv.1	fragilidade ^e	69,83 ^f	37,3	<0,001

IdaCat: idade categorizada

Sex: sexo

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^e fragilidade do modelo final^f valor calculado pelo teste de Wald

Tabela 39- Covariáveis do modelo m4.viv.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico.

		LocKm		NumMorQua		MatTel	
		não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado
estratos das covariáveis ^a		HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b
IndRiqQua	-4,87 a -1,29	1,12(0,760)	3,31(0,010)	-	-	-	-
NumMorQua	6 a 13 moradores	2,38(0,006)	2,20(0,050)	-	-	-	-
MatPis	terra batida	14,83(0,047)	5,83(0,290)	14,83(0,047)	15,45(0,053)	14,83(0,47)	19,45(0,22)

LocKm: localização do domicílio
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil
NumMorQua: numero de moradores
MatTel: material do telhado
MatPis: material do piso

^a representados somente os estratos com modificação do efeito
^b razão de risco. O valore entre parênteses representa o valor-p

Figura 36- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária vívax.

Tabela 40- Avaliação do modelo mFinal.viv.1 para o primeiro evento de malária vívax.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ^2 ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	0,46	0,28	1,59	2,72	1	0,099	0,92	2,74
Ida 11 a 15 anos	0,00	0,29	1,00	0,00	1	0,990	0,57	1,76
Ida 16 a 30 anos	0,20	0,25	1,22	0,63	1	0,430	0,75	1,97
Ida > 30 anos	0,00	0,24	1,00	0,00	1	1,000	0,62	1,61
Sex masculino	0,27	0,16	1,31	2,68	1	0,100	0,95	1,80
Pluv mar-mai	0,44	1,08	1,56	0,17	1	0,680	0,19	13,04
Pluv out-fev	-0,17	0,79	0,85	0,05	1	0,830	0,18	3,98
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,23	0,38	0,79	0,37	1	0,540	0,37	1,68
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,40	0,37	1,50	1,19	1	0,280	0,72	3,10
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,35	0,37	1,41	0,90	1	0,340	0,69	2,89
LocKm 20-24 Km	-0,74	0,45	0,48	2,71	1	0,100	0,20	1,15
LocKm 24-30 Km	1,15	0,33	3,16	12,10	1	0,001	1,65	6,06
LocKm 30 Km- Reserva	2,09	0,42	8,10	25,07	1	<0,001	3,57	18,35
NumMorQua 4 moradores	-0,06	0,35	0,94	0,03	1	0,860	0,48	1,86
NumMorQua 5 moradores	-0,03	0,36	0,97	0,01	1	0,940	0,48	1,97
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,72	0,33	2,06	4,82	1	0,028	1,08	3,94
MatTel madeira	0,91	0,36	2,50	6,63	1	0,010	1,24	5,01
MatTel palha	0,37	0,91	1,45	0,17	1	0,680	0,24	8,63

IdaCat: idade categorizada
LocKm: localização do domicílio
IndRiqQua: índice de riqueza

Sex: sexo
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil
NumMorQua: número de moradores

Pluv: pluviosidade
MatTel: material do telhado

^a erro padrão da estimativa do beta
^b razão de risco
^c teste de Wald

Tabela 41- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.viv.1 para o primeiro evento de malária vívax.

estratos das covariáveis	ρ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	0,00	0,00	0,983
Ida 11 a 15 anos	0,06	0,70	0,404
Ida 16 a 30 anos	0,00	0,00	0,999
Ida > 30 anos	-0,11	2,42	0,120
Sex masculino	-0,14	3,75	0,053
Pluv mar-mai	-0,09	0,80	0,371
Pluv out-fev	0,07	0,55	0,458
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,06	0,50	0,480
IndRiqQua -1,28 a 0,28	-0,03	0,12	0,732
IndRiqQua -4,87 a -1,29	-0,07	0,46	0,496
LocKm 20-24 Km	0,11	1,42	0,234
LocKm 24-30 Km	-0,01	0,01	0,916
LocKm 30 Km- Reserva	-0,01	0,02	0,876
NumMorQua 4 moradores	-0,01	0,01	0,943
NumMorQua 5 moradores	-0,01	0,01	0,904
NumMorQua 6 a 13 moradores	-0,12	1,88	0,171
MatTel madeira	0,04	0,17	0,681
MatTel palha	0,10	0,51	0,475
Global	NA	53,1	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores

^a coeficiente de correlação

Figura 37- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.1 do primeiro evento de malária vívax.

Figura 37 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.1 do primeiro evento de malária vívax.

Figura 37 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.1 do primeiro evento de malária vivax.

Tabela 42- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária vívax.

(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	1,59	0,099
11 a 15 anos	0,94	0,820	1,00	0,990
16 a 30 anos	1,40	0,140	1,22	0,430
> 30 anos	0,99	0,970	1,00	1,000
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,31	0,100
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	-	-
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	-	-
derrubada em outro local	0,88	0,700	-	-
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	-	-
5 a 8 anos	1,25	0,320	-	-
9 a 12 anos	0,98	0,950	-	-
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	0,79	0,540
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	1,50	0,280
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	1,41	0,340
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	1,56	0,680
out-fev	1,56	0,730	0,85	0,830
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,48	0,100
24-30 Km	3,49	<0,001	3,16	0,001
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	8,10	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 42- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária vívax.

(conclusão)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	2,50	0,010
palha	3,48	0,430	1,45	0,680
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	0,94	0,860
5 moradores	0,76	0,520	0,97	0,940
6 a 13 moradores	2,02	0,046	2,06	0,028
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

Sex: sexo

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco^b beta não estimado neste estrato

3.5.5 Construção e avaliação do modelo do primeiro evento de malária falcíparum

As covariáveis selecionadas para o modelo m3.viv.1 foram submetidas à avaliação da significância estatística e do efeito de suas inclusões uma a uma sobre as demais covariáveis do modelo no mesmo nível hierárquico. Notou-se que Ati e AnoEstNat não mudaram o padrão de associação entre as demais e o desfecho. Com isso, elas foram excluídas do estágio posterior. Entretanto, IndRiqQua, além de apresentar-se significante estatisticamente ao nível de 20%, a sua potencial exclusão do modelo altera o valor-p e a razão de risco de Ati derrubada no Iquiri (HR=1,51 ; valor-p=0,440; não ajustado, para HR=1,56; valor-p=0,046).

Ao testar as covariáveis mais proximais em m4.viv.1 ao nível de 20% pelo teste de razão de verossimilhança (TRV) e pela mudança no efeito das demais covariáveis em relação ao desfecho (Tabelas 43 e 44), as covariáveis MatTel, TipPar, CozSep, LocPesDor, LocPlaRoç e Mos não resistiram à seleção. Dessa forma, no modelo final restaram somente as covariáveis IdaCat, Sex, Pluv, IndRiqQua, LocKm e NumMorQua (Tabela 43).

O TRV para o modelo final foi de 170, com 38 graus de liberdade e valor-p <0,001. Sugerindo um bom ajuste global do modelo e que ele é significativamente melhor do que o modelo nulo. A proporção de variabilidade dos dados explicada por esse modelo foi de 16,25% ($R^2=0,026$; máximo possível= 0,160).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo mFinal.viv.1 foi de 0,529 , o que corresponde a certa heterogeneidade entre os indivíduos. A fragilidade pelo teste de Wald foi estatisticamente significativa (teste de Wald=39,05; valor-p=0,037) (Tabela 43).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 49 domicílios apresentaram risco baixo, 30 tiveram risco alto e 44 com risco nulo (Figura 38).

Dado que um indivíduo pertencia a um determinado domicílio, o risco daqueles com idade entre 16 e 30 anos adquirirem o primeiro evento de malária dentro do período de seguimento da coorte foi 2,5 vezes maior do que daqueles com menos de 6 anos de idade (valor-p =0,006). Os indivíduos com mais de 30 anos também apresentaram risco elevado (HR=2,18; valor-p=0,015). Moradores das regiões de fronteira de floresta também tiveram risco elevado, assim como aqueles que residiam em domicílios com maior número de moradores (Tabela 45)

O teste de correlação linear entre o tempo de sobrevida e o resíduo de Schoenfeld para o modelo final mostra que somente a Pluv mar-mai não respeitou o pressuposto de riscos proporcionais. Entretanto, o modelo possui um bom ajuste global

(Tabela 46). Esse padrão de proporcionalidade dos riscos também foi observado na análise gráfica (Figura 39).

Com exceção dos indivíduos com idade entre 16 e 30 anos e os dois últimos estratos do IndRiqQua, todas as demais covariáveis que participaram do modelo final mantiveram o padrão de significância do teste. Em particular para o IndRiqQua, a influência exercida pelas demais covariáveis do modelo parece ser bem mais contundente (Tabela 47).

Tabela 43- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária falcíparum.

(continua)

níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.fal.1	IdaCat	2,39	4	0,664
	Sex	1,22	1	0,270
	Pluv	2,48	2	0,289
m2.fal.1	IdaCat	2,40	4	0,662
	Sex	1,12	1	0,290
	Pluv	2,70	2	0,260
	TemAcrlCat ^b	29,22	4	<0,001
	Ati	2,52	3	0,472
	AnoEstNat	4,65	3	0,199
	IndRiqQua	26,34	3	<0,001
m3.fal.1	IdaCat	2,40	4	0,662
	Sex	1,12	1	0,290
	Pluv	2,70	2	0,260
	Ati ^c	2,00	3	0,572
	AnoEstNat ^c	7,65	3	0,054
	IndRiqQua	33,61	3	<0,001
m4.fal.1	IdaCat	2,38	4	0,667
	Sex	0,87	1	0,350
	Pluv	2,58	2	0,275
	IndRiqQua	34,45	3	<0,001
	LocKm	50,59	3	<0,001
	NumMorQua	6,40	3	0,094
	MatTel	7,58	2	0,023
	TipPar	0,45	1	0,503
	MatPis ^b	2,46	2	0,293
	ForTet ^b	0,00	1	1,000
	CozSep	0,00	1	0,972
	LocPesDor	0,52	2	0,772
	LocPlaRoç	1,60	2	0,449
	Mos	0,52	1	0,472

Tabela 43- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária falcíparum.

(continuação)

níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.fal.1	IdaCat	2,38	4	0,667
	Sex	0,87	1	0,350
	Pluv	2,58	2	0,275
	IndRiqQua	34,45	3	<0,001
	LocKm	50,59	3	<0,001
	NumMorQua	6,40	3	0,094
	MatTel ^c	7,58	2	0,023
	TipPar ^c	0,45	1	0,503
	CozSep ^c	0,01	1	0,912
	LocPesDor ^c	0,77	2	0,681
	LocPlaRoç ^c	1,54	2	0,464
	Mos ^c	0,91	1	0,340
m6.fal.1	IdaCat	2,30	4	0,681
	Sex	1,08	1	0,299
	Pluv	2,70	2	0,259
	IndRiqQua	38,53	3	<0,001
	LocKm	50,90	3	<0,001
	NumMorQua	8,53	3	0,036
	IndRiqQua*LocKm	-5,22	8	1,000

Tabela 43- Processo de seleção das covariáveis do modelo para o primeiro evento de malária falcíparum.

(conclusão)				
níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
mFinal.fal.1	IdaCat	2,30	4	0,681
	Sex	1,08	1	0,299
	Pluv	2,70	2	0,259
	IndRiqQua	38,53	3	<0,001
	LocKm	50,90	3	<0,001
	NumMorQua	8,53	3	0,036
mFinal.viv.1	fragilidade ^c	39,05 ^f	25,0	0,037
IdaCat: idade categorizada		Sex: sexo		
Pluv: pluviosidade		TemAcrlCat: tempo de Acrelândia categorizado		
Ati: atividade		AnoEstNat: anos de estudo		
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil		LocKm: localização do domicílio		
NumMorQua: número de moradores por quartil		MatTel: material do telhado		
ForTet: forração do teto		TipPar: tipo de parede		
MatPis: material do piso		CozSep: cozinha separada		
LocPesDor: local da pescaria		LocPlaRoç: local da plantação		
Mos: uso de mosquitoireiro				

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável

^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.

^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.

^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.

^e fragilidade do modelo final

^f valor calculado pelo teste de Wald

Tabela 44- Covariáveis do modelo m5.fal.1 que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico.

	LocKm		NumMorQua	
	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado
estratos das covariáveis ^a	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b
IdaCat 16 a 30 anos	2,35(0,036)	1,99(0,086)	-	-
IdaCat >30 anos	-	-	2,35(0,036)	2,07(0,065)
IndRiqQua 0,29 a 1,57	2,33(0,051)	3,04(0,022)	2,33(0,051)	2,41(0,036)
IndRiqQua -4,87 a -1,29	1,99(0,120)	4,79(0,002)	1,99(0,120)	2,31(0,048)
MatTel palha	5,89(0,003)	6,61(0,061)	-	-

IdaCat: idade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

LocKm: localização do domicílio

NumMorQua: número de moradores

MatTel: material do telhado

^a representados somente os estratos com modificação do efeito

^b razão de risco. O valor entre parênteses representa o valor-p

Figura 38- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para o tempo até o primeiro evento de malária falcíparum.

Tabela 45- Avaliação do modelo mFinal.fal.1 para o primeiro evento de malária falcíparum.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ^2 ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	0,60	0,40	1,82	2,26	1	0,130	0,83	3,98
Ida 11 a 15 anos	0,68	0,39	1,97	3,02	1	0,082	0,92	4,24
Ida 16 a 30 anos	0,92	0,33	2,51	7,62	1	0,006	1,31	4,81
Ida > 30 anos	0,78	0,32	2,18	5,87	1	0,015	1,16	4,08
Sex masculino	0,22	0,21	1,24	1,03	1	0,310	0,82	1,89
Pluv mar-mai	-0,10	0,75	0,90	0,02	1	0,890	0,21	3,95
Pluv out-fev	0,27	0,77	1,31	0,12	1	0,720	0,29	5,90
IndRiqQua 0,29 a 1,57	0,58	0,49	1,79	1,44	1	0,230	0,69	4,67
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,71	0,50	2,04	2,03	1	0,150	0,77	5,46
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,77	0,48	2,17	2,61	1	0,110	0,85	5,53
LocKm 20-24 Km	-0,10	0,62	0,91	0,02	1	0,880	0,27	3,03
LocKm 24-30 Km	1,46	0,47	4,32	9,53	1	0,002	1,71	10,93
LocKm 30 Km- Reserva	2,53	0,54	12,51	21,63	1	<0,001	4,31	36,27
NumMorQua 4 moradores	0,14	0,43	1,15	0,10	1	0,750	0,49	2,68
NumMorQua 5 moradores	0,01	0,47	1,01	0,00	1	0,980	0,40	2,53
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,77	0,38	2,17	4,27	1	0,039	1,04	4,52

IdaCat: idade categorizada

Sex: sexo

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores

^a erro padrão da estimativa do beta
^b razão de risco
^c teste de Wald

Tabela 46- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.fal.1 para o primeiro evento de malária falcíparum.

estratos das covariáveis	ρ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	-0,19	3,82	0,051
Ida 11 a 15 anos	-0,08	0,73	0,393
Ida 16 a 30 anos	-0,19	3,58	0,059
Ida > 30 anos	-0,16	2,48	0,115
Sex masculino	0,04	0,20	0,655
Pluv mar-mai	0,27	5,13	0,024
Pluv out-fev	0,09	0,33	0,567
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,03	0,07	0,797
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,03	0,05	0,828
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,03	0,05	0,821
LocKm 20-24 Km	-0,05	0,20	0,655
LocKm 24-30 Km	-0,08	0,48	0,489
LocKm 30 Km- Reserva	-0,12	1,06	0,303
NumMorQua 4 moradores	-0,11	0,90	0,342
NumMorQua 5 moradores	-0,13	1,27	0,260
NumMorQua 6 a 13 moradores	-0,09	0,53	0,469
Global	NA	35,0	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

^a coeficiente de correlação

Figura 39- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.1 do primeiro evento de malária falcíparum.

Figura 39 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.1 do primeiro evento de malária de qualquer espécie.

Figura 39 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.1 do primeiro evento malária falcíparum.

Tabela 47- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária falcíparum

(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	1,82	0,130
11 a 15 anos	0,94	0,820	1,97	0,082
16 a 30 anos	1,40	0,140	2,51	0,006
> 30 anos	0,99	0,970	2,18	0,015
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,24	0,310
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	-	-
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	-	-
derrubada em outro local	0,88	0,700	-	-
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	-	-
5 a 8 anos	1,25	0,320	-	-
9 a 12 anos	0,98	0,950	-	-
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	1,79	0,230
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	2,04	0,150
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	2,17	0,110
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	0,90	0,890
out-fev	1,56	0,730	1,31	0,720
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,91	0,880
24-30 Km	3,49	<0,001	4,32	0,002
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	12,51	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 47- Análises simples e múltipla para covariáveis do tempo até o primeiro evento de malária falcíparum.
(conclusão)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	-	-
palha	3,48	0,430	-	-
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	1,15	0,750
5 moradores	0,76	0,520	1,01	0,980
6 a 13 moradores	2,02	0,046	2,17	0,039
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

Sex: sexo

TemAcrlCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco

^b beta não estimado neste estrato

3.5.6 Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie

Somente a covariável IndRiqQua resistiu ao processo de seleção no modelo com os determinantes mais distais (m3.mal.mult) e no passo seguinte, com os determinantes mais proximais, em m4.mal.mult, LocKm e NumMorQua passaram para o estágio seguinte (Tabela 48). No modelo m3.mal.mult o índice de riqueza também promoveu mudança no estrato Ati derrubada no Iquiri, sendo que na sua presença o risco equivale a 1,40 vezes maior (valor-p=0,190) e na ausência passou para 1,26 (valor-p=0,044). Já no modelo m4.mal.mult a ausência da covariável LocKm altera o estrato dos indivíduos 25% de menor poder aquisitivo (IndRiqQua -4,87 a -1,29) (HR=1,16 ; valor-p=0,660 para HR=2,95; valor-p=0,009) e a ausência da covariável NumMorQua altera o estrato LocKm 20-24 Km (HR=0,39 ; valor-p=0,001 para HR=0,57; valor-p=0,160). Dessa forma, o modelo final mFinal.mal.mult foi composto pelas covariáveis IdaCat, Sex, Pluv, IndRiqQua, LocKm e NumMorQua (Tabela 48)

O teste de razão de verossimilhança mostra que o modelo final foi melhor do que o modelo nulo e sugere um bom ajuste global (TRV=658; gl=65,1; valor-p <0,001). Esse modelo conseguiu explicar 15,69% da variabilidade dos dados ($R^2=0,080$; máximo possível=0,510).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo final foi de 0,533, denotando apresentar heterogeneidade entre os indivíduos, o que evidencia a necessidade de incluir um termo aleatório ao modelo. A fragilidade, pelo teste de Wald, foi estatisticamente significativa (teste de Wald=132,14; valor-p <0,001) (Tabela 48).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 75 domicílios apresentaram risco baixo, 44 tiveram risco alto e 4 com risco nulo (Figura 40).

Dado que um indivíduo pertencia a um determinado domicílio, o risco do sexo masculino foi 43% maior (valor-p<0,001) do que o do sexo oposto, enquanto que aqueles que não moravam entre os quilômetros 14 e 20 do Granada possuíam risco elevado, bem como aqueles que residiam em domicílios com 6 a 13 moradores, conforme mostrado na tabela 49.

O teste de correlação linear entre o tempo de sobrevida e o resíduo de Schoenfeld mostra que todos os estratos de todas as covariáveis não rejeitaram a hipótese nula de risco proporcional, bem como o ajuste global do modelo (Tabela 50), o que também foi visto na análise gráfica (Figura 41).

A covariável IndRiqQua permanece sob forte influência da inclusão das demais covariáveis no modelo, assim como o sexo. Contudo, tanto a localização dos domicílios quanto o número de moradores mantêm a significância estatística (Tabela 51).

Tabela 48- Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

(continua)

níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.mal.mult	IdaCat	5,57	4	0,234
	Sex	14,72	1	<0,001
	Pluv	1,06	2	0,589
m2.mal.mult	IdaCat	4,86	4	0,302
	Sex	14,42	1	<0,001
	Pluv	0,85	2	0,652
	TemAcrlCat ^b	117,74	4	<0,001
	Ati	8,63	3	0,035
	AnoEstNat	6,11	3	0,107
	IndRiqQua	88,01	3	<0,001
m3.mal.mult	IdaCat	4,86	4	0,302
	Sex	14,42	1	<0,001
	Pluv	0,85	2	0,652
	Ati ^c	8,78	3	0,032
	AnoEstNat ^c	15,35	3	0,002
	IndRiqQua	112,20	3	<0,001
m4.mal.mult	IdaCat	7,77	4	0,100
	Sex	14,72	1	0,000
	Pluv	0,61	2	0,737
	IndRiqQua	87,53	3	<0,001
	LocKm	222,25	3	<0,001
	NumMorQua	43,00	3	<0,001
	MatTel ^c	2,24	2	0,326
	TipPar ^c	0,06	1	0,805
	MatPis ^c	9,29	2	0,010
	ForTet ^c	0,75	1	0,388
	CozSep ^c	1,53	1	0,216
	LocPesDor ^c	0,34	2	0,844
	LocPlaRoç ^c	1,51	2	0,471
	Mos ^c	0,94	1	0,331

Tabela 48- Processo de seleção das covariáveis do modelo para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

(conclusão)				
níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.mal.mult	IdaCat	4,34	4	0,362
	Sex	15,00	1	<0,001
	Pluv	0,86	2	0,650
	IndRiqQua	121,52	3	<0,001
	LocKm	240,84	3	<0,001
	NumMorQua	45,09	3	<0,001
	IndRiqQua*LocKm	1,82	9	0,994
mFinal.mal.mult	IdaCat	4,34	4	0,362
	Sex	15,00	1	<0,001
	Pluv	0,86	2	0,650
	IndRiqQua	121,52	3	<0,001
	LocKm	240,84	3	<0,001
	NumMorQua	45,09	3	<0,001
mFinal.mal.mult	fragilidade ^e	132,14 ^f	55,00	<0,001

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquitoireiro

Sex: sexo

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^e fragilidade do modelo final^f valor calculado pelo teste de Wald

Figura 40- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

Tabela 49- Avaliação do modelo mFinal.mal.mult para os múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ^2 ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	0,21	0,16	1,24	1,74	1	0,190	0,90	1,70
Ida 11 a 15 anos	0,02	0,18	1,02	0,01	1	0,910	0,71	1,46
Ida 16 a 30 anos	0,23	0,15	1,26	2,43	1	0,120	0,94	1,68
Ida > 30 anos	0,23	0,14	1,26	2,64	1	0,100	0,95	1,66
Sex masculino	0,36	0,10	1,43	13,09	1	<0,001	1,18	1,74
Pluv mar-mai	-0,30	0,34	0,74	0,80	1	0,370	0,38	1,43
Pluv out-fev	-0,39	0,32	0,68	1,48	1	0,220	0,37	1,27
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,18	0,32	0,84	0,32	1	0,570	0,45	1,55
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,32	0,31	1,37	1,02	1	0,310	0,74	2,54
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,30	0,31	1,36	0,96	1	0,330	0,74	2,49
LocKm 20-24 Km	-1,00	0,39	0,37	6,74	1	0,009	0,17	0,78
LocKm 24-30 Km	1,06	0,28	2,89	14,87	1	<0,001	1,69	4,96
LocKm 30 Km- Reserva	1,91	0,35	6,73	30,50	1	<0,001	3,42	13,25
NumMorQua 4 moradores	-0,06	0,28	0,94	0,05	1	0,820	0,54	1,64
NumMorQua 5 moradores	-0,12	0,29	0,89	0,16	1	0,690	0,50	1,57
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,73	0,25	2,07	8,74	1	0,003	1,28	3,35

IdaCat: idade categorizada
LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

Pluv: pluviosidade
NumMorQua: número de moradores

^a erro padrão da estimativa do beta
^b razão de risco
^c teste de Wald

Tabela 50- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.mal.mult para múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

estratos das covariáveis	ρ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	-0,04	0,72	0,395
Ida 11 a 15 anos	0,08	3,27	0,071
Ida 16 a 30 anos	0,04	0,89	0,346
Ida > 30 anos	0,01	0,03	0,859
Sex masculino	-0,06	1,48	0,223
Pluv mar-mai	-0,02	0,08	0,773
Pluv out-fev	-0,04	0,50	0,481
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,02	0,10	0,752
IndRiqQua -1,28 a 0,28	-0,04	0,30	0,586
IndRiqQua -4,87 a -1,29	-0,04	0,29	0,588
LocKm 20-24 Km	0,05	0,57	0,450
LocKm 24-30 Km	-0,01	0,05	0,827
LocKm 30 Km- Reserva	-0,03	0,22	0,638
NumMorQua 4 moradores	0,00	0,00	0,953
NumMorQua 5 moradores	0,02	0,09	0,763
NumMorQua 6 a 13 moradores	-0,01	0,02	0,896
Global	NA	73,8	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

^a coeficiente de correlação

Figura 41- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.mult dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

Figura 41(cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.mult dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

Figura 41(cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.mal.mult dos múltiplos eventos de malária de malária de qualquer espécie.

Tabela 51- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.
(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	1,24	0,190
11 a 15 anos	0,94	0,820	1,02	0,910
16 a 30 anos	1,40	0,140	1,26	0,120
> 30 anos	0,99	0,970	1,26	0,100
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,43	<0,001
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	-	-
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	-	-
derrubada em outro local	0,88	0,700	-	-
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	-	-
5 a 8 anos	1,25	0,320	-	-
9 a 12 anos	0,98	0,950	-	-
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	0,84	0,570
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	1,37	0,310
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	1,36	0,330
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	0,74	0,370
out-fev	1,56	0,730	0,68	0,220
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,37	0,009
24-30 Km	3,49	<0,001	2,89	<0,001
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	6,73	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 51- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária de qualquer espécie.

(conclusão)

covariáveis	Simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	-	-
palha	3,48	0,430	-	-
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	0,94	0,820
5 moradores	0,76	0,520	0,89	0,690
6 a 13 moradores	2,02	0,046	2,07	0,003
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquitoireiro

Sex: sexo

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco^b beta não estimado neste estrato

3.5.7 Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária vívax

No modelo m3.viv.mult, a covariável AnoEstNat, apesar de significantes estatisticamente ao nível de 20% (Tabela 52), não provocou nenhum efeito relevante sobre as demais covariáveis do nível hierárquico. Entretanto, a Ati e IndRiqQua provocaram tal efeito. A primeira melhorou o nível de significância do teste para o sexo masculino ao testar a exclusão dela (HR=1,26; valor-p=0,063, para HR=1,30; valor-p=0,020); a segunda covariável também provocou efeito semelhante sobre o sexo masculino (HR=1,26; valor-p=0,063, para HR=1,29; valor-p=0,044).

Ao testar as covariáveis mais proximais em m4.viv.mult ao nível de 20% pelo teste de razão de verossimilhança e pela mudança no efeito das demais covariáveis em relação ao desfecho (Tabelas 52 e 53), resistiram as covariáveis LocKm e NumMorQua. Com isso, no modelo mFinal.viv.mult restaram somente as covariáveis IdaCat, Sex, Pluv, IndRiqQua, LocKm e NumMorQua (Tabela 52).

Para o modelo final há sugestão de bom ajuste global (TRV=562; gl=63,5; valor-p<0,001) e ele consegue explicar 15,73% da variabilidade dos dados ($R^2=0,070$; máximo possível= 0,445).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo final (mFinal.viv.mult) foi de 0,555, denotando heterogeneidade entre os indivíduos. A fragilidade foi estatisticamente significativa (teste de Wald=115,16; valor-p<0,001) (Tabela 52).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 70 domicílios apresentaram risco baixo, 43 tiveram risco alto e 10 com risco nulo (Figura 42).

O risco dos homens adquirirem eventos recorrentes de malária vívax foi 30% maior (valor-p=0,029) do que as mulheres. O risco também foi mais elevado para os indivíduos que não residiam no trecho correspondente ao início do ramal (14-20 Km) e nas residências onde havia entre 6 e 13 moradores o risco foi um pouco mais que duas vezes maior (valor-p=0,004) do que naquelas com menor quantidade de pessoas (Tabela 54).

Todos os estratos das covariáveis não rejeitaram a hipótese nula de risco proporcional e o modelo apresentou bom ajuste global (Tabela 55). Esse padrão de proporcionalidade dos riscos também foi nos gráficos de Schoenfeld (Figura 43).

Para o sexo masculino houve melhora da significância do teste ao comparar a análise simples com a análise múltipla. Entretanto, o contrário acontece com o índice de riqueza (Tabela 56).

Tabela 52- Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária vívax.

(continua)

Níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.viv.mult	IdaCat	10,08	4	0,039
	Sex	9,09	1	0,003
	Pluv	1,41	2	0,493
m2.viv.mult	IdaCat	10,13	4	0,038
	Sex	8,49	1	0,004
	Pluv	1,39	2	0,499
	TemAcrlCat ^b	95,06	4	<0,001
	Ati	6,80	3	0,079
	AnoEstNat	3,08	3	0,379
	IndRiqQua	68,88	3	<0,001
m3.viv.mult	IdaCat	10,13	4	0,038
	Sex	8,49	1	0,004
	Pluv	1,39	2	0,499
	Ati	6,23	3	0,101
	AnoEstNat ^c	10,41	3	0,015
	IndRiqQua	87,37	3	<0,001
m4.viv.mult	IdaCat	13,10	4	0,011
	Sex	9,90	1	0,002
	Pluv	1,22	2	0,544
	Ati	6,19	3	0,103
	IndRiqQua	64,98	3	<0,001
	LocKm	177,94	3	<0,001
	NumMorQua	43,67	3	<0,001
	MatTel ^c	1,32	2	0,517
	TipPar ^c	0,09	1	0,763
	MatPis ^c	11,21	2	0,004
	ForTet ^c	0,44	1	0,505
	CozSep ^c	4,41	1	0,036
	LocPesDor ^c	1,06	2	0,588
	LocPlaRoç ^c	1,02	2	0,600
	Mos ^c	3,32	1	0,069

Tabela 52- Processo de seleção das covariáveis do modelo para múltiplos eventos de malária vivax.

(conclusão)				
Níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.viv.mult	IdaCat	9,52	4	0,049
	Sex	9,03	1	0,003
	Pluv	1,40	2	0,497
	Ati	7,62	3	0,055
	IndRiqQua	96,46	3	<0,001
	LocKm	193,63	3	<0,001
	NumMorQua	43,96	3	<0,001
	Sex*Ati ^b	7,10	1	0,008
	IndRiqQua*LocKm	3,27	9	0,953
mFinal.viv.mult	IdaCat	9,52	4	0,049
	Sex	9,03	1	0,003
	Pluv	1,40	2	0,497
	Ati	7,62	3	0,055
	IndRiqQua	96,46	3	<0,001
	LocKm	193,63	3	<0,001
	NumMorQua	43,96	3	<0,001
	fragilidade ^c	115,16 ^f	50,4	<0,001

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

Sex: sexo

TemAcrlCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre as demais covariáveis e o desfecho.^e fragilidade do modelo final^f valor calculado pelo teste de Wald

Tabela 53- Covariáveis do modelo m4.viv.mult que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico.

estratos das covariáveis ^a	LocKm		NumMorQua	
	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado
	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b
IndRiqQua -1,28 a 0,28	1,46(0,310)	2,59(0,048)	-	-
IndRiqQua -4,87 a -1,29	1,13(0,740)	3,10(0,012)	-	-
LocKm 20-24 Km	-	-	0,33(0,010)	0,52(0,140)

LocKm: localização do domicílio

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: numero de moradores

^a representados somente os estratos com modificação do efeito

^b razão de risco. O valore entre parênteses representa o valor-p

Figura 42- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária vivax.

Tabela 54- Avaliação do modelo mFinal.viv.mult para os múltiplos eventos de malária vívax.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ^2 ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	0,16	0,18	1,17	0,82	1	0,360	0,83	1,65
Ida 11 a 15 anos	-0,09	0,21	0,92	0,17	1	0,680	0,61	1,38
Ida 16 a 30 anos	0,11	0,20	1,12	0,34	1	0,560	0,76	1,65
Ida > 30 anos	-0,02	0,19	0,98	0,01	1	0,920	0,68	1,43
Sex masculino	0,27	0,12	1,30	4,75	1	0,029	1,03	1,66
Pluv mar-mai	-0,45	0,36	0,64	1,63	1	0,200	0,32	1,27
Pluv out-fev	-0,42	0,32	0,66	1,69	1	0,190	0,35	1,24
Ati agricultura/pecuária	0,02	0,18	1,02	0,01	1	0,930	0,71	1,45
Ati derrubada no Iquiri	0,23	0,27	1,26	0,75	1	0,390	0,75	2,13
Ati derrubada em outro local	-0,02	0,28	0,98	0,00	1	0,950	0,57	1,71
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,24	0,34	0,79	0,49	1	0,480	0,41	1,54
IndRiqQua -1,28 a 0,28	0,36	0,33	1,44	1,19	1	0,280	0,75	2,77
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,24	0,34	1,27	0,49	1	0,480	0,65	2,46
LocKm 20-24 Km	-0,99	0,41	0,37	5,68	1	0,017	0,17	0,84
LocKm 24-30 Km	1,01	0,30	2,74	11,66	1	0,001	1,54	4,88
LocKm 30 Km- Reserva	1,83	0,38	6,22	23,43	1	<0,001	2,97	13,05
NumMorQua 4 moradores	-0,13	0,31	0,88	0,18	1	0,670	0,48	1,61
NumMorQua 5 moradores	-0,06	0,32	0,94	0,03	1	0,850	0,51	1,76
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,78	0,27	2,18	8,43	1	0,004	1,29	3,68

IdaCat: idade categorizada
Ati: atividade
NumMorQua: número de moradores

Sex: sexo
LocKm: localização do domicílio

Pluv: pluviosidade
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

^a erro padrão da estimativa do beta
^b razão de risco
^c teste de Wald

Tabela 55- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.viv.mult para múltiplos eventos de malária vívax.

estratos das covariáveis	ρ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	-0,03	0,37	0,546
Ida 11 a 15 anos	0,09	3,19	0,074
Ida 16 a 30 anos	0,06	1,26	0,261
Ida > 30 anos	0,01	0,07	0,785
Sex masculino	-0,09	2,96	0,085
Pluv mar-mai	-0,08	1,94	0,163
Pluv out-fev	-0,05	0,85	0,358
Ati agricultura/pecuária	-0,03	0,20	0,657
Ati derrubada no Iquiri	-0,02	0,09	0,768
Ati derrubada em outro local	0,03	0,29	0,592
IndRiqQua 0,29 a 1,57	-0,04	0,39	0,533
IndRiqQua -1,28 a 0,28	-0,05	0,45	0,503
IndRiqQua -4,87 a -1,29	-0,05	0,53	0,469
LocKm 20-24 Km	0,06	0,92	0,338
LocKm 24-30 Km	0,01	0,03	0,857
LocKm 30 Km- Reserva	-0,03	0,14	0,709
NumMorQua 4 moradores	0,03	0,14	0,713
NumMorQua 5 moradores	0,02	0,10	0,747
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,00	0,00	0,950
Global	NA	80,5	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

^a coeficiente de correlação

Figura 43- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.mult dos múltiplos eventos de malária vívax.

Figura 43 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.mult dos múltiplos eventos de malária vivax.

Figura 43 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.mult dos múltiplos eventos de malária vívax.

Figura 43 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.viv.mult dos múltiplos eventos de malária vívax.

Tabela 56- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária vivax.

(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	1,17	0,360
11 a 15 anos	0,94	0,820	0,92	0,680
16 a 30 anos	1,40	0,140	1,12	0,560
> 30 anos	0,99	0,970	0,98	0,920
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,30	0,029
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	1,02	0,930
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	1,26	0,390
derrubada em outro local	0,88	0,700	0,98	0,950
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	-	-
5 a 8 anos	1,25	0,320	-	-
9 a 12 anos	0,98	0,950	-	-
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	0,79	0,480
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	1,44	0,280
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	1,27	0,480
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	0,64	0,200
out-fev	1,56	0,730	0,66	0,190
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,37	0,017
24-30 Km	3,49	<0,001	2,74	0,001
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	6,22	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 56- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária vivax.
(conclusão)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	-	-
palha	3,48	0,430	-	-
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	0,88	0,670
5 moradores	0,76	0,520	0,94	0,850
6 a 13 moradores	2,02	0,046	2,18	0,004
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquiteiro

Sex: sexo

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco

^b beta não estimado neste estrato

3.5.8 Construção e avaliação do modelo dos múltiplos eventos de malária falcíparum

Todas as covariáveis do modelo m3.fal.mult, determinantes distais, apresentaram significância estatística ao nível de 20% (Tabela 57) e provocaram algum efeito sobre as demais covariáveis do mesmo nível e o desfecho (Tabela 58). Portanto, todas participaram do estágio seguinte (m5.fal.mult). Neste estágio, as covariáveis proximais foram avaliadas e somente LocKm e NumMorQua possuíram valor- $p < 0,20$ e modificaram o efeito das demais covariáveis. A primeira, ao ser excluída do modelo, alterou o risco e a significância para os moradores de residência com palha como material do telhado (HR=4,37; valor- $p=0,023$ para HR=5,79; valor- $p=0,130$). Já a segunda covariável provocou mudanças para os indivíduos com idade entre 16 e 30 anos (HR=2,48; valor- $p=0,026$ para HR=2,05; valor- $p=0,075$). Logo, no modelo final restaram as covariáveis IdaCat, Sex, Pluv, Ati, AnoEstNat, IndRiqQua, LocKm e NumMorQua (Tabela 57).

Pelo teste de razão de verossimilhança, o modelo final sugere bom ajuste global e indica ser melhor do que o modelo nulo (TRV=249; gl=46,3; valor- $p < 0,001$). Esse modelo conseguiu explicar 15,94% da variabilidade dos dados ($R^2=0,033$; máximo possível=0,207).

A variância dos efeitos aleatórios para o modelo final foi de 0,536, representando heterogeneidade entre os indivíduos, o que evidencia a necessidade de incluir um termo aleatório ao modelo. A fragilidade foi estatisticamente significativa (teste de Wald=49,98; valor- $p=0,007$) (Tabela 57).

A estimativa pontual da fragilidade em cada um dos domicílios mostra que 80 domicílios apresentaram baixo risco, 33 tiveram risco alto e 10 com risco nulo (Figura 44).

O risco de adquirir eventos recorrentes de malária falcíparum foi estatisticamente significativo mais elevado para aqueles que moravam entre os quilômetros 20 e 30 do Ramal do Granada, assim como para os que residiam em domicílios com 6 a 13 moradores (Tabela 59).

Com exceção do período com médios índices pluviométricos (Pluv mar-mai), todos os demais estratos das covariáveis participantes do modelo final respeitaram o pressuposto dos riscos proporcionais e o ajuste global foi muito bom para o modelo (Tabela 60), comprovado pela análise gráfica dos resíduos de Schoenfeld (Figura 45).

Somente a localização do domicílio e o número de moradores na residência permanecem estatisticamente significantes tanto na análise simples quanto na múltipla (Tabela 61).

Tabela 57- Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária falcíparum.

(continua)

Níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m1.fal.mult	IdaCat	5,79	4	0,216
	Sex	6,79	1	0,009
	Pluv	1,43	2	0,490
m2.fal.mult	IdaCat	5,08	4	0,279
	Sex	6,89	1	0,009
	Pluv	1,61	2	0,447
	TemAcrlCat ^b	48,46	4	<0,001
	Ati	6,36	3	0,095
	AnoEstNat	4,19	3	0,242
	IndRiqQua	32,05	3	<0,001
m3.fal.mult	IdaCat	5,08	4	0,279
	Sex	6,89	1	0,009
	Pluv	1,61	2	0,447
	Ati	6,35	3	0,096
	AnoEstNat	10,02	3	0,018
	IndRiqQua	41,94	3	<0,001
m4.fal.mult	IdaCat	3,88	4	0,423
	Sex	5,10	1	0,024
	Pluv	1,50	2	0,472
	Ati	2,69	3	0,442
	AnoEstNat	9,97	3	0,019
	IndRiqQua	33,21	3	<0,001
	LocKm	71,01	3	<0,001
	NumMorQua	19,85	3	<0,001
	MatTel	8,43	2	0,015
	TipPar	0,86	1	0,353
	MatPis ^b	2,35	2	0,308
	ForTet ^b	0,00	1	1,000
	CozSep	0,07	1	0,786
	LocPesDor	0,21	2	0,900
	LocPlaRoç	4,25	2	0,119
	Mos	0,91	1	0,340

Tabela 57- Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária falcíparum.

(continuação)				
Níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
m5.fal.mult	IdaCat	3,88	4	0,423
	Sex	5,10	1	0,024
	Pluv	1,50	2	0,472
	Ati	2,69	3	0,442
	AnoEstNat	9,97	3	0,019
	IndRiqQua	33,21	3	<0,001
	LocKm	71,01	3	<0,001
	NumMorQua	19,85	3	<0,001
	MatTel ^c	8,43	2	0,015
	TipPar ^c	0,86	1	0,353
	CozSep ^c	0,04	1	0,851
	LocPesDor ^c	0,31	2	0,855
	LocPlaRoç ^c	3,92	2	0,141
	Mos ^c	1,37	1	0,242
m6.fal.mult	IdaCat	5,08	4	0,279
	Sex	6,89	1	0,009
	Pluv	1,61	2	0,447
	Ati	6,35	3	0,096
	AnoEstNat	10,02	3	0,018
	IndRiqQua	41,94	3	<0,001
	LocKm	73,07	3	<0,001
	NumMorQua	20,66	3	<0,001
	Sex*Ati ^b	0,81	1	0,369
	IndRiqQua*LocKm	-5,78	8	1,000

Tabela 57- Processo de seleção das covariáveis do modelo para os múltiplos eventos de malária falcíparum.

(conclusão)				
Níveis	covariáveis	TRV ^a	gl	valor-p
mFinal.fal.mult	IdaCat	5,08	4	0,279
	Sex	6,89	1	0,009
	Pluv	1,61	2	0,447
	Ati	6,35	3	0,096
	AnoEstNat	10,02	3	0,018
	IndRiqQua	41,94	3	<0,001
	LocKm	73,07	3	<0,001
	NumMorQua	20,66	3	<0,001
mFinal.mal.1	fragilidade ^e	49,98 ^f	28,4	0,007

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquito

Sex: sexo

TemAcrCat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a teste de razão de verossimilhança para a covariável^b covariáveis excluídas do nível seguinte por não se ajustarem ao modelo e/ou por estimarem os betas das demais covariáveis erroneamente.^c covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre a demais covariáveis e o desfecho.^d covariáveis excluídas a partir da informação que não geram modificações relevantes na medida de associação (razão de risco e valor-p) entre a demais covariáveis e o desfecho.^e fragilidade do modelo final^f valor calculado pelo teste de Wald

Tabela 58- Covariáveis do modelo m3.fal.mult que provocaram algum efeito sobre os estratos das demais covariáveis do nível hierárquico.

estratos das covariáveis ^a	Ati		AnoEstNat		IndRiqQua	
	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado	não ajustado	ajustado
	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b	HR ^b
IdaCat 16 a 30 anos	1,94(0,071)	2,00(0,025)	1,94(0,071)	2,06(0,026)	1,94(0,071)	2,11(0,044)
IdaCat >30 anos	1,73(0,110)	1,85(0,027)	-	-	-	-
Sex masculino	1,43(0,088)	1,55(0,016)	-	-	-	-

IdaCat: idade
Sex: sexo
Ati: atividade
AnoEstNat: anos de estudo
IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

^a representados somente os estratos com modificação do efeito
^b razão de risco. O valore entre parênteses representa o valor-p

Figura 44- Estimativa pontual da fragilidade e seu intervalo de confiança de 95% dos domicílios para múltiplos eventos de malária falcíparum.

Tabela 59- Avaliação do modelo mFinal.fal.mult para os múltiplos eventos de malária falcíparum.

estratos das covariáveis	β	se(β) ^a	HR ^b	χ ² ^c	gl	valor-p	inferior 95% IC	superior 95% IC
Ida 6 a 10 anos	-0,03	0,36	0,97	0,01	1	0,930	0,48	1,96
Ida 11 a 15 anos	0,23	0,39	1,25	0,34	1	0,560	0,59	2,67
Ida 16 a 30 anos	0,59	0,37	1,81	2,65	1	0,100	0,89	3,70
Ida > 30 anos	0,51	0,33	1,66	2,34	1	0,130	0,87	3,19
Sex masculino	0,36	0,21	1,43	2,98	1	0,084	0,95	2,15
Pluv mar-mai	-0,15	0,47	0,86	0,10	1	0,750	0,35	2,16
Pluv out-fev	0,10	0,51	1,10	0,04	1	0,840	0,41	2,97
Ati agricultura/pecuária	0,03	0,28	1,03	0,01	1	0,910	0,60	1,80
Ati derrubada no Iquiri	0,56	0,40	1,76	1,97	1	0,160	0,80	3,85
Ati derrubada em outro local	0,11	0,42	1,11	0,06	1	0,800	0,49	2,52
AnoEstNat 1 a 4 anos	0,31	0,26	1,36	1,35	1	0,240	0,81	2,28
AnoEstNat 5 a 8 anos	0,32	0,33	1,38	0,94	1	0,330	0,72	2,62
AnoEstNat 9 a 12 anos	0,60	0,52	1,82	1,34	1	0,250	0,66	5,02
IndRiqQua 0,29 a 1,57	0,26	0,44	1,30	0,36	1	0,550	0,55	3,06
IndRiqQua 1,28 a 0,28	0,27	0,46	1,31	0,36	1	0,550	0,54	3,20
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,61	0,43	1,84	2,03	1	0,150	0,79	4,28
LocKm 20-24 Km	-0,47	0,60	0,62	0,62	1	0,430	0,19	2,02
LocKm 24-30 Km	1,45	0,45	4,27	10,41	1	0,001	1,77	10,33
LocKm 30 Km- Reserva	2,26	0,50	9,56	20,36	1	<0,001	3,59	25,50
NumMorQua 4 moradores	-0,03	0,41	0,97	0,01	1	0,940	0,44	2,14
NumMorQua 5 moradores	-0,19	0,43	0,82	0,20	1	0,650	0,36	1,91
NumMorQua 6 a 13 moradores	0,81	0,33	2,25	5,92	1	0,015	1,17	4,33
IdaCat: idade categorizada	Sex: sexo				Pluv: pluviosidade			
Ati: atividade	LocKm: localização do domicílio				IndRiqQua: índice de riqueza por quartil			
NumMorQua: número de moradores	AnoEstNat: anos de estudo							
^a erro padrão da estimativa do beta	^b razão de risco				^c teste de Wald			

Tabela 60- Teste de correlação linear das covariáveis com o tempo (resíduo de Schoenfeld) do modelo mFinal.fal.mult para múltiplos eventos de malária falciparum.

estratos das covariáveis	rho ^a	χ^2	valor-p
Ida 6 a 10 anos	-0,11	1,96	0,161
Ida 11 a 15 anos	0,00	0,00	0,976
Ida 16 a 30 anos	-0,06	0,60	0,437
Ida > 30 anos	-0,10	1,48	0,223
Sex masculino	0,08	1,11	0,292
Pluv mar-mai	0,22	6,94	0,008
Pluv out-fev	0,08	0,93	0,334
Ati agricultura/pecuária	0,03	0,09	0,761
Ati derrubada no Iquiri	0,03	0,12	0,727
Ati derrubada em outro local	-0,11	1,74	0,187
AnoEstNat 1 a 4 anos	-0,03	0,18	0,670
AnoEstNat 5 a 8 anos	-0,05	0,36	0,551
AnoEstNat 9 a 12 anos	0,03	0,15	0,701
IndRiqQua 0,29 a 1,57	0,01	0,00	0,955
IndRiqQua 1,28 a 0,28	0,00	0,00	0,981
IndRiqQua -4,87 a -1,29	0,00	0,00	0,965
LocKm 20-24 Km	-0,05	0,23	0,629
LocKm 24-30 Km	-0,05	0,36	0,547
LocKm 30 Km- Reserva	-0,06	0,47	0,491
NumMorQua 4 moradores	-0,08	0,61	0,436
NumMorQua 5 moradores	-0,09	0,87	0,350
NumMorQua 6 a 13 moradores	-0,06	0,32	0,575
Global	NA	43,8	1,000

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

LocKm: localização do domicílio

Sex: sexo

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

AnoEstNat: anos de estudo

NumMorQua: número de moradores por quartil

^a coeficiente de correlação

Figura 45- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.mult dos múltiplos eventos de malária falcíparum.

Figura 45 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.mult dos múltiplos eventos de malária falcíparum.

Figura 45 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.mult dos múltiplos eventos de malária falcíparum.

Figura 45 (cont.)- Resíduos de Schoenfeld para modelo mFinal.fal.mult dos múltiplos eventos de malária falciparum.

Tabela 61- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária falcíparum.

(continua)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
IdaCat				
6 a 10 anos	1,57	0,097	0,97	0,930
11 a 15 anos	0,94	0,820	1,25	0,560
16 a 30 anos	1,40	0,140	1,81	0,100
> 30 anos	0,99	0,970	1,66	0,130
Sex				
masculino	1,24	0,160	1,43	0,084
Ati				
agricultura/ pecuária	1,22	0,320	1,03	0,910
derrubada no Iquiri	2,15	0,036	1,76	0,160
derrubada em outro local	0,88	0,700	1,11	0,800
AnoEstNat				
1 a 4 anos	1,33	0,150	1,36	0,240
5 a 8 anos	1,25	0,320	1,38	0,330
9 a 12 anos	0,98	0,950	1,82	0,250
TemAcrlCat				
6 a 10 anos	0,93	0,760	-	-
11 a 15 anos	1,28	0,380	-	-
16 a 20 anos	0,81	0,600	-	-
> 20 anos	NA ^b	NA ^b	-	-
IndRiqQua				
0,29 a 1,57	1,80	0,130	1,30	0,550
-1,28 a 0,28	3,63	0,001	1,31	0,550
-4,87 a -1,29	5,98	<0,001	1,84	0,150
Pluv				
mar-mai	3,47	0,330	0,86	0,750
out-fev	1,56	0,730	1,10	0,840
LocKm				
20-24 Km	0,58	0,170	0,62	0,430
24-30 Km	3,49	<0,001	4,27	0,001
30 Km- Reserva	11,09	<0,001	9,56	<0,001
CozSep				
sim	0,75	0,470	-	-
ForTet				
não	0,81	0,810	-	-
MatPis				
madeira	4,28	0,022	-	-
terra batida	13,91	0,010	-	-

Tabela 61- Análises simples e múltipla para covariáveis dos múltiplos eventos de malária falcíparum.

(conclusão)

covariáveis	simples		múltipla	
	HR ^a	valor-p	HR ^a	valor-p
MatTel				
madeira	2,80	0,028	-	-
palha	3,48	0,430	-	-
TipPar				
com frestas	0,88	0,840	-	-
NumMorQua				
4 moradores	1,33	0,460	0,97	0,940
5 moradores	0,76	0,520	0,82	0,650
6 a 13 moradores	2,02	0,046	2,25	0,015
LocPesDor				
Amazonas/Iquiri	2,71	0,029	-	-
outro local	1,17	0,470	-	-
LocPlaRoç				
Amazonas/Iquiri	2,35	0,035	-	-
outro local	1,22	0,180	-	-
Mos				
não	0,54	0,061	-	-

IdaCat: idade categorizada

Pluv: pluviosidade

Ati: atividade

IndRiqQua: índice de riqueza por quartil

NumMorQua: número de moradores por quartil

ForTet: forração do teto

MatPis: material do piso

LocPesDor: local da pescaria

Mos: uso de mosquitoireiro

Sex: sexo

TemAcrIcat: tempo de Acrelândia categorizado

AnoEstNat: anos de estudo

LocKm: localização do domicílio

MatTel: material do telhado

TipPar: tipo de parede

CozSep: cozinha separada

LocPlaRoç: local da plantação

^a razão de risco^b beta não estimado neste estrato

4 Discussão

4.1 A malária como um problema de saúde pública

Apesar do consenso emergente de que “a saúde pública necessita ser baseada em evidência, se é para ser realizada adequadamente” (Eriksson, 2000), traduzir as evidências científicas em intervenções de saúde pública permanece desafiador. Neste estudo, foram concentradas três características de malária de fronteira com implicações claras para a concepção de estratégia eficazes de controle: (1) a alta prevalência de infecções sub-patentes assintomáticas, (2) o agrupamento espacial de malária e (3) os fatores de risco associados à aquisição de malária.

Migrantes não imunes oriundos de áreas livres de malária geralmente não conseguem atingir nível de imunidade clínica usualmente visto em adultos de zona rural no continente africano (Camargo et al., 1994; Camargo et al., 1996). Infecções de malária assintomática, porém, são difundidas entre populações nativas da Amazônia (Alves et al., 2002; Ladeia-Andrade et al., 2009) e podem representar uma fonte significativa de gametócitos para vetores (Alves et al., 2005). Estudos mais recentes também revelaram altas prevalências de infecções maláricas crônicas e subclínicas com parasitemias muito baixas, a maioria delas somente detectadas pela PCR, na típica configuração de malária de fronteira, região habitada majoritariamente por migrantes, tal como áreas de mineração de ouro (Scopel et al., 2004) e assentamentos agrícolas (Tabela 12) (Silva-Nunes et al., 2008). Portadores assintomáticos do parasita podem representar um importante reservatório de malária, não apenas em populações nativas de comunidades ribeirinhas isoladas da Amazônia, mas também em áreas de mineração ou de assentamento agrícola densamente povoadas, com claras implicações para o controle da malária (Coura et al., 2006) e o tratamento imediato desses pacientes pode diminuir os índices de transmissão e as morbidades promovidas pela doença (Njama-Meya et al., 2004).

Quase todas as infecções no Brasil são identificadas através da busca ativa ou da passiva. A busca ativa agressiva dos casos tem se limitado a algumas configurações de endemicidade muito alta, como as ocorridas na reserva indígena dos Yanomami (Macauley, 2005). Uma limitação importante das buscas ativa e da passiva é que as infecções assintomáticas e mesmo as sintomáticas afebris podem passar despercebidas e não serem tratadas. O espectro clínico da malária assintomática no Granada varia de uma doença muito suave para uma patologia com febre periódica paroxística (Silva-Nunes e Ferreira, 2007).

Ausência de febre foi relatada em 19,1% dos 230 episódios de malária sintomática confirmados em laboratório e detectadas tanto pela busca ativa quanto pela passiva no Ramal do Granada, embora outros sintomas (cefaleia, principalmente, ou mialgia) estavam presentes e os indivíduos se sentiram mal o suficiente para buscar o diagnóstico de malária (Silva-Nunes e Ferreira, 2007). Portanto, estratégias de controle da malária no Brasil, baseadas em ambos os tipos de busca dos casos, lidam com uma doença heterogênea, na qual paroxismo cíclico com febre, calafrios e sudorese profusa, a marca registrada nos livros didáticos sobre malária, são características não necessariamente proeminentes.

Continua a ser matéria de debate se as infecções assintomáticas no Brasil representam um importante reservatório que deve ser abordado pela busca ativa agressiva (Alves et al., 2002; Macauley, 2005; Coura et al., 2006). Como essa busca é cara e trabalhosa, uma análise de custo-efetividade cuidadosa é necessária antes de sua utilização em larga escala. Primeiro, o papel relativo da infecção assintomática na manutenção da transmissão da malária na Amazônia deve ser quantificado. Modelos matemáticos têm mostrado recentemente que infecções assintomáticas representam um alvo crucial para os esforços de erradicação da malária na África (Aguas et al., 2008), mas nenhuma análise semelhante existe para outras áreas endêmicas. Em segundo lugar, os métodos laboratoriais apropriados para uso em larga escala, tais como microscopia e testes de diagnóstico rápido, são pouco sensíveis para detectar infecções com baixa parasitemia. Estudos anteriores realizados no Brasil mostram que PCR aninhada é entre 2,7 e 8, vezes mais sensível que a microscopia convencional na detecção de parasitas da malária em indivíduos aparentemente saudáveis (Alves et al., 2002; Scopel et al., 2004; Coura et al., 2006; Katsuragawa et al., 2009). Diagnóstico baseado em PCR tem sido sugerido como uma ferramenta de saúde pública para busca ativa agressiva no Peru (Roshanravan et al., 2003), mas seu uso ainda é limitado pelo alto custo e complexidade.

Curiosamente, a incidência de *P. vivax* tem sido demonstrada com pico em menores idades do que de *P. falciparum* em outras áreas onde ambas as espécies coexistem (Alves et al., 2002; Roshanravan et al., 2003). Permanece ainda por esclarecer se este padrão relacionado à idade reflete as diferenças espécie-específica em exposição, imunidade adquirida, ou ambas. A maioria dos adultos na população do estudo é formada por migrantes de regiões livres de malária e as idades deles não se traduzem em exposição acumulativa à malária nesta população (Bastos et al., 2007).

A maior densidade de incidência entre os indivíduos que desenvolviam alguma atividade de lazer ou econômica longe da residência, sugere que, na região, a transmissão da

malária não é predominantemente intra ou peri-domiciliar. De tal sorte que medidas de controle devam também objetivar mudanças comportamentais individuais. Esses resultados divergem de estudo prévio, baseado em uma coorte aberta, realizado em outra área da Amazônia brasileira, no Estado do Mato Grosso, no qual os resultados apontam para transmissão preferencialmente intra e peri-domiciliar (Duarte et al., 2004)

É gratificante constatar reduções gradativas no número da densidade de incidência de malária no Granada. O número de casos novos de malária também vem sofrendo redução em outras regiões malarígenas latino-americanas (WHO, 2009) e de outros continentes (Barat, 2006; Beier, 2008; Ceesay et al., 2008). É grande a possibilidade dessa diminuição da incidência está diretamente relacionada com as políticas de controle ou até mesmo de erradicação desenvolvidas pelos órgãos responsáveis pelo combate à malária. Gestões eficientes em saúde pública tendem a diminuir também o número de morbidade e de mortalidade nas áreas endêmicas de malária, principalmente em crianças, como constatado no Quênia em um trabalho de 18 anos de vigilância em enfermarias de pediatria (O'meara et al., 2008). Contudo, a vigilância em malária deve ser ininterrupta e não somente nos períodos em que há elevação da incidência dos eventos, como ocorre nos períodos com maiores índices de chuva. De forma clara, os alvos da atuação devem ser bem determinados. Atenção deve ser dada às populações que tendem estar sob maior risco, como aqueles que desenvolvem atividades econômicas ou até mesmo de lazer que exigem exposição mais intensamente à malária. Preocupação semelhante também deve recair, por exemplo, sobre os indivíduos com menor poder aquisitivo, com condições de moradias que favorecem a transmissão e, acima de tudo, aos moradores de áreas de fronteira de floresta.

4.2 Análise espacial: uma ferramenta auxiliar no combate à malária

O impacto ambiental e o custo do controle de vetores baseado em inseticidas pode ser drasticamente reduzido por uma cuidadosa focalização espacial da pulverização na casa. *Clusters* de malária podem direcionar zonas e indivíduos preferencialmente de alto risco (Carter et al., 2000; Gaudart et al., 2006; De Castro et al., 2007). Detecção de *cluster* espacial constitui-se numa meta viável para o programa de controle da malária em todo o país, com a disponibilidade de receptores GPS baratos, métodos estatístico adequados e *softwares* para análise espacial.

Os dados desse estudo de coorte na Amazônia rural ilustrou *clusters* espaciais de malária. Estatística de varredura espacial revelou que 22,3% dos domicílios contribuíram

com 69,1% de todos os casos de malária diagnosticados durante o seguimento (Figura 25). Portanto, visando um quarto dos domicílios pode-se, teoricamente, reduzir a incidência de malária em mais de dois terços. Além disso, a mortalidade, não presenciada em nosso estudo, apresenta-se maior dentro do *cluster* do que fora dele, como comprovou um estudo realizado em uma área rural da Tanzânia, o qual avaliou 2.745 casos de malária em crianças menores de cinco anos (Shabani et al., 2010). De tal forma que a redução da incidência de malária no *cluster* refletiria sobre o índice de mortalidade atribuída a essa doença.

As avaliações pontuais das fragilidades, de uma forma geral, apontam que muitas residências com maior risco de malária localizam-se preferencialmente dentro dos *clusters* identificados, embora algumas com risco elevado tenham sido identificadas fora deles. Isso aponta para concordância entre as duas metodologias. Na análise das fragilidades ainda observa-se que domicílios situados no final do Granada tendem a possuir menor intervalo de confiança, representando, assim, maior ocorrência de eventos, o que também está de acordo com as mais elevadas densidades de incidência identificadas na região próxima ao limite da floresta.

Os *clusters* de malária no Granada, na área de ocupação mais recente, com o contínuo desmatamento, favorecem um aumento na abundância de *A. darlingi* e colocam toda a comunidade em maior risco (Vittor et al., 2006). Estudo realizado no município de Mâncio Lima, também no Estado do Acre, sugere que o desmatamento ocorrido entre agosto de 1997 e agosto de 2001 esteve associado a um aumento de 48% da incidência da malária naquele município (Olson et al., 2010).

É notável observar que mesmo na avaliação ano a ano os *clusters* de malária permaneceram fixos no final da área, o que denota uma estabilidade espacial na transmissão de malária na localidade ao longo do período de estudo. Tal situação pode ser fator adjuvante ao controle da malária. A ausência de mudança nas principais áreas de transmissão em intervalo de tempo tão curto tanto quanto um ano favorece a implementação de medidas mais eficazes, o que tenderia a não ocorrer se a região fosse uma área de transmissão instável.

Padrões similares de *cluster* espacial têm sido relatados em assentamentos agrícolas no Estado de Rondônia (De Castro et al., 2007), sugerindo que esta pode ser uma característica comum da malária de fronteira do Brasil. Entretanto, análises são claramente necessárias para suportar intervenções espacialmente segmentadas de controle da malária, tal como a seletiva pulverização das instalações em áreas rurais de alto risco no Brasil. A escolha de um inseticida permanece um assunto de debate, tanto as estratégias baseadas em DDT

(Conteh et al., 2004) quanto as não baseadas em DDT (Chanon et al., 2003) têm sido relatadas recentemente para serem bem sucedidas em outras áreas endêmicas.

Apesar da metodologia de identificação dos aglomerados de malária poder representar uma importante arma no combate à malária, no caso do Granada a peculiar característica comportamental de seus moradores, os quais apresentam considerável mobilidade interna, seja por lazer, trabalho ou mudança de moradia, levando ao registro de malária não necessariamente adquirida no intra o peri-domicílio, assim como as características de geográficas locais, com domicílios tão dispersos, podem levar a estimativas equivocados dos *clusters* espaciais. Entretanto, há de se considerar que as maiores densidades de incidência verificadas coincidentemente foram entre o quilômetro 24 e a área da reserva da Linha 14, região onde os *clusters* identificados estão situados. Justamente nessa região se concentram as pessoas com o menor poder aquisitivo e, conseqüentemente, habitações com baixa qualidade de construção, o que os tornam mais vulneráveis à malária (Carter et al., 2000).

A detecção de *clusters* espaciais pelos métodos de varredura é dependente do tamanho e da forma das janelas. Assim sendo, a escolha tomada pelo pesquisador poderá refletir em resultados diferentes. Métodos que identificam *clusters* espaciais sem pré-especificar a forma das janelas estão implementados e constituem-se numa alternativa, como o ODT (*Oblique Decision Tree*), porém os resultados apresentados neste método tendem a ser semelhantes quando comparados com os métodos de varredura baseados em modelos de Poisson, utilizando janelas circulares a partir do SaTScan (Gaudart et al., 2005).

A identificação de regiões de maior risco de malária para alvos preferenciais de intervenção é uma recomendação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000). Entretanto, dentro da política de saúde pública, é evidente que a identificação dos *clusters* espaciais de malária deva ser acompanhada de informações de saúde extremamente relevantes sobre as localidades e sobre os determinantes socioambientais e comportamentais que as acompanham (Rodrigues Ade et al., 2008).

Impõe-se uma interpretação paralela acerca dos resultados obtidos da análise espacial. O fato de a densidade de incidência diminuir à medida que se afasta do centro do *cluster* e atingindo um platô próximo a 8 Km desse centro, o que equivale aproximadamente ao alcance de voo do *Anopheles darlingi* nas Américas (Charlwood e Alecrim, 1989), sugere que os criadouros são preferencialmente peri-domiciliares e dentro desse raio de ação do vetor. Isso aponta para uma importante estratégia dos estudos entomológicos que podem realizar o planejamento de intervenções ambientais eficazes no Ramal do Granada. Os

clusters de malária tanto aquelas causadas pelo *P. vivax* quanto as causadas por *P. falciparum*, ou até mesmo sem distinguir a espécie, além de localizarem-se em uma fronteira de floresta, situam-se próximo ao rio Iquiri, o mais importante leito fluvial da região. Essa íntima relação dos *clusters* com essa coleção d'água aponta mais ainda para o fato que os criadouros dos vetores estão localizados próximos aos domicílios. Essa constatação da estreita associação entre os criadouros de anofelinos e rios e pântanos também já foi presenciada em outros estudos realizados no Ramal do Granada (Silva-Nunes, 2008) e em outras regiões malarígenas da América do Sul (Branch et al., 2005; Bautista et al., 2006), da Ásia (Erhart et al., 2005) e da África (Sintasath et al., 2005; Oesterholt et al., 2006; Bogh et al., 2007; Zhou et al., 2007; Clark et al., 2008).

O que se absorve dessa metodologia de identificação dos *clusters* de malária dentro da heterogeneidade de uma região endêmica e as potenciais localizações dos principais criadouros do mosquito transmissor é o poder de orientação pragmática que ela pode proporcionar às ações dos órgãos governamentais e não governamentais que trabalham diretamente no controle dessa doença, o que pode levar a maximização dos resultados (Silva-Nunes, 2008) com grande possibilidade de redução de custos operacionais.

4.3 Fatores de risco associados à malária

Malária de fronteira é um risco inerente no Granada ?

Embora este trabalho tenha sido baseado no acompanhamento dos casos dos indivíduos de uma coorte ao longo de 70 meses, os dados que fizeram parte da análise de sobrevivência foram obtidos no momento da entrada do indivíduo no estudo. Ora, naturalmente, em regiões de assentamento rurais há considerável heterogeneidade espaço-temporal tanto para fatores socioeconômicos quanto para ambientais (Silva-Nunes, 2008) e até comportamentais. As mudanças no cenário local da transmissão da malária são dinâmicas nesses assentamentos. O fato de a maioria dos participantes do estudo possuir menos de 6 anos de moradia no local sugere que o fluxo migratório para o Granada ainda é considerável, formado basicamente por pessoas com mais de 15 anos de idade e que tendem morar preferencialmente na área próxima ao final do ramal (24-30 Km). Entretanto, deve-se considerar que parte desses indivíduos com menos de 6 anos de moradia eram crianças que nasceram no local, porém com fortes indicações que possuísem baixa imunidade temporária à malária.

Essa contínua migração, geralmente de estados não-endêmicos como Paraná e Santa Catarina, faz com que a idade não seja um bom estimador da exposição cumulativa ao plasmódio e que, bem provavelmente, o tempo de exposição seja melhor estimador (Silva-Nunes et al., 2008) mesmo em uma área hipoendêmica, como é o caso do Ramal do Granada (Silva-Nunes, 2008).

Em contraste com a literatura, a existência de menor sobrevida nos gráficos de Kaplan-Meier para o indivíduos que usavam mosquiteiros pode ser consequência do pequeno número de dados colhidos sobre essa a utilização dos mesmos ou, realmente, ser uma informação real, tendo em vista ser comum na região os indivíduos que possuem condições para comprar mosquiteiros também tenderem a ter condições de possuir aparelhos de televisão e, dessa forma, deixar de utilizar a proteção nos horários de maior picada dos anofelinos, ou seja, ao anoitecer.

O baixo nível socioeconômico do indivíduo (IndRiqQua) representou um fator de risco em modelos simples para aquisição de malária, tanto por qualquer espécie quanto as distinguindo. Esse risco permaneceu estatisticamente significativo quando ajustado para as demais covariáveis distais em quaisquer das situações. Além do mais, modificações no efeito de pelo menos uma das covariáveis do nível hierárquico, em relação ao desfecho, foram detectadas ao incluir o índice de riqueza como covariável distal.

Nos modelos para o primeiro evento e para os eventos recorrentes de malária de qualquer espécie, o índice de riqueza manteve-se significantes estatisticamente dentro do seu nível hierárquico e tem forte relação com o desfecho. Logo, não somente a associação estatística entre o nível socioeconômico e a malária é consistente, mas também componentes epidemiológicos entre os dois formalizam essa íntima relação. Pessoas com menor poder aquisitivo tendem a se expor mais às picadas dos anofelinos, seja por condições ambientais ou comportamentais.

Entretanto, ao modelar o índice de riqueza juntamente com as covariáveis proximais ele perdeu força estatística, como visto na tabela 40. Contudo, isso não quer dizer, necessariamente, que a relação com o desfecho deixou de existir. Acontece que ao acrescentar os determinantes mais proximais que mediam a associação entre malária e nível socioeconômico o que se passou a analisar foi se existe alguma relação entre pobreza e malária que não fosse mediada pelos determinantes mais proximais incluídos no modelo. A pobreza em si não eleva o risco de aquisição de malária, mas sim é fator predisponente para a construção de moradias mais humildes e menos protetoras contra o anófeles, bem como para a sua localização em regiões mais distantes e, conseqüentemente, no caso, de menor valor

agregado à terra, como na fronteira da floresta, e que possuam piores condições de coexistência dos seus moradores. Populações com nível socioeconômico mais baixo também apresentaram maior risco em um estudo realizado em uma comunidade rural na Tanzânia (Somi et al., 2007) e no Vietnã Central (Thang et al., 2008). Na Nigéria, cento e setenta e seis crianças internadas em um hospital com diagnóstico de malária foram avaliadas e constatou-se que 82% das que tiveram malária grave eram de baixo nível socioeconômico e estavam associadas com maior ocorrência de malária complicada (Opreh et al., 2008).

No modelo final para o primeiro evento de malária de qualquer espécie, o risco manteve-se associado à malária para aqueles que moravam em regiões mais próximo da orla da mata (20-24 Km e 30 Km-Reserva), com menor poder aquisitivo e que possuíam habitações com telhado de madeira. No modelo ajustado, indivíduos com idade entre 6 e 10 anos, os mais pobres e aqueles que moravam em casas com material do telhado feito de madeira foram pouco afetados quando comparado com a análise simples. Contudo, a única covariável que sofreu menos impacto em seus estratos, em termos de significância e magnitude de associação, ao ser ajustada para os determinantes distais e proximais foi o local de moradia, sugerindo que a associação entre ela e o risco não é mediada pelas demais covariáveis. Isso foi melhor constatado quando não se levou em conta somente o primeiro evento de malária de qualquer espécie. Nota-se no modelo final para eventos recorrentes que o local da moradia foi pouco influenciado pelas demais covariáveis. Contudo, para o sexo masculino, ao utilizar o controle de variáveis de confusão, mostrou-se com risco mais elevado estatisticamente significativo, assim como o risco para aqueles que habitavam onde havia mais do que 5 moradores. Logo, o risco tanto para o sexo quanto para o número de moradores pode ser dependente do local da moradia, da idade, do nível socioeconômico e da pluviosidade, o que não aconteceu com o local da moradia quando sofreu o ajuste. O fato de sexo e o local de moradia nos eventos recorrentes aparecerem com forte associação com o desfecho sugere haver certo ganho de poder estatístico quando não se desprezam os eventos subsequentes ao primeiro, contudo, levam-se em conta as recaídas e as recrudescências.

A existência de risco elevado em domicílios com madeira na cobertura do telhado, que denota condições precárias da habitação, sugere que a transmissão de malária esteja ocorrendo no intradomicílio também. Análise semelhante aplica-se sobre a existência de maior risco nas residências onde há mais do que 5 moradores. Estes podem representar maior probabilidade de fornecimento de gametócitos para os anofelinos no intradomicílio. Ambas as situações apontam para o risco elevado de o indivíduo ser picado pelo mosquito dentro de seus lares. O número de moradores no domicílio também esteve diretamente

associado ao risco de malária na Tanzânia (Somi et al., 2007; Somi et al., 2008) e na Guiana Francesa, onde um estudo baseado em regressão de Cox mostrou que habitações com 7 ocupantes possuíam uma razão de risco de 1,54 (IC 95% 0,98-2,44), para 8 a 11 moradores um risco de 1,9 (IC 95% 1,29-2,81) e para mais de 11 ocupantes um risco de 2.03 vezes maior (IC 95% 1,27-3,23) (Hustache et al., 2007).

Para os dois tipos de modelos gerados para malária vívax, os resultados foram bem semelhantes aos obtidos para malária de qualquer espécie. Durante o ajuste no modelo m3.mal.1 o índice de riqueza foi o único que foi significativo ao nível de 20% e provocou alguma alteração na significância ou no risco dos demais determinantes distais do modelo, denotando ter forte relação com o desfecho. Contudo, assim como aconteceu no modelo para o primeiro evento de malária de qualquer espécie, na presença das covariáveis proximais o índice de riqueza perdeu força estatística e as habitações com cobertura de madeira surgiram com risco elevado para aquisição de malária vívax. Aqui o risco para o local da residência foi o que menos sofreu alteração ao comparar os modelos não ajustados e ajustados, e nota-se que, ao considerar os modelos com eventos recorrentes, há ganho no poder estatístico, com o sexo masculino passando a representar um risco 30% maior do que as mulheres de adquirir malária vívax. Outra importante mudança é o fato que no trecho 20-24 Km, região distante da fronteira de mata, apareceu como fator protetor, mas com a permanência dos quilômetros mais próximos da mata como tendo maior risco para múltiplos eventos de malária vívax. Residências com mais de 5 moradores também representaram risco elevado de 2 vezes maior e realizar derrubada no Iquiri deixou de ser significativo ao modelar juntamente com as demais covariáveis. Logo, o local da residência é fator de risco que menos sofreu impacto das demais covariáveis do modelo para malária vívax tanto para o primeiro evento quanto para eventos recorrentes. Residências localizadas próximas à orla da mata estiveram associadas ao maior risco de malária em uma comunidade rural Gana (Kreuels et al., 2008) e outra no México, onde o risco foi exatamente 6,23 vezes maior para os domicílios situados ao longo da periferia da floresta (Danis-Lozano et al., 2007).

Para o risco de adquirir o primeiro evento de malária falcíparum, o índice de riqueza permaneceu como a única covariável distal ao mesmo tempo significativa estatisticamente e a única capaz de provocar mudança nos efeitos das demais covariáveis do nível hierárquico em relação ao desfecho. No entanto, assim como nos modelos anteriores, ela perdeu força estatística na presença dos determinantes proximais do modelo com visto na tabela 45. Entretanto, residências com mais de 5 moradores apresentaram risco significativo 2 vezes maior do que aquelas com menos de 4 moradores. Interessante observar que indivíduos

com idade acima de 15 anos tiveram risco maior do que aqueles com menos de 6 anos. Isso evidencia que a idade não é um bom preditor da imunidade acumulada (Silva-Nunes et al., 2008), mas nesse caso pode denotar um risco atribuído ao comportamento, pois indivíduos em idade produtiva tendem a se expor com maior frequência à malária, seja por necessidades econômicas, sociais ou de lazer.

Um trabalho realizado na Indonésia, em 1993, constatou que em uma determinada região de transmissão hiperendêmica a imunidade naturalmente adquirida dependente da idade ocorre com tempo de exposição entre 1 e 2 anos (Baird et al., 1993). No Senegal a imunidade ocorreu a partir dos 10 anos de idade em áreas de alta transmissão (Smith et al., 2004) e no Quênia, em uma região também hiperendêmica, as crianças entre 1 e 4 anos já iniciam a aquisição de imunidade (Bloland et al., 1999).

Nos projetos de assentamento no Brasil, ocorre aquisição de imunidade como consequência da exposição acumulada (Alves et al., 2002; Ladeia-Andrade et al., 2007), assim como na região de Iquitos, na Amazônia do Peru (Roshanravan et al., 2003), embora todos esses estudos tenham sido desenvolvidos em regiões de transmissão hipoendêmica. Contudo, esses trabalhos foram realizados em populações ribeirinhas ou indígenas e nelas a imunidade aumenta de acordo com a idade, diferente do que ocorre nas populações de assentamentos agrícolas, pois estas últimas possuem como característica própria serem formadas por pessoas oriundas, em sua maioria, de regiões não endêmicas de malária (Silva-Nunes, 2008)

Quando os múltiplos eventos de malária falcíparum foram tomados para análise, no nível dos determinantes distais, tanto a atividade desenvolvida pelo indivíduo quanto os anos de estudo e o índice de riqueza representaram alguma relação entre o risco e o desfecho. Contudo, no modelo final (mFinal.fal.mult) todas os determinantes distais selecionados para participar do estágio seguinte perderam força estatística, de tal forma que somente residências com mais de 5 moradores e casas situadas mais próximas da fronteira agrícola mantiveram-se associadas ao desfecho. No entanto, como dito anteriormente, isso não representa que essas covariáveis deixaram de ter alguma relação com o desfecho, mas sim que não deva existir risco atribuído aos determinantes distais que não sejam mediados pelos determinantes proximais. Pensando-se sobre isso, ter mais ou menos estudo, assim como ser mais rico ou mais pobre por si só não aumenta o risco de malária, mas eleva-se a chance de morar em condições inadequadas ou de ter comportamentos de risco para aquisição da malária. No tocante à atividade desenvolvida pelo indivíduo, ela por si só pode representar um risco direto para infecção pelo plasmódio, como visto na análise simples, e tem forte

associação com malária e o conhecimento adquirido junto à população leva a admitir que exista uma relação epidemiológica entre o risco e o desfecho. Essa associação entre a atividade profissional e o risco de malária em populações rurais da Amazônia já foi detectado no Estado de Rondônia (Camargo et al., 1994; Camargo et al., 1996). Contudo, na presença das demais covariáveis, a associação entre o risco e o desfecho foi desfeita. Demonstrando que o risco representado pela atividade desenvolvida deva ser mediado pelos determinantes próximas que fizeram parte do modelo final. Talvez os indivíduos que vão realizar derrubadas no Iquiri sejam preferencialmente moradores da região próxima a esse rio e, portanto, próximo à fronteira da floresta.

Devido ao ganho de força estatística e a consequente maior robustez, recomenda-se que a modelagem dos riscos de malária deva ser baseada em eventos recorrentes e não somente no tempo até o primeiro evento, pois o objetivo principal a ser realizado pelos órgãos de combate à malária seria determinar o quão impactante foram as medidas tomada após identificação dos riscos nos vários eventos de malária em um determinado período. A análise baseada em eventos múltiplos também é indicada nos ensaios de vacinas antimaláricas (Valim et al., 2008; O'meara e Lang, 2009), onde o objetivo também é determinar os efeitos protetores sobre recorrência de malária no primeiro ano após a aplicação.

Diferente dos nossos resultados, um estudo de coorte realizado no Estado de Mato Grosso entre setembro de 1996 e abril de 1997, em um projeto de assentamento agrícola, região hipoendêmica, e utilizando análise de Cox, não encontrou nenhuma variável associada ao risco de aquisição de malária (Duarte et al., 2004). Resultado similar também foi curiosamente visto em uma área de baixa endemicidade das Filipinas, na qual, dos onze fatores socioeconômicos e demográficos avaliados somente um (frequentes visitas noturnas à floresta) esteve significativamente associado à malária (Lansang et al., 1997). Contudo, em nenhum desses estudos houve controle estatístico adequado das variáveis participantes das análises.

Como visto nos modelos de malária de qualquer espécie e para malária vívax, a localização da residência foi a covariável que menos sofreu influência ao comparar os modelos não ajustados e ajustados, sugerindo também que para malária falciparum o comportamento da transmissão preferencial em fronteira agrícola esteja presente no Granada.

Para De Castro et al. (2006), nos estágios iniciais do processo de colonização dos assentamentos agrícolas há o predomínio dos riscos ambientais, em consequência da transformação do ecossistema, promovendo criadouros adequados das larvas do *Anopheles*

darlingi. Ao avançar o desmatamento e o avanço da agricultura, da pecuária e do desenvolvimento urbano a transmissão é reduzida e passam a ser mediadas pelo comportamento humano (De Castro et al., 2006). No nosso estudo, tanto o estudo descritivo, que apontou elevadas densidades de incidência nas regiões próximas à fronteira da floresta, quanto à análise espacial, ao identificar *clusters* espaciais significantes estatisticamente na mesma área, assim como a análise de sobrevivência baseada em modelos de fragilidade, identificando maior risco justamente no final do Ramal do Granada, área de ocupação mais recente, sugerem que nessa região haja uma íntima relação entre a malária e a proximidade com a mata. Contudo, há de se ponderar que exatamente no limite da floresta com os lotes de terra dos assentados no final do ramal existe a presença do rio Iquiri, o qual pode representar importante fator de confusão ao proporcionar a existência de criadores dos anofelinos.

5 Conclusões

1. A coorte é composta basicamente por indivíduos jovens, de poucos recursos financeiros, baixa escolaridade, realizam atividades preferencialmente relacionadas à terra e moram em casas de baixa qualidade habitacional;
2. Pacientes assintomáticos encontrados em considerável frequência nos cortes transversais podem representar importante fator de manutenção da transmissão de malária na localidade;
3. A malária na coorte estudada possui característica espacial bem definida na região. Ocupa área próxima à fronteira de floresta mais preservada e, não ocasionalmente, atinge populações mais jovens, de menor poder aquisitivo e, potencialmente, com maior força produtiva;
4. A metodologia utilizada para a avaliação espacial pode ser uma poderosa arma para os serviços de atenção básica à saúde destinada ao controle desta endemia. A localização dos *clusters* de malária pode orientar ações de controle da malária no ramal do Granada ou em qualquer outra região malarígena, com grande possibilidade de otimização das intervenções e redução dos custos operacionais;
5. Identificar os fatores de risco que estão relacionados à aquisição de malária, tanto para *vívax* quanto para *falciparum*, é apreender os motivos pelos quais uma pessoa em uma determinada região possui mais malária do que outra em uma região diferente ou até mesmo dentro da mesma localidade;
6. Os riscos diretamente relacionados ao desfecho (malária) vão desde aqueles referentes aos fatores pessoais, como sexo, aos socioeconômicos, como índice de riqueza, e passando pelos comportamentais, como realizar atividade próximo ao rio Iquiri, e pelos ambientais, como a localização do domicílio;
7. A localização do domicílio foi a única covariável que não sofreu grandes alterações nos modelos não ajustados e nos ajustados. Esse resultado remete a uma conclusão forte do trabalho, que suscita discussões sobre o papel dos novos assentamentos (ou da expansão contínua das fronteiras dos assentamentos mais antigos) na manutenção da malária na Amazônia.

Este estudo tem três grandes limitações. Primeiro, os episódios de malária podem ter sido perdidos pela estratégia de pesquisa adotada, porque os pacientes poderiam ter sido potencialmente vistos em outras unidades de saúde fora do Granada e das áreas vizinhas. Em segundo lugar, as estimativas de incidência de malária foram derivadas de diagnóstico microscópico de rotina, que podem ser relativamente imprecisos. O desempenho dos microscopistas locais não foi avaliado diretamente pela equipe de pesquisa. As diferentes proporções de resultados positivos obtidos pela microscopia e PCR em estudos transversais sugerem que microscopia pode ter um desempenho relativamente fraco em áreas com transmissão de malária relativamente pequena, especialmente aplicado em indivíduos portadores assintomáticos com baixas parasitemias (Alves et al., 2002; Scopel et al., 2004; Katsuragawa et al., 2009; Ladeia-Andrade et al., 2009). Em terceiro lugar, foi incapaz de distinguir novas infecções de recrudescências ou de recaídas na coorte, sendo que esses dois padrões poderiam estar bem presentes no Granada durante o período de estudo, como sugestiona a figura 17. Apesar dessas limitações, foi possível revelar as características principais da malária em assentamentos agrícolas típicos da Amazônia rural, que proporcionam alvos potenciais para os esforços de controle dessa doença.

A identificação dos fatores de risco locais para a aquisição de malária, que potencialmente podem ser extensíveis a outras áreas malarígenas com características semelhantes, direciona medidas de controle focais, principalmente no que se refere à malária de fronteira. Uma vez identificados os *clusters*, os esforços para o combate à doença deveriam ser redirecionados, com a intensificação das buscas ativas e até mesmo com buscas ativas agressivas periodicamente e o diagnóstico e o tratamento imediatos dos casos, o que seria bastante favorecido pelo deslocamento dos postos de microscopia da FUNASA para mais próximo dos *clusters*.

Principalmente quando se sabem quais os alvos a serem atingidos, urge-se uma maior participação dos órgãos governamentais envolvidos no controle da malária, os quais deveriam realizar a distribuição de mosquiteiros impregnados com inseticidas, com a consequente orientação à população sobre a necessidade de usá-los. Essa medida seria necessariamente acompanhada da aplicação sistemática intradomiciliar de inseticidas mais eficientes para o controle do vetor, da identificação e eliminação dos criadouros dos mosquitos transmissores, através de estudos entomológicos periódicos, da contínua capacitação dos agentes de endemia envolvidos na identificação e tratamento dos casos, da reeducação da população quanto à mudança de comportamentos que tendem a favorecer a aquisição da malária e, acima de tudo, é papel inerente ao Estado desenvolver novas políticas

de ocupação da terra que não favoreçam o desmatamento, que levam ao desequilíbrio ecológico e colocam o homem em maior contato com a malária transmitida principalmente na fronteira da floresta.

REFERÊNCIAS*

- Adiamah JH, Koram KA, Thomson MC, Lindsay SW, Todd J, Greenwood BM. Entomological risk factors for severe malaria in a peri-urban area of The Gambia. *Ann Trop Med Parasitol*. 1993 Oct;87(5):491-500.
- Aguas R, White LJ, Snow RW, Gomes MG. Prospects for malaria eradication in sub-Saharan Africa. *PLoS One*. 2008;3(3):e1767.
- Alecrim MDG, Alecrim W, Macedo V. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine (R2) and mefloquine (R3) in Brazilian Amazon region. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999 Jan-Feb;32(1):67-8.
- Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Silva LH, Camargo EP. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am J Trop Med Hyg*. 2002 Jun;66(6):641-8.
- Alves FP, Gil LH, Marrelli MT, Ribolla PE, Camargo EP, Da Silva LH. Asymptomatic carriers of *Plasmodium* spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon. *J Med Entomol*. 2005 Sep;42(5):777-9.
- Baird JK, Basri H, Subianto B, Fryauff DJ, McElroy PD, Leksana B, et al. Treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* with chloroquine and primaquine or halofantrine. *J Infect Dis*. 1995 Jun;171(6):1678-82.
- Baird JK, Purnomo, Basri H, Bangs MJ, Andersen EM, Jones TR, et al. Age-specific prevalence of *Plasmodium falciparum* among six populations with limited histories of exposure to endemic malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 1993 Dec;49(6):707-19.
- Barat LM. Four malaria success stories: how malaria burden was successfully reduced in Brazil, Eritrea, India, and Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*. 2006 Jan;74(1):12-6.
- Barbosa LR. Projeto de Assentamento Dirigido Pedro Peixoto: Uma análise econômica dos custos de produção da atividade pecuária. Rio Branco: Universidade Federal do Acre; 2003.
- Bastos MS, Silva-Nunes M, Malafronte RS, Hoffmann EH, Wunderlich G, Moraes SL, et al. Antigenic polymorphism and naturally acquired antibodies to *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 in rural Amazonians. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Oct;14(10):1249-59.

*De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Bautista CT, Chan AS, Ryan JR, Calampa C, Roper MH, Hightower AW, et al. Epidemiology and spatial analysis of malaria in the Northern Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 Dec;75(6):1216-22.

Beier JC. Malaria control in the highlands of Burundi: an important success story. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Jul;79(1):1-2.

Bloland PB, Ruebush TK, McCormick JB, Ayisi J, Boriga DA, Oloo AJ, et al. Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission I. Description of study site, general methodology, and study population. *Am J Trop Med Hyg.* 1999 Apr;60(4):635-40.

Bogh C, Lindsay SW, Clarke SE, Dean A, Jawara M, Pinder M, et al. High spatial resolution mapping of malaria transmission risk in the Gambia, west Africa, using LANDSAT TM satellite imagery. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 May;76(5):875-81.

Branch O, Casapia WM, Gamboa DV, Hernandez JN, Alava FF, Roncal N, et al. Clustered local transmission and asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria infections in a recently emerged, hypoendemic Peruvian Amazon community. *Malar J.* 2005;4:27.

Brandão Jr A, Souza Jr C. Desmatamento nos assentamentos de reforma agrária na Amazônia. *Imazon O Estado da Amazônia.* 2006;7.

Branquinho MS, Lagos CB, Rocha RM, Natal D, Barata JM, Cochrane AH, et al. Anophelines in the state of Acre, Brazil, infected with *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, the variant *P. vivax* VK247 and *P. malariae*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1993 Jul-Aug;87(4):391-4.

Branquinho MS, Araujo MS, Natal D, Marrelli MT, Rocha RM, Taveira FA, et al. *Anopheles oswaldoi* a potential malaria vector in Acre, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996 May-Jun;90(3):233.

Braz RM, Pereira MPL. Situação da malária na Região Amazônica, Brasil, 2003. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37(Supl. I):53.

Brito I. Erradicating malaria: high hopes or a tangible goal? *Health Policy at Harvard.* 2001;2:61-6.

Brooker S, Clarke S, Njagi JK, Polack S, Mugo B, Estambale B, et al. Spatial clustering of malaria and associated risk factors during an epidemic in a highland area of western Kenya. *Trop Med Int Health.* 2004 Jul;9(7):757-66.

Bruce-Chwatt LJ. History of malaria from prehistory to eradication. In: Wernsdorfer WH, McGregor I, editors. *Malaria: Principles and Practice of Malariology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988. p. 1-59.

Camargo LM, Ferreira MU, Krieger H, De Camargo EP, Da Silva LP. Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. *Am J Trop Med Hyg*. 1994 Jul;51(1):16-25.

Camargo LM, dal Colletto GM, Ferreira MU, Gurgel Sde M, Escobar AL, Marques A, et al. Hypoendemic malaria in Rondonia (Brazil, western Amazon region): seasonal variation and risk groups in an urban locality. *Am J Trop Med Hyg*. 1996 Jul;55(1):32-8.

Carvalho MS, Andreozzi VL, Codeço CT, Barbosa MTS, Shimakura SE. *Análise de Sobrevida - Teoria e Aplicações em Saúde*. Rio de Janeiro: Fiocruz Editora; 2005.

Carter R, Mendis KN, Roberts D. Spatial targeting of interventions against malaria. *Bull World Health Organ*. 2000;78(12):1401-11.

Castillo CM, Osorio LE, Palma GI. Assessment of therapeutic response of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* to chloroquine in a Malaria transmission free area in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002 Jun;97(4):559-62.

Ceesay SJ, Casals-Pascual C, Erskine J, Anya SE, Duah NO, Fulford AJ, et al. Changes in malaria indices between 1999 and 2007 in The Gambia: a retrospective analysis. *Lancet*. 2008 Nov 1;372(9649):1545-54.

Celli A. La malaria nella storia medievale di Roma. In: *Storia della malaria nell'agro romano*. Roma: Lincei editor; 1925. p. 5-44.

Chanon KE, Mendez-Galvan JF, Galindo-Jaramillo JM, Olguin-Bernal H, Borja-Aburto VH. Cooperative actions to achieve malaria control without the use of DDT. *Int J Hyg Environ Health*. 2003 Aug;206(4-5):387-94.

Chareonviriyaphap T, Bangs MJ, Ratanatham S. Status of malaria in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2000 Jun;31(2):225-37.

Charlwood JD, Alecrim WA. Capture-recapture studies with the South American malaria vector *Anopheles darlingi*, Root. *Ann Trop Med Parasitol*. 1989 Dec;83(6):569-76.

Clark TD, Greenhouse B, Njama-Meya D, Nzarubara B, Maiteki-Sebuguzi C, Staedke SG, et al. Factors determining the heterogeneity of malaria incidence in children in Kampala, Uganda. *J Infect Dis*. 2008 Aug 1;198(3):393-400.

Clarke SE, Bogh C, Brown RC, Walraven GE, Thomas CJ, Lindsay SW. Risk of malaria attacks in Gambian children is greater away from malaria vector breeding sites. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002 Sep-Oct;96(5):499-506.

Colosimo EA, Giolo SR. *Análise de Sobrevivência Aplicada*. São Paulo: Blücher; 2006.

Conteh L, Sharp BL, Streat E, Barreto A, Konar S. The cost and cost-effectiveness of malaria vector control by residual insecticide house-spraying in southern Mozambique: a rural and urban analysis. *Trop Med Int Health*. 2004 Jan;9(1):125-32.

Coura JR, Suarez-Mutis M, Ladeia-Andrade S. A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic *Plasmodium* infection--a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 May;101(3):229-37.

Danis-Lozano R, Rodriguez MH, Betanzos-Reyes AF, Hernandez-Avila JE, Gonzalez-Ceron L, Mendez-Galvan JF, et al. Individual risk factors for *Plasmodium vivax* infection in the residual malaria transmission focus of Oaxaca, Mexico. *Salud Publica Mex*. 2007 May-Jun;49(3):199-209.

Dean W. *A luta pela borracha no Brasil*. São Paulo: Nobel; 1989.

De Castro MC, Monte-Mor RL, Sawyer DO, Singer BH. Malaria risk on the Amazon frontier. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Feb 14;103(7):2452-7.

De Castro MC, Sawyer DO, Singer BH. Spatial patterns of malaria in the Amazon: implications for surveillance and targeted interventions. *Health Place*. 2007 Jun;13(2):368-80.

Duarte EC, Gyorkos TW, Pang L, Abrahamowicz M. Epidemiology of malaria in a hypoendemic Brazilian Amazon migrant population: a cohort study. *Am J Trop Med Hyg*. 2004 Mar;70(3):229-37.

Eriksson C. Learning and knowledge-production for public health: a review of approaches to evidence-based public health. *Scand J Public Health*. 2000 Dec;28(4):298-308.

Erhart A, Ngo DT, Phan VK, Ta TT, Van Overmeir C, Speybroeck N, et al. Epidemiology of forest malaria in central Vietnam: a large scale cross-sectional survey. *Malar J*. 2005;4:58.

Faustino VMFA. Mosquitos, arros e sezões. A erradicação da malária no Vale do Sado [dissertação]. Lisboa: Universidade de Lisboa; 2006.

Feachem R, Sabot O. A new global malaria eradication strategy. *Lancet*. 2008 May 10;371(9624):1633-5.

Ferreira AMM, Salati E. Forças de transformação do ecossistema amazônico. *Estudos Avançados*. 2005;19:25-44.

Filmer D, Pritchett LH. Estimating wealth effects without expenditure data--or tears: an application to educational enrollments in states of India. *Demography*. 2001 Feb;38(1):115-32.

França TCC, Santos MG, Figueroa-Villar JD. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. *Quim Nova*. 2008;31(5):1271-78.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Diagnóstico e tratamento da malária. Brasília: Ministério da Saúde; 1995.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Plano de intensificação das ações de controle da malária na Amazônia Legal. Brasília: Ministério da Saúde. 2000.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Manual de terapêutica da malária. Brasília: Ministério da Saúde; 2001.

Gamage-Mendis AC, Carter R, Mendis C, De Zoysa AP, Herath PR, Mendis KN. Clustering of malaria infections within an endemic population: risk of malaria associated with the type of housing construction. *Am J Trop Med Hyg*. 1991 Jul;45(1):77-85.

Gaudart J, Poudiougou B, Ranque S, Doumbo O. Oblique decision trees for spatial pattern detection: optimal algorithm and application to malaria risk. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5:22.

Gaudart J, Poudiougou B, Ranque S, Doumbo O. Oblique decision trees for spatial pattern detection: optimal algorithm and application to malaria risk. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5:22.

Gaudart J, Poudiougou B, Dicko A, Ranque S, Toure O, Sagara I, et al. Space-time clustering of childhood malaria at the household level: a dynamic cohort in a Mali village. *BMC Public Health*. 2006;6:286.

Ghebreyesus TA, Haile M, Witten KH, Getachew A, Yohannes AM, Yohannes M, et al. Incidence of malaria among children living near dams in northern Ethiopia: community based incidence survey. *BMJ*. 1999 Sep 11;319(7211):663-6.

Gonçalves CWP. Amazônia, Amazônias. São Paulo: Contexto; 2001.

Greenwood BM, Fidock DA, Kyle DE, Kappe SH, Alonso PL, Collins FH, et al. Malaria: progress, perils, and prospects for eradication. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1266-76.

Guerra CA, Snow RW, Hay SI. Mapping the global extent of malaria in 2005. *Trends Parasitol*. 2006 Aug;22(8):353-8.

Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis*. 2004 Jun;4(6):327-36.

Hawass Z, Gad YZ, Ismail S, Khairat R, Fathalla D, Hasan N, et al. Ancestry and pathology in King Tutankhamun's family. *JAMA*. 2010 Feb;303(7):638-47.

Hustache S, Nacher M, Djossou F, Carme B. Malaria risk factors in Amerindian children in French Guiana. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Apr;76(4):619-25.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Divisão de Pesquisa do Estado do Acre (DIPEQ/AC). Anuário estatístico do Acre 1997. 1998.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Contagem da População 2007. 2008. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Contagem_da_Populacao_2007 [01 nov 2008].

Karunaweera ND, Carter R, Grau GE, Mendis KN. Demonstration of anti-disease immunity to *Plasmodium vivax* malaria in Sri Lanka using a quantitative method to assess clinical disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1998 Feb;58(2):204-10.

Katsuragawa TH, Cunha RP, de Souza DC, Gil LH, Cruz RB, Silva Ade A, et al. [Malaria and hematological aspects among residents to be impacted by reservoirs for the Santo Antonio and Jirau Hydroelectric Power Stations, Rondonia State, Brazil]. *Cad Saude Publica*. 2009 Jul;25(7):1486-92.

Kimura M, Kaneko O, Liu Q, Zhou M, Kawamoto F, Wataya Y, et al. Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. *Parasitol Int*. 1997;46(2):91-5.

Kiple KF. The Cambridge World History of Human Disease. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.

Koram KA, Bennett S, Adiamah JH, Greenwood BM. Socio-economic risk factors for malaria in a peri-urban area of The Gambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995 Mar-Apr;89(2):146-50.

Kremsner PG, Zotter GM, Feldmeier H, Graninger W, Rocha RM, Wiedermann G. A comparative trial of three regimens for treating uncomplicated falciparum malaria in Acre, Brazil. *J Infect Dis.* 1988 Dec;158(6):1368-71.

Kremsner PG, Zotter GM, Feldmeier H, Bienzle U, Jansen-Rosseck R, Graninger W, et al. Differences in drug response of *Plasmodium falciparum* within an area of the Amazon region. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1989 Mar-Apr;83(2):158-61.

Kreuels B, Kobbe R, Adjei S, Kreuzberg C, von Reden C, Bater K, et al. Spatial variation of malaria incidence in young children from a geographically homogeneous area with high endemicity. *J Infect Dis.* 2008 Jan 1;197(1):85-93.

Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, Scopel KK, Braga EM, Bastos Mda S, Wunderlich G, et al. Naturally acquired antibodies to merozoite surface protein (MSP)-1(19) and cumulative exposure to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in remote populations of the Amazon Basin of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007 Dec;102(8):943-51.

Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, de Carvalho ME, Curado I, Coura JR. Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2009 Mar;80(3):452-9.

Lansang MA, Belizario VY, Bustos MD, Saul A, Aguirre A. Risk factors for infection with malaria in a low endemic community in Bataan, the Philippines. *Acta Trop.* 1997 Mar;63(4):257-65.

Lisboa FT. A colonização em Rondônia e o meio ambiente. Partes [serial on the Internet]. 2009. Disponível em: <http://www.partes.com.br/socioambiental/colonizacaoemrondonia.asp> [2010 out 6].

Loiola CC, da Silva CJ, Tauil PL. [Malaria control in Brazil: 1965 to 2001]. *Rev Panam Salud Publica.* 2002 Apr;11(4):235-44.

Luxemburger C, Thwai KL, White NJ, Webster HK, Kyle DE, Maelankirri L, et al. The epidemiology of malaria in a Karen population on the western border of Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996 Mar-Apr;90(2):105-11.

Macauley C. Aggressive active case detection: a malaria control strategy based on the Brazilian model. *Soc Sci Med*. 2005 Feb;60(3):563-73.

Njama-Meya D, Kamya MR, Dorsey G. Asymptomatic parasitaemia as a risk factor for symptomatic malaria in a cohort of Ugandan children. *Trop Med Int Health*. 2004 Aug;9(8):862-8.

Oesterholt MJ, Bousema JT, Mwerinde OK, Harris C, Lushino P, Masokoto A, et al. Spatial and temporal variation in malaria transmission in a low endemicity area in northern Tanzania. *Malar J*. 2006;5:98.

Okell LC, Drakeley CJ, Ghani AC, Bousema T, Sutherland CJ. Reduction of transmission from malaria patients by artemisinin combination therapies: a pooled analysis of six randomized trials. *Malar J*. 2008;7:125.

Olson SH, Gangnon R, Silveira GA, Patz JA. Deforestation and malaria in Mancio Lima County, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2010 Jul;16(7):1108-15.

O'Meara WP, Bejon P, Mwangi TW, Okiro EA, Peshu N, Snow RW, et al. Effect of a fall in malaria transmission on morbidity and mortality in Kilifi, Kenya. *Lancet*. 2008 Nov 1;372(9649):1555-62.

O'Meara WP, Lang T. Malaria vaccine trial endpoints - bridging the gaps between trial design, public health and the next generation of vaccines. *Parasite Immunol*. 2009 Sep;31(9):574-81.

Opreh OP, Abioye-Kuteyi EA, Aboderin AO, Giebel H, Bello IS, Senbanjo IO. The pattern of malaria infection in under-fives in Ile-Ife, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008 Sep;102(9):868-74.

Pampana E. Erradicación de lá malaria. Wiley SA: Limusa; 1966.

Phillips EJ, Keystone JS, Kain KC. Failure of combined chloroquine and high-dose primaquine therapy for *Plasmodium vivax* malaria acquired in Guyana, South America. *Clin Infect Dis*. 1996 Nov;23(5):1171-3.

Phimpraphi W, Paul RE, Yimsamran S, Puangsa-art S, Thanyavanich N, Maneeboonyang W, et al. Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in a Karen population in Thailand. *Malar J*. 2008;7:99.

Rieckmann KH, Davis DR, Hutton DC. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine? *Lancet*. 1989 Nov 18;2(8673):1183-4.

Rich SM, Leendertz FH, Xu G, LeBreton M, Djoko CF, Aminake MN, et al. The origin of malignant malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Sep 1;106(35):14902-7.

Roberts DR, Manguin S, Mouchet J. DDT house spraying and re-emerging malaria. *Lancet*. 2000 Jul 22;356(9226):330-2.

Rodrigues Ade F, Escobar AL, Souza-Santos R. [Spatial analysis and determination of malaria control areas in the State of Rondonia]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Jan-Feb;41(1):55-64.

Roll Back Malaria (RBM). Global Malaria Action Plan. 2008. Disponível em: <http://www.rbm.who.int/> [2010 out 12].

Roshanravan B, Kari E, Gilman RH, Cabrera L, Lee E, Metcalfe J, et al. Endemic malaria in the Peruvian Amazon region of Iquitos. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 Jul;69(1):45-52.

Ruebush TK, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, Pillai DR, et al. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 Nov;69(5):548-52.

Sacramento DMO, Costa BPD. A questão agrária e migrações na Amazônia brasileira: o caso do assentamento canoas no município de Presidente Figueiredo/AM. Manaus. 2008. Disponível em: <http://www.uff.br/vsinga/trabalhos/Trabalhos%20Completo/Diane%20Maria%20Oliveira%20Sacramento.pdf> [2010 out 10].

Sallares R, Bouwman A, Anderung C. The spread of malaria to Southern Europe in antiquity: new approaches to old problems. *Med Hist*. 2004 Jul;48(3):311-28.

Scopel KK, Fontes CJ, Nunes AC, Horta MF, Braga EM. Low sensitivity of nested PCR using *Plasmodium* DNA extracted from stained thick blood smears: an epidemiological retrospective study among subjects with low parasitaemia in an endemic area of the Brazilian Amazon region. *Malar J*. 2004 Mar 31;3:8.

Secretaria de Saúde do Acre (SESACRE) - Departamento de Ações Básicas de Saúde (DABS). Boletim Epidemiológico Malária. Rio Branco. 2007.

Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). 2010. Disponível em: <http://dw.saude.gov.br/malaria> [2010 out 07].

Shabani J, Lutambi AM, Mwakalinga V, Masanja H. Clustering of under-five mortality in Rufiji Health and Demographic Surveillance System in rural Tanzania. *Glob Health Action*. 2010; (Suppl 1):42:49.

Silva-Nunes M, Ferreira MU. Clinical spectrum of uncomplicated malaria in semi-immune Amazonians: beyond the " symptomatic " vs " asymptomatic " dichotomy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Jun;102(3):341-7.

Silva-Nunes M. Fatores de risco, distribuição espacial e perspectiva de controle da malária: estudo longitudinal em uma comunidade rural da Amazônica (Granada, Acre) [tese (Doutorado em Parasitologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2008.

Silva-Nunes M, Codeco CT, Malafronte RS, da Silva NS, Juncansen C, Muniz PT, et al. Malaria on the Amazonian frontier: transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control. *Am J Trop Med Hyg*. 2008 Oct;79(4):624-35.

Silva R. Malária e desenvolvimento: a saúde pública no governo JK (1956-1961) [tese (Doutorado em História das Ciências e da Saúde)]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2008.

Sintasath DM, Ghebremeskel T, Lynch M, Kleinau E, Bretas G, Shililu J, et al. Malaria prevalence and associated risk factors in Eritrea. *Am J Trop Med Hyg*. 2005 Jun;72(6):682-7.

Smith T, Killeen G, Lengeler C, Tanner M. Relationships between the outcome of *Plasmodium falciparum* infection and the intensity of transmission in Africa. *Am J Trop Med Hyg*. 2004 Aug;71(2 Suppl):80-6.

Snow RW, Gouws E, Omumbo J, Rapuoda B, Craig MH, Tanser FC, et al. Models to predict the intensity of *Plasmodium falciparum* transmission: applications to the burden of disease in Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998 Nov-Dec;92(6):601-6.

Somi MF, Butler JR, Vahid F, Njau J, Kachur SP, Abdulla S. Is there evidence for dual causation between malaria and socioeconomic status? Findings from rural Tanzania. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Dec;77(6):1020-7.

Somi MF, Butler JR, Vahid F, Njau JD, Kachur SP, Abdulla S. Use of proxy measures in estimating socioeconomic inequalities in malaria prevalence. *Trop Med Int Health*. 2008 Mar;13(3):354-64.

Soto J, Toledo J, Gutierrez P, Luzz M, Llinas N, Cedeno N, et al. *Plasmodium vivax* clinically resistant to chloroquine in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2001 Aug;65(2):90-3.

Thang ND, Erhart A, Speybroeck N, Hung le X, Thuan le K, Hung CT, et al. Malaria in central Vietnam: analysis of risk factors by multivariate analysis and classification tree models. *Malar J*. 2008;7:28.

The Pan American Health Organization (PAHO)/ World Health Organization (WHO). Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones en las Américas (OPS/HCP/HCT/113/98). In: PAHO/WHO, editor. Washington, DC. 1998.

Thomas CJ, Lindsay SW. Local-scale variation in malaria infection amongst rural Gambian children estimated by satellite remote sensing. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000 Mar-Apr;94(2):159-63.

Thompson R, Begtrup K, Cuamba N, Dgedge M, Mendis C, Gamage-Mendis A, et al. The Matola malaria project: a temporal and spatial study of malaria transmission and disease in a suburban area of Maputo, Mozambique. *Am J Trop Med Hyg.* 1997 Nov;57(5):550-9.

Trape JF. Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1985;79(2):181-4.

Trape JF, Lefebvre-Zante E, Legros F, Ndiaye G, Bouganali H, Druilhe P, et al. Vector density gradients and the epidemiology of urban malaria in Dakar, Senegal. *Am J Trop Med Hyg.* 1992 Aug;47(2):181-9.

Valim C, Mezzetti M, Maguire J, Urdaneta M, Wypij D. Estimation of vaccine efficacy in a repeated measures study under heterogeneity of exposure or susceptibility to infection. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2008 Jul 13;366(1874):2347-60.

van der Hoek W, Konradsen F, Dijkstra DS, Amerasinghe PH, Amerasinghe FP. Risk factors for malaria: a microepidemiological study in a village in Sri Lanka. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1998 May-Jun;92(3):265-9.

Victora CG, Huttly SR, Fuchs SC, Olinto MT. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. *Int J Epidemiol.* 1997 Feb;26(1):224-7.

Vittor AY, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields T, Lozano WS, et al. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of *Falciparum* malaria in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 Jan;74(1):3-11.

Wikipédia. As Entradas e as Bandeiras. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Entradas_e_bandeiras. 2010. [2010 out 10].

Win TT, Lin K, Mizuno S, Zhou M, Liu Q, Ferreira MU, et al. Wide distribution of *Plasmodium ovale* in Myanmar. *Trop Med Int Health.* 2002 Mar;7(3):231-9.

World Health Organization (WHO). Ninth world health assembly. Int Organ. 1956;10:642-44.

World Health Organization (WHO). A global strategy for malaria control. Geneva. 1993.

World Health Organization (WHO). Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs. For uncomplicated falciparum malaria in areas of intense transmission. . Geneva. 1996.

World Health Organization (WHO). Expert Committee on Malaria: Twentieth Report, WHO Technical Report Series. n. 892. 2000.

World Health Organization (WHO). Monitoring Antimalarial Drug Resistance. WHO/CDS/CSR/EPH/2002.17. Geneva. 2002.

World Health Organization (WHO). World Malaria Report. Geneva. 2009.

Zhou G, Munga S, Minakawa N, Githeko AK, Yan G. Spatial relationship between adult malaria vector abundance and environmental factors in western Kenya highlands. Am J Trop Med Hyg. 2007 Jul;77(1):29-35.

ANEXO A - Publicações no período diretamente relacionadas à tese

O artigo “Epidemiology and control of frontier malaria in Brazil: lessons from community-based studies in rural Amazonia” descreve a epidemiologia da malária no Ramal do Granada entre os anos de 2001 e 2006 em uma coorte de 531 indivíduos. Enfoca os aspectos epidemiológicos da malária de fronteira na região através da identificação de “clusters” estatisticamente significantes nos limites do assentamento agrícola com a floresta.

Já o artigo “Malaria on the Amazonian frontier: transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control” se refere a um estudo realizado na mesma área, porém em um intervalo de tempo menor de seguimento, entre março de 2004 e maio de 2005, e com 509 indivíduos participando da coorte. Nesse trabalho, os fatores de risco para aquisição de malária foram apresentados sob a forma de *odds ratio*, utilizando variáveis pessoais, sociais, comportamentais e ambientais.

Embora o tempo de seguimento e até mesmo alguns resultados da epidemiologia local da malária do segundo artigo estejam contidos no primeiro, todos os dados se somam. De tal forma que a informação obtida no segundo artigo foi essencial para realizar um melhor desenho desta tese, principalmente no que concerne à tomada de decisão em fazer uso da análise de sobrevivência para avaliação dos fatores de risco.

Contents lists available at ScienceDirect

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/trstmh>

Epidemiology and control of frontier malaria in Brazil: lessons from community-based studies in rural Amazonia

Natal S. da Silva^a, M. da Silva-Nunes^{a,b}, Rosely S. Malafronte^{c,d}, Maria J. Menezes^a,
Rosane R. D'Arcadia^a, Natália T. Komatsu^a, Kézia K.G. Scopel^{a,e}, Érika M. Braga^e,
Carlos E. Cavasini^f, José A. Cordeiro^g, Marcelo U. Ferreira^{a,*}

^a Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 1374, Cidade Universitária, 05508-900 São Paulo, SP, Brazil

^b Centro de Ciências da Saúde e do Desporto, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, Brazil

^c Laboratório de Protozoologia, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^d Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^e Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

^f Departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brazil

^g Departamento de Epidemiologia e Saúde Coletiva, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 May 2009

Received in revised form

21 December 2009

Accepted 22 December 2009

Available online xxx

Keywords:

Plasmodium vivax

Plasmodium falciparum

Epidemiology

Cohort study

Spatial clustering

Amazonia

ABSTRACT

We describe the epidemiology of malaria in a frontier agricultural settlement in Brazilian Amazonia. We analysed the incidence of slide-confirmed symptomatic infections diagnosed between 2001 and 2006 in a cohort of 531 individuals (2281.53 person-years of follow-up) and parasite prevalence data derived from four cross-sectional surveys. Overall, the incidence rates of *Plasmodium vivax* and *P. falciparum* were 20.6/100 and 6.8/100 person-years at risk, respectively, with a marked decline in the incidence of both species (81.4 and 56.8%, respectively) observed between 2001 and 2006. PCR revealed 5.4-fold more infections than conventional microscopy in population-wide cross-sectional surveys carried out between 2004 and 2006 (average prevalence, 11.3 vs. 2.0%). Only 27.2% of PCR-positive (but 73.3% of slide-positive) individuals had symptoms when enrolled, indicating that asymptomatic carriage of low-grade parasitaemias is a common phenomenon in frontier settlements. A circular cluster comprising 22.3% of the households, all situated in the area of most recent occupation, comprised 69.1% of all malaria infections diagnosed during the follow-up, with malaria incidence decreasing exponentially with distance from the cluster centre. By targeting one-quarter of the households, with selective indoor spraying or other house-protection measures, malaria incidence could be reduced by more than two-thirds in this community.

© 2010 Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Despite five decades of intensive control efforts, malaria remains a major public health concern in Brazil.¹ The

annual incidence of malaria experienced a 10-fold increase in this country between 1970 and 1985, associated with the massive migration of non-immune individuals involved in farming, timber extraction and open-cast gold mining in the fringes of the Amazonian rainforest.² In 2007, 458 041 slide-confirmed malaria cases were reported countrywide, 99.9% of which were acquired in the Amazon Basin. These figures represent 57.4% of all clinical malaria

* Corresponding author. Tel.: +55 11 30917746 fax: +55 11 30917417.
E-mail address: muferei@usp.br (M.U. Ferreira).

Figure 1. Location of 122 dwellings (comprising 123 households) in Granada, northwestern Brazil. Circles representing each dwelling are either filled with black ($n = 24$), dark grey ($n = 3$) or light grey ($n = 3$) shading, partially filled ($n = 1$) or open ($n = 91$), to indicate whether or not the dwellings were included in high-incidence clusters. Black or partially filled circles represent the cluster of *Plasmodium falciparum* malaria; *Plasmodium vivax* malaria episodes were clustered into dwellings represented as black, partially filled, dark grey or light grey circles. Black or light grey circles represent the cluster of malaria of any type. Black triangles indicate the three malaria diagnosis outposts in the area.

cases recorded in the Americas and the Caribbean in 2007.³

Frontier agricultural settlements have played a major role in maintaining malaria transmission in Brazil over the past decades, not only by inducing massive environmental changes that favour human–vector contact but also by clustering non-immune migrants close to vector habitats.⁴ We have investigated the transmission dynamics of malaria, between 2004 and 2005, in the Pedro Peixoto Project, one of the largest agricultural settlements of Amazonia. We showed that the continuous arrival of new settlers to the fringes of the original settlement, opened in the 1980s, perpetuates the cycle of environmental change that enhances malaria transmission.⁵ Here we analyse malaria morbidity data collected in this community between 2001 and 2006 to describe temporal and spatial patterns of malaria transmission. We discuss the prospects for malaria control in frontier settlements across the Amazon Basin.

2. Materials and methods

2.1. Study area

Granada, in the eastern corner of the state of Acre, northwestern Brazil (Supplementary Figure 1), became part of the Pedro Peixoto Agricultural Settlement Project in 1982. We focus on two adjacent localities in the Granada area: (1) Ramal do Granada, which includes households along the last 16 km of Linha 14, an unpaved road originating from the paved BR-364 highway, and a few dwellings along nearby secondary roads; and (2) Reserva da Linha 14, an area of more recent occupation, which includes all households along a 2.5 km secondary road that runs parallel to the Iquiri River (Figure 1). We located all dwellings using a global positioning system (GPS) receiver, with a positional accuracy within 15 m. The settlement area, mainly inhabited by migrants from Southern and South Brazil, has three government-run malaria diagnosis outposts (represented by black triangles in Figure 1) that provide free malaria

diagnosis and treatment. We obtained monthly rainfall data between 2001 and 2006 from the meteorological station in Rio Branco (120 km west of the study site).

2.2. Cohort study

We initiated a population-based prospective cohort study in March 2004 to identify socioeconomic, immunological, genetic and environmental risk factors associated with malaria morbidity in Granada.⁵ We analysed malaria morbidity data both prospectively (between March 2004 and October 2006, after the baseline survey) and retrospectively (between January 2001 and February 2004, before the baseline survey).

The outcome analysed in the cohort study was clinical malaria (malaria illness), defined as an episode of parasitaemia confirmed by thick-smear microscopy, irrespective of parasite density, diagnosed in a symptomatic individual through active case detection (ACD) or passive case detection (PCD). We examined all records of slide-confirmed malaria diagnosed at the three diagnosis outposts and in that located in the nearest town, Acrelândia (50 km away from Granada), between January 2001 and October 2006. This strategy is assumed to detect virtually all episodes of symptomatic malaria in cohort subjects, as: (1) there are no other public or private facilities providing laboratory diagnosis of malaria in the area; and (2) microscopic diagnosis is required to obtain antimalarial drugs in Brazil, which are distributed free of charge by the Ministry of Health and cannot be purchased in local drugstores. However, malaria infections diagnosed outside the study area and neighbourhoods may have been missed by our search strategy. A minimal interval of 28 d between two or more consecutive episodes was required to count the latter positive episode as a new, independent malaria infection. When different species were detected in samples obtained less than 28 d apart, the subject was considered to have a single episode of mixed-species infection.

The date of entry in the cohort was considered as: (1) the date of birth; (2) the date of arrival in the study area; or (3) 1 January 2001 – whatever was the most recent. Census data obtained at the baseline were updated during three additional cross-sectional surveys of the whole study population (see section 2.3). Subjects who left the study area before October 2006 were considered lost to follow-up since the date they moved away. The dates of entry and exit were considered when estimating the number of person-years at risk during the follow-up.

2.3. Cross-sectional prevalence surveys

The participants in the baseline survey (survey A) aged 5 years of age or older were eligible for contributing venous blood samples for malaria diagnosis, irrespective of any clinical symptoms; 388 blood samples were collected. We define this case–detection strategy as aggressive active case detection (AACD).⁶ Additional parasite prevalence surveys of the whole study population aged 5 years or older were carried out in September–October 2004 (survey B, 378 fingerprick blood samples collected), February–March 2005 (survey C, 329 venous blood samples collected) and October–November 2006 (survey D, 351 fingerprick blood samples collected). Of 438 cohort subjects aged 5 years or older, 249 (56.8%) contributed blood samples in all cross-sectional surveys. The outcome measured in cross-sectional surveys was malaria infection, defined as the presence of malaria parasites detected by conventional microscopy, PCR or both, regardless of any symptom at the time of blood collection.

2.4. Laboratory diagnosis of malaria

Giemsa-stained thick blood smears had at least 100 fields examined on site for malaria parasites under 700× magnification by two experienced microscopists. Positive slides and 10% of the negative ones were routinely revised by a reference microscopist in Rio Branco, the capital of Acre. In addition, all slides collected from PCR-positive subjects during the first three cross-sectional surveys (irrespective of the result of on-site microscopy) were sent for review by an expert microscopist at the National Reference Laboratory of the Ministry of Health of Brazil, Brasília. Malaria patients were treated according to therapy guidelines in use at that time (2001–06) in Brazil (chloroquine–primaquine for vivax malaria and mefloquine or quinine–doxycycline followed by primaquine for falciparum malaria). No attempt was made to evaluate the adherence of patients to prescribed drug treatments. During the four cross-sectional surveys, nested PCR-based amplification of a species-specific segment of the 18S rRNA gene of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax* and *P. malariae* was used, in addition to conventional microscopy, to detect malaria parasites. We used PCR assay protocols described in detail by Win and colleagues.⁷

2.5. Data analysis

A database was created with SPSS 16.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Incidence rates were expressed as

the number of cases per 100 person-years at risk and their exact Poisson 95% CIs were calculated. Rate ratios were compared with Fisher's exact test. Spatial scan statistics was used to identify significant spatial clusters of malaria episodes, with the version 7.0.3 of SaTScan.⁸ This software creates circular windows that are centred on each of the households and moved systematically throughout the geographic space to identify significant clusters of infections, with the maximum window size set to include 50% of the households. SaTScan performs a likelihood ratio test to evaluate whether or not infections are more prevalent within each window compared with the outside. A Poisson model was used, with the null hypothesis that the expected number of cases in each circular window is proportional to the number of person-years of follow-up in that area. We analysed separately: (1) infections with any malaria parasite during the follow-up; (2) infections with *P. falciparum*; and (3) infections with *P. vivax*. *P*-values were determined by 100 000 Monte Carlo replications of the dataset, with the level of significance set at 5%.

3. Results

3.1. Malaria incidence

At the baseline (March–April 2004), 466 consenting dwellers of all age groups (98.5% of the permanent residents in the area) were enrolled; additional individuals (mostly newcomers to the area) were enrolled between September and October 2004 ($n=43$) and February–March 2005 ($n=22$). We followed 277 males and 254 females (male:female ratio, 1.09:1) aged from <1 month to 90 years for an average of 4.30 years (range, 30 d to 5.83 years), with a total of 2281.53 person-years of follow-up.

Of 599 slide-confirmed episodes of symptomatic malaria diagnosed between January 2001 and October 2006 (incidence, 26.2/100 person-years at risk), *P. vivax* accounted for 443 (74.0%), *P. falciparum* for 129 (21.5%) and *P. falciparum* and *P. vivax* for 27 (4.5%). Overall, we found *P. vivax* (alone or in mixed-species infections) in 470 episodes (incidence, 20.6/100 person-years at risk; 95% CI 18.8–22.5/100 person-years at risk) and *P. falciparum* (alone or in mixed-species infections) in 156 episodes (incidence, 6.8/100 person-years at risk; 95% CI 5.8–8.0/100 person-years at risk), with a 3.01:1 species ratio (95% CI 2.51:1–3.63:1), similar to that reported for the whole country. No severe or complicated malaria was diagnosed.

Possibly as a result of their more frequent involvement in forest-related high-risk activities,⁵ males had a higher malaria incidence (30.7 [95% CI 27.6–34.0] episodes per 100 person-years at risk) than females (21.4 [95% CI 18.7–24.3] episodes per 100 person-years at risk), with a rate ratio of 1.39 (95% CI 1.17–1.64, $P<0.001$ by Fisher's exact test). As in other areas where both species coexist,^{9–11} *P. vivax* incidence peaked earlier than that of *P. falciparum* (Figure 2A), but whether these age-incidence patterns reflect species-specific differences in exposure, acquired immunity or both remains unclear. Because most adults in our cohort are migrants from malaria-free regions, their ages do not translate into cumulative exposure to malaria. We thus examined whether malaria incidence was affected by the

Figure 2. Malaria incidence according to parasite species (number of episodes/100 person-years at risk) in relation to subjects' age (in years) (A) or time (in years) of residence in the study area, a proxy of cumulative exposure to malaria (B). Numbers of person-years at risk in each age group are: <6 years, 421.5; 6–10 years, 338.1; 11–15 years, 287.2; 16–30 years, 516.6; >30 years, 718.2. Numbers of person-years at risk in the cumulative exposure strata are: <6 years, 1646.2; 6–10 years, 322.1; 11–15 years, 177.91; 16–20 years, 55.9; >20 years, 29.0 (time of exposure missing for 50.4 person-years of follow-up).

time of residence in the study site, a proxy of cumulative exposure to malaria.⁵ The incidence of malaria peaked among settlers with less than 6 years of residence in Granada and declined thereafter (Figure 2B), with no *P. falciparum* infection diagnosed among those with more than 15 years of residence in Granada. We have previously shown that the decline in malaria morbidity in Granada, between 2004 and 2005, with increasing time of residence in the area remained statistically significant after controlling for potential confounding covariates such as the place of residence (newcomers tend to settle in forest fringes, where transmission is more intense) and occupation (new-

comers are often involved in high-risk activities, such as land clearing, before they can earn a living from their crops and cattle ranching).⁵

Recurrent episodes of infection with *P. vivax* were more frequent than those with *P. falciparum* (Table 1). Because malaria is transmitted in Granada year-round, recrudescences, relapses and new infections may all originate *P. vivax* recurrences. To address this issue, we used multilocus microsatellite typing to compare haplotypes in 28 pairs of consecutive *P. vivax* infections diagnosed in Granada between 2004 and 2006.¹² Only two pairs of isolates were genetically identical, consistent with recrudescences or relapses originating from the reactivation of homologous hypnozoites; most recurrent infections were either new infections or relapses due to the reactivation of heterologous hypnozoites.

We found no clear-cut temporal association between malaria incidence and monthly rainfall (Figure 3), cumulative rainfall, rainfall anomalies or changes in greenness levels in the study site (Joseph Ssentongo, Maria Gabriela M. Gomes and NSdS, unpublished observations). *Plasmodium vivax* incidence ranged between 7.7 (2005) and 48.3 (2001) episodes/100 person-years at risk, with *P. falciparum* incidence ranging between 3.2 (2003) and 13.3 (2004) episodes/100 person-years at risk. Between 2001 and 2006, *P. vivax* and *P. falciparum* incidence rates decreased by 81.4 and 56.8%, respectively.

3.2. Malaria parasite prevalence in cross-sectional surveys

We examined 1496 thick smears and 1427 DNA samples collected during four cross-sectional surveys. Nested PCR revealed 5.4-fold more infections than conventional microscopy (Table 2), with all samples positive by microscopy also being DNA-positive. Most microscopy-positive samples (17 of 30; 56.7%) had low parasitaemias (<200 parasites/ μ l of blood). Mixed-species infections were detected by PCR in 22.8% DNA-positive samples; no mixed-species or *P. malariae* infections were diagnosed by microscopy.

3.3. Spatial clustering of malaria

We examined spatial clustering patterns of morbidity data collected yearly and found that both the location and the size of the significant clusters remained remarkably constant over time (data not shown). Figure 1 shows clustering patterns for the whole dataset (2001 to 2006), with a single significant high-incidence cluster ($P < 0.001$)

Table 1

Number of repeated episodes of infection with the same malaria parasite species diagnosed between 2001 and 2006 in Granada, Acre, Brazil

Number of consecutive infections per subject																
Species	None	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	17
<i>P. vivax</i>	353 (66.5)	87	33	18	6	9	9	7	4	2	–	–	2	–	1	–
<i>P. falciparum</i>	432 (81.3)	63	21	11	3	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Total	329 (62.0)	78	46	34	6	7	6	7	7	5	1	1	1	1	1	1

Values in parentheses are percentages.

Please cite this article in press as: da Silva NS, et al. Epidemiology and control of frontier malaria in Brazil: lessons from community-based studies in rural Amazonia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* (2010), doi:10.1016/j.trstmh.2009.12.010

Figure 3. Monthly incidence (number of episodes per 100 person-months at risk) of slide-confirmed malaria in Granada between January 2001 and October 2006 in relation to monthly rainfall (mm) measured in the nearest meteorological station.

with 414 (69.1%) cases of malaria (both species considered) found in 27 dwellings (22.3% of the total) within a 2.2 km radius. *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria, when considered separately, were also significantly clustered ($P < 0.001$); 108 (69.2%) *P. falciparum* infections occurred in 25 households (20.7% of the total) within a 2.1 km radius, whereas 348 (74.0%) *P. vivax* infections occurred in 31 (25.6%) households within a 2.3 km radius.

We next analysed household-specific incidence of clinical malaria in relation to the distance between each

dwelling and the centre of the circular cluster identified by spatial scan statistics. Malaria incidence between 2001 and 2006 decreased exponentially with distance from the cluster centre, reaching a plateau after 8 km distance (Figure 4). This pattern is consistent with the known dispersal range of the main local vector, *Anopheles darlingi* (5 km or even more),¹³ but contrasts with the typical gradient of incidence decline seen in Africa, which extends over no longer than 2–3 km away from the area of highest transmission.¹⁴

Table 2

Number of malaria infections detected by conventional microscopy and nested PCR during four consecutive cross-sectional surveys of the population aged 5 years or older in Granada, Acre, Brazil

Symptoms?	Species	Cross-sectional survey (date)							
		A (Mar–Apr 2004)		B (Sep–Oct 2004)		C (Feb–Mar 2005)		D (Oct–Nov 2006)	
		Giemsa	PCR	Giemsa	PCR	Giemsa	PCR	Giemsa	PCR
Yes	<i>P. falciparum</i>	3	12 ^a	5	9 ^d	0	2 ^b	0	1
	<i>P. vivax</i>	7	14 ^a	3	8 ^d	4	11 ^b	0	0
	No. tested	19	19	17	17	28	28	7	7
No	<i>P. falciparum</i>	3	23 ^b	1	26 ^e	0	20 ^f	1	7
	<i>P. vivax</i>	0	16 ^b	0	25 ^{e,f}	0	17 ^f	3	8
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	2 ^f	0	0	0	0
	No. tested	369	367	361	362	301	300	344	327
	Total								
	<i>P. falciparum</i>	6	35 ^c	6	33 ^g	0	22 ^j	1	8
	<i>P. vivax</i>	7	30 ^c	3	35 ^{f,g}	4	28 ^j	3	8
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	2 ^f	0	0	0	0
	No. tested	388	386	378	379	329	328	351	334
Overall parasite prevalence (%) ^k									
	<i>P. falciparum</i>	1.5	9.1	1.6	8.7	0	6.7	0.3	2.4
	<i>P. vivax</i>	1.8	7.8	1.0	9.2	1.2	8.5	0.8	2.4
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	0.5	0	0	0	0

^a Seven *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^b Eight *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^c Fifteen *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^d Three *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^e Ten *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^f Two *P. falciparum*–*P. malariae* mixed-species infections included.

^g Thirteen *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^h One *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

ⁱ Eight *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^j Nine *P. falciparum*–*P. vivax* mixed-species infections included.

^k Including both single-species and mixed-species infections.

Figure 4. Malaria incidence in households (per 100 person-years at risk) between 2001 and 2006 in relation to the distance (in km) of each dwelling to the centre of the high-incidence cluster of malaria detected by spatial scan statistics. Circles represent individual data points. An exponential function was fitted to the data (coefficient of determination $r^2 = 0.576$).

4. Discussion

Despite the emerging consensus that ‘public health needs to be evidence-based if it is to be done correctly’,¹⁵ translating scientific evidence into public health interventions remains challenging. Here we focus on two features of frontier malaria with clear implications for designing effective control strategies: (1) the high prevalence of asymptomatic sub-patent infections; and (2) the spatial clustering of malaria.

Non-immune migrants from malaria-free areas settled across the Amazon Basin of Brazil typically fail to achieve the status of clinical immunity usually seen in rural African adults.^{16,17} Asymptomatic malaria infections, however, are widespread among native Amazonians^{18,19} and may represent a significant source of gametocytes for local vectors.²⁰ More recent studies also revealed high prevalences of subclinical, chronic malaria infections with very low parasitaemias, most of them detected only by PCR, in typical frontier malaria settings inhabited mostly by migrants, such as gold-mining areas²¹ and agricultural settlements (Table 2).⁵ Asymptomatic parasite carriers may represent a significant reservoir of malaria, not only in isolated riverine communities of native Amazonians but also in densely populated mining or agricultural settlements, with clear implications for malaria control.²²

Nearly all malaria infections in Brazil are identified through either ACD or PCD. Cases are found through PCD when febrile subjects attending malaria diagnosis outposts across the country have a blood sample tested positive for malaria parasites. ACD implies periodic visits to households, with collection of thick blood smears from every person having had fever since the last visit.²³ AACD has been limited to a few settings of very high endemicity, such as the Yanomami Indian Reservation.⁶ A major limitation of ACD and PCD is that asymptomatic infections and even symptomatic but afebrile infections go undetected and untreated. The clinical spectrum of symptomatic malaria in Granada ranges from a very mild illness to a full-blown disease with periodic fever paroxysms.²⁴ No fever was reported in 19.1% of 230 laboratory-confirmed episodes of symptomatic malaria detected by ACD or PCD in Granada, although other symptoms (mostly headache or myalgia) were present and individuals felt ill enough to

seek malaria diagnosis.²⁴ Therefore, ACD- and PCD-based strategies of malaria control in Brazil deal with a heterogeneous disease in which cyclical paroxysms with fever, chills and profuse sweating, the hallmark of textbook malaria, are not necessarily prominent features.

Whether asymptomatic infections in Brazil represent a major reservoir that must be addressed by AACD remains a matter of debate.^{6,18,22} As AACD is expensive and labour-intensive, a careful cost-effectiveness analysis is required before its large-scale use may be advocated. First, the relative role of asymptomatic infections in maintaining malaria transmission in Amazonia must be quantified. Mathematical models have recently shown that asymptomatic infections represent a crucial target for malaria eradication efforts in Africa,²⁵ but no similar analyses are available for other endemic areas. Second, laboratory methods appropriate for large-scale use, such as microscopy and rapid diagnostic tests, are poorly sensitive to detect low-grade infections. Previous studies in Brazil show that nested PCR is between 2.7-fold and 8.6-fold more sensitive than conventional microscopy in detecting malaria parasites in apparently healthy individuals.^{18,19,21,26} PCR-based diagnosis has been suggested as a public health tool for AACD in Peru,²⁷ but its use remains severely constrained by its high cost and complexity.

The environmental impact and cost of insecticide-based vector control may be drastically reduced by a careful spatial targeting of house spraying. Because malaria risk clusters in certain households, control measures may target preferentially high-risk areas and individuals.^{4,14} Detecting spatial clusters became a feasible goal for countrywide malaria control programmes, with the current availability of cheap GPS receivers and appropriate statistical methods and software for spatial analysis.

Data from our cohort study in rural Amazonia illustrate the spatial clustering of malaria. Spatial scan statistics revealed that 22.3% of the households contribute 69.1% of all malaria cases diagnosed during follow-up (Figure 1). Therefore, by targeting one-quarter of the dwellings we can theoretically reduce malaria incidence by more than two-thirds. Malaria in Granada clusters in the area of most recent occupation with ongoing land-clearing, favouring an increase in the abundance of *A. darlingi*²⁸ and putting the entire community at greater risk. Similar patterns of spatial clustering have been reported in agricultural settlements in Rondônia,⁴ suggesting that this may be a common feature of frontier malaria in Brazil. Further analyses are clearly needed to support spatially targeted malaria control interventions, such as selective spraying of premises, in high-risk rural areas of Brazil. The choice of an insecticide remains a matter of debate; both dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)-based²⁹ and non-DDT-based³⁰ strategies have recently been reported to be successful in other endemic settings.

This study has three major limitations. First, malaria episodes may have been missed by our search strategy because patients could have potentially been seen at other health facilities outside Granada and neighbouring areas. Second, malaria incidence estimates were derived from routine microscopic diagnosis, which may be relatively imprecise. The performance of local microscopists

was not directly evaluated by the research team. The rather different proportions of positive results obtained by microscopy and PCR during cross-sectional surveys suggest that microscopy may have a relatively poor performance in areas with relatively little malaria transmission, especially when applied to asymptomatic carriers of low-grade parasitaemias.^{18,19,21,26} Third, we were unable to distinguish new infections from late recrudescences (beyond day 28 of treatment) or relapses in our cohort. Despite these limitations, we were able to reveal major features of malaria in a typical agricultural settlement of rural Amazonia, which provide potential targets for control efforts.

Authors' contributions: NSdS, MdSN and MUF designed the study; NSdS, MdSN, RSM, CEC and MUF carried out fieldwork; MdSN, MJM, RRD'A, NTK, KKGS and EMB carried out laboratory work; NSdS managed the dataset and analysed the data with JAC and MUF; MUF drafted the manuscript. All authors contributed to and read and approved the final manuscript. NSdS and MUF are guarantors of the paper.

Acknowledgements: We thank the malaria control team in Granada for logistic support, Adamilson L. de Souza, Valdecir E. da Silva, Camila Juncansen and Vitor D. Muniz for help with fieldwork, Francisco das Chagas O. Luz (Ministry of Health, Brasília), for reviewing malaria slides, and Cassiano P. Nunes, for artwork.

Funding: This work received financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 470067/2004-7) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 03/09719-6 and 05/51988-0). Scholarships from FAPESP (MdSN and RRD'A), CNPq (NSdS, NTK, EMB and MUF) and CAPES (KKGS) are also acknowledged.

Conflicts of interest: None declared.

Ethical approval: The study protocol was approved by the Ethical Review Board of the Institute of Biomedical Sciences of the University of São Paulo, Brazil (318/2002 and 538/2004). Written informed consent was obtained from each adult participant and from the parent or legal guardian of every minor.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.trstmh.2009.12.010.

References

- Loiola CC, da Silva CJ, Tauil PL. Malaria control in Brazil: 1965 to 2001. *Rev Panam Salud Publica* 2002;11:235–44.
- Marques A. Human migration and the spread of malaria in Brazil. *Parasitol Today* 1987;3:166–70.
- Pan American Health Organization. *Malaria: Progress Report 2007*. Washington, DC: Pan American Health Organization; 2008.
- de Castro MC, Sawyer DO, Singer BH. Spatial patterns of malaria in the Amazon: implications for surveillance and targeted interventions. *Health Place* 2007;13:368–80.
- da Silva-Nunes M, Codeco CT, Malafronte RS, da Silva NS, Juncansen C, Muniz PT, et al. Malaria on the Amazonian frontier: transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control. *Am J Trop Med Hyg* 2008;79:624–35.
- Macauley C. Aggressive active case detection: a malaria control strategy based on the Brazilian model. *Soc Sci Med* 2005;60:563–73.
- Win TT, Lin K, Mizuno S, Zhou M, Liu Q, Ferreira MU, et al. Wide distribution of *Plasmodium ovale* in Myanmar. *Trop Med Int Health* 2002;7:231–9.
- Kulldorff M, Nagarwalla N. Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat Med* 1995;14:799–810.
- Luxemburger C, Thwai KL, White NJ, Webster HK, Kyle DE, Maekankiri L, et al. The epidemiology of malaria in a Karen population on the western border of Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:105–11.
- Maitland K, Williams TN, Bennett S, Newbold CI, Peto TE, Viji J, et al. The interaction between *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in children on Espiritu Santo island, Vanuatu. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:614–20.
- Phimpraphi W, Paul RE, Yimsamran S, Puangsa-art S, Thanyavanich N, Maneeboonyang W, et al. Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in a Karen population in Thailand. *Malar J* 2008;7:99.
- Orjuela-Sánchez P, da Silva NS, da Silva-Nunes M, Ferreira MU. Recurrent parasitemias and population dynamics of *Plasmodium vivax* polymorphisms in rural Amazonia. *Am J Trop Med Hyg* 2009;81:961–8.
- Charlwood JD, Alecrim WA. Capture-recapture studies with the South American malaria vector *Anopheles darlingi*. *Root. Ann Trop Med Parasitol* 1989;83:569–76.
- Carter R, Mendis KN, Roberts D. Spatial targeting of interventions against malaria. *Bull World Health Organ* 2000;78:1401–11.
- Eriksson C. Learning and knowledge-production for public health: a review of approaches to evidence-based public health. *Scand J Public Health* 2000;28:298–308.
- Camargo LM, dal Colletto GM, Ferreira MU, Gurgel S de M, Escobar AL, Marques A, et al. Hypoendemic malaria in Rondonia (Brazil, western Amazon region): seasonal variation and risk groups in an urban locality. *Am J Trop Med Hyg* 1996;55:32–8.
- Camargo LM, Ferreira MU, Krieger H, de Camargo EP, da Silva LP. Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:16–25.
- Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Silva LH, Camargo EP. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66:641–8.
- Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, de Carvalho ME, Curado I, Coura JR. Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2009;80:452–8.
- Alves FP, Gil LH, Marrelli MT, Ribolla PE, Camargo EP, da Silva LH. Asymptomatic carriers of *Plasmodium* spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon. *J Med Entomol* 2005;42:777–9.
- Scopel KK, Fontes CJ, Nunes AC, Horta MF, Braga EM. Low sensitivity of nested PCR using *Plasmodium* DNA extracted from stained thick blood smears: an epidemiological retrospective study among subjects with low parasitaemia in an endemic area of the Brazilian Amazon region. *Malar J* 2004;3:8.
- Coura JR, Suarez-Mutis M, Ladeia-Andrade S. A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic *Plasmodium* infection—a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006;101:229–37.
- Najera JA. Malaria control: achievements, problems and strategies. *Parasitologia* 2001;43:1–89.
- da Silva-Nunes M, Ferreira MU. Clinical spectrum of uncomplicated malaria in semi-immune Amazonians: beyond the 'symptomatic' vs 'asymptomatic' dichotomy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007;102:341–7.
- Águas R, White IJ, Snow RW, Gomes MG. Prospects for malaria eradication in sub-Saharan Africa. *PLoS ONE* 2008;3:e1767.
- Katsuragawa TH, Cunha RPA, de Souza DCA, Gil LHS, Cruz RB, Silva AA, Tada MS, Pereira da Silva LH. Malaria and hematological aspects among residents to be impacted by reservoirs for the Santo Antônio and Jirau Hydroelectric Power Stations, Rondônia, Brazil. *Cad Saude Publ* 2009;25:1486–92.
- Roshanravan B, Kari E, Gilman RH, Cabrera L, Lee E, Metcalfe J, et al. Endemic malaria in the Peruvian Amazon region of Iquitos. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69:45–52.

Please cite this article in press as: da Silva NS, et al. Epidemiology and control of frontier malaria in Brazil: lessons from community-based studies in rural Amazonia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* (2010), doi:10.1016/j.trstmh.2009.12.010

28. Vittor AY, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields T, Lozano WS, et al. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of falciparum malaria in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 2006;**74**:3–11.
29. Conteh L, Sharp BL, Streat E, Barreto A, Konar S. The cost and cost-effectiveness of malaria vector control by residual insecticide house-spraying in southern Mozambique: a rural and urban analysis. *Trop Med Int Health* 2004;**9**:125–32.
30. Chanon KE, Mendez-Galvan JF, Galindo-Jaramillo JM, Olguin-Bernal H, Borja-Aburto VH. Cooperative actions to achieve malaria control without the use of DDT. *Int J Hyg Environ Health* 2003;**206**:387–94.

Malaria on the Amazonian Frontier: Transmission Dynamics, Risk Factors, Spatial Distribution, and Prospects for Control

Mônica da Silva-Nunes,* Cláudia T. Codeço, Rosely S. Malafronte, Natal S. da Silva, Camila Juncansen, Pascoal T. Muniz, and Marcelo U. Ferreira

Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brazil; Program of Scientific Computation, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; Laboratory of Protozoology, Institute of Tropical Medicine of São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brazil; Department of Health Sciences, Federal University of Acre, Rio Branco, Acre, Brazil

Abstract. Little follow-up data on malaria transmission in communities originating from frontier settlements in Amazonia are available. Here we describe a cohort study in a frontier settlement in Acre, Brazil, where 509 subjects contributed 489.7 person-years of follow-up. The association between malaria morbidity during the follow-up and individual, household, and spatial covariates was explored with mixed-effects logistic regression models and spatial analysis. Incidence rates for *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria were 30.0/100 and 16.3/100 person-years at risk, respectively. Malaria morbidity was strongly associated with land clearing and farming, and decreased after five years of residence in the area, suggesting that clinical immunity develops among subjects exposed to low malaria endemicity. Significant spatial clustering of malaria was observed in the areas of most recent occupation, indicating that the continuous influx of nonimmune settlers to forest-fringe areas perpetuates the cycle of environmental change and colonization that favors malaria transmission in rural Amazonia.

INTRODUCTION

Despite several decades of intensive control efforts, malaria remains a major cause of morbidity in Brazil.¹ Between 1970 and the mid-1980s, massive human migration to the Amazon Basin, where large-scale colonization and mining projects were started, led to a 10-fold increase in the annual incidence of malaria in the country.² The most recent available incidence data are for 2006, with 550,000 slide-confirmed malaria cases reported countrywide, 99.7% of which were diagnosed in Amazonia.³

Frontier agricultural settlements in the Amazon Basin favor malaria transmission not only by inducing massive environmental changes, such as deforestation, but also by favoring human clustering close to vector habitats.⁴ Although the epidemiology of epidemic malaria in early frontier settlements in rural Amazonia was thoroughly described in the mid-1980s,⁵ minimal follow-up information is available for the recent decades, during which extensive social and ecologic transformations took place.⁶ To understand how malaria transmission is maintained in the more stable and organized communities originating from frontier settlements, a detailed knowledge of the transmission dynamics of malaria and associated risk factors is necessary.⁷

Here we describe the current patterns of malaria transmission in one of the largest agricultural settlements of Brazilian Amazonia, the Pedro Peixoto Settlement Project, opened in the state of Acre in the 1980s. The combined analyses of malaria morbidity data and individual and household-level risk factors for a population-based prospective cohort are presented and discussed in relation to prospects for malaria control in this and other settings with similar endemicity.

MATERIALS AND METHODS

Study area. Granada, originally a sparsely populated rubber tapper settlement in the eastern corner of the state of Acre, northwestern Brazil (Figure 1), became part of the Pedro Peixoto Agricultural Settlement Project in 1982. With its equatorial humid climate, this area receives the most rainfall (annual average, 2198.5 mm) between December and March. The mean annual temperature is 24.5°C. Subsistence agriculture and cattle raising are the major economic activities, with coffee, bananas, and rice being the main cash crops. The majority of inhabitants are migrants from Southeast and South Brazil. The continuous influx of new settlers led more recently to the occupation of forested areas along the Iquiri River, the largest water body in the study area (Figure 1); most of the settlement has been deforested for agricultural use. Three government-run malaria diagnosis outposts provide free malaria diagnosis and treatment to the inhabitants of the study site.

This study was carried out in two adjacent localities in the Granada area, namely Ramal do Granada and Reserva da Linha 14. Ramal do Granada includes households on both sides of Linha 14, an unpaved road originating from the paved BR 364 highway, from km 14 to km 30, and also some dwellings in nearby secondary roads (Linha 27 and Linha 28); Reserva da Linha 14 consists of all households found along the 2.5 km secondary road that lies nearly perpendicular to Ramal do Granada. The Iquiri River runs parallel to Reserva da Linha 14, at an average distance of 1 km (Figure 2).

Study design. A population-based open cohort study was initiated in 2004 to identify socioeconomic, immunologic, genetic, and environmental risk factors associated with malaria morbidity in the study area. All of the area's households were visited by our field team, and 466 dwellers of all age groups (98.5% of the permanent residents in the area) were enrolled between March and April 2004. An additional 43 individuals (mostly newcomers to the area) were enrolled between September and October 2004, giving a total of 509 subjects, from <1 month to 90 years of age and distributed into 123 households, who contributed follow-up data. Baseline data

* Address correspondence to Mônica da Silva-Nunes, Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 1374, São Paulo, São Paulo, Brazil, 05508-900. E-mail: msnunes1@yahoo.com.br

FIGURE 1. Maps showing the state of Acre, in northwestern Brazil, and the site of the cohort study carried out between 2004–2005 (Pedro Peixoto Settlement). Ramal do Granada is part of the Pedro Peixoto Agricultural Settlement, located 30–50 km northwest of the town of Acrelândia, which in turn is located 114 km east of Rio Branco, the capital of Acre.

are described elsewhere.⁸ All dwellings were located using a hand-held 12-channel global positioning system receiver (eTrex Personal Navigator, Garmin, Olathe, KS), with a positional accuracy within 15 m.

To characterize the place of residence, we created a continuous covariate, house location, which gives the linear distance in km between each dwelling and an index house located in the sector of earliest occupation. Briefly, the location of each dwelling along Ramal do Granada and on minor secondary roads was described in relation to an index house (index house A), the first house on the left side of Ramal da Linha 14 at km 14 (Figure 2); for subjects living along Reserva da Linha 14, the place of residence was calculated as the sum of two linear distances in km: 1) the distance between the subject's house and the index house B (the last house on the left of Ramal da Linha 14 at km 30) and 2) the distance between index houses A and B. New settlers typically occupied land plots close to Iquiri River, corresponding to house locations of 12–15.5 km.

A baseline questionnaire was applied to all study participants to collect demographic, health, and socioeconomic data.

Cumulative exposure to malaria was estimated using age and the duration of residence in the study area as proxies, whereas recent malaria exposure was determined from the records of slide-confirmed malaria episodes that were diagnosed in local malaria diagnosis outposts between January 2001 and March 2004.

Information on selected household assets, land ownership, type of building material, and number of inhabitants per room was used to derive a wealth index, from which socioeconomic status was estimated. We combined the following data: 1) ownership of five household assets (gas stove, coach, bicycle, motor vehicle, and cattle); 2) land tenure (yes or no); 3) type of building material (brick walls versus others); and 4) number of inhabitants per room (≤ 1 per room or > 1 per room). Principal component analysis, carried out using the XLSTAT software, version 7.5.2 (Addinsoft, New York, NY), was used to weigh each variable, as described by Filmer and Pritchett.⁹ The first principal component explained 25.6% of variability and gave the greatest weights to ownership of a couch (0.670) and a motorized vehicle (car or motorcycle) (0.641), and to having a lower number of inhabitants

FIGURE 2. The Global Positioning System (GPS)-determined location of 122 dwellings (comprising 123 households) along Linha 14 and secondary roads in the Granada area, inhabited by the 509 study subjects. These dwellings are located in the area shaded in Figure 1, close to the town of Acrelândia, between the BR-364 highway and the Iquiri River. For analytical purposes, the location of each dwelling (represented as circles) was described in relation to an index house (index house A, black star). Dwellings with at least one case of malaria during follow-up are represented as black circles; white circles represent households without malaria during follow-up period. House location of the 388 study subjects living along Linha 14 and minor secondary roads (Linha 27 and Linha 28) was defined as the linear distance in km between the subjects' dwelling and the index house A, using GPS coordinates. For the remaining 121 study subjects who lived along Reserva da Linha 14, the place of residence was calculated as the sum of two linear distances: 1) that between the subject's house and the index house B (black star) and 2) that between index houses A and B. The three government-run malaria diagnosis outposts in the study site are represented with triangles. Note that Iquiri river, the main permanent water body in the study site, runs nearly parallel to Reserva da Linha 14.

per room (0.574). After the standardized variables were weighted, the highest scores were given to the ownership of a brick house (2.262), a couch (1.040), and a motorized vehicle (0.742). Lowest scores were given to households with no gas stove (−1.237), no land tenure (−1.054), >1 inhabitant per room (−0.619), and no cattle (−0.614). The scores were summed to give a wealth index for each household (range, −4.871 to 5.409), and these indices were then used to stratify households into quartiles in decreasing order (first quartile, 25% richest).

Baseline malaria prevalence survey. The baseline survey participants five years of age or older were eligible for collection of 5-mL venous blood samples for malaria diagnosis and other laboratory studies, regardless of the presence of any clinical symptoms. Laboratory diagnosis of malaria was based on microscopic examination of thick smear and nested polymerase chain reaction (PCR) amplification of a species-specific segment of the 18S rRNA gene of human malaria parasites.^{10,11} Thick blood smears were stained with Giemsa and examined for malaria parasites under 700× magnification (at least 100 fields) by two experienced local microscopists. Malaria infections diagnosed by onsite microscopy were treated according to the latest malaria therapy guidelines in

Brazil.¹² All positive slides and the slides collected from febrile subjects that were declared negative by onsite microscopy were sent for review by an expert microscopist at the National Reference Laboratory of the Ministry of Health of Brazil, Brasília. The DNA templates for PCR amplification were isolated from 200 μ L of whole blood using GFX genomic blood DNA purification kits (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). Baseline blood samples were additionally used: 1) to investigate human genetic polymorphisms putatively associated with resistance to malaria (manuscript in preparation), 2) to measure hemoglobin and other iron status indicators and diagnose glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency,¹³ 3) to measure antibodies to several arboviruses,⁸ and 4) to measure antibodies to blood-stage malarial antigens.^{14,15}

Malaria surveillance. Between March 2004 and May 2005, the study population was placed under clinical and laboratory surveillance for symptomatic malaria episodes, which included both active and passive case detection.¹⁶ For this purpose, the study clinician and a health worker visited the area five times a week (Monday–Friday) and examined all study participants (irrespective of their ages) reporting current or recent fever, headache, or any other malaria symptom.

Venous or finger-prick blood samples for malaria diagnosis by microscopy and polymerase chain reaction (PCR) were obtained. As part of surveillance, all patients' files kept at the three local malaria diagnosis outposts were daily examined to detect additional malaria episodes among study participants who reported directly to these facilities. Thick blood smears were examined by local microscopists; a portion of them (all positive slides and those collected from febrile subjects that were declared negative by onsite microscopy) were reviewed by an expert microscopist at the National Reference Laboratory of the Ministry of Health of Brazil. The DNA templates for PCR amplification were obtained from venous blood samples as explained previously; those from finger-prick blood samples spotted on FTA Micro Cards were prepared as described by the manufacturer (Whatman, Clifton, NJ). As in other studies conducted in Amazonia,^{17,18} our PCR often detected additional malaria species that were missed by conventional microscopy. These additional species were also considered in the analysis. A clinical case of malaria (outcome variable) was present when a symptomatic patient, enrolled through either active or passive case detection, was found to have malaria parasites on thick smear. A minimal interval of 28 days between two or more consecutive sample examinations was required to count the latter positive slide as a new malaria episode. In addition, when different species were detected in samples obtained less than 28 days apart, the subject was considered to have a single episode of mixed-species infection. On the basis of the results of onsite microscopy, the treatment was given as described previously. Two additional cross-sectional surveys of the whole study population were performed in September–October 2004 and February–March 2005 to update census data and record temporary absences from the study area that lasted more than one week. These data were considered when computing the number of person-years at risk. Subjects diagnosed with malaria were excluded from the population at risk during the 28 days after initiation of treatment.

Statistical analysis. *Exploratory analysis.* A database was created with SPSS 13.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL). Incidence rates were expressed as the number of cases per 100 person-years or person-months at risk, and their exact Poisson 95% confidence intervals (CIs) were calculated using StatsDirect 2.6.1 software (StatsDirect, Altrincham, Cheshire, UK). Exploratory logistic regression analysis, using R software version 2.6.0,¹⁹ examined potential risk factors and confounders, including categorical individual-level variables (gender, migration history, main occupation, recreational fishing, bednet use, recent malaria, and work-related commutation during follow-up), continuous individual-level variables (age, years of schooling, years of residence in the current house, in the study site, and in other malaria-endemic areas, age at the start of malaria-exposure, self-reported number of slide-confirmed malaria episodes, and number of slide-positive malaria episodes recorded between 2001–2004), categorical household-level variables (type of house, type of material used in roof, walls and floor, presence of gaps in the walls, presence of screens in windows and doors, presence of a separate kitchen, presence of indoor animals, type of solid and liquid waste disposal, presence of electricity on the property, wealth index [stratified into quartiles], and sharing the household with a land clearer [land clearing was hypothesized

to be an occupation of high risk for malaria]), and continuous household-level variables (number of household inhabitants, years of schooling of the household head, and house location). Separate multiple logistic regression models were fitted to individual- and household-level variables using manual inclusion. Covariates were maintained in subsequent multivariate models, together with the *a priori* potential confounders (age and gender), if they were associated with the outcome, in exploratory unadjusted analysis, at a level of significance of 20%. The goodness of fit was assessed by either analysis of variance, Akaike's information criterion (AIC) values,²⁰ or odds ratio (OR) changes. Interaction terms were evaluated, and diagnostic tests (Cook's distance²¹ for influential points and studentized residuals²²) were applied using the package car of R 2.6.0 software. A few statistically significant interaction terms were identified but did not improve the models; therefore they were not included in the final models. Important influential points were identified for the variable "occupation," which was then re-stratified and reevaluated; as for the other variables examined, influential points were maintained because overall results did not change significantly when such influential points were excluded from the analysis. Models and outliers were reassembled if needed until the best fit was achieved. Final logistic regression models for individual variables included gender, age, occupation, years of residence in the study site, years of residence outside the study site, the occurrence of recent malaria episodes, recreational fishing, and cohabiting with a land clearer, whereas those for household-level variables included wealth index, house location in the study site, number of household inhabitants, and sharing the house with a land clearer.

Mixed-effects logistic regression. We used logistic regression models to explore the association between individual and household-level covariates and the occurrence of: 1) at least one episode of either *Plasmodium vivax* or *Plasmodium falciparum* clinical malaria during the follow-up, 2) at least one episode of clinical *P. vivax* malaria, and 3) at least one episode of clinical *P. falciparum* malaria. Malaria episodes diagnosed during the baseline survey were not considered in this analysis of incident malaria. Because of the nested structure of the data (study subjects are clustered into households), we fitted mixed-effects logistic regression models with multivariate normal random effects using restricted maximum likelihood and numerical integration via adaptive Laplace²³ with the lme4 package of R 2.6.0.¹⁹ Clustering into households was treated as a random effect in the model (using a variable that identified to which household the subject belonged), whereas all other covariates were entered as fixed-effect variables. Only the variables associated with statistical significance at the 5% level and those that altered the parameter estimate of fixed-effects variables (odds ratio) or the unexplained residual effects at household level (random-effects estimation) by $\geq 10\%$ were retained in the final models. Because of the open-cohort design of the study, duration of follow-up (in person-years) was entered as an offset. The following variables remained in final mixed-effects logistic regression models for each outcome: gender, occupation, length of residence in the study area, occurrence of recent slide-confirmed malaria, recreational fishing, wealth index, house location, number of inhabitants in the household, and sharing the house with a land clearer. Because of missing values, only 458

FIGURE 3. Monthly distribution of incident symptomatic infections with *Plasmodium vivax* ($N = 147$, black bars) and *Plasmodium falciparum* ($N = 80$, white bars) diagnosed in an open cohort of 509 subjects followed between March 2004 and May 2005 in rural Amazonia. The first "A" and the last "M" on the x-axis denote April 2004 and May 2005, respectively; no incident malaria episode was diagnosed in March 2004.

observations remained in the final adjusted models. Given the nonlinear relationship between house location and risk of *P. falciparum* malaria that was revealed by logistic additive regression (see below), a quadratic term was used to fit the

corresponding parametric logistic model. The relationships between duration of residence in the study site and the expected probabilities for each outcome, derived from the final mixed-effects models, were represented graphically using a locally weighted polynomial regression.

Logistic additive models. We applied logistic additive models with integrated smoothness estimation, using penalized regression splines,²⁴ to explore the shape of the association between house location and the risk of clinical malaria during the follow-up. These analyses were performed with the mgcv package of R 2.6.0 software. A similar approach was used to study the association among age, years of residence inside and outside the study area, and the risk of clinical malaria during the follow-up. Because there was extensive overlap between age and time of residence in the study area for many subjects, we created a third variable (years of residence outside the study area) by subtracting the number of years of residence in the study area from the subject's age. Each time-related variable was modeled separately, and its contribution to the outcome was compared using AIC values, the percentage of deviance explained and the P value of the smooth term. Only years of residence in the study area was significantly associated with the risk of clinical malaria (regardless of the species) during the follow-up, whereas age and years outside the study area explained less than 1.12% of the deviance ($P > 0.05$) and were thus excluded from subsequent analysis (data not shown).

Spatial analysis. The Kulldorff spatial scan statistics was used to test whether malaria episodes were randomly distrib-

TABLE 1
Individual and household-level risk factors for having malaria of any type during the follow-up of 509 rural Amazonians between March 2004 and May 2005

Variables	N*	n†	OR (95% CI)‡	P	aOR (95% CI)§	P
Gender						
Female	245	51	1		1	
Male	264	65	1.24 (0.82–1.89)	0.307	0.75 (0.37–1.51)	0.431
Main occupation						
Land clearing in Iquiri area	24	12	4.01 (1.71–9.44)	0.001	7.35 (1.88–28.65)	0.004
Land clearing elsewhere	30	9	1.72 (0.71–3.82)	0.198	6.17 (1.78–21.39)	0.004
Farming	129	30	1.21 (0.73–1.97)	0.433	2.15 (0.91–5.04)	0.078
Other (students, housekeepers)	326	65	1		1	
Years of residence in the area	507		0.95 (0.91–0.98)	0.003	0.92 (0.87–0.97)	0.003
Recent malaria¶						
No	314	37	1		1	
Yes	195	79	5.09 (3.28–8.03)	< 0.0001	2.77 (1.46–5.27)	0.001
Recreational fishing						
No	309	77	1		1	
Yes, Iquiri area	49	18	1.75 (0.91–3.27)	0.084	0.69 (0.27–1.77)	0.447
Yes, elsewhere	101	14	0.48 (0.25–0.88)	0.022	0.68 (0.30–1.58)	0.381
House location	509		1.22 (1.16–1.29)	< 0.0001	1.19 (1.08–1.30)	0.0001
Number of inhabitants in the house	509		1.19 (1.09–1.30)	0.00004	1.31 (1.11–1.55)	0.001
Wealth index (quartiles)**						
1 (richest)	114	12	1		1	
2	140	34	2.72 (1.37–5.78)	0.005	0.83 (0.30–2.32)	0.728
3	127	29	2.51 (1.24–5.38)	0.012	0.91 (0.31–2.67)	0.868
4 (poorest)	128	41	4.00 (2.03–8.40)	0.0001	0.50 (0.15–1.69)	0.269
Sharing the house with a land clearer						
No	325	66	1		1	
Yes	161	49	1.72 (1.11–2.64)	0.014	2.26 (1.15–4.43)	0.017

For some variables, totals do not reach 509 because of missing values. Because of missing values, only 458 observations remained in the final mixed-effects logistic regression model.

* N = number of subjects.

† n = number of subjects with the outcome.

‡ OR = odds ratio; CI = confidence interval.

§ aOR = odds ratio adjusted for all covariates listed in the table using a mixed-effects logistic regression model.

¶ Slide-confirmed symptomatic malaria diagnosed between January 2001 and March 2004.

|| House location gives the linear distance in km between each dwelling and an index house situated in the sector of earliest human occupation in the study area.

** The wealth index was derived from information on ownership of selected household assets, land tenure, type of housing material, and number of inhabitants per room, and used as a proxy of socioeconomic status.

TABLE 2
Individual and household-level risk factors for having *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria during follow-up of 509 rural Amazonians between March 2004 and May 2005

	n*	<i>Plasmodium vivax</i> malaria			<i>Plasmodium falciparum</i> malaria		
		OR (95% CI)†	P	aOR (95% CI)‡	P	OR (95% CI)	P
Gender							
Female	41	1		1		1	
Male	46	1.04 (0.66–1.67)	0.836	0.97 (0.46–2.05)	0.940	0.54 (0.21–1.35)	0.190
Main occupation							
Land clearing in Iquiri area	7	2.02 (0.75–4.95)	0.135	2.70 (0.63–11.47)	0.176	10.74 (2.25–51.27)	0.002
Land clearing elsewhere	6	1.23 (0.44–2.98)	0.664	3.24 (0.82–12.70)	0.091	7.83 (1.57–39.08)	0.012
Farming	19	0.85 (0.47–1.48)	0.577	1.09 (0.43–2.79)	0.843	3.30 (1.13–9.63)	0.028
Other (students, housekeepers)	55	1		1		1	
Years of residence in the area	87	0.94 (0.89–0.97)	0.001	0.93 (0.87–0.99)	0.040	0.95 (0.88–1.02)	0.175
Recent malaria§							
No	27	1		1		1	
Yes	60	4.72 (2.90–7.88)	< 0.0001	2.57 (1.26–5.25)	0.009	6.59 (3.71–12.31)	0.027
Recreational fishing							
No	61	1		1		1	
Yes, Iquiri area	9	0.91 (0.40–1.91)	0.821	0.43 (0.14–1.26)	0.125	2.52 (1.25–4.93)	0.008
Yes, elsewhere	11	0.49 (0.24–0.95)	0.045	1.05 (0.42–2.61)	0.909	0.17 (0.04–0.76)	0.020
House distance¶	87	1.23 (1.16–1.31)	< 0.0001	1.18 (1.06–1.31)	0.001	1.01 (1.00–1.02)	< 0.0001
Number of inhabitants in the house	87	1.19 (1.08–1.30)	0.0002	1.25 (1.05–1.49)	0.009	1.21 (1.10–1.33)	0.0001
Wealth index (quartiles)¶¶							
1 (richest)	5	1		1		1	
2	28	5.45 (2.20–16.50)	0.0007	1.97 (0.53–7.32)	0.306	1.71 (0.72–4.36)	0.134
3	22	4.57 (1.79–14.03)	0.003	1.99 (0.51–7.70)	0.315	1.91 (0.80–4.88)	0.105
4 (poorest)	32	7.27 (2.95–21.91)	0.00007	1.42 (0.33–6.10)	0.633	3.54 (1.60–8.68)	0.059
Sharing the house with a land clearer							
No	45	1		1		1	
Yes	41	2.12 (1.32–3.42)	0.001	2.58 (1.24–5.36)	0.010	1.15 (0.66–1.95)	0.614
						1.73 (0.75–3.94)	0.192

Because of missing values, only 458 observations remained in the final mixed-effects logistic regression models.

* n = number of subjects with the outcome.

† OR = odds ratio; CI = confidence interval.

‡ aOR = odds ratio adjusted for all covariates listed in the table, using mixed-effects logistic regression models.

§ Side-confirmed symptomatic malaria diagnosed between January 2001 and March 2004.

¶ The wealth index was derived from information on ownership of selected household assets, land tenure, type of housing material, and number of inhabitants per room, and used as a proxy of socioeconomic status.

¶¶ The wealth index was derived from information on ownership of selected household assets, land tenure, type of housing material, and number of inhabitants per room, and used as a proxy of socioeconomic status.

¶ The wealth index was derived from information on ownership of selected household assets, land tenure, type of housing material, and number of inhabitants per room, and used as a proxy of socioeconomic status.

uted within the study area and to identify significant spatial clusters if present.²⁵ Analysis was made using the Bernoulli model implemented in the version 4.0.3 of the SaTScan software.²⁶ This program creates circular windows that are moved systematically throughout the geographic space to identify significant clusters of infections. The windows are centered on each of the households; with the maximum window size set to include 50% of the households (i.e., the largest possible cluster would encompass 50% of the households). For each location and size of the scanning window, SaTScan performs a likelihood ratio test to evaluate whether infections are more prevalent within that specific circular window as compared with the outside. Separate analyses were made for: 1) at least one infection with any malaria parasite during the follow-up, 2) at least one infection with *P. falciparum*, and 3) at least one infection with *P. vivax*. Only subjects who stayed in the study site during the whole follow-up period (between March–April 2004 and May 2005) were included in the spatial analysis. The *P* values were determined by 100,000 Monte Carlo replications of the data set; and a level of significance of 5% was adopted.

Ethical considerations. The study protocol was approved by the Ethical Review Board of the Institute of Biomedical Sciences of the University of São Paulo, Brazil (318/2002 and 538/2004), and written informed consent was obtained from each adult participant and from the parent or legal guardian of every minor.

RESULTS

Baseline malaria prevalence. Of 405 subjects five years of age or older living in the study area, 388 (95.8%) had baseline blood samples examined for malaria parasites by thick smear microscopy and 386 (95.3%) by nested PCR. Conventional microscopy revealed 20 malarial infections at baseline (overall prevalence, 5.1%), with 14 *P. vivax* infections (prevalence, 3.6%) and 6 *P. falciparum* infections (prevalence, 1.5%). All but one slide-positive subject (infected with *P. falciparum*) had fever or other malaria-related symptoms at the time of blood sampling or within 60 days before or after the baseline survey. No mixed-species infection was found by microscopy. Nested PCR, however, revealed 60 baseline malaria infections (overall prevalence, 15.5%), with *P. falciparum* found in 20, *P. vivax* in 15, and both species in 15 subjects. The overall prevalence rates of PCR-diagnosed *P. falciparum* and *P. vivax* infections at baseline were 9.1% and 7.8%, respectively; 31 of 50 (62.0%) PCR-detected infections were asymptomatic. No *P. malariae* infections were diagnosed at the baseline by either microscopy or PCR.

Malaria morbidity during the follow-up. The study cohort comprised 264 males and 245 females (male:female ratio, 1.08:1) followed for an average of 11.5 months (10 days to 14.5 months), and thus contributing 489.7 person-years of follow-up. A total of 393 study participants (77.2%) remained free of malaria diagnosis during the follow-up. Of the remaining subjects, 71 had a single symptomatic malaria episode, 26 had two episodes, and 19 had between 3 and 6 episodes confirmed by microscopy. No episodes of severe or complicated malaria were diagnosed. Of 195 laboratory-confirmed malaria infections diagnosed during the follow-up, *P. vivax* accounted for 114 (58.5%), *P. falciparum* for 48 (24.6%), *P. falciparum* and *P. vivax* for 32 (16.4%), and *P. vivax* and *P. malariae* for 1

(0.5%). Overall, *P. vivax* (alone or in mixed-species infections) was found in 147 malaria episodes (incidence, 30/100 person-years at risk, 95% confidence interval [CI] of 25.4–35.3/100 person-years at risk), and *P. falciparum* (alone or in mixed-species infections) was found in 80 malaria episodes (incidence, 16.3/100 person-years at risk, 95% CI of 12.9–20.3/100 person-years at risk), with a 1.8:1 species ratio. The proportions of study participants who remained free of *P. vivax* and of *P. falciparum* malaria during the follow-up were similar (82.9% and 86.8%, respectively), although the proportions of subjects with two or more consecutive episodes due to each species differed substantially (6.7% and 2.2%, respectively), possibly because of relatively high rates of *P. vivax* relapses in this area.²⁷ The temporal distribution of malaria episodes according to species is shown in Figure 3; the monthly incidence of *P. vivax* malaria ranged between 0.24 (April 2005) and 6.25 (May 2004) episodes/100 person-months at risk, whereas that of *P. falciparum* malaria ranged between 0 (November 2004) and 4.24 (June 2004) episodes/100 person-months at risk.

Risk factors for malaria morbidity. Mixed-effects logistic regression analysis showed that being a land clearer or sharing a house with one, living in a crowded household, and having had one or more recent slide-confirmed malaria episodes were independent predictors of the risk of having at least one malaria episode of any type during the follow-up (Table 1). The risk of malaria morbidity was highest for newcomers to the study area as the following findings suggest: 1) prolonged residence in the study area, but not subjects' age, was associated with reduced risk and 2) living in the more recently occupied sectors of the study area (increased "house location") correlated with increased risk (Table 1). When we analyzed risk factors for *P. vivax* and *P. falciparum* separately, a few differences emerged (Table 2). For example, 1) occupation was a stronger predictor of risk of *P. falciparum* than *P. vivax* malaria, 2) sharing the house with a land-clearer was a stronger predictor of *P. vivax* than *P. falciparum* malaria, and 3) recreational fishing in different water bodies was

FIGURE 4. Proportions of subjects with one or more incident symptomatic infections with *Plasmodium falciparum* (black bars), *Plasmodium vivax* (white bars), and malaria episodes caused by any species (hatched bars), diagnosed between March 2004 and May 2005, according to the length of residence (in years) in the study area in rural Amazonia.

associated with reduced risk of morbidity with either species. Interestingly, the positive association between poverty and malaria morbidity suggested by the exploratory analysis either disappeared (*P. vivax*) or reversed (*P. falciparum*) after adjusting for more distal determinants of malaria risk in multivariate models.

The proportions of subjects with at least one episode of symptomatic malaria diagnosed during the follow-up decreased with increasing length of residence in the study area (Figure 4). Accordingly, multivariate models showed that the probability of having malaria caused by any species and the result of solely *P. vivax* during the follow-up increased during the first 5–6 years of residence in the study area and declined sharply thereafter (Figure 5). In contrast, the probability of having *P. falciparum* malaria varied slightly less markedly with duration of residence in the area, reaching a peak at 8–9 years and decreasing slowly thereafter (Figure 5).

Spatial distribution of malaria. Complete data for spatial analysis were available for 401 subjects, residing in 107 households, who were under continuous malaria surveillance between March–April 2004 and May 2005. Spatial scan statistics

revealed a single significant cluster ($P = 0.0001$) comprising 75 subjects with at least one malaria infection of any type diagnosed during the study ($v. 42.6$ expected). Therefore, 78.9% of all subjects with incident malaria lived in just 47 households (43.9%), which were inhabited by a total of 180 people (44.9% of the sample). These households were within a 6.2 km radius of each other (Figure 5). A smaller cluster, involving 36 subjects ($v. 12.1$ expected) with at least one incident episode of *P. falciparum* malaria, was also highly significant ($P = 0.0001$). Twenty-one households (19.6%), inhabited by 87 people (21.7% of the sample), comprised 64.3% of all subjects with one or more incident *P. falciparum* malaria episodes. These households were situated within a 1.9 km radius of each other and had been included in the larger cluster of malaria caused by any species. *P. vivax* malaria was also spatially clustered; the spatial scan statistics detected a single significant cluster ($P = 0.0001$) comprising 58 subjects with at least one clinical episode of slide-confirmed *P. vivax* malaria during the study ($v. 33.2$ expected). Therefore, 82.9% of all subjects who had *P. vivax* malaria lived in the 50 households (46.7%) inhabited by 190 people (47.4% of the sample).

FIGURE 5. Lowess smoothed curve showing the association between length of residence in the study area (a proxy of cumulative exposure to malaria), and the probability of having of malaria of any type (left panel), *Plasmodium vivax* malaria (central panel), and *Plasmodium falciparum* malaria (right panel) during the follow-up. Circles represent individual probabilities derived from mixed-effects logistic regression models.

These 50 households were situated within a 6.6 km radius of each other; and only three of them were not included in the larger cluster of malaria (regardless of the species) (Figure 6).

We used logistic additive models to explore the effect of the place of residence ("house location") on the odds of having malaria during the follow-up. The shapes of the association between place of residence and risk of *P. vivax* and *P. falciparum* malaria clearly differed from each other (Figure 7): although the risk of having *P. vivax* malaria increased linearly with distance from the index house, that of *P. falciparum* morbidity increased sharply at a distance of 12–15 km from the index house, peaking at 14 km. This high-risk area roughly coincides with the spatial cluster of *P. falciparum* detected by spatial scan statistics (Figure 6). The covariate "house location" explained 16.0%, 12.2%, and 20.2% of the deviance observed in logistic additive models for malaria of any type, *P. vivax* malaria and *P. falciparum* malaria, respectively ($P < 0.0001$), indicating that the place of residence was a major determinant of malaria morbidity in the study area.

DISCUSSION

Few population-based prospective studies have focused on malaria morbidity and associated risk factors in communities originating from frontier agricultural settlements in the Ama-

zon Basin of Brazil.^{28,29} The classic description of frontier malaria in Amazonia, by Sawyer,⁵ comprises three stages: epidemic, transition, and endemic. The first stage is characterized by high malaria rates and the inefficacy of traditional control measures, whereas the transition period is marked by declines in malaria rates that are partially explained by improved health infrastructure and reduced mobility of settlers. Malaria transmission becomes less intense and more stable in the final stages. Our study site provides an example of how the continuous influx of settlers to the forest fringes of the original settlements creates a heterogeneous pattern of malaria transmission with both epidemic and endemic features.

At least three findings of the present study have clear implications for designing appropriate interventions against malaria in our site and other settings with similar endemicity. First, malaria morbidity is clearly associated with forest-related activities such as land clearing and, to a lesser extent farming, which together represent the primary occupation of 35.9% study participants. In addition, sharing the house with a land clearer nearly doubled the odds of having malaria, after controlling for house location and several other covariates. Because land clearing also leads to changes in relative vector abundance that may favor malaria transmission in such a modified environment,³⁰ this activity plays a crucial role in maintaining malaria transmission in the entire commun-

FIGURE 6. Spatial clustering of households with subjects having at least one malaria episode diagnosed during the follow-up, as detected with the spatial scan statistic.²² Complete data for spatial analysis were available for 401 subjects distributed into 107 households, which are represented with either a black, dark gray, light gray, or white circles; households with incomplete follow-up data are represented with squares, and government-run malaria diagnosis outposts are represented with triangles. The 21 black circles show the Global Positioning System (GPS)-determined location of households included in the cluster of *Plasmodium falciparum* malaria; *Plasmodium vivax* malaria episodes were clustered into 50 households represented as either black, dark gray, or light gray circles, whereas malaria of any type was clustered into 47 households represented as either black or dark gray circles.

FIGURE 7. Risk of having malaria of any type (left panel), *Plasmodium vivax* malaria (central panel), and *Plasmodium falciparum* malaria (right panel) during the follow-up, expressed as log-transformed odds, according to the site of residence in the study area (house location). House location gives the linear distance in km between each dwelling and an index house situated in the sector of earliest human occupation in the study area. Data were fitted with logistic additive models with integrated smoothness estimation, using penalized regression splines; dotted lines represent the 95% confidence intervals (CI) around the spline. The horizontal dotted line corresponds to log (odds) of zero.

ity. These circumstances are reminiscent of the well-studied forest-malaria phenomenon in Southeast Asia^{31,32} and call for specific individual- and community-level interventions to reduce the risk of forest-related malaria in frontier settlements of the Amazon Basin.

Second, the probability of having malaria decreases after five years of residence in the settlement, but is not affected by the subject's age. The decline in malaria morbidity with prolonged residence remains statistically significant after controlling for several factors that are potentially associated with increased malaria risk in newcomers, such as the place of residence (newcomers tend to settle in forest fringes, where transmission is more intense and environmental conditions differ from those in areas of earlier settling) and occupation (newcomers are often hired as land clearers before they can earn a living from their crops and cattle ranching). These findings suggest that gradual acquisition of clinical immunity to malaria exists under conditions of low endemicity that prevail in most communities originated from frontier settlements in rural Amazonia. Despite the relatively low levels of local

malaria transmission, malaria-exposed subjects often harbor subclinical infections with very low parasite loads, most of them detected only by PCR.^{33–36} Our data indicate that asymptomatic carriers may constitute a significant reservoir of malaria not only in isolated and sparsely populated riverine communities of native Amazonians,³³ but also in more densely populated agricultural settlements.

Third, we showed a significant spatial clustering of malaria risk in the study site. These results suggest that malaria control measures should be spatially targeted for maximum effect.³⁷ Significantly, two-thirds of subjects who had *P. falciparum* malaria episode(s) diagnosed during the follow-up lived in one-fifth of the dwellings, all situated in the more recently occupied areas of the study site. The spatial clustering of malaria revealed by this and other studies^{6,7,37} indicates that selective house spraying and other household-specific interventions are possibly efficient malaria control strategies in this and other settings with similar endemicity.

Subjects with malaria episodes shortly before the baseline survey were at an increased risk for subsequent malaria infections

during the follow-up, most likely a result of the continuous exposure to some of the risk factors identified in our study. Interestingly, some predictors of malaria risk affect predominantly newcomers to the area in a synergistic way. First, the newcomers, before being able to earn the living from their own land, are often hired by local farmers to work in high-risk activities such as land clearing. Second, vacant land plots available for new settlers are often covered with native rain forest and are situated close to protected forest reserves. Extensive deforestation will thus be required before this land can be used for cultivation or cattle ranching. Finally, because most newcomers are migrants from malaria-free regions, they lack acquired immunity to malaria parasites. As a result, the continuous arrival of nonimmune settlers to occupy recently demarcated plots in the periphery of more structured colonization projects results in further environmental change that maintain malaria transmission in a number of communities in rural Amazonia.

Only two malaria parasite species, *P. vivax* and *P. falciparum*, are of public health importance in our study site. The absence of *P. malariae* in the baseline survey and the low incidence of *P. malariae* during the follow-up (this parasite was found in only 1 of 195 infections) contrast with the high proportion of infections with this species (9.4–11.9%) found in other frontier areas of Brazil.^{17,18} The reasons for these differences are unclear given that similar diagnostic methods were used in all studies. However, the proportions of mixed-species infections diagnosed in the baseline survey (15 of 60 PCR-diagnosed infections, 25%) and during the follow-up (33 of 195 infections, 16.9%) are within the previously reported ranges (determined by PCR) for native (5.4–36.1%)³³ and for migrant populations (25.7–30.2%)^{17,18} across the Amazon Basin of Brazil.

Assessing malaria risk factors in frontier settlements is particularly challenging because of several factors: 1) there is no clear-cut correlate of cumulative exposure to malaria, as age is in rural Africa; 2) individuals cluster into households where several risk factors are shared; and 3) rural settlements usually consist of straight roads with linear or nonlinear gradients of time- and space-dependent covariates. These features were carefully considered in the present analysis, leading to the identification of several independent predictors of malaria risk in rural Amazonia that are potential targets for control measures. Further analyses of data generated by this ongoing cohort study are expected to provide additional insights into the phenomenon of frontier malaria in the Amazon Basin.

Received March 14, 2008. Accepted for publication July 7, 2008.

Acknowledgments: The authors thank the inhabitants of Ramal do Granada for their participation in the study; Sebastião Bocalom Rodrigues, Damaris de Oliveira, and Nésio M. Carvalho (Municipal Government of Acrelândia), Raimundo A. Costa and the malaria control teams in Granada and Acrelândia, for their logistic support, Adamilson Luis de Souza and Carlos E. Cavasini for help in fieldwork, Francisco das Chagas O. Luz (Ministry of Health, Brasília, Brazil) for reviewing all malaria slides, Marília Sá Carvalho and Oswaldo Cruz Foundation (Program of Scientific Computation, Oswaldo Cruz Foundation) for their helpful advice in the statistical analysis, Cassiano P. Nunes, for artwork, and Tatiana Havryliuk for a critical reading of the manuscript.

Financial support: CNPq (470067/2004-7) and FAPESP (03/09719-6 and 05/51988-0) to M.U.F.; scholarships from FAPESP (M.d.S.N. and C.J.), and CNPq (N.S.d.S. and M.U.F.) are also acknowledged.

Authors' addresses: Mônica da Silva-Nunes, Natal S. da Silva, Camila Juncansen, and Marcelo U. Ferreira, Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 1374, São Paulo, São Paulo, Brazil 05508-900, E-mails: msnunes1@yahoo.com.br, natalss@gmail.com, camilacj@gmail.com, and muferrei@usp.br. Cláudia T. Codeço, Program of Scientific Computation, Oswaldo Cruz Foundation, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil 21045-900, E-mail: codeco@fiocruz.br. Rosely S. Malafronte, Laboratory of Protozoology, Institute of Tropical Medicine of São Paulo, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 470, Cerqueira César, São Paulo, São Paulo, Brazil 05403-000, E-mail: rmalafronte@usp.br. Pascoal T. Muniz, Department of Health Sciences, Federal University of Acre, BR 364 km 4, Rio Branco, Acre, Brazil 69915-000, E-mail: pascoal@ufac.br.

Reprint requests: Mônica da Silva-Nunes or Marcelo U. Ferreira, Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 1374, 05508-900 São Paulo (SP), Brazil, E-mails: msnunes1@yahoo.com.br and muferrei@usp.br.

REFERENCES

- Loiola CC, da Silva CJ, Tauil PL, 2002. Malaria control in Brazil: 1965 to 2001. *Rev Panam Salud Publica* 11: 235–244.
- Marques AC, 1987. Human migration and the spread of malaria in Brazil. *Parasitol Today* 3: 166–170.
- National Program for Malaria Prevention and Control, Ministry of Health of Brazil. Available at: <http://portalsaude.gov.br/portalsaude/>. Accessed January 2008.
- Norris DE, 2004. Mosquito-borne diseases as a consequence of land use change. *EcoHealth* 1: 19–24.
- Sawyer DR, 1988. *Frontier Malaria in the Amazon Region of Brazil: Types of Malaria Situations and Some Implications for Control*. Brasília, Pan American Health Organization/WHO/ Special Programme for Research Training in Tropical Diseases.
- de Castro MC, Monte-Mór RL, Sawyer DO, Singer BH, 2006. Malaria risk on the Amazon frontier. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 2452–2457.
- de Castro MC, Sawyer DO, Singer BH, 2007. Spatial patterns of malaria in the Amazon: implications for surveillance and targeted interventions. *Health Place* 13: 368–380.
- Silva-Nunes M, Malafronte RS, Luz Bde A, Martins LC, Rodrigues SG, Chiang JO, Vasconcelos PF, Muniz PT, Ferreira MU, 2006. The Acre Project: the epidemiology of malaria and arthropod-borne virus infections in a rural Amazonian population. *Cad Saude Publica* 22: 1325–1334.
- Filmer D, Pritchett LH, 2001. Estimating wealth effects without expenditure data—or tears: an application to educational enrollments in states of India. *Demography* 38: 115–132.
- Kimura M, Kaneko O, Liu Q, Zhou M, Kawamoto F, Wataya Y, Otani S, Yamaguchi Y, Tanabe K, 1997. Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. *Parasitol Int* 46: 91–95.
- Win TT, Lin K, Mizuno S, Liu Q, Ferreira MU, Tantular IS, Kojima S, Ishii A, Kawamoto F, 2002. Wide distribution of *Plasmodium ovale* in Myanmar. *Trop Med Int Health* 7: 231–239.
- Fundação Nacional de Saúde, 2001. *Diagnóstico e Tratamento da Malária*. Brasília: Ministério da Saúde, Brasil.
- Ferreira MU, da Silva-Nunes M, Bertolino CN, Malafronte RS, Muniz PT, Cardoso MA, 2007. Anemia and iron deficiency in school children, adolescents, and adults: a community-based study in rural Amazonia. *Am J Public Health* 97: 237–239.
- Bastos MS, da Silva-Nunes M, Malafronte RS, Hoffmann EH, Wunderlich G, Moraes SL, Ferreira MU, 2007. Antigenic polymorphism and naturally acquired antibodies to *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 in rural Amazonians. *Clin Vaccine Immunol* 14: 1249–1259.
- Scopel KK, da Silva-Nunes M, Malafronte RS, Braga EM, Ferreira MU, 2007. Variant-specific antibodies to merozoite surface protein 2 and clinical expression of *Plasmodium falciparum* malaria in rural Amazonians. *Am J Trop Med Hyg* 76: 1084–1091.

16. Nájera JA, 2001. Malaria control: achievements, problems and strategies. *Parassitologia* 43: 1-89.
17. Cavasini MT, Ribeiro WL, Kawamoto F, Ferreira MU, 2000. How prevalent is *Plasmodium malariae* in Rondônia, western Brazilian Amazon? *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 489-492.
18. Scopel KK, Fontes CJ, Nunes AC, Horta MF, Braga EM, 2004. High prevalence of *Plasmodium malariae* infections in a Brazilian Amazon endemic area (Apuacás-Mato Grosso State) as detected by polymerase chain reaction. *Acta Trop* 90: 61-64.
19. R Development Core Team, 2007. The R Foundation of Statistical Computing. Available at: <http://R-project.org>. Accessed between August 2007 and June 2008.
20. Sakamoto Y, Ishiguro M, Kitagawa G, 1986. *Akaike Information Criterion Statistics*. Boston: Reidel Publishing Company.
21. Cook RD, Weisberg S, 1984. *Residuals and Influence in Regression*. New York: Wiley.
22. Fox J, 1997. *Applied Regression, Linear Models, and Related Methods*. Thousand Oaks: Sage.
23. Bates D, Maechler M, Dai B, The lme4 package (2008). Available at: <http://lme4.r-forge.r-project.org>. Accessed June 2008.
24. Wood SN, 2004. Stable and efficient multiple smoothing parameter estimation for generalized additive models. *J Am Stat Ass* 99: 6736-6786.
25. Kulldorff M, Nagarwalla N, 1995. Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat Med* 14: 799-819.
26. SaTScan, Software for spatial, temporal and space-time scan statistics. Available at: <http://www.satscan.org/>. Accessed January 2008.
27. Ferreira MU, Karunaweera ND, da Silva-Nunes M, da Silva NS, Wirth DF, Hartl DL, 2007. Population structure and transmission dynamics of *Plasmodium vivax* in rural Amazonia. *J Infect Dis* 195: 1218-1226.
28. Camargo LM, Ferreira MU, Krieger H, de Camargo EP, da Silva LP, 1994. Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. *Am J Trop Med Hyg* 51: 16-25.
29. Duarte EC, Gyorkos TW, Pang L, Abrahamowicz M, 2004. Epidemiology of malaria in a hypoendemic Brazilian Amazon migrant population: a cohort study. *Am J Trop Med Hyg* 70: 229-237.
30. Vittor AY, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields T, Lozano WS, Pinedo-Cancino V, Patz JA, 2006. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of falciparum malaria in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 74: 3-11.
31. Sharma VP, Kondrashin AV, 1991. Forest malaria in Southeast Asia. *Proceedings of an Informal Consultative Meeting WHO/MRC*. New Delhi: World Health Organization.
32. Erhart A, Thang ND, Hung NQ, Toi le V, Hung le X, Tuy TQ, Cong le D, Speybroeck N, Coosemans M, D'Alessandro U, 2004. Forest malaria in Vietnam: a challenge for control. *Am J Trop Med Hyg* 70: 110-118.
33. Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Silva LH, Camargo EP, 2002. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am J Trop Med Hyg* 66: 641-648.
34. Branch OL, Casapia WM, Gamboa DV, Hernandez JN, Alava FF, Roncal N, Alvarez E, Perez EJ, Gotuzzo E, 2005. Clustered local transmission and asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria infections in a recently emerged, hypoendemic Peruvian Amazonian community. *Malar J* 4: 27.
35. Roshanravan B, Kari E, Gilman RH, Cabrera L, Lee E, Metcalfe J, Calderon M, Lescano AG, Montenegro SH, Calampa C, Vinetz JM, 2003. Endemic malaria in the Peruvian Amazon region of Iquitos. *Am J Trop Med Hyg* 69: 45-52.
36. da Silva-Nunes M, Ferreira MU, 2007. Clinical spectrum of uncomplicated malaria in semi-immune Amazonians: beyond the "symptomatic" vs "asymptomatic" dichotomy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 341-347.
37. Carter R, Mendis KN, Roberts D, 2000. Spatial targeting of interventions against malaria. *Bull World Health Organ* 78: 1401-1411.

ANEXO B - Ficha de avaliação clínica do paciente com malária***Ficha Clínica do Paciente******Malária Vivax***

Data da Entrevista: ____/____/____ Data da Digitação: ____/____/____

Parte I - Identificação

Paciente N°.: _____ Domicílio N°.: _____

Nome Completo: _____

Sexo: ☐ Masc. ☐ Fem.

Data do Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ anos

Profissão: _____

Escolaridade:

- ☐ Não frequentou escola e não sabe ler e escrever
- ☐ Não frequentou escola, mas sabe ler e escrever
- ☐ Não sabe/não informa
- ☐ Frequentou escola : _____ série do _____ grau (completa)
- ☐ Não se aplica

Malária por vivax de número _____ no estudo

Malária por vivax de número _____ no período

Parte II – Interrogatório Complementar e Antecedentes Pessoais

1. Há quanto tempo mora nesta casa? _____ anos _____ meses
2. Há quanto tempo mora em Acrelândia? _____ anos _____ meses
3. Há quanto tempo mora no Acre? _____ anos _____ meses
4. Há quanto tempo mora na Amazônia? _____ anos _____ meses

5. Moradias anteriores em outros estados:

Estado	Local		Anos
	Zona Urbana	Zona Rural	

6. Você já teve malária antes?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe

7. Em caso positivo:

Mês/ano	Espécie	Tratamento

8. Você teve alguma reação ao tratamento de alguma das malárias?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐ Não se aplica

Qual ? _____

9. Você fez o tratamento completo da malária anterior à atual?

- ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐ Não se aplica

10. Além dos remédios da FUNASA, você costuma tomar remédio caseiro para combater a malária?

- ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐ Não se aplica

Qual ? _____

11. Algum médico já lhe disse que você tem ou teve alguma dessas doenças:

- ☐ Tuberculose ☐ Hepatite ☐ Anemia ☐ Dengue
☐ HAS ☐ Asma ☐ Bronquite

12. Você tem algum outro problema de saúde?

- ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe

Qual ? _____

13. Você toma algum outro remédio frequentemente?

- ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe

Qual ? _____

14. Já tomou vacina contra a hepatite B alguma vez na vida?

- ☐ Sim, três doses ☐ Sim, uma ou duas doses
☐ Não ☐ Não sabe

15. Já esteve internado alguma vez?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe/não lembra

Motivo: _____

Período (nº de dias de internação): _____

Ano em que foi internado: _____

Nome hospital: _____

Cidade: _____

Motivo: _____

Período (nº de dias de internação): _____

Ano em que foi internado: _____

Nome hospital: _____

Cidade: _____

Motivo: _____

Período (nº de dias de internação): _____

Ano em que foi internado: _____

Nome hospital: _____

Cidade: _____

Motivo: _____

Período (nº de dias de internação): _____

Ano em que foi internado: _____

Nome hospital: _____

Cidade: _____

16. Qual dessas atividade/ocupação você fez nos últimos 12 meses?

16.1. Pescar ou dormir na beira do rio:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe/não lembra

Se sim, qual o local?

☐ Amazonas ou próximo ao Iquiri ☐ Outro local

16.2. Derrubada:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe/não lembra

Se sim, qual o local?

☐ Amazonas ou próximo ao Iquiri ☐ Outro local

16.3. Plantação/roça:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe/não lembra

Se sim, qual o local?

☐ Amazonas ou próximo ao Iquiri ☐ Outro local

17. Qual foi sua principal atividade/ocupação nos últimos 12 meses?

Parte III – Quadro Clínico

Malária Vivax

18. Início dos sintomas: ____/____/____ ou ____ dias

19. Diagnóstico FUNASA:

☐ Gota espessa: ____/____/____ Resultado: _____

☐ Esfregaço: ____/____/____ Resultado: _____

☐ LVC1: ____/____/____ Resultado: _____

☐ LVC2: ____/____/____ Resultado: _____

☐ LVC3: ____/____/____ Resultado: _____

☐ Lâmina não realizada

20. Confirmação do diagnóstico:

☐ PCR: ____/____/____

Teve algum dos sintomas abaixo?

21. Febre: ☐ Não ☐ Sim

a) Temp: _____ °C

b) Intervalo: _____ dias ou _____ horas

- c) Validação: ☐ Referida ☐ Médico
- d) Frequência: ☐ Intermitente (1) ☐ Contínuo (2)
- e) Intensidade: ☐ Baixa (37 °C a 38,5 °C) (1) ☐ Alta ($\geq 38,5$ °C) (2)
- f) Período mais frequente: ☐ Matutino ☐ Vespertino ☐ Noturno
- g) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece

22. Calafrios: ☐ Não ☐ Sim

- a) Tempo entre início dos sintomas e início dos calafrios: _____ dias ou _____ horas
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderado ☐ Intensa
- c) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece

23. Sudorese: ☐ Não ☐ Sim

- a) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Segue o padrão calafrio → febre → sudorese? ☐ Sim ☐ Não
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece

24. Cefaleia: ☐ Não ☐ Sim
- a) Característica: ☐ Frontal ☐ Nucal ☐ Holocraniana
☐ Hemicraniana ☐ Outro
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
25. Náuseas: ☐ Não ☐ Sim
- a) Frequência: ☐ Intermitente (1) ☐ Contínuo (2)
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
26. Vômitos: ☐ Não ☐ Sim
- a) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- b) Qual o intervalo? _____
- c) Tipo: ☐ Em jato ☐ Com restos alimentares ☐ Outros: _____
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
27. Mialgia: ☐ Não ☐ Sim
- a) Característica: ☐ Difusa ☐ Localizada Onde? _____
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece

28. Dor abdominal: ☐ Não ☐ Sim
- a) Tipo 1: ☐ Pontada ☐ Queimação ☐ Cólica ☐ Outra: _____
- b) Tipo 2: ☐ Difusa ☐ Localizada Onde? _____
- c) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- d) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- e) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
29. Diarreia: ☐ Não ☐ Sim
- a) Frequência: ____/dia
- c) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- d) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- e) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
30. Sangramento: ☐ Não ☐ Sim
- a) Localização: ☐ Mucosa ☐ Urina ☐ Anal ☐ Outra: _____
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
31. Artralgia: ☐ Não ☐ Sim
- a) Simetria: ☐ Simétrica ☐ Assimétrica
- b) Articulação comprometida: _____
- c) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- d) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- e) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
32. Alteração da consciência: ☐ Não ☐ Sim
- a) Duração: ☐ Ignorada ☐ Conhecida: _____

33. Tontura: ☐ Não ☐ Sim
- a) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
34. Tosse: ☐ Não ☐ Sim
- a) Tipo: ☐ Seca ☐ Produtiva
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- d) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ melhora com remédio
☐ Não desaparece
35. Desconforto respiratório: ☐ Não ☐ Sim
- a) Frequência: ☐ Intermitente ☐ Contínuo
- b) Intensidade: ☐ Leve ☐ Moderada ☐ Intensa
- c) Remissão: ☐ Desaparece espontaneamente ☐ Só melhora com remédio
☐ Não desaparece
36. Houve outras infecções associadas? ☐ Não ☐ Sim
Quais? _____
37. O (a) Sr.(a) deixou de fazer suas atividades por causa da malária?
☐ Não ☐ Sim, parcialmente ☐ Sim, totalmente

Parte IV – Hábitos

38. Usa mosquiteiro? ☐ Não ☐ Sim
39. Usa repelente? ☐ Não ☐ Sim
40. Usa outros meios de proteção? ☐ Não ☐ Sim

Parte V – História Prévia de Malária

41. Assinalar uma das alternativas abaixo:

- ☐ Morador de zona endêmica, com malária prévia
- ☐ Morador de zona endêmica, sem malária prévia
- ☐ Morador de zona não-endêmica, com história de exposição à malária há mais de 5 anos
- ☐ Morador de zona não-endêmica, com história de exposição à malária há menos de 5 anos
- ☐ Morador de zona não-endêmica, sem história de exposição à malária
- ☐ Não se aplica, sempre morou aqui

Exposição à malária: viagem à zona endêmica, moradia prévia em zona endêmica, ou contato com doente

Parte VI – Exame Físico

Exame geral

1. Temperatura axilar: _____ °C PA: _____ mmHg
FC: _____ bpm FR: _____ ipm
Peso: _____ Kg
2. Para os sinais ou sintomas abaixo, classificar segundo o código:
0 - Ausente 1 - Leve 2 – Moderada 3 – Intensa
Palidez: _____ Cianose: _____ Desidratação: _____ Icterícia: _____
3. No momento do exame físico, o paciente apresenta algum dos sintomas abaixo? (Descrever cada um deles)
- Prostração: _____
Vômitos: _____
Sudorese: _____
Calafrios: _____
Mialgia: _____
Dor abdominal: _____
Sangramento: _____
Cefaleia: _____
Convulsões: _____
Spiders: _____

Exame Cardiológico

4. Inspeção: _____
5. Palpação: _____
6. Ausculta: _____

Exame torácico

7. Inspeção: _____
8. Percussão: _____
9. Ausculta: _____

Exame abdominal

10. Inspeção: _____
11. Palpação: _____
12. Ausculta: _____

Exame osteoarticular

13. Inspeção: _____
14. Palpação: _____

Exame Neurológico

15. Glasgow: _____
16. Paresia: _____
17. Parestesia: _____
18. Outros: _____

Exame Vascular

19. Perfusão periférica: _____
20. Sangramentos: _____

Outros Diagnósticos clínicos

Observações

ANEXO C - Questionário de avaliação socioeconômica

Avaliação Socioeconômica

Malária Vivax

N.º FUNASA: Casa: _____ Lote: _____ Ramal: _____		
N.º Domicílio: _____		
Localização GPS:		
Altitude: _____	Latitude: _____	
	Longitude: _____	
Entrevistador: _____		
Informante: _____		
Data da Entrevista: ____/____/____		

1. Tipo de domicílio 01. tipo do ____
 - ☐ Casa de alvenaria
 - ☐ Casa de madeira
 - ☐ Barraco
 - ☐ Quarto/cômodo
 - ☐ Outro. Qual? _____
2. Número de cômodos (não incluir banheiros): _____ 02. comod ____
3. Número de moradores: _____ 03. morad ____
4. Tipo de telhado 04. tipote ____
 - ☐ Completo
 - ☐ Incompleto

5. Material predominante telhado

05. telhad ____

☐ Telha de barro

☐ Palha

☐ Madeira

☐ Amianto

☐ Laje de concreto

☐ Outro Qual: _____

6. Tipo de parede

06. tipopare ____

☐ Com frestas

☐ Sem frestas

7. Material predominante na parede

07. pared ____

☐ Tijolo/bloco com revestimento

☐ Tijolo/bloco sem revestimento

☐ Palha/Papelão

☐ Madeira

☐ Outro Qual: _____

8. Material predominante no piso

08. piso ____

☐ Terra batida

☐ Cimento/tijolo/lajota

☐ Madeira

☐ Cerâmica/mosaico

☐ Outro Qual: _____

9. Tipo de banheiro

09. banheir____

- ☐ Fossa
- ☐ Individual com descarga
- ☐ Individual sem descarga
- ☐ Coletivo com descarga
- ☐ Coletivo sem descarga
- ☐ Outro Qual: _____

10. Forração no teto?

10. forro____

- ☐ Não ☐ Sim

11. Cozinha separada?

11. cozinha____

- ☐ Não ☐ Sim

12. Fechamento das janelas

12. fechjan____

- ☐ Permanentemente abertas
- ☐ Podem ser fechadas

13. Presença de tela nas janelas

13. telajan____

- ☐ Sim, vedação eficiente
- ☐ Sim, vedação incompleta (ineficiente ou parcial)
- ☐ Não

14. Animais dormem dentro de casa?

14. animca____

- ☐ Não ☐ Sim

Quais? _____

15. Qual a fonte de água da casa?

15. agua____

☐ Chuva

☐ Poço

☐ Nascente

☐ Rio/Igarapé

☐ Açude

☐ Outro Qual: _____

16. Qual o tratamento da água utilizada para beber?

16. tratagu____

☐ Fervida

☐ Filtrada

☐ Mineral

☐ Fervida e filtrada

☐ Clorada em casa

☐ Não é tratada

17. O que você faz com o lixo de sua casa?

17. lixocas____

☐ Coletado

☐ Enterra

☐ Queima

☐ Joga fora em área aberta

☐ Joga no rio/igarapé

☐ Outro Qual: _____

18. Para onde vai o esgoto da sua casa?

18. esgoto____

☐ Rede de esgoto

☐ Fossa séptica

☐ Fossa negra

☐ Vala a céu aberto

☐ Rio/igarapé

☐ Outro Qual: _____

19. Existe energia elétrica em sua casa?

19. energ____

☐ Não

☐ Sim

20. Com que frequência falta energia em sua casa?

20. frequer____

☐ Nunca

☐ Frequentemente

☐ Raramente

☐ Não sabe

21. A família é proprietária de terra, sítio, fazenda ou roça?

21. terra____

☐ Não

☐ Sim

☐ Não sabe

22. Se sim, qual o tamanho da terra? _____

22. tamterra____

☐ Não sabe

☐ Não se aplica

23. Qual a atividade desenvolvida no seu lote de terra?

23. ativterr____

Principal: _____

Secundária 1: _____

Secundária 2: _____

24. Existem animais na propriedade?

24. aniprop____

☐ Não ☐ Sim

Quais? _____

25. Há gado na propriedade?

25. gado____

☐ Não

☐ Sim, solto sempre ou maior parte do tempo

☐ Sim, confinado sempre ou maior parte do tempo

26. A família produz alimentos para consumo próprio? Quais?

a. Verdura e hortaliças	☐ Não	☐ Sim	26.1. verd____
b. Leite e derivados	☐ Não	☐ Sim	26.2. leite____
c. Carne e ovos	☐ Não	☐ Sim	26.3. carnov____
d. Feijão	☐ Não	☐ Sim	26.4. feijao____
e. Arroz, milho	☐ Não	☐ Sim	26.5. arrozmi____
f. Frutas	☐ Não	☐ Sim	26.6. fruta____
g. Extrativismo: _____	☐ Não	☐ Sim	26.7. extrat____
h. Caça/pesca: _____	☐ Não	☐ Sim	26.8. cacapes____

27. A família recebe auxílio social da Prefeitura, do Estado ou outra instituição?

27. Ajuda____

☐ Não

☐ Sim, regularmente

☐ Sim, irregularmente

☐ Não sabe

Qual: _____

28. Qual a renda mensal da família?

28. renda____

Renda: _____

☐ Não sabe/não se lembra

29. Quais dos bens abaixo existem em seu domicílio?

a. Televisão	☐ Não	☐ Sim	29.1. tv____
b. Aparelho de som	☐ Não	☐ Sim	29.2. som____
c. Vídeo	☐ Não	☐ Sim	29.3. videoc____
d. Fogão a gás	☐ Não	☐ Sim	29.4. fogao____
e. Geladeira	☐ Não	☐ Sim	29.5. gela____
f. Rádio	☐ Não	☐ Sim	29.6. radio____
g. Telefone	☐ Não	☐ Sim	29.7. telefo____
h. Liquidificador	☐ Não	☐ Sim	29.8. liqui____
i. Bicicleta	☐ Não	☐ Sim	29.9. bicicl____
j. Ferro elétrico	☐ Não	☐ Sim	29.10. ferro____
k. Carro	☐ Não	☐ Sim	29.11. car____
l. Jogo de sala estofado	☐ Não	☐ Sim	29.12. jogest____
m. Máquina de lavar roupa	☐ Não	☐ Sim	29.13. malav____
n. Antena parabólica	☐ Não	☐ Sim	29.14. antpar____
o. Computador	☐ Não	☐ Sim	29.15. comput____

ANEXO D - Registro fotográfico do Ramal do Granada

Figura 46- Centro de Saúde de Acrelândia
Veículo utilizado nos trabalhos em campo

Figura 47- Posto de saúde do quilômetro 16

Figura 48- Posto de saúde do quilômetro 24

Figura 49- Posto de saúde do quilômetro 30

Figura 50- Casa na Reserva da Linha 14

Figura 51- Linha 14 no inverno

Figura 52- Reserva da Linha 14 no inverno
Motocicleta utilizada nos trabalhos
em campo

Figura 53- Visita domiciliar

Figura 54- Ramal próximo à Linha 14

Figura 55- Coleta de gota espessa

Figura 56- Limpeza da terra pelo fogo

Figura 57- Linha 14 no verão