

Rayanne Alves de Arruda¹, Felipe Monteiro de Aratijo¹, Andreus Roberto Schlosser¹, Rudi Nogueira¹, Maria Gabriela Silva Guimaraes¹, Cássio Braga e Braga¹, Antonio Camargo Martins¹, Aline Ferreira da Silva¹, Athaid David Escalante Cayotopa¹, Wagner Werner Klein¹, Mardelson Nery de Souza¹, Breno Wilson Benevides Andrade¹, Paula Rúbia Jornada Bastos¹, Ana Caroline Santana dos Santos¹, João Vitor Coelho Pacheco¹, José Alcântara Filgueira-Júnior¹, Alanderson Alves Ramalho¹, Eder Ferreira de Arruda¹, Saulo Augusto Silva Mantovani¹, Thasciany Moraes Pereira¹, Breno Matos Delfino¹, Carlos Eugenio Cavasini², Rosely dos Santos Malafrente³, Izabel Cristina dos Reis⁴, Nildimar Alves Honório⁴, Cláudia Torres Codeço⁴, Mônica da Silva-Nunes¹

¹ Centro de Ciências da Saúde e do Desporto, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre

² Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto, São Jose do Rio Preto, SP

³ Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, SP

⁴ Programa de Computação Científica, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ,

Correspondência: Mônica da Silva-Nunes, Centro de Ciências da Saúde e do Desporto, Universidade Federal do Acre, BR 364 k 04, Rio Branco, Acre, email: msnunes1@yahoo.com.br.

Auxílios

Editais PPSUS 2013 FAPAC; Termo de Outorga 14/2013; FUNTAC (Edital FDCT 2011 T.O.14/2013, Edital PIBIC 01/2014; CNPq (Edital Universal 2011; processo n. 471295/2011-6).

Determinantes ambientais e não-ambientais da transmissão do plasmódio na paisagem urbana amazônica e suas consequências clínicas: estudo de base populacional em Mâncio Lima, Acre

Environmental and non-environmental determinants of plasmodium transmission in the Amazonian urban landscape and its clinical consequences: a population-based study in Mâncio Lima, Acre

RESUMO

Este estudo avaliou as mudanças ambientais da paisagem urbana de um município com alta incidência de malária na Amazônia brasileira (Mâncio Lima, Acre) e sua relação com a doença, com o objetivo de prover evidências de que a transmissão do Plasmódio é causada pelo modo como os seres humanos interagem com o meio-ambiente. Foram efetuados três estudos populacionais consecutivos, entre 2012 e 2013, com 1260 indivíduos, com identificação do plasmódio por microscopia e técnicas moleculares. Casos de malária foram analisados mediante um questionário clínico. O estudo entomológico envolveu 8 inquéritos transversais com coleta de formas imaturas em 90 corpos d'água, bem como avaliação espacial desses dados. Os resultados mostraram que a transmissão de malária na área deveu-se em grande parte a criação de tanques de piscicultura, que elevaram em cerca de 10 vezes a produtividade de imaturos de *Anopheles darlingi*, e à grande mobilidade da população, que se desloca para áreas de maior transmissão (como área ribeirinha e rural) e retorna infectada para a área urbana. Foram identificados casos de portadores assintomáticos do Plasmódio, embora em pequena quantidade. Os fatores associados a ausência de sintomas (infecção assintomática) foram o sexo e o tempo da última malária. Em pacientes sintomáticos, a frequência dos sintomas se relacionou com idade, número de malárias prévias e parasitemia. A concentração geográfica dos casos deveu-se em parte a características socioeconômicas agregadas no espaço, em conjunto com fatores ambientais como presença do vetor, visto que o uso infrequente de mosquiteiro associou-se com a incidência maior de malária.

Palavras-chave: Malária, Acre, Tanques de piscicultura

ABSTRACT

This study evaluated the environmental changes of the urban landscape of a municipality with a high incidence of malaria in the Brazilian Amazon (Mâncio Lima, Acre) and its relation with the disease, in order to provide evidence that the transmission of Plasmodium is caused by the way humans interact with the environment. Three consecutive population studies were carried out between 2012 and 2013, with 1260 individuals, with plasmodium identification by microscopy and molecular techniques. Malaria cases were analyzed using a clinical questionnaire. The entomological study involved 8 cross-sectional surveys with collection of immature forms in 90 bodies of water, as well as spatial evaluation of these data. The results showed that the transmission of malaria in the area was largely due to the creation of fish tanks, which increased the immature productivity of *Anopheles darlingi* by around 10 times, and the great mobility of the population, which moves to areas of greater transmission (as riverside and rural area) and returns infected to the urban area. Cases of asymptomatic Plasmodium carriers have been identified, albeit in small numbers. Factors associated with absence of symptoms (asymptomatic infection) were the sex and time of the last malaria. In symptomatic patients, the frequency of symptoms was related to age, number of previous malaria and parasitemia. The geographic concentration of the cases was due in part to aggregate socioeconomic characteristics in space, together with environmental factors such as vector presence, since the infrequent use of mosquito nets was associated with a higher incidence of malaria.

Key words: Malaria, Acre, Fish ponds

INTRODUÇÃO

A malária é uma das principais doenças parasitárias da atualidade, sendo causada por parasitas do gênero Plasmodium. O Brasil é o país que contribui com o maior número de casos no continente americano, sendo que a grande maioria deles (95%) ocorre na Amazônia Legal. Desde 2005 o estado do Acre apresenta o maior Índice Parasitário Anual (IPA) do Brasil, e a região de maior incidência de malária foi o Vale do Juruá, onde se localizam os municípios de Cruzeiro do Sul, Mâncio Lima e Rodrigues Alves, com 59 mil casos notificados em 2006. Muitos esforços no foram concentrados para combater essa epidemia de malária no Acre, o que resultou em uma redução do número de notificações para 20.000 em 2008, mas que não se manteve totalmente nos anos subsequentes.

A população amazônica passou de 4 milhões em 1960 para mais de 20 milhões em 2001 (IBGE, 2002)¹, impulsionada pela expansão das fronteiras agrícolas e extrativistas incentivadas pelo governo brasileiro. Com o aumento populacional, cresceu a pressão ambiental e a movimentação econômica² mostraram que na área periurbana de Porto Velho ainda ocorre alta incidência de *P. vivax* e *P. falciparum* (IPA entre 100 e 300) mesmo após 100 anos da construção da estrada Madeira-Mamore. A antropização do local levou a criadouros permanentes para *A. darlingi*, resultando em altas densidades vetoriais (Gil et al., 2007)³, fato descrito em outras regiões amazônicas também (Vittor et al., 2006; Vittor et al., 2009)^{4,5}. Outro fator facilitador é o trânsito dos moradores locais entre diferentes áreas, introduzindo o plasmódio em áreas urbanas onde existe o vetor (Cabral et al., 2010)⁶, e como tem ocorrido no município de Manaus, que tem sofrido epidemias de malária urbana desde 2003 em decorrência de invasões,

migrações e modificações antrópicas do meio-ambiente^{7,8} (Folha de São Paulo, 2003; Agência O Estado de São Paulo, 2010) .

Em 2004, foram notificados em Mâncio Lima 1.776 casos de malária, aumentando para 16.125 casos notificados em 2005, com IPA de 1332,97. Com as medidas de controle implementadas pelo governo, os casos de malária foram reduzidos para 4.398 em 2008, mas em 2010 já houve novo aumento na incidência. Esses casos distribuem-se heterogeneamente na 'area urbana (40%), rural e ribeirinha. Mesmo dentro da própria área urbana, há uma heterogeneidade espacial na incidência dos casos, com IPA variando entre 200 e 455. Uma possível causa para essa endemia 'e a atividade de piscicultura comercial desenvolvida na zona urbana e periurbana desses municípios, por favorecer a colonização por formas imaturas de anofelinos^{9,10,11} (Wotton et al., 1997; Rejmánková et al., 2000; Okech et al., 2007), mas não há ainda estudos confirmando ou não essa hipótese.

OBJETIVOS

Prover evidências científicas de que na região amazônica a transmissão do Plasmodio é causada pelo modo como os seres humanos interagem com o meio-ambiente, quantificar estatisticamente a contribuição dessas variáveis ambientais, bem como de variáveis não-ambientais para o risco de infecção plasmódial, e verificar a associação entre características do parasita e a expressão clínica da infecção no hospedeiro humano.

ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado no núcleo urbano do município Mâncio Lima, localizado no extremo oeste da região Amazônica, no Acre. Este município, com 550 mil km², é limitado pelos municípios de Cruzeiro do Sul e Rodrigues Alves e com a República do Peru (Figura 1). Mâncio Lima tem 14.884 habitantes distribuídos em zonas urbanas (57.3%), rurais ou ribeirinhas (37.9%) e aldeias indígenas (4.8%). A sede do município está localizada a 38 km de Cruzeiro do Sul e 650 km de Rio Branco. O acesso dá-se por via aérea (aeroporto de Cruzeiro do Sul), terrestre (BR 364, apenas no verão) e fluvial (Rio Juruá). O Município está em franca expansão, sua população dobrou nos últimos 15 anos e vários assentamentos rurais foram implementados nos últimos anos. A área urbana de Mâncio Lima segue o eixo SE → NO, paralelo ao rio Juruá. De forma alongada, ela se

espalha no entorno da estrada principal, Avenida Japiim. Ao norte/nordeste, a cidade é limitada por uma área de reserva bem preservada. À oeste e sudoeste e sul, as estradas continuam em direção às áreas e aldeias indígenas. Esta área é um mosaico de fragmentos florestados e derrubados.

População de estudo, desenho do estudo e técnicas de amostragem

A amostragem foi calculada baseada em uma prevalência de 25% de malária urbana, com 10% de precisão e uma taxa de perda por não-resposta de 10% (nível de confiança de 95%). Foram usados os setores censitários para sorteio proporcional dos domicílios de forma a garantir cobertura espacial. A população de cada bairro foi estimada baseada nos dados da Gerencia de Vigilância Ambiental e dos PSFs, e calculou-se o número de domicílios a serem sorteados em cada bairro mantendo-se a proporcionalidade populacional. Os inquéritos transversais foram efetuados a partir de amostragem aleatória por conglomerado. Dos 8 bairros da área urbana de Mâncio Lima, foram amostrados 7: Iracema, São Francisco, Jose Martins, São Vidal, Centro, Bandeirantes, Cobal. O bairro Guarani, embora considerado área urbana pelo IBGE, não foi amostrado por distar 5 km do núcleo urbano principal e porque a amostragem dos demais bairros levou mais tempo do que o previsto. O primeiro estudo transversal foi efetuado em janeiro de 2012, durando até março de 2012, onde se estabeleceu a linha de base, sendo incluídos 351 domicílios na linha de base. A amostragem foi proporcional ao número de domicílios por bairro, identificados a partir do cadastro dos PSF locais.

No primeiro estudo transversal foram entrevistadas 1287 pessoas, com idade entre 0 e 98 anos, sendo 50,2% do sexo masculino e 49,9% do sexo feminino, sendo a idade média da população masculina de 26,43 anos (mediana de 21 anos) e da feminina 28,21 anos (mediana de 24 anos), resultando em uma idade média geral de 27,32 anos (mediana de 22 anos). A escolaridade média foi de 7,17 anos de estudo (6,88 para o sexo masculino e 7,45 para o sexo feminino). A distribuição racial referida foi de 17,7% de brancos, 8,5% de negros, 3% de indígenas, 66,7% de pardos, 0,2% de indivíduos orientais, 1,5% de outros mestiços e não declarada em 0,8%.

As condições de moradia foram as seguintes: o tipo predominante de domicílio foi de madeira (61%), seguido de alvenaria (21,8%), ou construção mista (17,1%). Cerca de 11,4% das pessoas moravam

em terrenos com esgoto a céu aberto. A maioria dos moradores faz uso doméstico de água da rede pública (82,6%), sendo os demais de poço, nascente, rio, igarapé ou cacimba. As condições sanitárias dos domicílios mostram que 43,7% pessoas possuem banheiro com água encanada no vaso, 47,9% possuem apenas fossa (casinha), 3,9% não tem sanitário no domicílio e os demais usam outros tipos de sanitário. Cerca de 85,9% das pessoas possuem coleta domiciliar de lixo, e os demais enterram na propriedade, queimam ou jogam em áreas abertas.

A morbidade referida previa por malária foi de 78%, predominando a malária *vivax* (66,4% dos entrevistados). A morbidade referida por *Plasmodium falciparum* foi de 42,1%. Cerca de 24% dos entrevistados já tiveram pelo menos uma internação por causa de malária. A média de episódios de malária prévios referidos foi de 5,05 por pessoa, sendo a mediana de 3 episódios.

Diagnostico microscópico e molecular do Plasmodium:

Os esfregaços de sangue grosso foram corados com Giemsa, de acordo com diretrizes do Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 2005). O sangue venoso foi coletado em tubos de vácuo estéril com etilenodiaminotetraacético ácido (EDTA). As amostras foram preparadas e o DNA extraído e testado usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) aninhada de um segmento específico da espécie do gene de rRNA 18S de parasitas da malária humana, conforme descrito por Kimura et al. (1997), com modificações de Win et al. (2002). Os modelos de DNA para amplificação por PCR foram isolado a partir de 200 µl de sangue total (sempre que disponível) utilizando uma genômica de Mearrey-Nagel Kit de extração de DNA para tecidos (NucleoSpin Tissue; Macherey-Nagel, Dürur, Alemanha).

Aprovação ética: O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Acre em 2011 (processo n. 23107.016975/2011-28).

RESULTADOS

Prevalencia de Malária nos Estudos Transversais por Diagnostico Microscopico

No primeiro estudo transversal foram colhidas lamina para diagnostico microscópico de malária de 1260 pessoas, e a prevalência de malária baseada nesse teste microscópico foi de 1,2% (12

pessoas com malária *vivax* e 2 pessoas com malária *falciparum*).

No segundo estudo transversal, foram entrevistadas 1241 das 1287 pessoas originalmente incluídas no estudo, além de 82 novos moradores nos domicílios registrados, totalizando 1323 pessoas no estudo. Foram examinadas 1195 lamina, e a prevalência de malária baseada no diagnostico microscópico foi de 0,7% (7 de pessoas com malária *vivax* e 1 pessoa com malária *falciparum*).

No terceiro estudo transversal, foram entrevistadas 1458 pessoas, sendo 175 novos moradores. Foram examinadas 1319 lamina, e a prevalência de malária baseada no diagnostico microscópico foi de 0,37% (5 pessoas com malária *vivax*).

Prevalencia de Malária nos Estudos Transversais por Diagnostico Molecular

O diagnóstico molecular da infecção pelo *Plasmodium*, efetuado em 1228 pessoas examinadas no 1º estudo transversal, foi positivo para *P. vivax* em 52 pessoas (4,2%) e positivo para *P. falciparum* em 15 pessoas (1,2%). No 2º estudo transversal, foram examinadas 1193 pessoas, sendo que em 16 (1,3%) o teste evidenciou infecção pelo *P. vivax*, e em 6 pessoas (0,5%) ele foi positivo para *P. falciparum*. No 3º estudo transversal (junho de 2013), foram reexaminadas 1278 pessoas, das quais apenas 5 tiveram lamina positiva, e 67 tiveram PCR positivo.

Assim sendo, vemos que o PCR foi capaz de detectar mais infecções do que a microscopia optica, como já reportado na literatura. Os cinco casos de lamina positiva que resultaram em PCR negativo foram retestados, confirmando o resultado, e são portanto resultados falso-negativos, que podem ter ocorrido devido a inibidores presente no material coletado.

Prevalencia de Infecções Sintomaticas e Assintomaticas nos Inqueritos Transversais

Foram usados três critérios para definição de malária assintomática: presença de sintomas (13 sintomas pesquisados) no dia da coleta, nos 7 dias anteriores a coleta e nos 30 dias anteriores ao dia da coleta. No primeiro estudo transversal, cinquenta pacientes apresentavam malária sem sintomas no dia da coleta, mas ao considerar a presença de sintomas nos sete dias anteriores ao exame, a prevalência cai para 4,4%, sendo 21 casos por *P. vivax* e 9 casos por *P. falciparum*. Um pequeno número de indivíduos infectados só

apresentou sintomas mais de 7 dias antes da coleta de sangue.

Em junho de 2012, no período de seca, foram reexaminadas 1196 pessoas, das quais 18 tiveram diagnóstico de malária. Portanto, a prevalência de infecção plasmodial foi de 1,50%, inferior a da estação chuvosa descrita anteriormente. Desses, apenas um foi positivo para *P.falciparum*, e os demais positivos para *P.vivax*. Dos 18 pacientes com malária, apenas 1 não apresentou sintomas nos 30 dias antecedendo a coleta de sangue, e quatro não apresentaram sintomas nos sete dias antecedendo a coleta.

Em junho de 2013, foram reexaminadas 1278 pessoas, das quais apenas 5 tiveram lamina positiva para *P. vivax*, sendo todas confirmadas por PCR. Além disso, mais 62 pessoas apresentaram PCR positivo, sendo 50 para *P. vivax* e 12 para *P.falciparum*. Dos 50 pacientes com PCR positivo para *P. vivax*, 26 referiram sintomas nos 30 dias anteriores a gota espessa. Dos 12 pacientes com PCR positivo para *P. falciparum*, 8 referiram sintomas nos 30 dias anteriores ao PCR.

A presença de infecções assintomáticas pelo *Plasmodium* ocorreu em todos os estudos transversais. A avaliação dos sintomas por um período maior de tempo permite caracterizar melhor a infecção assintomática, visto que os sintomas podem ser intermitentes na malária. Deve-se buscar uma definição homogênea da infecção assintomática, ainda inexistente nos

Caracterização Clínico-Epidemiológica dos Casos de Infecção Assintomática e Infecção com Sintomas Identificados entre Janeiro de 2012 e Junho de 2012

Das 34 pessoas com infecção plasmodial assintomática (critério de 7 dias) identificadas em dois inquéritos transversais sucessivos, 26 são do sexo masculino e apenas 8 do sexo feminino, 76,4% são da raça parda ou negra, 56% seguem a religião católica e os demais seguem a religião evangélica ou outras. Apenas 33,9% referiram usar mosquiteiro sempre, e somente 36,5% tinham usado na noite anterior a entrevista. Metade dos pacientes referiram atividade de pesca na beira do rio e somente 14,7% disseram dormir na beira do rio durante a pesca. Cerca de 17,6% referiram já ter trabalhado em derrubadas e 88% referiram já ter tido malária antes.

Dos 50 indivíduos diagnosticados com infecção sintomática durante os estudos transversais, temos 50% do sexo masculino, 64% da religião católica, 72% da raça negra ou parda. Dos 50 indivíduos com malária e sintomas, 74% declararam ser usuários frequentes de mosquiteiro mas apenas 66% tinham usado na noite anterior a entrevista. Apenas 38% costumavam pescar na beira do rio e apenas 22% relataram dormir na beira do rio. Somente uma pequena parcela (12%) referiu trabalhar em atividades de derrubadas, e 94% referiram já ter tido malária anteriormente. (Tabela 1).

A prevalência de infecção assintomática, considerando-se somente as pessoas examinadas

TABELA 1 - COMPARAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM INFECÇÃO SINTOMÁTICA E ASSINTOMÁTICA

Presença de sintomas		Idade em anos	Anos de escolaridade	tempo que reside na casa	Tempo que reside na cidade	Tempo que reside no acre	Tempo desde a última malária (em meses)
Sim	Media	33,8	5,8	6,9	23,4	33,2	28
	Mediana	33,1	5	4,8	17,0	33,1	14
	Mínimo	1,75	0	0,08	0,25	1,75	0,1
	Maximo	98	15	32	98	98	156
Não	Media	29,22	6,7	9,6	22,2	28,7	15,1
	Mediana	27	7,0	6	17,5	26	6
	Mínimo	4	0	0	0	4	0,5
	Maximo	77	16	77	77	77	72
Valor de P*		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	0,044

*Teste do Qui-quadrado de Pearson

estudos publicados até hoje, permitindo uma melhor identificação desses indivíduos.

por método molecular, foi maior nos bairros São Francisco e Jose Martins. Quanto aos casos com sintomas, a prevalência foi maior nos bairros do Centro e Jose Martins (Tabela 2).

TABELA 2 – PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO SINTOMÁTICA E ASSINTOMÁTICA POR BAIRRO ESTUDADO, JANEIRO A JUNHO DE 2012.

Bairro	N. moradores	N. pessoas assintomáticas	Prevalência de infecção assintomática (%)	N. de pessoas com malária	Prevalência de infecção com sintomas (%)
Bandeira	109	5	4,58	2	1,83
centro	165	4	2,42	10	6,06
Cobal	148	3	2,02	5	3,37
Iracema	108	2	1,85	4	3,70
José mar	66	2	3,03	5	7,57
São Fco	386	12	3,10	13	3,36
São Vida	246	6	2,43	11	4,47
Total	1228	34	2,76	50	4,07

Fatores de Risco para Infecção Sintomática e Assintomática Durante os Estudos Transversais

Os fatores associados a ausência de sintomas (infecção assintomática) foram o sexo e o tempo da última malária. ($p = 0.008$, Teste do Qui-Quadrado de Pearson). As demais características estudadas (raça, religião, uso de mosquiteiro, já ter tido malária alguma vez na vida, hábito de pescar e dormir na beira do rio, e trabalhar em derrubadas) não apresentaram associação com a expressão clínica da malária.

As características socioambientais da população de estudo por bairro mostra que os bairros de Iracema concentra pessoas que desenvolvem atividade de derrubadas, que costumam pescar e dormir na beira do rio, que usam menos frequentemente mosquiteiro e que possuem menor renda ($p < 0,05$). Portanto, a concentração ambiental de casos deve-se em parte a características socioeconômicas agregadas no espaço, em conjunto com fatores ambientais como a presença do vetor, visto que o uso infrequente de mosquiteiro associou-se com a incidência maior de malária.

TABELA 3 – INCIDÊNCIA DE MALÁRIA (INFECÇÃO COM SINTOMAS) ENTE JANEIRO E JUNHO DE 2012, POR BAIRRO DA ÁREA URBANA.

Bairros	Número de casos entre fevereiro e junho de 2012	Tempo de seguimento (pessoas-ano)	Incidência (100/pessoas-ano)
Bandeirantes	7	32,79	21,34 episódios
Centro	6	47,32	12,67 episódios
Cobal	4	38,03	10,51 episódios
Iracema	13	37,12	35,02 episódios
Jose Martins	7	21,32	32,83 episódios
São Francisco	27	129,77	20,80 episódios
São Vidal	13	78,80	16,49 episódios

Incidência de Malária na Coorte entre Fevereiro e Junho de 2012

A análise dos dados longitudinais entre janeiro de 2012 e junho de 2012 identificou 73 casos de malária em 1287 pessoas, totalizando 385,15 pessoas-ano. Sendo assim, a incidência de malária (infecção com sintomas apenas) foi de 1,8 casos por cada 10 pessoas-ano de seguimento em toda a coorte. A Tabela 3 mostra a incidência de malária entre janeiro e junho de 2012, estratificada por bairro. Avaliando a incidência de malária por bairro, vemos que dois bairros apresentam incidência mais elevada do que os demais: Iracema e Jose Martins.

ESTUDO ENTOMOLÓGICO E ESPACIAL

A cidade de Mâncio Lima é caracterizada por uma intrincada rede de banhados e igarapés que enchem e secam conforme o padrão de chuvas, formando ambientes propícios para a criação de anofelinos. As ruas, no início do estudo, eram predominantemente de terra batida, com exceção do bairro Centro e no entorno, além das avenidas principais. Durante a vigência do projeto, uma intensa transformação ocorreu, com pavimentação de muitas ruas (projeto Ruas do Acre, financiado pelo governo estadual) e canalização dos igarapés na região central.

Na área urbana de Mâncio Lima foram identificados em outubro de 2011, um total de 95 potenciais criadouros de anofelinos (Fig.3), classificados como tanques de piscicultura (52%), água corrente (buritizal, igarapé e braço do Rio Japiim) (34%), açudes (8.4%) e coleção de água parada (5%) (alagados e poças).

Oito inquéritos de formas imaturas de anofelinos foram realizados durante a vigência desse projeto (2012-2013). Quatro deles contemplaram a amostra total de 90 corpos d'água e foram realizados em Fevereiro de 2012, Julho de 2012, Fevereiro de 2013 e Julho de 2013. Nos períodos intermediários (maio e outubro de 2012 e 2013), levantamentos rápidos foram feitos em 25 dos 45 tanques de peixe, para aumentar a resolução temporal da pesquisa.

Cada corpo d'água foi física e quimicamente caracterizado e informações ecológicas básicas foram

obtidas em cada período de coleta. As variáveis obtidas desses criadouros foram: classificação (tanque de peixe, açude, poça e etc), densidade de vegetação de borda, grau de sombreamento, presença de macrófitas flutuantes, perímetro. Além dessas, variáveis da água (pH, temperatura, amônia, clorofila, nitrato, condutividade, oxigênio dissolvido) foram monitoradas por sonda multi-pâmetro. Em cada corpo d'água, 50 a 200 conchadas foram feitas ao longo das margens e as larvas encontradas foram contadas e levadas para o laboratório para posterior identificação. Informações sobre o número de conchadas positivas *para* *Anopheles* sp. e a quantidade encontrada por espécie foram registradas.

Os tanques de piscicultura e os açudes estavam presentes em toda a cidade, mas principalmente nas extremidades, norte e sul, enquanto os buritizais concentraram-se mais no centro (Fig. 1).

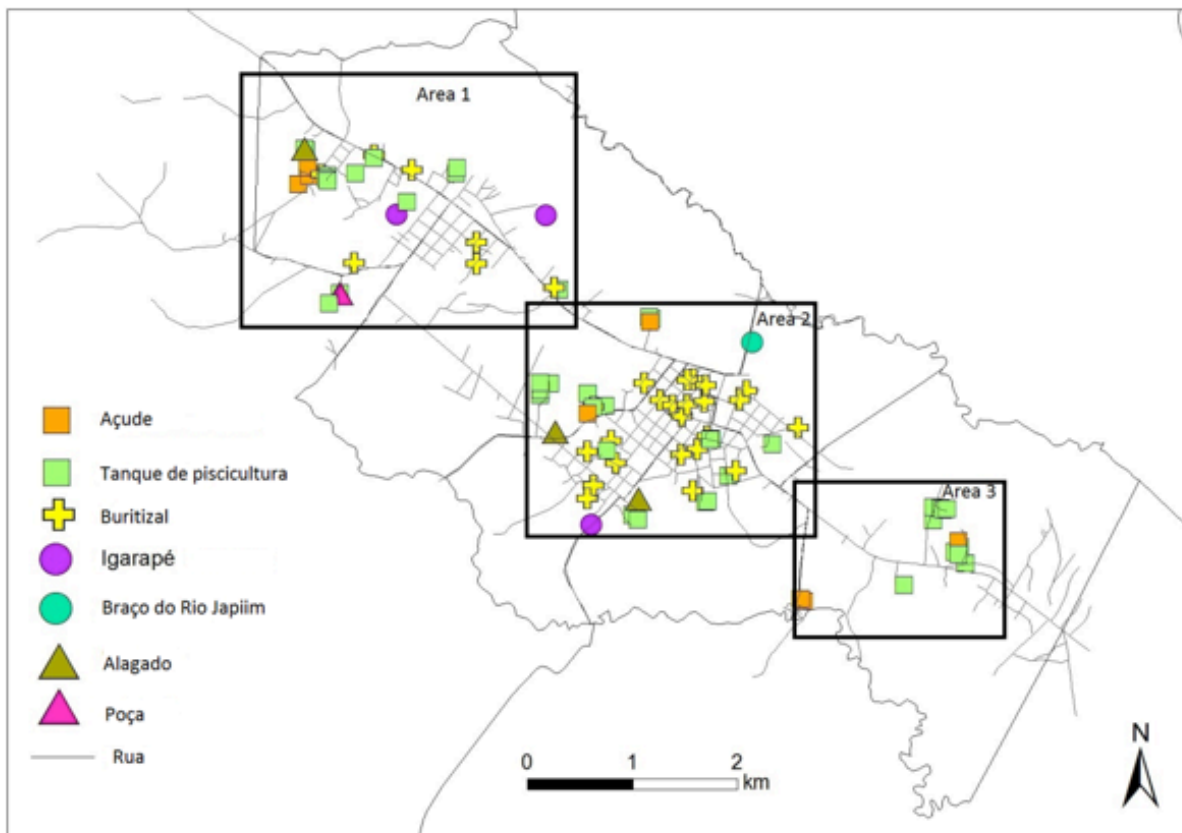


Figura 1 – Distribuição espacial dos potenciais criadouros para *Anopheles* sp. na área urbana de Mâncio Lima, AC.

Ao todo foram coletadas 12.704 larvas de *Anopheles* sp principalmente nos tanques de piscicultura e açudes, os quais contribuíram com mais de 90% (12.057). Raramente larvas de *Anopheles* sp. eram encontradas nos demais criadouros. O mês de Junho de 2013 foi o mais produtivo para forma imatura de *Anopheles* sp. comparado aos outros meses: 2.769 (22%) em fevereiro de 2012; 2.120 (17%) em junho de 2012; 2.838 (22%) em fevereiro de 2013; e 4.977 (39%) em junho de 2013.

em tanques de peixe ($\chi^2 = 8.9418$, $df=1$, p -valor <0.002787) do que nos demais corpos d'água classificados como não tanques. Aplicando um teste não paramétrico de *Wilcoxon* essa relação foi bastante significativa tanto para *Anopheles* sp ($W = 453.5$, p -value = $2.739e-06$) quanto para *An. darlingi* ($W = 708.5$, p -value = 0.002495). Nenhuma das variáveis limnológicas descritas acima foram significativamente associadas com a presença de *An. darlingi*.

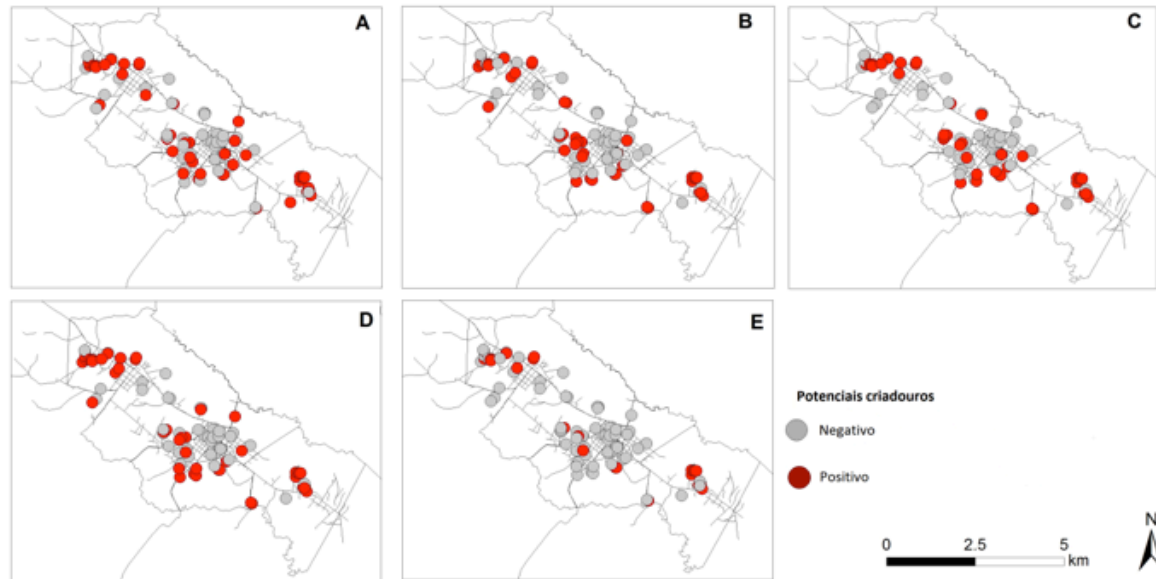


Figura 2. Distribuição espacial dos potenciais criadouros para *Anopheles* sp. por período de coleta, área urbana de Mâncio Lima, Ac. (A) Fevereiro de 2012, (B) Junho de 2012, (C) Fevereiro de 2013, (D) Junho de 2013, (E) criadouros positivos em todas as coletas.

Trinta por cento dos criadouros monitorados se mantiveram positivos para *Anopheles* sp em todas as coletas enquanto 23% foram sempre negativos, os positivos podem ser vistos nas extremidades da cidade. Entre os positivos estavam os tanques de piscicultura e açudes enquanto os negativos foram os buritizais, os quais na sua maioria estavam secos ou foram eventualmente canalizados (Fig. 2). A proporção de conchadas positivas para *Anopheles* sp. foi de 10% a 20% em tanques e açudes e 0% para os demais potenciais criadouros.

Numa análise dos dados de fevereiro de 2012, quando foram identificadas 655 imaturos de *Anopheles* sp, obteve-se 180 *An. trianulatus* (27%), 169 *An. albitarsis* (26%), 140 *An. darlingi* (21%), 111 *An. rangeli/galvaoi/evansae* (17%), 5 *An. peryassui*, 4 *An. argyritarsis*, 3 *An. oswaldoi*, 2 *An. brasiliensis*. Dos 90 corpos d'água investigados 52 (58%) foram positivos para *Anopheles* sp. Foram encontrados mais *Anopheles* sp e *An. darlingi*

Os tanques de piscicultura mais produtivos para imaturos de *Anopheles* sp e *An. darlingi*, são aqueles localizados nos extremos da área urbana, nos bairros Guarani e Iracema (Fig 5).

Esses dados entomológicos e espaciais foram publicados no periódico PlosOne, (Reis et al., Plos One 2015 SEp 11; 10(09):e0137521,doi 10.1371/journal.pone.0137521).

DISCUSSÃO

Grandes investimentos foram feitos para reduzir o peso da malária no Brasil. Desde 2000, grande distribuição em escala de tratamento gratuito, administração de tratamento supervisionado dentro de 48 horas após o início dos sintomas, a distribuição de mosquiteiros impregnados, entre outras estratégias foram implementadas no Acre, que recebeu prêmios sucessivos pela OPAS, sugerindo que estes estão ganhando com essas estraté-

gias¹⁵. No entanto, apesar destes esforços, a malária continua a ser uma saúde pública importante problema na Amazônia e, em particular, no Acre. Analisando a epidemiologia da malária neste A região é importante, não só para melhorar as estratégias locais de controle, mas também para aprender sobre a viabilidade dos objetivos atuais de controle.

A malária é uma doença focal, apresentando características específicas de acordo com os traços ecológicos, sanitários, sociais, políticos e culturais de cada localidade. Braz et al.(2014) ¹⁶ identifica alguns municípios do Acre como pertencendo a um cluster maior de municípios com alto risco de transmissão persistente da malária na amazonia, do qual Mancio Lima faz parte. A alta receptividade à malária é provavelmente devido às condições ambientais favoráveis, bem como às condições sociais que promovem contato íntimo entre humanos e vetores. Em comum com a região amazônica identificada por Braz et al.(2014) ¹⁶, o estrato Noroeste apresenta alta cobertura florestal, uma camada de água superficial e áreas maiores com igapós (florestas periodicamente inundadas).

Nossos resultados sugerem que a piscicultura contribuiu para a receptividade do estrato noroeste para a malária. Isto é apoiado pelas seguintes descobertas: 1- enquanto contempla todos os municípios do Acre a partir de 2003, o Programa de Incentivo à Agricultura de Peixes concentrou a maioria dos seus esforços no estrato noroeste e maiores taxas de construção de lagoas de peixes por estrato coincidiu com maiores taxas de malária; 2 municípios com maiores taxas de construção de tanques de peixes foram associado a maior incidência média anual de malária durante o período epidêmico (2003-2006); 3- o número de hectares de aquicultura em Mancio Lima estava relacionado à incidência de malária no período epidêmico; 4- embora faltem dados espaciais de escala fina durante a epidemia de 2006, o aumento da transmissão no período pós-epidemia coincide precisamente com a ocorrência de lagoas, uma vez que os casos diminuem exponencialmente com o aumento da distância das lagoas; 5 - Tanques de pisciculturas foram o tipo de habita larval mais positivo de *An. darlingi*, o habitat mais constantemente positivo e aqueles com a maior *An. densidades larvárias de Darlingi*; Densidades larvárias de 6 as lagoas de peixe foram associadas ao número de casos de malária dentro de 100 m de lagoas. Assim sendo, acreditamos que os tanques de piscicultura desempenharam um papel importante nas epidemias 2003-2006 e continuaram a ser um

fator importante na manutenção de maiores taxas de incidência de malária nos anos subsequentes.

Esses resultados sustentam a hipótese de que a incidência da malária em Mancio Lima em 2011 e 2012 esteve intimamente ligada às lagoas de piscicultura. Em geral, nossos resultados confirmam que as atividades econômicas e os padrões de uso da terra que ocorrem após o desmatamento podem desempenhar um papel importante na manutenção da transmissão da malária¹⁷.

CONCLUSOES

A aquicultura é um importante motor de desenvolvimento na Amazônia, e tem sido defendida como uma solução para aliviar a pobreza e promover o crescimento econômico. A produção de peixe em Mancio Lima pode ter melhorado as condições socioeconômicas locais, não só pela introdução de uma nova fonte de renda, diversificação de suprimentos alimentares, mas também criando uma cadeia de produção secundária e itens de consumo.

Um aumento acentuado do Produto Interno Bruto (em dólares) de Mancio Lima per capita pode ser observado, entre 2000 e 2012, com uma inflexão em 2006, coincidindo com a implementação de lagoas de peixe em Mancio Lima. Além disso, a contribuição do setor agrícola para o PIB foi aumentando ao longo deste período, de 20 a 30%, possivelmente como resultado da produção local de peixe. No entanto, a atividade humana pode potencialmente alterar o potencial patogênico das paisagens, e a aquicultura demonstrou ser uma atividade que pode afetar a transmissão da malária. Os investimentos em aquicultura devem ser seguidos por um programa de controle de malária projetado especificamente, uma vez que os fatores de risco provavelmente diferirão da malária adquirida em ambientes menos modificados.

Mais estudos são necessários para melhorar a nossa compreensão da importância do peixe

lagoas, o papel da franja da floresta e de como o processo de desmatamento afeta a ecologia do *Anopheles darlingi*. A importância do tamanho, densidade e vegetação limítrofe dos peixes deve ser melhor avaliada para obter uma gestão econômica e ecológica adequada das lagoas e tanques de piscicultura para vigilância e controle da malária. A forma como diferentes tipos de crescimento secundário afetam a bionomia do mosquito também é de grande importância e merece mais investigação.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico. Rio de Janeiro: IBGE; 2002. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. [2005 mar. 10].
2. Tada MS, Marques RP, Mesquita E, Dalla Martha RC, Rodrigues JA, Costa JDN, Pepelascov RR, Katsuragawa TH, Pereira-da-Silva LH. High prevalence of asymptomatic carriers in an urban riverside district is associated with a high level of clinical malaria. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:263-9.
3. Gil LHS, Tada MS, Katsuragawa TH, Ribolla PE, da Silva LH. Urban and suburban malaria in Rondônia (Brazilian Western Amazon) II. Perennial transmissions with high anopheline densities are associated with human environmental changes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007; 102:271-76.
4. 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.
5. Vittor AY, Pan W, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields T, et al. Linking deforestation to malaria in the Amazon: characterization of the breeding habitat of the principal malaria vector, *Anopheles darlingi*. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81:5-12.
6. Cabral AC, Fé NF, Suáres-Mutis MN, Bóia MN, Carvalho-Costa FA. Increasing incidence of malária in the Negro River basin, Brazilian Amazon. *Transac Royal Soc Trop* 2010; 104: 556-562.
7. Folha de São Paulo. Casos de malária em Manaus crescem 815% no primeiro trimestre. Edição de 15.04.2033.
8. Agência O Estado de São Paulo. Casos de malária aumentam 106% em Manaus.
9. Wotton RS, Chaloner DT, Yardley CA, Merritt RW. Growth of *Anopheles* mosquito larvae on dietary microbiota in aquatic surface microlayers. *Med Vet Entomol*. 1997;11:65-70.
10. Rejmánková E, Harbin-Ireland A, Lege M. Bacterial abundance in larval habitats of four species of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Belize, Central America. *J Vector Ecol* 2000;25: 229-39.
11. Okech BA, Gouagna LC, Yan G, Githure JI, Beier JC. Larval habitats of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) influences vector competence to *Plasmodium falciparum* parasites. *Malar J* 2007;6:50.
12. Ministério da Saúde. 2005. Manual de diagnóstico laboratorial da malária/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde—Serie A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Ministério da Saúde, 57-61. Available at http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/malaria_diag_manual_final.pdf (accessed 13 March 2015).
13. 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. *Parasitology International* 46:91-95
DOI 10.1016/S1383-5769(97)00013-5.
14. Win TT, Lin K, Mizuno S, Zou M, Liu Q, Ferreira MU, Tantular IS, Kojima S, Ishii A, Kawamoto F. Wide distribution of *Plasmodium ovale* in Myanmar. *Trop Med Int Health*. 2002;7:231-9.
15. Suárez-Mutis M, Coura JR. Mudanças no padrão epidemiológico da malária em área rural do médio Rio Negro, Amazônia brasileira: análise retrospectiva. *Cad Saúde Pública*. 2007; 23: 795-804. PMID:17435877
16. Braz RM, Guimarães RF, Carvalho Júnior OA, Tauil PL. Dependência espacial das epidemias de malária em municípios da Amazônia Brasileira. *Rev Bras de Epidemiologia*. 2014; 17: 615-628.
17. Stefani A, Dusfour I, Corrêa APSA, Cruz MCB, Dessay N, Galardo AKR, et al. Land cover, land use and malaria in the Amazon: a systematic literature review of studies using remotely sensed data. *Malar J*. 2013; 12: 1-8.

CONTRIBUICAO DOS AUTORES

Mônica da Silva-Nunes, Nildimar Honorio e Claudia Codeco planejaram o estudo ;Rayanne Arruda, Felipe Araújo, Rudi Nogueira, Maria Guimaraes, Cássio Braga, Antonio Martins, Andreus Schlosser, Aline da Silva, Athaid Cayotopa, Wagner Klein, Mardelson de Souza, Breno Andrade, Paula Bastos, Ana dos Santos, João Pacheco, José Filgueira-Júnior, Saulo Mantovani, Thasciany Pereira, Breno Delfino eram alunos de Medicina e bolsistas de Iniciação Científica durante a execução do projeto; colaboraram na coleta, digitação e organização dos dados. Athaid Cayotopa preparou o sangue para análises moleculares; Felipe Araujo e Cassio Braga executaram as lâminas de microscopia; Rudi Nogueira, Maria Guimaraes, Wagner Klein, Mardelson de Souza, Breno Andrade, Paula Bastos, Ana dos Santos, João Vitor Coelho Pacheco1 efetuaram análises estatísticas preliminares dos dados dos três estudos transversais. Eder Ferreira de Arruda1 era aluno de Mestrado durante a execução do projeto e colaborou na coleta e análise de dados. Rayanne A. Arruda interpretou os dados de prevalência de malária por PCR; Felipe Araújo analisou os dados de prevalência de malária por microscopia,

Andreus Schlosser interpretou os dados de incidência de malária; Cassio Braga e Braga e Antonio Camargo Martins avaliaram clinicamente os casos agudo de malária; Antonio C. Martins analisou a prevalência de sintomas de malária e a ocorrência de malária assintomática; Alanderson Ramalho e Carlos Cavasini colaboraram na coleta de dados e na coordenação das atividades de campo, Rosely Malafronte efetuou os testes moleculares, Izabel dos Reis efetuou os estudos entomológicos sob supervisão de Nildimar Honório e Cláudia Codeço , Monica da Silva Nunes redigiu e coordenou o projeto e a equipe durante toda sua execução.

Agradecimentos – Agradecemos a população de Mâncio Lima que contribuiu com o estudo; a Gerencia local e Estadual de Malária pelo apoio prestado; a Secretaria de Saúde do Estado do Acre pelo apoio institucional; aos microscopistas e agentes de endemia pelo auxilio nas diversas fases de coleta de dados; as agencias financiadoras do projeto (FAPAC; CNPq) e de bolsas de iniciação científica (FUNTAC, FAPAC, UFAC), ao Mestrado em Saúde Coletiva da UFAC pelo apoio prestado.