



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA
DOUTORADO EM SAÚDE COLETIVA

THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO

**MALÁRIA EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DO ACRE: ANÁLISE
CLÍNICA E LABORATORIAL.**

RIO BRANCO-AC

2022

THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO

**MALÁRIA EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DO ACRE: ANÁLISE
CLÍNICA E LABORATORIAL.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Acre como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Saúde Coletiva.

Orientadora: Prof^a Dr^a Rosalina Jorge Koifman

Coorientadora: Prof^a Dr^a Sabrina Silva Santos

RIO BRANCO-AC

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

P654m Pinheiro, Thereza Cristina Picado, 1993 -

Malária em doadores de sangue no estado do Acre: análise clínica e laboratorial / Thereza Cristina Picado Pinheiro; orientador: Prof. Dr^a. Rosalina Jorge Koifman e Coorientador: Dr^a. Sabrina Silva Santos. – 2022.

95 f.: il.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Doutorado em Saúde Coletiva, Rio Branco, 2022.

Inclui referências bibliográficas e anexos.

1. Malária. 2. Transfusão de sangue. 3. PCR em tempo real. I. Koifman, Rosalina Jorge (Orientador). II. Santos, Sabrina Silva (Coorientador). III. Título.

CDD: 610.7

Bibliotecária: Nádia Batista Vieira CRB-11º/882



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Saúde Coletiva

FOLHA DE APROVAÇÃO

Titulo da Tese: **MALÁRIA EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DO ACRE: ANÁLISE CLÍNICA E LABORATORIAL**

Autor: THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO

2ª Orientadora: SABRINA DA SILVA SANTOS

Tese aprovada como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Saúde Coletiva, pela Banca Examinadora:

Profa. Dra. **SABRINA DA SILVA SANTOS** - 2ª ORIENTADORA

Programa de pós-graduação em Saúde Coletiva/Universidade Federal do Acre -

Ufac

Prof. Dr. **SEBASTIÃO AFONSO VIANA MACEDO NEVES** - Membro Externo

Centro de Ciências da Saúde e do Desporto/Universidade Federal do Acre -

Ufac

Profa. Dra. **FERNANDA ANDRADE MARTINS** - Membro Externo

Centro de Ciências da Saúde e do Desporto/Universidade Federal do Acre -

Ufac

Profa. Dra. **ILCE FERREIRA DA SILVA** - Membro Interno

Programa de pós-graduação em Saúde Coletiva/Universidade Federal do Acre -

Ufac

Profa. Dra. **MARIA FERNANDA DE SOUSA OLIVEIRA BORGES** - Membro Interno
Programa de pós-graduação em Saúde Coletiva/Universidade Federal do Acre -
Ufac

Rio Branco, 11 de abril de 2023.

	Documento assinado eletronicamente por SABRINA DA SILVA SANTOS, Usuário Externo , em 12/04/2023, às 10:27, conforme horário de Rio Branco, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Ilce Ferreira da Silva, Usuário Externo , em 12/04/2023, às 13:41, conforme horário de Rio Branco, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Profª. Fernanda Andrade Martins, Professora do Magisterio Superior , em 19/04/2023, às 13:33, conforme horário de Rio Branco, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Maria Fernanda de Sousa Oliveira Borges, Professora do Magisterio Superior , em 20/04/2023, às 14:48, conforme horário de Rio Branco, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Sebastiao Afonso Viana Macedo Neves, Professor do Magisterio Superior , em 20/04/2023, às 19:28, conforme horário de Rio Branco, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .



A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.ufac.br/sei/valida_documento ou click no link [Verificar Autenticidade](#) informando o código verificador **0854308** e o código CRC **131B7FB7**.

Aos meus pais, Marlene e Clovis (in memoriam),
Aos meus filhos, Alice, Théo e Lara,
Às minhas irmãs, Glória e Vera e
Ao meu esposo, Leonardo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, princípio de tudo, meu alicerce, por me abençoar com mais esta vitória

Aos meus pais, Marlene e Clóvis (in memoriam), pelo exemplo de vida, pela educação e amor a mim dedicados. Me orgulha cada traço em mim que enxergo vocês.

Aos meus filhos, Alice, Théo e Lara, razão da minha existência, onde consigo forças para continuar em frente.

Ao meu esposo, Léo, pelo amor, companheirismo e inestimável auxílio para a conclusão deste trabalho.

Às minhas irmãs, Glória e Vera, pela cumplicidade de uma vida.

Às minhas colegas da turma do doutorado, pela amizade, risadas e pelo apoio nos momentos de incertezas que vivemos juntas.

Às minhas orientadoras, Professoras Dr^{as} Rosalina Jorge Koifman e Sabrina Silva Santos por, mais uma vez, acreditarem e apostarem em mim. Obrigada pelos ensinamentos, competência, paciência e incentivo. Muito obrigada, de todo coração!!

À toda equipe do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre-Hemoacre e do Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, em especial os queridos João Barbalho, pelas inúmeras planilhas disponibilizadas, Cinara de Barros Pimentel, pelo carinho e pelo tempo dedicado ao processamento das amostras deste estudo, Fernanda Moura El Bayeh Simião, pela dedicação e pela grande contribuição na condução desta pesquisa em Cruzeiro do Sul, enfermeiras Sara e Katiuscia (e toda equipe da enfermagem do hemocentro), pelo inestimável auxílio junto aos doadores de sangue.

À toda equipe do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da UFAC, pela qualidade que trazem ao programa.

Aos doadores de sangue, por sua atitude de salvar vidas pelo nobre ato de doar e por terem aceitado participar desta pesquisa.

À Dr^a Maria de Fatima Ferreira da Cruz por acolher este trabalho com tanto carinho, por acreditar e dedicar seu tempo à conclusão das análises moleculares com tanta maestria. Foi muito pouco tempo, muitos percalços, mas conseguimos!!!!

A todos o meu muito, muito obrigada!!!!

“Você nunca sabe os resultados que virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não haverá resultados.”

Mahatma Gandhi

“A educação é a mais poderosa arma pela qual se pode mudar o mundo.”

Nelson Mandela

RESUMO

Introdução: A malária é uma doença infecto contagiosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. Sua transmissão se dá principalmente pela picada no inseto do gênero *Anopheles*. Porém, a malária transmitida por transfusão sanguínea é uma das infecções mais relevantes para os serviços de hemoterapia especialmente em áreas endêmicas. **Objetivo Geral:** Avaliar a situação epidemiológica da malária entre candidatos à doação e doadores de sangue no Estado do Acre, no período de 2016 a 2022. **Métodos:** A pesquisa foi desenvolvida sob a forma de três artigos. O primeiro artigo foi intitulado “Caracterização da triagem clínica e epidemiológica para malária em candidatos à doação de sangue no Acre, 2016 a 2019, um estado endêmico da Amazônia Brasileira”, utilizou como fonte de dados o sistema *HEMOVIDA*, utilizado na rotina dos serviços de coleta de sangue para doação. O segundo artigo é intitulado “Exposições relacionadas à infecção por *Plasmodium* em candidatos à doação de sangue em Cruzeiro do Sul e Rio Branco” e compreende um estudo observacional transversal sobre as exposições à malária dos candidatos à doação de sangue. O terceiro artigo é um estudo de avaliação entre as técnicas microscópicas (gota espessa) e moleculares (PCR) em um desenho de estudo transversal com coleta de dados prospectiva, realizada em doadores de sangue de Cruzeiro do Sul, município de alta endemicidade para malária. O terceiro artigo é intitulado “Desempenho de testes microscópicos e moleculares para o diagnóstico de malária entre doadores de sangue aparentemente saudáveis no Acre, Brasil.” **Resultados:** Em áreas endêmicas, os métodos de triagem clínica e laboratorial para malária em candidatos à doação de sangue atualmente utilizados, não são suficientes para oferecer a segurança transfusional almejada. **Conclusão:** Esforços devem ser concentrados na introdução de técnicas laboratoriais mais sensíveis, uma vez que já há logística implantada para tal.

Palavras-chave: Malária. Transfusão de Sangue. PCR em Tempo Real.

ABSTRACT

Introduction: Malaria is an infectious disease caused by protozoa of the genus Plasmodium. Its transmission occurs mainly through the bite of an insect of the genus Anopheles. However, malaria transmitted by blood transfusion is one of the most relevant infections for hemotherapy services, especially in endemic areas. **General Objective:** To assess the epidemiological situation of malaria among blood donor candidates and blood donors in the State of Acre, from 2016 to 2022. **Methods:** The research was carried out in the form of three articles. The first article was entitled “Characterization of clinical and epidemiological screening for malaria in candidates for blood donation in Acre, 2016 to 2019, an endemic state of the Brazilian Amazon”, used the HEMOVIDA system as a data source, used in the routine of health services. blood collection for donation. The second article is entitled “Exposures related to Plasmodium infection in blood donation candidates in Cruzeiro do Sul and Rio Branco” and comprises a cross-sectional observational study on malaria exposures of blood donation candidates. The third article is an evaluation study between microscopic (thick smear) and molecular (PCR) techniques in a cross-sectional study design with prospective data collection, carried out in blood donors from Cruzeiro do Sul, a municipality with high endemicity for malaria. The third article is entitled “Performance of microscopic and molecular tests for the diagnosis of malaria among apparently healthy blood donors in Acre, Brazil”. **Results:** In endemic areas, currently used clinical and laboratory screening methods for malaria in blood donation candidates are not sufficient to provide the desired transfusion safety. **Conclusion:** Efforts should be concentrated on the introduction of more sensitive laboratory techniques, since there are already logistics in place for this.

Keywords: Malaria. Blood transfusion. Real Time PCR.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ACT	Artemisina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AO	<i>Acridine Orange</i>
BCP	Benzotiocarboxipurina
CDC	<i>Center of Diseases Control</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLIP PCR	<i>Caption and Ligation Probe Polymerase Chain Reaction</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
HEMOACRE	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Acre
HRP	<i>Histidin Rich Protein</i>
IFA	<i>Immunofluorescence Antibody Testing</i>
IFI	Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IPA	Incidência Parasitária Anual
LAMP	<i>Loop Mediated Isothermal Amplification</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
MTT	Malária Transmitida por Transusão
NALFIA	<i>Nucleic Acid Lateral Flow Immunoassay</i>
NASBA	<i>Nucleic Acid Sequence Based Amplification</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PIACM	Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária
PLDH	Lactato Desidrogenase Parasitária
PNCM	Programa Nacional de Controle da Malária
QBC	<i>Quantitative Buffy Coat</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RDT	<i>Rapid Diagnostic Test</i>
RPM	Rotações por minute
SIH	Sistema de Informação Hemoterápica

SIM	Sistema de Informação de Mortalidade
SIVEP	Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica
SPSS	Statistical Package for the Social Science
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDR	Testes de Diagnóstico Rápido

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 Mosquito <i>Anopheles</i>	Pág.15
Figura 2 Ciclo do <i>Plasmodium</i> no homem.....	Pág. 17
Figura 3 Mapa de risco da malária no Brasil, 2019.....	Pág. 44
Figura 4 Casos de malária notificados segundo a espécie parasitária, 1959-2019.....	Pág.45

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 Manifestações clínicas e laboratoriais da malária grave.....	Pág.19
Quadro 2 Estimativa de casos de malária por região, de 2010 a 2018.....	Pág. 43
Quadro 3 Meta de eliminação da malária por estados e municípios que atingiram ou não a meta.....	Pág. 47
Quadro 4 Quadro comparativo do Índice Parasitário Anual (IPA) das cidades do Acre com maior endemicidade para malária, de 2015 a 2020.....	Pág. 49
<u>Artigo 1</u>	
Tabela 1: Distribuição da frequência e percentual dos candidatos à doação de sangue segundo locais de coleta de sangue do estado do Acre, 2016-2019.....	Pág. 60
Tabela 2: Perfil da triagem clínico-epidemiológica dos candidatos à doação de sangue do estado do Acre, 2016-2019.....	Pág. 61
Tabela 3: Motivos de inaptidão por causas relacionadas diretamente à malária dos candidatos à doação de sangue no Estado do Acre, conforme o local de doação, 2016-2019.....	Pág. 62
Tabela 4: Fatores socioeconômicos dos candidatos à doação de sangue, segundo motivo de inaptidão de causas relacionadas diretamente à malária em Rio Branco, 2016- 2019.....	Pág. 63
<u>Artigo 2</u>	
Tabela 1: Características sociodemográficas dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.....	Pág. 79
Tabela 2: Histórico de malária dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.....	Pág. 80
Tabela 3: Caracterização das possíveis exposições à malária dos candidatos à doação de sangue no Acre, em relação ao local de moradia, trabalho ou estudo, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.....	Pág. 81

Tabela 4: Caracterização do deslocamento nos últimos 30 dias e relato de casos de malária nos destinos dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022..... Pág. 82

Tabela 5: Caracterização da situação da triagem dos candidatos à doação de sangue com histórico de malária no Acre em relação a possíveis exposições a malária, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022..... Pág. 83

Artigo 3

Tabela 1: Dados sociodemográficos dos candidatos à doação de sangue do Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, no período de 18 de julho de 2022 a 18 de agosto de 2022.....Pág 119

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 ASPECTOS CLÍNICOS DA MALÁRIA.....	17
2.2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA MALÁRIA HUMANA.....	22
2.2.1 Microscopia óptica.....	24
2.2.2 Microscopia fluorescente.....	28
2.2.3 Testes imunocromatográficos (Testes rápidos)	30
2.2.4 Sorologia.....	33
2.2.5 Testes moleculares.....	34
2.2.5.1 Ensaio baseado em PCR.....	35
2.2.5.2 Técnicas de amplificação isotérmica.....	39
2.2.5.3 Testes moleculares de amplificação de sinal.....	40
2.3 MALÁRIA TRANSMITIDA POR TRANSFUSÃO DE SANGUE.....	42
2.4 EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA.....	49
2.4.1 A malária no mundo.....	50
2.4.2 A Malária no Brasil.....	54
2.4.2.1 A Malária no Acre.....	60
3. PERGUNTAS DE PESQUISA.....	62
4. JUSTIFICATIVA.....	63
5. OBJETIVOS.....	65
5.1 Geral.....	65
5.2 Específicos.....	65
6. METODOLOGIA	66
7. RESULTADOS.....	67
7.1 Artigo 1.....	67
7.2 Artigo 2.....	88
7.3 Artigo 3	111
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127
9. REFERÊNCIAS DA TESE	129
ANEXO I.....	136
ANEXO II.....	140
ANEXO III.....	142

1. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença antiga entre os humanos referida em relatos históricos das primeiras civilizações da China, Índia, Egito e Grécia. Na atualidade mais da metade da população mundial vive em áreas onde a doença é endêmica, se constituindo num grave problema de saúde pública, com uma estimativa anual de 228 milhões de novos casos e mais de 400.000 mortes (COX, 2010; SEED; KITCHEN; DAVIS, 2005).

A malária é definida como uma doença infecciosa aguda causada por protozoários intraeritrocitários do gênero *Plasmodium*. Seis espécies são reconhecidas como os agentes etiológicos em humanos: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malarie*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi* e *Plasmodium simium*. No Brasil, apenas as três primeiras espécies estão implicadas na transmissão da doença, embora recentemente tenha se observado um surto de malária humana por *P. simium* na região sudeste do país. O *P. falciparum* é o responsável pela forma grave da doença em escala global (MANGANO et al., 2019; SEED; KITCHEN; DAVIS, 2005).

A principal forma de transmissão da malária é a picada do inseto do gênero *Anopheles*, infectado pelo parasita. No entanto, existem outras formas de transmissão, incluindo a transfusional. Casos de malária transfusional não são comuns, mas são usualmente muito graves, principalmente em receptores imunocomprometidos ou sem contato prévio com o parasita (ANTWI-BAFFOUR et al., 2019; MUNGAI et al., 2001; VERRA et al., 2018).

Indivíduos infectados podem exibir quadro clínico diverso, dependente de vários aspectos, relacionados ao hospedeiro ou ao agente etiológico. Em sua forma clássica, a infecção se apresentará com febre superior a 38°C, de padrão temporal variável, de acordo com o agente etiológico em questão, além de outros sintomas como sudorese calafrios, cefaleia, náuseas e vômitos. Entretanto, nem sempre a doença se apresenta em sua forma clássica, podendo variar de infecção assintomática a

infecção grave, potencialmente fatal, embora haja tratamento e cura para a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

No Brasil, é reconhecida a ocorrência de portadores assintomáticos do parasita, inclusive na Região Amazônica, onde a doença é endêmica (ALHO et al., 2017; KRIEGER et al., 2002).

Embora a partir de 2010, até 2016 os dados apontem uma queda progressiva dos casos da doença no Brasil, em 2017 houve um aumento de mais de 50% de casos em relação ao ano anterior, com o registro de 194.426 casos da doença. Mais de 99% dos casos têm a Região Amazônica como local de ocorrência e a maior parte é causada pela espécie *P. vivax*. A malária é uma doença de notificação compulsória nesta região, devendo ser informados, inclusive, os casos suspeitos, em até sete dias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

Embora o número de internações e as apresentações graves da malária tenham mostrado uma tendência de redução nos últimos anos, o número absoluto de casos no país ainda é muito elevado e a doença ainda é considerada um problema de saúde pública pelo Ministério da Saúde. Assim, pelas normas vigentes, a pesquisa de malária é obrigatória em todos os doadores de sangue de áreas endêmicas no Brasil (ANVISA, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017, 2020b).

No estado do Acre, além da testagem para as doenças transmissíveis transfusionalmente exigidas legalmente, todo sangue doado é submetido à triagem laboratorial para a pesquisa do plasmódio. Segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária- (ANVISA), no ano de 2016 foram realizadas mais de dois milhões de transfusões no Brasil. Destas, 11.015 ocorreram neste estado, correspondendo a, aproximadamente, 0.4% das transfusões de sangue ocorridas no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

A hemorrede acreana, que representa o conjunto dos serviços que deve garantir a cobertura hemoterápica do estado, é constituída pelo Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre-HEMOACRE, dois núcleos de hemoterapia, um na cidade de Cruzeiro do Sul e outro na cidade de Brasília, e nove agências transfusionais, sendo quatro localizadas na capital e cinco no interior. O

HEMOACRE é o hemocentro coordenador e está localizado em Rio Branco, capital do estado. A coleta de sangue é realizada no hemocentro e nos hemonúcleos, sendo que toda sorologia é realizada no hemocentro coordenador, exceto a pesquisa da malária, que é realizada no local em que ocorreu a doação.

O método para detecção utilizado na hemorrede é o exame microscópico de visualização direta do parasita, a “gota espessa”, que é considerado um método padrão ouro para detecção da malária. Este método apresenta uma sensibilidade boa, mas necessita uma rigorosa qualificação do profissional que o executa. O Acre, área endêmica para a doença, não apresentou na testagem obrigatória nenhum caso positivo em doadores de sangue entre 2002 e 2016. (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO ACRE, 2016;(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Pesquisas que objetivaram investigar a prevalência de malária em candidatos à doação e doadores de sangue são escassas. Um estudo descreveu, após a utilização da técnica molecular Nested- PCR (*Polymerase chain reaction*), uma prevalência de positividade de cerca de 2% entre os doadores de sangue da região Norte que foram considerados negativos pela técnica da “gota espessa” (FUGIKAHA et al., 2007). Uma revisão sistemática, de 1971 a 2016, mostrou prevalências que variavam de 0 a 3% de positividade para malária em doadores de sangue da região Norte ao se utilizar a técnica de PCR (ALHO et al., 2017).

Estas pesquisas têm o potencial de contribuir com o conhecimento científico para dimensionar o risco de transmissão desta doença por via transfusional, estabelecer o impacto da contaminação por este agente à saúde do receptor e agregar elementos para aprimorar estratégias na detecção prévia do risco de positividade.

Desta forma, este projeto objetiva avaliar a situação da malária entre os candidatos à doação e doadores de sangue do estado do Acre. Para isto, foi realizado um estudo transversal, com coleta de dados retrospectiva, para a caracterização da triagem clínico-epidemiológica para malária em candidatos à doação e em doadores de sangue no estado.

Posteriormente, este projeto pretende descrever a prevalência das exposições a situações de risco para malária em candidatos à doação de sangue e avaliar seu impacto na liberação dos candidatos para doação no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul e no hemocentro Coordenador do município de Rio Branco, e estimar a prevalência de marcadores específicos para malária por testes microscópicos (gota espessa) e moleculares (PCR) entre candidatos à doação inaptos na triagem clínica e entre doadores aptos e inaptos após a doação de sangue em Cruzeiro do Sul.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS CLÍNICOS DA MALÁRIA

A principal forma de transmissão da malária humana ocorre pela picada do mosquito infectado. Estes mosquitos vetores são insetos do gênero *Anopheles* (Figura 1), dos quais, apesar da grande diversidade de espécies, apenas alguns apresentam importância na transmissão da doença ao homem. Existem, no entanto, outras formas de transmissão menos comuns da doença, como através do contato com sangue infectado, pelo uso de seringas compartilhadas ou através de transfusão de sangue contaminado, sendo também descrita a transmissão vertical (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018).

Figura 1: Mosquito *Anopheles*.



Fonte: Malária na atenção primária à saúde, UFMG, 2020.

Todos os plasmódios apresentam um ciclo vital semelhante (Figura 2), que inclui um mosquito e um hospedeiro vertebrado. No mosquito, as formas infectantes (esporozoítos) ficam alojadas nas glândulas salivares dos insetos fêmeas e, ao serem inoculadas no animal vertebrado, atingem os hepatócitos em menos de 30 minutos (fase hepática). Ao final de 7 a 14 dias, o hepatócito se rompe, liberando milhares de parasitas, agora denominados

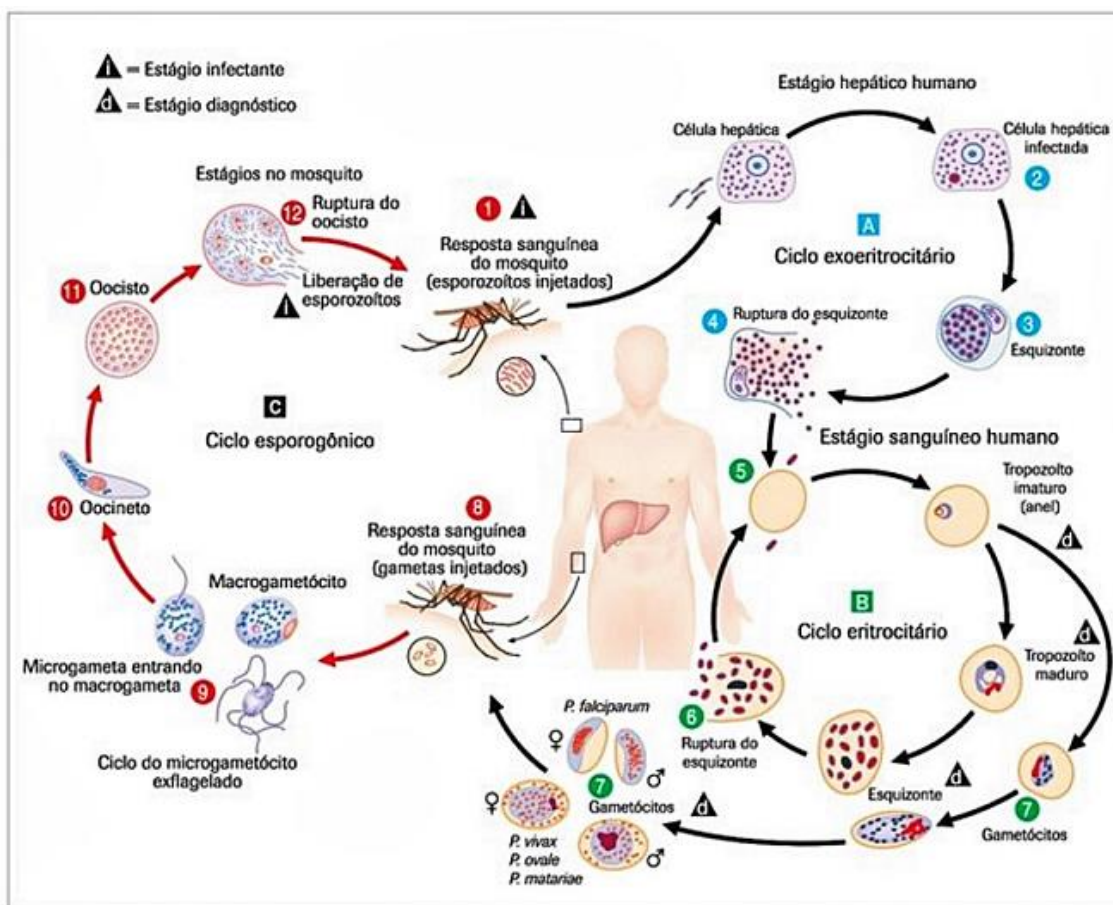
merozoítos, que vão infectar as hemácias (fase sanguínea/ eritrocitária) (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; CAVASINI et al., 2007; JOSLING; LLINÁS, 2015).

Ao atingirem as hemácias, passam a ser conhecidos como trofozoítos. No interior das hemácias, ocorrem vários ciclos de replicação assexuada do protozoário, que culmina com o rompimento da célula, propiciando a liberação dos parasitas na corrente sanguínea. Estes parasitas vão infectar novas hemácias, formando um ciclo. É no momento que se rompem as hemácias, com liberação de parasitas no sangue, que ocorrem os picos febris característicos da doença. A periodicidade dos picos febris varia de acordo com o tipo de plasmódio infectante (BOUSEMA; DRAKELEY, 2011; JOSLING; LLINÁS, 2015).

Uma porção dos parasitas na fase intraeritrocitária sofre desenvolvimento sexual, produzindo gametócitos femininos e masculinos. Estas formas sexuadas circulantes são passadas para o mosquito quando este vai se alimentar do sangue do indivíduo contaminado. No mosquito, gametócitos masculinos e femininos se encontram, formando o zigoto, que originará esporozoítos, que se alojarão nas glândulas salivares do mosquito, completando o ciclo (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; BOUSEMA; DRAKELEY, 2011).

Nas espécies *P. vivax* e *P. ovale*, os esporozoítos podem atingir um estágio denominado hipnozoítos, que correspondem a formas latentes do parasita, capazes de desencadear recaídas depois de meses ou mesmo anos da infecção inicial (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018).

Figura 2: Ciclo do *Plasmodium* no homem.



Fonte: Adaptado de Clínica médica, USP, 2ª ed.

Seis espécies são reconhecidas como os agentes etiológicos em humanos: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi* e *Plasmodium simium*. No Brasil, as espécies infectantes são *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae* (recentemente se evidenciou um surto de *P. simium*). O *Plasmodium vivax* é o responsável pela maior parte dos casos de malária (chega a 90%) e as espécies *Plasmodium ovale* e o *Plasmodium knowlesi* não são comuns no país (GOMES et al., 2018; MANGANO et al., 2019; SIROMA; FERRARI; RIGO, 2016).

A espécie de plasmódio infectante também influenciará no período de incubação da doença, variando tipicamente de 10 A 14 dias para o *Plasmodium falciparum* e para o

Plasmodium knowlesi, 14 a 21 dias para o *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale*, e, no mínimo, 18 dias para o *Plasmodium malarie*.

O quadro clínico da doença aguda é característico. O paroxismo febril secundário ao rompimento das hemácias parasitadas ao final do ciclo eritrocitário é típico, com intervalos variáveis entre as espécies. Infecções por *P. falciparum* e *P. vivax*, determinam um paroxismo de 48 horas, sendo por isso, conhecidas como febre terçã. Já o paroxismo causado por infecção pela espécie *P. malarie*, ocorre a cada 72 horas, sendo assim, reconhecido pela denominação de febre quartã. Indivíduos que vivem em áreas endêmicas, sujeitos a múltiplas picadas e infecção por diferentes espécies e em diferentes momentos, podem não apresentar a regularidade característica dos picos febris e os intervalos podem ser menores que 48 horas. Estes padrões febris resultantes de sincronismo de desenvolvimento dos parasitas não são mais observados com frequência atualmente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009, 2020a).

Os eritrócitos infectados por *Plasmodium falciparum* podem ser sequestrados pelos vasos sanguíneos médios e pequenos, causando lesão endotelial e obstrução vascular e evitando o *clearance* do parasita pelo baço. Dependendo do órgão, o sequestro na vasculatura, causará efeitos específicos. Por exemplo, no cérebro pode causar coma, nos pulmões falência respiratória e nas gestantes anemia, baixo peso parto prematuro e risco de aborto (ASHLEY; PYAE PHYO; WOODROW, 2018; FRIED; DUFFY, 2017).

Além da febre característica, são sinais comuns da infecção, taquicardia, tremores e sudorese. Anemia é frequente e multifatorial, com mecanismos de hemólise intravascular, filtração esplênica e supressão medular envolvidos como fatores causais. Acometimento cerebral, hepatoesplenomegalia, falência renal e choque também podem ocorrer (SIMON et al., 2002).

A apresentação clínica da doença se divide em malária grave e malária não complicada. A malária não complicada se apresenta com sintomas inespecíficos como febre,

calafrio, dores no corpo tosse diarreia e dor de cabeça. Trombocitopenia também pode ocorrer. A malária grave, mais comumente causada pela espécie *P. falciparum* apresenta critérios diagnósticos específicos (Quadro 1).

A forma grave da doença pode se manifestar comumente por acometimento cerebral, pulmonar (lesão pulmonar aguda que pode cursar com síndrome da angústia respiratória aguda), insuficiência renal aguda e acidose.

Quadro 1: Manifestações clínicas e laboratoriais de malária grave

Manifestações clínicas
<ul style="list-style-type: none"> • Dor abdominal intensa (ruptura de baço, mais frequente em <i>P. vivax</i>) • Mucosas amareladas, icterícia (não confundir com mucosas hipocoradas) • Mucosas muito hipocoradas (avaliada fora do ataque paroxístico febril) • Redução do volume urinário a menos de 400 ml, em 24h • Vômitos persistentes que impeçam a tomada de medicação por via oral • Qualquer tipo de sangramento • Falta de ar (avaliado fora do ataque paroxístico febril) • Extremidades azuladas (cianose) • Aumento da frequência cardíaca (avaliar fora do acesso malárico) • Convulsão ou desorientação (não confundir com o ataque paroxístico febril) • Prostração em crianças • Comorbidades descompensadas
Manifestações laboratoriais
<ul style="list-style-type: none"> • Anemia grave • Hipoglicemia • Acidose metabólica • Insuficiência renal • Hiperlactatemia • Hiperparasitemia (>250.000/mm³ para <i>P. falciparum</i>)

Fonte: Adaptado de Guia de tratamento da malária no Brasil, 2020.

A evolução clínica (em especial as complicações) varia conforme fatores relacionados ao patógeno (espécie envolvida) e características do hospedeiro (grau de imunidade) (KITCHEN; CHIODINI, 2006a). A maioria dos relatos se refere à infecção causada pela espécie *P. falciparum* como a que carrega a maior probabilidade de evolução insatisfatória, podendo, inclusive, levar o portador a óbito (ANDRÉIA PATRÍCIA GOMES¹, RODRIGO et al., 2011; ASHLEY; WHITE, 2014).

No Brasil, o tratamento da malária não complicada por *P. vivax* se alicerça no uso de dois medicamentos combinados: a cloroquina e a primaquina. A primaquina tem atividade contra os hipnozoítos. A tafenoquina encontra-se em fase de implementação gradual no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Para tratar a malária por *P. malarie*, utiliza-se basicamente a cloroquina, uma vez que esta espécie não forma hipnozoítos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Para infecções mistas ou causadas por *P. falciparum* recomenda-se o uso de uma terapia combinada com derivados de artemisina (ACT). As combinações artesunato/mefloquina e artemeter/ lumefrantrina apresentam eficácia e segurança similares e são prescritos conforme a disponibilidade local (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

2.2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA MALÁRIA HUMANA

Para todo indivíduo que apresente sintomas sugestivos da malária, principalmente se procedente de área endêmica, está indicada a pesquisa para o diagnóstico da doença. O diagnóstico precoce é importante para adequados tratamento, cura e controle da infecção. Segundo a OMS, o diagnóstico rápido e preciso é considerado como base para o controle da malária (FIGUEIREDO FILHO et al., 2003; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

A utilização de critérios clínicos aliados a informações epidemiológicas é de fundamental importância para a suspeição da doença. Uma vez que o paciente se encaixe nestes dois critérios, pode-se partir para o diagnóstico laboratorial, que deve ser realizado com rapidez e acurácia, a fim de iniciar o tratamento e alcançar sucesso terapêutico.

Entretanto, o diagnóstico da infecção pode ser um desafio para muitos laboratórios no mundo. A malária endêmica, os movimentos populacionais, as mudanças de padrão morfológico aceitas para diagnóstico e o custo, são alguns dos fatores que contribuem para a dificuldade enfrentada pelos laboratórios no diagnóstico da doença (MOODY, 2002).

O diagnóstico laboratorial da malária é ancorado em exames específicos e inespecíficos. Os inespecíficos não vão diagnosticar a malária, mas serão capazes de trazer informações importantes como a gravidade da doença e o acometimento de outros órgãos. A anemia é o achado mais comum. Os exames específicos são aqueles que efetivamente diagnosticam a doença. Estes podem ser de dois tipos, diretos ou indiretos. Os diretos são os que permitem a observação direta do parasita e os indiretos identificam anticorpos dirigidos contra o plasmódio (ANDRÉIA PATRÍCIA GOMES¹, RODRIGO et al., 2011).

Atualmente dispomos de diferentes possibilidades de técnicas de diagnóstico laboratorial da malária, cada uma com suas vantagens e desvantagens.

Dos exames específicos, o microscópico é considerado como o procedimento *standard* para o diagnóstico de malária. No Brasil, tradicionalmente, o diagnóstico da doença é feito por esta metodologia. Este método possibilita a detecção do parasita, a identificação da(s) espécie(s) envolvida(s) e a determinação do grau de parasitemia. É um método de baixos custo e manutenção, além de possibilitar o armazenamento das lâminas utilizadas para posterior avaliação ou controle de qualidade. Existem três modalidades de exame microscópico: o esfregaço delgado (distendido), o esfregaço espesso (gota espessa) e o QBC

(*quantitative buffy coat*)(GLÓRIA; ALVES; ARAÚJO, 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

2.2.1 Microscopia óptica

O método microscópico se baseia na visualização direta do parasita. Com material (microscópio e reagentes) e pessoal adequados (técnicos bem treinados na leitura das lâminas) pode ser considerado padrão ouro para o diagnóstico da malária. Por este método, é possível não só a detecção do parasita, mas também o reconhecimento da espécie envolvida e sua quantificação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Tanto a gota espessa quanto o esfregaço distendido apresentam custo baixo. Ambas são de rápida realização e permitem identificar, fácil e precisamente, a(s) espécie(s) do plasmódio que está (ão) envolvida(s), além da possibilidade de quantificar a intensidade do parasitismo, como já mencionado, mediante a determinação da parasitemia (quantidade de parasitas) por volume de sangue. Na prática, o método da gota espessa é o mais utilizado, uma vez que a concentração do sangue por campo microscópico favorece o encontro do parasita (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

De forma resumida, para a realização do exame, basta a retirada de uma pequena amostra (uma gota) do sangue do paciente. Esta amostra pode ser coletada do lobo da orelha ou da ponta do dedo, locais onde a densidade de trofozoítos desenvolvidos ou de esquizontes é maior (áreas ricas em capilares). A amostra também pode ser coletada por venopunção em tubo contendo EDTA (MOODY, 2002).

Esta amostra é disposta sobre uma lâmina de forma que, de acordo com a técnica objetivada, originará um esfregaço espesso (gota espessa) ou delgado. A lâmina é então corada, normalmente pela técnica de Walker para a gota espessa ou Giemsa, para o esfregaço delgado. Depois de seca, a lâmina é observada ao microscópio (ANDRÉIA PATRÍCIA

GOMES¹, RODRIGO et al., 2011; ERDMAN; KAIN, 2008; GLÓRIA; ALVES; ARAÚJO, 2018).

Existem diversos tipos de microscópios disponíveis, de acordo com a finalidade a que se destinam. Para a detecção da malária, o mais recomendável é o microscópio bacteriológico, binocular, com fonte de iluminação própria e regulável. O microscópio, através do seu sistema para aumento e resolução das imagens, permite um aumento de até 1500 vezes da imagem a ser observada. Embora seja um aumento significativo no tamanho, a clareza de detalhes ou nitidez da microscopia pode ficar prejudicada quando se ultrapassa o ponto ótimo de aumento das imagens. Para o diagnóstico da malária, utiliza-se de uma lente ocular de 7 vezes com uma lente objetiva de imersão de 60 vezes. O aumento alcançado com este conjunto de lentes permite detectar bem o plasmódio e observar maior número de elementos normais do sangue e de parasitas por campo microscópico, sendo muito útil também para a revisão do diagnóstico microscópico. Outro aspecto importante com relação ao microscópio a ser utilizado na pesquisa do plasmódio diz respeito à sua capacidade de iluminação, que deve possuir alto grau de claridade e nitidez (alta resolução microscópica) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

A escolha entre gota espessa ou esfregaço delgado deve levar em conta as vantagens e desvantagens apresentadas por cada técnica.

As vantagens da gota espessa residem na possibilidade de concentrar maior quantidade de sangue, favorecendo o encontro de hemoparasitas (vantagem esta que a torna método de eleição, principalmente para a detecção de baixos níveis de parasitemia e reaparecimento de parasitas na circulação durante a infecção ou nas recaídas da doença), além da praticidade de preparação da lâmina, cujo processo de secagem é mais rápido, permitindo o processamento de maior número de amostras em menos tempo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Outra vantagem importante da técnica se refere à distribuição dos parasitos e leucócitos, que se dá ao acaso em toda a amostra, o que permite avaliar a parasitemia contando-se o número de parasitos em relação a um determinado número de leucócitos (ERDMAN; KAIN, 2008; MOODY, 2002).

Como desvantagem da técnica da gota espessa, destaca-se a necessidade de experiência do observador para a identificação de espécies, uma vez que a morfologia do parasita pode se alterar durante o processo de preparação da lâmina. O processamento da amostra preparada em gota espessa apresenta a desvantagem de requerer um preparo rápido, pois o retardo neste processo pode levar a falhas de coloração, que interferirão na qualidade do exame (BAILEY et al., 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Já a utilização do esfregaço delgado, permite melhor estudo da morfologia do parasita e das alterações características do eritrócito parasitado, possibilitando conferir o diagnóstico da gota espessa, em casos de necessidade. A técnica também leva a uma perda de parasitas bem menor que na gota espessa, além de resistir mais ao atrito quando se faz a remoção do óleo de imersão, o que torna as amostras mais duráveis e com a coloração original conservada por mais tempo. O esfregaço delgado permite a determinação percentual da parasitemia, mediante a contagem de eritrócitos parasitados em 100 hemácias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Por ter menos quantidade de sangue, espalhada em uma única camada, o esfregaço delgado ocupa maior área da lâmina, dificultando o encontro das hemácias parasitadas. Assim, não é indicado para diagnóstico inicial, especialmente em pacientes com parasitemias baixas. Outro ponto de desvantagem do esfregaço delgado é que a distribuição de leucócitos e parasitas não se dá ao acaso, de forma que leucócitos maiores e estágios mais avançados dos parasitos localizam-se nas bordas e no final do esfregaço. Assim, precisa-se examinar uma área bem maior para detectar todas as formas parasitárias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Existem quatro métodos para a quantificação da parasitemia pela microscopia: método quantitativo, semiquantitativo, percentual de hemácias parasitadas e contagem relativa à leucometria por campo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os métodos mais utilizados na rotina são o quantitativo e o semiquantitativo e para ambos é necessário que se examinem ao menos 100 campos da lâmina. Para a realização do método quantitativo, assume-se que a leitura 100 campos microscópicos equivalham a 0,2 microlitro (μl) de sangue. Multiplica-se por 5 o número de parasitas encontrados nos 100 campos examinados e, por fim, registra-se o número encontrado como a parasitemia por μl de sangue. Assim, o encontro de um único parasita em 100 campos examinados significa 5 parasitas/ μl de sangue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os esfregaços, em situações ótimas, alcançam uma sensibilidade de 98%. Entretanto, em situações de rotina, sua sensibilidade varia de 75% a 90%. A diminuição da parasitemia pode levar a resultados falsos negativos. Os falsos positivos são em sua maioria devidos à má preparação das lâminas ou avaliação do material após início do tratamento (MOODY, 2002; WERNSDORFER et al., 2007).

De uma forma geral, a técnica microscópica apresenta como grande desvantagem a necessidade de um profissional microbiologista bem treinado, que domine as técnicas de coloração das lâminas e de visualização do parasita. Além do mais, quando há baixa parasitemia é necessário dispendir um tempo muito maior para a identificação do plasmódio (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Assim, apesar do exame da gota espessa apresentar inquestionável vantagem para o diagnóstico, uma série de fatores pode interferir nos resultados obtidos. Entre eles podemos destacar a habilidade técnica no preparo da lâmina, seu manuseio e coloração, qualidade óptica e iluminação do microscópio, competência e cuidado por parte do microscopista e grau de parasitemia. Considerando-se esses fatores, realizar o diagnóstico específico de malária

torna-se difícil em muitos locais, seja pela precariedade dos serviços de saúde, seja pela dificuldade de acesso da população aos centros de diagnóstico.

2.2.2 Microscopia fluorescente

A microscopia fluorescente é um método alternativo que foi desenvolvido para melhorar a técnica microscópica convencional. Este método se baseia na capacidade de alguns corantes de se fixarem ao ácido nucleico (DNA) do *Plasmodium*. Uma vez ligados, se submetidos à luz ultra violeta em um determinado comprimento de onda, o resultado será uma fluorescência importante do núcleo do parasita (ARIEY; GAY; MÉNARD, 2019; MOODY, 2002; TANGPUKDEE et al., 2009).

A técnica de fluorescência pode ser empregada utilizando-se o corante isoladamente (técnica de coloração direta) ou em combinação com um método de concentração, como o *quantitative buffy coat* (QBC). Resumidamente, coleta-se o sangue por punção digital em tubos de microhematócrito contendo anticoagulante e corante fluorescente. O tubo é centrifugado a 12000 rpm por 5 minutos e imediatamente examinado, utilizando-se um microscópio epi-fluorescente (ARIEY; GAY; MÉNARD, 2019; CLENDENNEN; LONG; BAIRD, 1995; HAWKES; KAIN, 2007; MOODY, 2002; TANGPUKDEE et al., 2009).

A técnica Kawamoto é outro exemplo da microscopia fluorescente, mais simples, que pode utilizar fontes luminosas alternativas, mais acessíveis (MOODY, 2002).

Três corantes são mais comumente empregados na técnica da microscopia fluorescente: o acridina laranja (AO – *Acridine Orange*), o benzotiocarboxipurina (BCP) e a rodamina 123. Os dois primeiros são excitados por ondas do mesmo comprimento e coram

amarelo ou verde. O último apresenta a limitação de ser útil apenas na presença de parasitas viáveis, uma vez que sua ação se dá na membrana parasitária intacta (MOODY, 2002).

O AO é amplamente utilizado e atualmente existem no mercado muitos testes que o empregam. A técnica tem-se mostrado útil tanto em ambiente laboratorial quanto em campo. Embora o AO seja um corante forte, ele não apresenta especificidade e sendo assim, cora o DNA de todos os tipos celulares, dificultando o diagnóstico pelo microscopista, requerendo mais experiência do mesmo. Cuidado adicional deve ser dispensado quando o paciente apresenta anemia hemolítica e corpúsculos de *Howell- Jolly* no sangue (MOODY, 2002; TANGPUKDEE et al., 2009).

As técnicas utilizando AO, apresentaram sensibilidade variando de 41 a 93 %, em infecções com parasitemias de 0,002% (< 100 parasitas/ μ l). A especificidade para o *P. falciparum* foi >93%. Para infecções não-*falciparum* a especificidade foi de 52% (MOODY, 2002).

O BCP também apresenta como característica importante a capacidade de corar intensamente o núcleo dos *P. falciparum* viáveis. Outras organelas, inclusões celulares de hemácias ou leucócitos também se coram, porém mais fracamente (GAY et al., 1996). Adicionalmente, uma das principais vantagens do uso do BPC, em comparação a outros corantes, é a superação da necessidade de exame rápido do material para prevenir o desbotamento ou a precipitação, como acontece quando se empregam outros corantes.

Técnicas utilizando BCP apresentam sensibilidade e especificidade > 95% para *P. falciparum* (MOODY, 2002).

Numa revisão sistemática recente, a microscopia fluorescente (acridina laranja) foi o método de escolha para estudos epidemiológicos em populações assintomáticas em áreas endêmicas, provavelmente pela sua boa sensibilidade em situações de baixa parasitemia,

superando até a MO e os testes imunocromatográficos (HAWKES; KAIN, 2007; TANGPUKDEE et al., 2009).

De forma geral, a técnica da fluorescência é considerada rápida e com boa acurácia. Entretanto, embora tenha sensibilidade muito boa para o *P. falciparum*, sua sensibilidade não é tão alta para as demais espécies, sendo impossível diferenciá-las ou quantificar os parasitas (sendo esta uma das suas principais limitações). A especificidade também é um fator limitante da metodologia, uma vez que o DNA leucocitário também pode se corar (HAWKES; KAIN, 2007; KANAYO; BROWN; SODEINDE, 2017; MOODY, 2002; TANGPUKDEE et al., 2009).

Outras importantes limitações desta técnica residem na necessidade de grande aparato técnico, o que a torna cara, e na necessidade de pessoal especializado.

Um fator positivo é que atualmente, há disponíveis microscópios fluorescentes portáteis que utilizam tecnologia de LED (*light emitting diode*). Lâminas pré-preparadas com o corante também já são comercializadas (MOODY, 2002; TANGPUKDEE et al., 2009).

Assim, mesmo com as limitações mencionadas, a técnica permanece como uma alternativa viável e rápida (MOODY, 2002).

2.2.3 Testes imunocromatográficos (Testes rápidos)

Como já mencionado, a gota espessa apresenta vantagens técnicas importantes sobre outros métodos, o que a torna metodologia de escolha (padrão ouro) para o diagnóstico da malária. Entretanto, as desvantagens da técnica, fizeram com que se buscassem alternativas diagnósticas que fossem rápidas, práticas e sensíveis para o diagnóstico da doença. Assim, nos últimos anos alguns métodos vêm sendo desenvolvidos.

Na década de 90, mais precisamente em 1993, se iniciou o desenvolvimento de testes imunocromatográficos. Trata-se de testes simples e rápidos, ancorados na identificação de antígenos maláricos específicos do plasmódio no sangue periférico. São conhecidos por “Testes de diagnóstico rápido” (RDT- *Rapid diagnostic test*) e podem ser encontrados na forma de varetas, cassetes ou cartões (OBEAGU, 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os testes rápidos tornaram-se atrativos uma vez que superavam alguns obstáculos encontrados com o uso da microscopia óptica, como o custo do equipamento, instabilidade de reagentes, necessidade de eletricidade e de pessoal qualificado (CUNNINGHAM et al., 2019).

Os antígenos maláricos alvos destes testes são o HRP (*Histidin rich protein*- proteína rica em histidina), *Plasmodium* aldolase e desidrogenase láctica parasitária (pLDH) (OBEAGU; UO; IS, 2018).

O HRP é um termo que envolve 3 proteínas: HRP 1,2 e 3. As HRPs são proteínas hidrossolúveis produzidas pelos estágios sexuais e assexuais e gametócitos jovens de todos os *P. falciparum*. Elas são expressas na superfície dos eritrócitos e tendo em vista sua abundância nesta espécie, foi o primeiro antígeno a ser utilizado nos RDTs. A HRP-2 é o antígeno mais comumente utilizado. Sua desvantagem é a permanência da proteína circulante por tempo prolongado, dando resultado positivo em indivíduos já tratados da doença (WONGSRICHANALAI, 2007; ROCK et al., 1987).

A pLDH é uma enzima glicolítica intracelular produzida em abundância pelos plasmódios viáveis em seus estágios sexual e assexual. Ele está presente e é liberado por hemácias infectadas. Ela foi identificada nos 4 tipos de plasmódios responsáveis pela malária humana e existem diferentes isômeros para cada espécie. Por ser característica de parasitas vivos, sua utilização permite diferenciar a fase aguda e a convalescença da infecção. Possui alta sensibilidade e alta especificidade, sendo útil para a triagem e confirmação diagnóstica da

malária, principalmente para turistas que visitam as áreas endêmicas. Como desvantagem, não permite o diagnóstico de uma infecção mista (WONGSRICHANALAI, 2007; MAKLER; PIPER; MILHOUS, 1998).

A *Plasmodium* aldolase é uma enzima produzida por todas as espécies de plasmódios (HAWKES, 2007; MEIER; DÖBELI; CERTA, 1992).

Existem diversos produtos para a realização de testes rápidos disponíveis no mercado, de acordo com o antígeno que o teste será capaz de reconhecer, sendo que alguns testes podem carrear mais de um anticorpo (TANGPUKDEE et al., 2009; WERNSDORFER et al., 2007). A escolha pelo teste ideal, com suas diferentes combinações de antígenos alvo, vai depender da epidemiologia do local e da situação em que ele será utilizado. Existem estudos comparando as diferentes apresentações comerciais dos testes rápidos. Entretanto, estas comparações nem sempre são fáceis, pois os estudos se baseiam em *guidelines* diferentes, as populações são diferentes do ponto de vista epidemiológico, além dos produtos poderem variar entre os seus lotes por conta de dificuldade de acondicionamento (WERNSDORFER et al., 2007).

Para ser considerada uma ferramenta diagnóstica útil, um teste deve apresentar uma sensibilidade maior que 95%. A maioria dos testes rápidos alcançou este objetivo no que tange à identificação do *P. falciparum*. Entretanto, para as espécies não-*falciparum* o mesmo não ocorre (WERNSDORFER et al., 2007).

Dependendo do teste utilizado, a especificidade pode chegar a 98,5%. Quanto maior a quantidade de antígenos presentes no sangue do paciente, menor é a possibilidade de testes falsos negativos (OBEAGU; UO; IS, 2018).

Estes testes possuem um custo mais elevado, porém, por outro lado, são de fácil execução, com necessidade de treinamento profissional mínimo, dispensam eletricidade,

equipamentos e insumos, além de oferecerem acesso ao diagnóstico em áreas remotas, onde não há laboratórios disponíveis (FIGUEIREDO FILHO et al., 2003).

Assim, embora apresentem limitações, estudos sugerem que os testes rápidos podem ser valiosos se puderem ser utilizados em conjunto com a microscopia em cenários clínicos enquanto resultados definitivos são aguardados de laboratórios de referência. Quando não há suporte laboratorial, principalmente em áreas muito endêmicas, os ensaios rápidos utilizando HPR2 podem salvar vidas (HAWKES; KAIN, 2007).

2.2.4 Sorologia

A sorologia é um método indireto que se baseia na detecção de anticorpos contra a fase assexuada sanguínea do parasita. Dentre os testes sorológicos, o método IFA (*Immunofluorescence antibody testing*) tem sido o mais confiável nas últimas décadas (SHE et al., 2007). O princípio do teste é que, após uma infecção por qualquer espécie de plasmódio, anticorpos específicos serão produzidos dentro de duas semanas e permanecerão circulantes por até 6 meses após o *clearance* do parasita. Para sua execução, o IFA utiliza um antígeno preparado em uma lâmina, que é capaz de identificar tanto IgG quanto IgM (TANGPUKDEE et al., 2009).

A sorologia pelo método IFA tem-se mostrado útil em pesquisas epidemiológicas e ocasionalmente, para evidenciar infecções recentes. Em alguns locais, a técnica é utilizada como estratégia para triagem de doadores de sangue, combinada com outra ferramenta de triagem. Porém, a falta de padronização dos reagentes pode ser um grave fator limitante da técnica, principalmente em serviços de hemoterapia (TANGPUKDEE et al., 2009).

Outras metodologias de provas sorológicas empregadas incluem a imunofluorescência indireta (IFI), a imunoenzimática (ELISA), a de aglutinação e a de precipitação (ARIEY; GAY; MÉNARD, 2019; ERDMAN; KAIN, 2008).

Assim, a sorologia é considerada um método simples e sensível. Porém, por não poder ser automatizado na maioria das vezes, torna-se demorado, limitando a quantidade de amostras estudadas. Além do mais, a técnica também demanda equipamentos específicos e equipe bem treinada (principalmente para as amostras de baixas parasitemias). Desta forma, os testes sorológicos apresentam pouca utilidade prática (TANGPUKDEE et al., 2009).

A sorologia não é indicada para fins diagnósticos, pois a demonstração de anticorpos não se relaciona diretamente com doença ativa, já que os anticorpos podem permanecer na circulação do indivíduo anos após a doença. Assim, no caso da malária, a sorologia mostra que o indivíduo foi exposto ao *Plasmodium*, mas isso pode ter ocorrido muito tempo antes do exame ter sido realizado. Além do mais, o tempo decorrido para o desenvolvimento dos anticorpos e a falta de diferenciação entre as espécies também são limitações da técnica (CHOTIVANICH; SILAMUT; DAY, 2007).

2.2.5 Testes moleculares

Um método ideal para o diagnóstico da malária, que possa ser útil inclusive na erradicação da doença, deve fornecer resultados rápidos, ser facilmente interpretável, possuir boa acurácia, com ótimas sensibilidade e especificidade, além de apresentar baixo custo, bom rendimento e baixa complexidade. De forma geral, os métodos moleculares reúnem a maioria destas características (ZHENG; CHENG, 2017a).

Atualmente, há diversas metodologias moleculares disponíveis (ou em desenvolvimento) que diferem umas das outras em alguns aspectos, por exemplo, podem diferir quanto ao tipo e volume do material utilizado (DNA, RNA ou sangue total), gene alvo, espécies detectadas, composição e concentração do primer (molécula iniciadora da reação), técnica de amplificação (isotérmica ou PCR), modo de leitura (eletroforese, fluorescência,

etc.) ou mesmo o tipo de metodologia (quantitativo ou qualitativo). Comparar os diferentes testes moleculares é uma tarefa difícil, uma vez que não existe um ideal entre eles e suas características vão torná-los mais adequados de acordo com a finalidade a que se propõem (por exemplo, diagnóstico, acompanhamento clínico, monitoramento de tratamento, etc.) (ROTH et al., 2016).

Basicamente, os testes moleculares para o diagnóstico de malária podem ser baseados em técnicas de PCR (*polymerase chain reaction*), técnicas de amplificação isotérmica ou técnicas moleculares de amplificação de sinal (ZHENG; CHENG, 2017a).

2.2.5.1 Ensaio baseado em PCR

Os testes moleculares baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR – *polymerase chain reaction*) são os mais utilizados para malária. São reconhecidos por suas elevadas sensibilidade e especificidade. Com esta técnica o limite de detecção do parasita pode cair até 0,02 parasitas/ μ l (CHENG et al., 2015; IMWONG et al., 2014).

Entretanto, de forma geral, estes testes não são utilizados em larga escala, devido a seu custo elevado, o que inclui equipamentos de alta complexidade e reagentes. Desta forma, é uma técnica que ainda está restrita aos grandes centros (ANDRADE et al., 2010).

A técnica convencional foi introduzida em 1993 e se fundamenta na multiplicação de um trecho específico do material genético (gene ou parte dele). Esta multiplicação ocorre várias vezes, a um ponto em que sua presença seja facilmente detectada por técnicas laboratoriais simples, como por exemplo, a eletroforese (SNOUNOU et al., 1993).

Basicamente, a técnica se dá em 3 etapas, que se repetem de forma cíclica, por aproximadamente 20 a 40 vezes:

- Separação da dupla fita de DNA (desnaturação). Para esta etapa, se utiliza uma temperatura elevada (94°C).
- Ligação dos oligonucleotídeos (*primers*), que são moléculas de DNA fita simples que se ligam, por complementaridade, a um trecho do material genético do parasita, já desnaturado na etapa anterior. Esta etapa é conhecida como “anelamento” e ocorre rapidamente a temperaturas não tão elevadas, que variam de acordo com a sequência dos oligonucleotídeos.
- Na última etapa, uma enzima denominada DNA polimerase reconhece o *primer* e sintetiza uma nova fita de DNA (fita filha). Este processo, chamado de extensão, ocorre a 72°C, temperatura ótima para a DNA polimerase isolada da bactéria *Thermus aquaticus*, utilizada atualmente.

Com o desenvolvimento desta tecnologia (PCR), o diagnóstico da malária mostrou grande progresso em termos de eficácia. Além disso, com a extensa utilização da PCR para o diagnóstico de outras doenças, as técnicas de extração e purificação de DNA foram aprimoradas e simplificadas.

Existem atualmente, vários ensaios baseados em PCR disponíveis e há também alguns ainda em estudo, que são variações da técnica de PCR convencional. Entretanto, dentre os ensaios disponíveis ainda não existe um ideal, que consolide todas as características necessárias para que seja um método amplamente utilizado (ZHENG; CHENG, 2017a).

O ***Nested PCR*** foi a primeira versão atualizada do PCR convencional. No *Nested PCR* o alvo inicial envolve o gênero *Plasmodium*. Posteriormente, ocorre uma série de reações espécie específicas que utilizam o material amplificado como input e a técnica de gel eletroforese para leitura (ZHENG; CHENG, 2017a).

É considerada uma técnica padrão ouro em alguns locais, mas é trabalhosa e demorada, além de propensa a contaminação durante a manipulação que a técnica envolve. Uma revisão comparando a técnica de *Nested PCR* com a microscopia avaliou a sensibilidade

da técnica em 99% e a especificidade em 88% (ROTH et al., 2016; ROUGEMONT et al., 2004).

Logo após, surgiu o PCR em tempo real (***Real time PCR***). Neste ensaio o processo de amplificação é acompanhado em tempo real, pelo uso de fluorescência contínua, o que permite a liberação de resultados em curtos períodos de tempo, levando no máximo, 3 horas. O PCR em tempo real pode ser single ou multiplex PCR, conforme a detecção seja gênero ou espécie específica e apresenta outro aspecto favorável de grande importância, que é a possibilidade de quantificação de patógenos na amostra (qPCR). O qPCR é bastante sensível, sendo teoricamente capaz de detectar parasitemias bem baixas, a partir de 0,05 a 0,025 parasitas/ μ l. Estudos demonstraram que a sensibilidade e a especificidade da técnica superam as da *Nested* PCR, chegando a 100% e 93%, respectivamente. Porém, no cenário real, a técnica é de difícil utilização, pois a eficiência necessária para a extração do DNA compromete a performance do teste (ROTH et al., 2016; ROUGEMONT et al., 2004; ZHENG; CHENG, 2017b).

O ***direct PCR*** (dbPCR) permite a amplificação direta do DNA, ou seja, a técnica dispensa a fase de extração do DNA. A amplificação direta do DNA pode acontecer a partir de 2,5 μ l de sangue em EDTA ou em amostras de sangue seco (em papel filtro, por exemplo). Qualquer que seja a amostra, o ensaio permite a detecção de infecção a partir da presença de 8 parasitas/ μ l.) (ECHEVERRY et al., 2016; MENS et al., 2012). A limitação mais importante da técnica é que o volume da amostra para cada reação deve ser bem preciso, sob pena de interferência na sensibilidade do exame. Assim, o fato de eliminar a dependência da extração do DNA, diminuiu o custo, o tempo e o trabalho relacionados à técnica, o que pode ser muito útil em cenários de pacientes sintomáticos onde se pretende fazer diagnóstico, por exemplo, em áreas endêmicas. Porém, pode-se perder diagnósticos em vigência de pacientes assintomáticos com baixas parasitemias (menos de 1 parasita/ μ l). Estudos

demonstraram sensibilidade e especificidade de 93% e 90%, respectivamente (ROTH et al., 2016; ZHENG; CHENG, 2017a).

O **RT PCR** (*reverse transcriptase PCR*) tem como alvo a sequência de RNA e não o gene. Desta forma, a sensibilidade do teste aumenta bastante, além de permitir a identificação do estágio em que se encontra o parasita (CHENG et al., 2013). Este aumento na sensibilidade permite que a técnica seja capaz de detectar, de forma eficaz, infecções subpatentes, assintomáticas, submicroscópicas. Por outro lado, como desvantagens da técnica, podem-se mencionar a demanda de profissionais extremamente qualificados para a purificação do RNA e transcrição reversa, o que torna o procedimento muito caro e demorado, dificilmente podendo ser utilizado em países endêmicos. Além do mais, o RNA é muito lábil comparado à durabilidade do DNA (CORDRAY; RICHARDS-KORTUM, 2012; PERANDIN et al., 2004).

O **CLIP PCR** (*caption and ligation probe PCR*) tem a sensibilidade da técnica de transcrição reversa sem o inconveniente da dependência da purificação de RNA e transcrição reversa. É um método extremamente sensível (detecta 0,01 parasita/ μ l), pode ser utilizado com sangue total ou amostra seca, tem um ótimo rendimento, principalmente se feito em *pool*, podendo baratear o teste a nível de centavos (de dólares) (CHENG et al., 2015). Desta forma, a técnica pode ser utilizada em cenários de vigilância e com melhor detecção de infecções assintomáticas a custos menores e com menos recursos humanos.

Existem outras técnicas para detecção de *amplicons* (produtos do PCR) além da eletroforese e fluorescência. São tecnologias alternativas para a análise do produto do PCR. Estes métodos incluem o *nucleic acid lateral flow immunoassay* (NALFIA) e o PCR ELISA. Ambas as tecnologias são menos sensíveis que o real time PCR, porém por serem mais simples, tornam seu uso mais factível em locais com recursos limitados (MARY et al., 2004).

2.2.5.2 Técnicas de amplificação isotérmica

Embora as técnicas com PCR tenham evoluído enormemente nos últimos anos e possuam vantagens inquestionáveis, ainda representam uma tecnologia de difícil utilização, principalmente por conta do seu custo elevado e tempo relativamente alto para liberação de resultados.

Neste cenário as técnicas moleculares de amplificação isotérmica despontam com um grande potencial para utilização no diagnóstico de malária. A técnica elimina o custo dos equipamentos que exigem alta potência, além de produzir resultados em intervalos de tempo bem menores, em torno de 30 minutos (MARY et al., 2004). Estas tecnologias incluem o *loop mediated isothermal amplification* (LAMP) e o *nucleic acid sequence based amplification* (NASBA).

LAMP→ A técnica denominada *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) surgiu recentemente como uma técnica molecular alternativa. É uma técnica ainda em estudo que se mostra capaz de combinar a alta *performance* do PCR com a possibilidade de utilização em situações de rotina, em condições difíceis e com poucos recursos humanos e financeiros (OCKER et al., 2016).

É um método molecular rápido que permite a amplificação do DNA mediante condições isotérmicas. Basicamente, a reação de amplificação causa uma turbidez proporcional à quantidade de material amplificado. A turbidez produzida é medida por um turbidímetro, uso de corantes ou mesmo pode ser observada a olho nu, o que elimina a necessidade de equipamentos, permitindo um diagnóstico molecular *point of care* (GOTO et al., 2009; LAU et al., 2016).

O LAMP para diagnóstico de malária foi inicialmente utilizado em 2006 e testado apenas para a espécie *P. falciparum*. Os resultados obtidos foram bons, entretanto, a média

mínima de parasitas para detecção era de 6 parasitas/ μ l, o que poderia ser um problema para as situações de baixa parasitemia, indicando possível baixa sensibilidade em situações reais (LEO L.M. POON,^{1*} BONNIE W.Y. et al., 2006).

Posteriormente, a técnica foi desenvolvida para identificação da espécie envolvida na infecção e um estudo utilizando microscopia como referência, mostrou que a técnica tinha uma sensibilidade de 98,5% e especificidade de 94,3% quando comparada à PCR, uma vez que 3,3% das amostras eram não concordantes entre o LAMP e o PCR. Estes resultados foram encorajadores com relação ao emprego da técnica tanto em cenários de diagnóstico clínico quanto nos de vigilância, uma vez que apresentavam sensibilidade e especificidade semelhantes ao PCR, dispensavam equipamentos para sua realização, forneciam resultados rápidos e eram mais simples e mais baratos (HAN et al., 2007).

Muitos estudos foram realizados com a técnica desde então. Porém, ainda há uma pequena porção de infecções não detectadas, além do custo ainda apresentar-se alto de uma forma geral.

NASBA → Na mesma linha do LAMP, o NASBA, é uma tecnologia dependente de *primer* que pode ser utilizada para uma amplificação contínua de RNA numa mistura simples e temperaturas relativamente baixas (ZHENG; CHENG, 2017a). A técnica se mostrou bastante sensível até o momento, tornando-se útil em situações de vigilância.

2.2.5.3 Testes moleculares de amplificação de sinal

Os testes de amplificação de ácidos nucleicos tornaram possível o diagnóstico de malária pela replicação exponencial de estruturas parasitárias. Como esta replicação ocorre milhares de vezes, estes testes ficam sujeitos a contaminação, levando a resultados falsos positivos (ZHENG; CHENG, 2017a).

Entretanto, existem técnicas que podem “by passar” a fase de isolamento de ácido nucleico e de amplificação, reduzindo o risco de contaminação, mas mantendo a sensibilidade do teste. São testes de hibridização. Neles, sondas de RNA se ligam ao alvo (DNA do parasita). Os híbridos RNA_DNA são capturados por um anticorpo marcado com fosfatase alcalina e detectados por quimioluminescência (ZHENG; LUO; MCMASTER, 2006).

Um exemplo de teste com esta metodologia é o ensaio de DNA ramificado (*Branched DNA- bDNA*). Trata-se de um teste baseado na detecção de sinal, ao invés da detecção do produto amplificado. As amostras dos pacientes são colocadas em contato com sondas que irão capturar o alvo desejado. Logo após, outras sondas são adicionadas para potencializar a hibridização e uma sonda de DNA ramificado, cujas ramificações se ligarão às sondas conjugadas com fosfatase alcalina. O material é incubado com um substrato luminescente, que emitirá luz. O sinal é diretamente proporcional à concentração do ácido nucleico alvo, uma vez que a quantidade de alvos não é alterada (SITI NOOR FATHILAH AHMAD ARIFFIN, 2013).

Esta tecnologia foi inicialmente utilizada para o diagnóstico de malária em 2013, demonstrando alta sensibilidade, sendo possível a detecção de 0,04 parasita/ μ l de sangue (*P.falciparum*). O teste mostrou grande concordância com a qPCR, tornando-se uma boa alternativa para o *screening* da doença com necessidade de mínimo investimento em tecnologia e pessoas. Entretanto, a tecnologia é patenteada, o que a torna cara (XU; ZHENG, 2016).

Outras técnicas de amplificação de sinal para detecção de malárias conseguiram alcançar sensibilidade comparável à microscopia e ainda precisam ser aperfeiçoadas. Porém, são técnicas promissoras pelos baixos custos.

2.3 MALÁRIA TRANSMITIDA POR TRANSFUSÃO DE SANGUE

Embora a principal forma de transmissão da malária seja vetorial, a doença também é transmissível por via transfusional. A transmissão da doença por esta via já é conhecida há muitos anos, tendo sido umas das primeiras infecções transfusionais reconhecidas. Na segunda metade do século XIX (1884), foi demonstrada a possibilidade de inoculação do parasita e no início do século XX (1911), foi descrito o primeiro caso de malária transmitida por via transfusional (KITCHEN; BARBARA; HEWITT, 2005; KITCHEN; CHIODINI, 2006b; L. J. BRUCE-CHWATT, 1974; VERRA et al., 2018).

Após o primeiro relato, novos casos ocorreram e os relatos de malária transfusional tenderam a aumentar nos 25 anos subsequentes, à medida que a transfusão de sangue se tornava uma prática terapêutica mais comum (L. J. BRUCE-CHWATT, 1974).

Nas décadas de 20 e 30, houve também casos de doadores de sangue contaminados com malária. Isto porque na época as transfusões eram realizadas de forma direta do doador para o paciente (“braço a braço”) e esta forma transfusional permitia que o sangue do receptor fluísse de volta na seringa durante o procedimento, indo contaminar o doador (L. J. BRUCE-CHWATT, 1974).

Na década de 40, já se utilizava o sangue estocado e, embora já se tomasse cuidado com a seleção do doador e com a preservação do sangue doado, os casos de malária transfusional continuaram a ocorrer. O primeiro caso de malária transfusional neste novo cenário da transfusão foi descrito em 1941. A crescente utilização de sangue na prática médica permitiu o aumento do número de casos transfusionais da doença e estima-se que de 1911 a 1950, houve cerca de 350 casos de malária transfusional (L. J. BRUCE-CHWATT, 1974).

Outro fator que possibilitou o aumento da ocorrência de casos da malária transfusional foi a facilidade de locomoção das pessoas. À medida que as viagens internacionais ficavam mais fáceis, veio o risco de exposição a doenças endêmicas em diferentes partes do mundo. Destas doenças, certamente a malária é uma das mais importantes. A infecção era importada por indivíduos que viajavam ou migravam de áreas endêmicas, favorecendo a transmissão transfusional, principalmente em áreas não endêmicas (KITCHEN; BARBARA; HEWITT, 2005).

Até o final da década de 70, foram relatados aproximadamente 145 casos da doença por ano da doença, segundo uma revisão de casos internacionais. Na década de 80, a ocorrência de pelo menos 3500 casos no mundo foi relatada em uma série histórica de 65 anos (JOÃO CARLOS PINA SARAIVA, 2014).

Nos Estados Unidos, a malária transfusional é considerada um evento raro. Um estudo identificou 26 casos da malária transfusional no país, de 1972 a 1981. Destes casos, quatro evoluíram para óbito. Foi estimada uma taxa de malária transfusional de 0,25 casos por milhão de unidades coletadas. Nahlen et al. (1991) chegaram à mesma taxa ao analisarem os casos de malária transfusional no país, de 1972 a 1988 (45 casos com 3 óbitos). Em 2001, Mungai et al. estimaram uma incidência menor que um caso de malária transfusional por milhão de unidades coletadas. De 1996 a 1998, houve a ocorrência de três casos, dos quais dois evoluíram para óbito (GUERRERO, 1983; MUNGAI et al., 2001).

De acordo com dados do CDC (*Center of Diseases Control*), entre 1958 e 1998 foram registrados de 2 a 3 casos de malária transfusional ao ano, na América do Norte (SIMON et al., 2002).

Na Europa, em 2005, um grande estudo retrospectivo de 20 anos identificou na Inglaterra 5 casos de malária transfusional (KITCHEN; BARBARA; HEWITT, 2005). Num

período de 10 anos também foram descritos alguns casos de malária transfusional na França e na Itália (SCURACCHIO et al., 2011).

Na África, principalmente na região subsaariana, área de altíssima transmissão de malária, observa-se que 40% das doações de sangue não são testadas para infecções transmissíveis, incluindo a malária. Desta forma, a prevalência de contaminação destas bolsas pelo plasmódio pode variar de 6,6% a 74%, de acordo com a área em questão (IRO et al., 2019).

No Brasil há poucos casos descritos de malária transfusional. No ano de 2000, foi descrito um caso numa paciente do sexo feminino, transfundida durante cirurgia cardíaca. Esta paciente evoluiu de forma grave, indo a óbito pouco tempo depois do diagnóstico. A paciente em questão era esplenectomizada, o que pode ter colaborado para a grave evolução da doença, uma vez que o baço participa da defesa imunológica do organismo contra as formas assexuadas do plasmódio (DI SANTI et al., 2004). Em 2008 foi descrito mais um caso de malária transfusional, em paciente pós-cirúrgico, que abriu o quadro dois meses após ser transfundido com sangue de doador infectado (SCURACCHIO et al., 2011). DI SANTI et al (2005) também descreveram um caso de malária transfusional no Brasil. Os três casos acima mencionados ocorreram no estado de São Paulo, área não endêmica do país, e a espécie infectante foi o *P. malarie*. Em todos eles, o doador infectado era assintomático no momento da doação.

Os dados oficiais sobre a malária transfusional no Brasil também são escassos. Acredita-se que os casos existentes possam ser subnotificados, pois a captação de dados oficiais referentes à transfusão de sangue é sujeita a uma série de limitações no país (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020). Além do mais, a exclusão da transmissão vetorial como causa da doença pode ser inviável, principalmente

nas áreas endêmicas, dificultando a identificação da transmissão transfusional, favorecendo, assim, a subnotificação.

Segundo dados da ANVISA, o percentual de inaptidão de doadores de sangue por malária variou de forma decrescente, de 0,06% a 0,01%, no período de 2013 a 2018, sendo que no último ano, o percentual de detecção de malária em candidatos à doação, na Região Norte, foi de 0,0% (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020).

Os critérios para seleção de candidatos a doadores de sangue, no que tange à malária, varia entre as nações. No Brasil, a triagem de doadores de sangue para malária segue as normas ditadas pela ANVISA (ANVISA, 2014) e pelo Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Segundo estas normas, os critérios para seleção de doadores variam entre as áreas endêmicas e não endêmicas brasileiras, assim classificadas de acordo com a incidência loco-regional de malária dada pelo IPA (Índice Parasitário Anual) fornecido por órgão oficial.

Nas áreas endêmicas como a Região Amazônica, que concentra mais de 90 % dos casos de malária no país (IPA alto), a inaptidão clínico-epidemiológica do candidato se baseia nos seguintes critérios:

1. Ter apresentado malária nos 12 (doze) meses que antecedem a doação e/ou
2. Ter apresentado sinais e sintomas de malária nos últimos 30 (trinta) dias e/ou
3. Ter se deslocado ou ser procedente de área de alto risco (IPA maior que 49,9) há menos de 30 (trinta) dias.

A triagem laboratorial em regiões endêmicas, de transmissão ativa é obrigatória em todos os candidatos à doação.

Nas áreas não endêmicas, considera-se inapto o candidato que tenha se deslocado ou seja procedente de municípios localizados em áreas endêmicas há menos de 30 (trinta) dias.

Se o candidato for procedente de municípios localizados em áreas endêmicas, após 30 (trinta) dias até 12 (doze) meses do deslocamento, deve ser submetido a testes de detecção da infecção. O candidato procedente de municípios localizados em áreas endêmicas, após 12 (doze) meses do deslocamento, é considerado apto à doação, sem a necessidade de realização dos testes laboratoriais. O candidato que tenha manifestado malária pode doar sangue após 12 (doze) meses do tratamento com cura comprovada. Por fim, é considerado inapto definitivamente o candidato que teve infecção por *Plasmodium malariae* (Febre Quartã).

Em países não endêmicos, onde a principal fonte de infecção é o doador que retorna de viagem para locais endêmicos, o critério utilizado é a inaptidão do candidato nestas circunstâncias.

No Canadá são inaptos por 12 meses os doadores que visitaram área endêmica para a doença. Se o candidato residiu em um país endêmico, fica inapto por 3 anos e se apresentou malária, fica inapto definitivamente (O'BRIEN; UZICANIN, 2013).

Nos Estados Unidos, estudos apontam que apesar dos critérios considerados na seleção de doadores, critérios adicionais devam ser adotados, uma vez que casos de malária transfusional potencialmente evitáveis ainda são identificados. Por outro lado, alguns estudos mostraram uma perda excessiva de potenciais doadores aptos, ao se utilizar apenas os critérios epidemiológicos.

Assim, o uso de critérios clínico-epidemiológicos na seleção de doadores é o primeiro critério para a prevenção da malária transfusional, e em alguns países é o único. Porém, nenhuma estratégia baseada apenas neste critério será perfeita, além de excluir desnecessariamente muitos doadores, o que pode ser um problema não só para regiões endêmicas como também nas não endêmicas (KITCHEN; CHIODINI, 2006b). Adicionalmente, o uso de critérios clínico-epidemiológicos, não associados a critérios

laboratoriais, é sujeito a falhas, uma vez que depende da subjetividade tanto do profissional que executa a triagem, quanto do candidato à doação.

O maior risco para a malária transfusional reside nos candidatos semi imunes, que são aqueles que apresentam baixa parasitemia e são assintomáticos no momento da triagem clínica (KITCHEN; CHIODINI, 2006b). Desta forma, principalmente em áreas endêmicas é importante uma boa rastreabilidade laboratorial da malária, a fim de excluir doadores possivelmente infectados e não afetar o estoque de hemocomponentes (SÁEZ-ALQUÉZAR et al., 1998).

A microscopia, principalmente a técnica da gota espessa, é o padrão para o diagnóstico da malária utilizado nos hemocentros brasileiros. Entretanto, em áreas endêmicas pode não ser o ideal, por falhar ao identificar situações de baixa parasitemia, além do tempo que demanda para sua realização. Assim, estudos sugerem a substituição desta metodologia pelos testes rápidos. TORRES et al. (2014), recentemente, aplicaram a gota espessa associada a 2 testes rápidos para a avaliação de 407 candidatos à doação de sangue com risco para malária na Região Amazônica. Este estudo não evidenciou diferenças entre as metodologias.

A utilização da sorologia não é indicada como aliada, uma vez que pode ser positiva em casos de infecção passada, não mais infectante. Um estudo conduzido de 2005 a 2011 em São Paulo, Brasil, ao avaliar 5610 doadores inaptos na triagem epidemiológica para malária, encontrou mais de 1.5% de positividade na sorologia com nenhuma positividade para PCR (NGUYEN et al, 2014).

Estudos sugerem que a prevenção laboratorial mais adequada e segura da transmissão transfusional da malária seja pela adoção da tecnologia da PCR na triagem laboratorial, pois esta metodologia permite a detecção de baixíssimas parasitemias, constituindo-se numa valiosa ferramenta, principalmente nas áreas endêmicas. Com a intenção de minimização de

custos, autores sugerem sua utilização em doadores com maior risco, além de utilização da tecnologia em *pool* (FUGIKAHA et al., 2007; TORRES et al., 2006).

Estudos foram conduzidos comparando a técnica de PCR com as demais disponíveis. Fugikawwa et al. (2007) ao analisarem 400 doadores aptos em quatro estados da Região Amazônica brasileira, testados para malária com gota espessa ou teste rápido, encontraram positivities variáveis de 1 a 3% para malária nestes mesmos doadores.

Em 2006, Torres et al. encontraram no Amazonas 0,3% de positividade para malária (*P. vivax*) utilizando PCR quando comparada a gota espessa e QBC em 286 doadores aptos.

Outros estudos encontraram positivities em PCR variando de 1,34% a 7,4% em doadores aptos pela técnica da gota espessa (BATISTA-DOS-SANTOS et al., 2012; MASELLI et al., 2014).

Os hemocomponentes mais frequentemente envolvidos na transmissão da malária transfusional são os concentrados de hemácias ou o sangue total, uma vez que é necessária a presença de esquizontes viáveis que garantam a transmissão do parasito e estas formas estão presentes nas hemácias. Entretanto, atualmente, são bastante restritas as indicações de utilização de sangue total para transfusões (KITCHEN; CHIODINI, 2006b; SCURACCHIO et al., 2011; VERRA et al., 2018).

Outros hemocomponentes já foram relacionados à transmissão de malária transfusional, porém de forma bastante rara. Embora a transfusão de concentrados de leucócitos não seja uma prática comum, já houve relato de malária transmitida pela transfusão deste hemocomponente. Concentrados de plaquetas e até mesmo plasma já foram implicados na contaminação transfusional da malária, não se podendo descartar a contaminação destes hemocomponentes com hemácias infectadas (KITCHEN; CHIODINI, 2006b; SÁEZ-ALQUÉZAR et al., 1998; SCURACCHIO et al., 2011; VERRA et al., 2018).

Uma vez transfundido o hemocomponente com esquizontes viáveis, o início dos sintomas no receptor pode diferir do período de incubação da malária transmitida de forma vetorial. Se os esquizontes infundidos estiverem maduros, a evolução da malária transfusional pode se assemelhar à vetorial, isto é, cerca de 15 dias de incubação. Por outro lado, por carecer do ciclo hepático, na malária transfusional o ciclo eritrocitário deverá se repetir inúmeras vezes (principalmente se a quantidade de parasitas infundidos for pequena) para chegar a uma quantidade capaz de provocar sintomas no paciente, o que pode levar até 90 dias. Uma consequência deste período de incubação mais extenso é a possibilidade de dificultar o diagnóstico, retardando o tratamento e favorecendo uma evolução grave e óbito.

Segundo Mungai et al. (2001), o período de incubação da malária transfusional por *P. falciparum* pode levar de 8 a 36 dias, o por *P. vivax* de 11 a 42 dias e por *P. malarie* de 8 a 90 dias, com medianas de 16, 17 e 48 dias, respectivamente (MUNGAI et al., 2001).

A dose mínima infectante de plasmódios não é definida. Alguns autores acreditam que bastem 10 parasitas para causar infecção no ser humano (SEED; KITCHEN; DAVIS, 2005).

A temperatura de armazenamento dos hemocomponentes também pode influenciar no potencial de contaminação dos mesmos.

O tratamento da malária transfusional não é muito diferente do tratamento da vetorial. Como na malária transfusional não há formação das formas hipnozoítos, não são utilizadas drogas hipnozoiticidas. Entretanto, da mesma forma que na transmitida vetorialmente, na malária transfusional há formação de gametócitos, o que torna viável sua transmissão vetorial também (KITCHEN; BARBARA; HEWITT, 2005).

2.4 EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA

2.4.1 A malária no mundo

Apesar dos esforços para a erradicação da malária, principalmente na década de 50 e 60, ela permanece entre as principais doenças tropicais da atualidade. É uma doença endêmica em regiões tropicais e subtropicais (SIMON et al., 2002).

Crianças menores de 5 anos, em especial bebês, gestantes, pacientes com HIV/AIDS e migrantes não imunes, populações móveis e viajantes são grupos que apresentam risco maior de contrair malária e desenvolver formas graves. Mais de dois terços (70%) de todos os óbitos por malária ocorrem em crianças menores de 5 anos (WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020).

Segundo dados da Organização Pan-americana de Saúde, quase metade da população mundial (mais de 3 bilhões de indivíduos) se encontrava em risco de contrair malária no ano de 2015. Neste ano, noventa e cinco nações e territórios apresentaram transmissão da malária, dos quais apenas 15 (principalmente da África Subsaariana) representam a imensa maioria de casos e óbitos (WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020).

De acordo com a OMS, em 2017 e 2018, foram contabilizados mundialmente 231 milhões e 228 milhões de casos de malária, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

A África Subsaariana é a região que concentra o maior número de casos (93%) e de óbitos (90%) pela doença. Seguida pela região sudeste asiática e norte do Mediterrâneo, que representam, respectivamente 3,4% e 2,1% dos casos mundiais da doença. Na África, a Nigéria, a República Democrática do Congo e Uganda são os países mais acometidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

Entretanto, a Ásia e a América Latina também são consideradas áreas de risco, assim como o Oriente Médio, mas este em menor proporção (WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020). Na região das Américas, o Brasil é o país que mais registra casos de malária, cerca de 50% das ocorrências (AÇÕES DE CONTROLE DA MALARIA, MS, 2006).

Porém, apesar destes dados alarmantes, entre 2000 e 2015, a incidência de malária caiu 37% globalmente e as taxas de mortalidade diminuíram 60%. Acredita-se que 6,2 milhões de mortes por malária têm sido evitadas mundialmente desde 2001. As taxas de mortalidade em crianças com menos de 5 anos também apresentaram queda de 65% em todo o mundo, traduzindo-se em um número estimado de 5,9 milhões de vidas salvas entre 2001 e 2015 nessa faixa etária. De 2010 a 2018, a taxa de incidência de malária caiu de 71 para 57 casos por 1000 indivíduos, tendo sua maior expressão de declínio até o ano de 2014 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Com relação ao número de óbitos, foram registrados aproximadamente 416.000 óbitos pela doença em 2017 e 405.000, em 2018. Estes números representam quedas expressivas, se comparados aos 585.000 óbitos de 2010. A África é o continente que registra o maior número de óbitos, mas em 2018 apenas esta região e o sudeste asiático apresentaram redução nos casos de óbito por malária se comparados a 2010. A região africana teve a maior redução em números absolutos de casos de mortes por malária, indo de 533.000 para 380.000, em 2010 e 2018, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O *P. falciparum* é a espécie mais prevalente na África, sendo a responsável pela quase totalidade dos casos (99,7%). A espécie também é a mais prevalente nas regiões do sudeste asiático (50%), norte do Mediterrâneo (71%) e oeste do Pacífico (65%). Nas Américas, o *P. vivax* é a espécie predominante (WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020).

Os resultados positivos alcançados nestes anos são fruto de ações globais para prevenção e controle da doença. A OMS, por meio do Programa Mundial sobre a Malária, é a responsável pela coordenação dos esforços mundiais para o controle da doença.

Cabem ao Programa Mundial sobre Malária as seguintes atribuições:

- Definir, comunicar e difundir normas, critérios, políticas, estratégias técnicas e diretrizes baseados em dados científicos e promover sua adoção;
- Realizar uma valoração independente dos progressos realizados em nível mundial;
- Elaborar métodos para a criação de capacidade, fortalecimento dos sistemas e da vigilância; e
- Identificar possíveis ameaças à luta contra a malária e à eliminação da doença, assim como novas áreas de ação.

O Programa Mundial sobre Malária recebe o apoio e aconselhamento do Comitê Assessor em Políticas sobre Malária – um grupo de 15 especialistas mundiais sobre a doença nomeados por um processo de candidatura aberta. O comitê se reúne duas vezes ao ano e fornece aconselhamento independente à OMS para desenvolver recomendações de políticas para o controle e eliminação da malária (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019, 2021).

Em maio de 2015 foi aprovada pela Assembleia Mundial da Saúde a “Estratégia mundial contra a malária 2016-2030”, que fornece as bases para as ações do Programa Mundial sobre a Malária. A estratégia é resultado da participação de mais de 400 especialistas de 70 Estados-Membros e representa um marco técnico para os países endêmicos para a doença. Sua construção foi baseada em 3 pilares:

1. Assegurar o acesso universal a serviços de prevenção, diagnóstico e tratamento da malária;

2. Agilizar as atividades destinadas à eliminação e conseguir a certificação de ausência de malária;
3. Transformar a vigilância da malária em uma intervenção básica.

A estratégia objetiva fornecer orientações e apoio aos programas nacionais e regionais no controle e eliminação da malária e, para tanto, foram estabelecidas algumas metas para serem alcançadas mundialmente neste período, a saber:

- Reduzir a incidência da malária em, no mínimo, 90%;
- Reduzir a mortalidade por malária em, no mínimo, 90%;
- Eliminar a doença em, no mínimo, 35 países;
- Impedir a reaparição nos países em já foi certificada a eliminação.

As metas estabelecidas são consideradas ousadas, mas factíveis e o período definido para a finalização coincide com a agenda de 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, aprovado em 2015 por todos os Estados Membros das Nações Unidas (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION; ESTRATÉGIA TÉCNICA MUNDIAL PARA O PALUDISMO, 2016 - www.paho.org- acessado em setembro de 2020).

Quadro 2. Estimativa de casos de malária por região, de 2010 a 2018 (OMS, 2019).

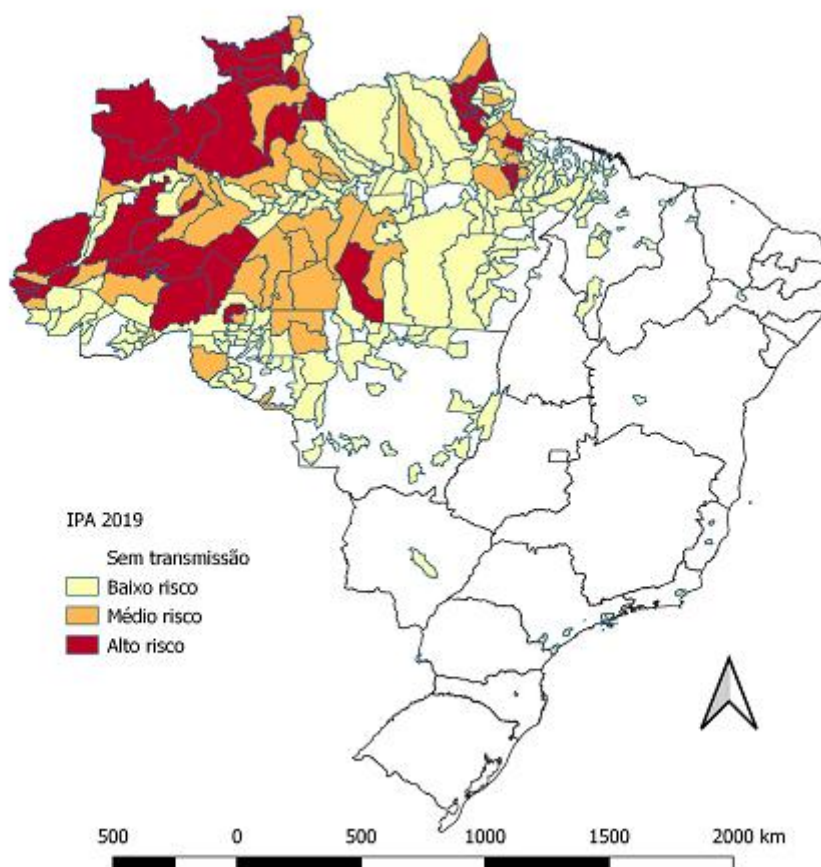
	Número de casos de malária								
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
África	218.000	213.000	209.000	204.000	197.000	199.000	206.000	212.000	213.000
Américas	814	611	580	562	477	566	691	944	929
Leste do Mediterrâneo	4.300	4.500	4.200	3.900	4.000	3.800	4.800	5.000	4.900
Sudeste asiático	25.000	21.100	18.400	13.700	13.000	13.600	14.000	11.300	7900
Oeste do pacífico	1.839	1.576	1.761	2.027	2.345	1.445	1.733	1.854	1.980
Global	251.000	241.000	234.000	224.000	217.000	219.000	227.000	260.000	258.000

2.4.2 A Malária no Brasil

No Brasil, os graus de risco para adoecer de malária são classificados de acordo com a Incidência Parasitária Anual (IPA), que expressa o número de exames positivos de malária por mil habitantes em determinado lugar e período. Através deste índice, se determina a endemicidade da região: áreas são classificadas como de alto risco ($IPA \geq 50/1.000$ habitantes), médio risco (IPA entre 10 e 49/1.000 habitantes) e baixo risco ($IPA < 10/1.000$ habitantes) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

Desta forma, no país há dois cenários epidemiológicos bem caracterizados: a região Amazônica, onde se encontra a alta endemicidade (IPA elevado) e a região extra-amazônica (restante do país) com baixa endemicidade (IPA baixo) (Figura 3). Na Região Amazônica, o IPA apresenta-se em torno de 20, enquanto que em outras áreas do país, os valores são inferiores a um (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

Figura 3: Mapa de risco da malária no Brasil, 2019 (Fonte: SIVEP-Malária e SINAN/SVS/MS- 2020).

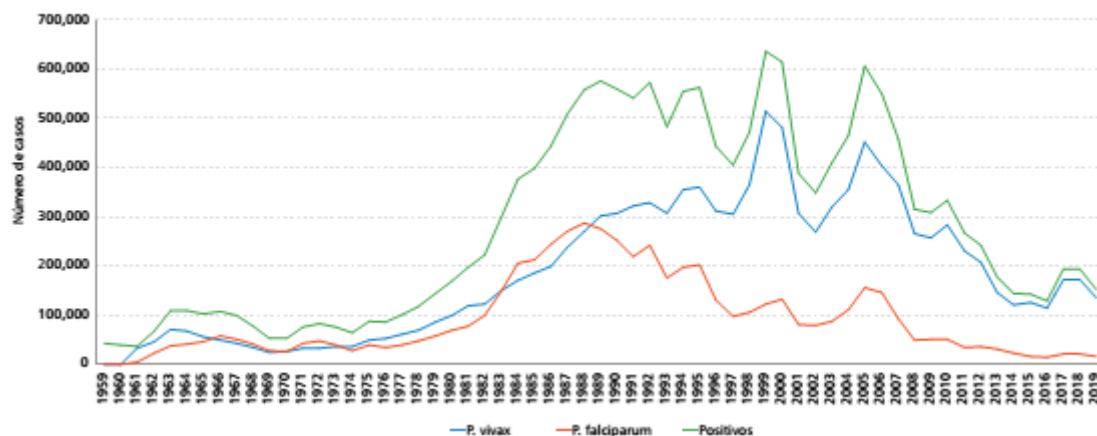


A malária é comum na área rural da Amazônia legal (composta por nove estados brasileiros: Acre, Amazonas, Amapá, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins e parte do Maranhão), local responsável pelo registro da quase totalidade dos casos da doença no país. Embora a região extra Amazônica não seja endêmica, surtos autóctones têm sido observados, principalmente nos estados de São Paulo e Espírito Santo, sendo responsáveis por aproximadamente, 90% dos casos confirmados (Quadro 2) (MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

A transmissão no Brasil ocorre através de 3 espécies *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae*, sendo o *P. vivax* responsável por, aproximadamente 90% dos casos, conforme

demonstrado na figura 4 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a; MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

Figura 4: Casos de malária notificados no Brasil segundo a espécie parasitária, 1959-2019 (Fonte: SIVEP-Malária e SINAN/SVS/MS- 2020).



O primeiro surto de malária no Brasil data da década de 30, quando espécies do mosquito *Anopheles gambiae* foram identificadas no nordeste brasileiro, provavelmente importadas da África, de navio. Apesar de ter sido um surto grave, com 13% de mortalidade, as autoridades brasileiras obtiveram sucesso no controle vetorial já no início dos anos 40. Mesmo assim, na década de 40, a malária ainda era um grave problema no país. Nos anos 60, após uma campanha nacional bem-sucedida ocorrida no final da década de 50, os casos de malária alcançaram decréscimo importante, com o registro de quase 37 mil casos (36.900), o menor índice registrado (OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Entretanto, o sucesso não foi o mesmo na Região Amazônica. Na época, programas de colonização incentivados pelo governo, levaram a um movimento migratório descontrolado, para o qual a região não estava preparada. Desta forma, os casos de malária no país, pularam de 52 mil nos anos 70 para 578 mil no final da década de 80 (LOIOLA; SILVA; TAUIL, 2002; OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Em 1992, o Brasil deu início ao Plano Nacional de Controle da Malária (PNCM), como parte de uma estratégia mundial da OMS para controle da doença. Neste período, o foco da OMS era maior no controle da morbimortalidade da malária do que na erradicação da doença (OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Em 1999 foram registrados 637.470 casos de malária, com aproximadamente 21 mil internações pela doença. Nesta ocasião, as autoridades brasileiras intensificaram as ações de um outro plano, o PIACM (Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária na Amazônia Legal). Este novo plano tinha como objetivos a redução dos novos casos da doença e a redução de sua morbimortalidade, além da eliminação da transmissão urbana dos estados da Região Amazônica. O plano também tinha como objetivo manter a transmissão estacionada nas localidades onde já se tinha alcançado esta meta. Uma característica deste plano era que as suas ações não focavam no controle ambiental. A iniciativa obteve êxito e os números caíram para cerca de 15 mil internações em 2001 (COVAS; JÚNIOR; BORDIN, 2007). Com as ações deste plano reforçadas, aliadas a outras estratégias, a oferta de serviços para o controle da doença, como laboratórios e disponibilidade de agentes sanitários, por exemplo, mais que dobrou no período de 10 anos (1999 a 2009)(OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Mesmo assim, durante este período, por razões multifatoriais (por exemplo, condições climáticas e movimento migratório), houve aumento da incidência da doença em algumas localidades da Região Amazônica. Assim, o Ministério da Saúde, num esforço conjunto com os governos locais, organizou intervenções mais focadas nestas regiões. Com essas ações, houve redução substancial dos casos, com registro de 456 mil em 2007 e 314.420 em 2008 (OLIVEIRA-FERREIRA et al., 2010).

Lapouble e colaboradores (2015) descreveram a situação epidemiológica da malária na Amazônia brasileira entre 2003 e 2012 a partir dos dados do Sistema Brasileiro de

Vigilância Epidemiológica e Comunicação da Malária (SIVEP-Malária / SVS / MS), Sistema de Admissão Hospitalar (SIH / DATASUS / MS) e Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Entre 2003 e 2005, observou-se um aumento de 48,3% no triênio, atingindo 606.069 casos e a partir de 2006, se identificou uma tendência decrescente até 2012, especialmente para *P. falciparum* com redução de 77,2%. Segundo os autores foram registrados 241.806 casos de malária na região em 2012, uma redução de 60,1% em relação ao ano de 2005. Neste período, também foi registrada uma redução de 74,6% no número de admissões hospitalares de malária e de 54,4% de óbitos (LAPOUBLE, 2015).

Em 2015, com o objetivo de eliminar a doença no país, o Ministério da Saúde lançou o Plano de eliminação da malária no Brasil. A meta é reduzir em 90%, no mínimo, os casos autóctones da malária até 2030, com eliminação até 2040. Em 2019, 160 municípios brasileiros ainda não tinham conseguido alcançar a meta estabelecida (Quadro 3) (MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

Quadro 3: Meta de eliminação da malária por estados e municípios que atingiram ou não a meta.

Região	Estado	Meta	Nº casos	Nº de municípios que atingiram a meta*	Nº de municípios que não atingiram a meta
Região Amazônica	RO	6.957	9.542	36	16
	AC	23.225	12.781	14	8
	AM	66.106	65.128	36	26
	RR	16.503	18.823	6	9
	PA	41.765	32.785	112	32
	AP	12.887	9.948	11	5
	TO	6	1	138	1
	MA	264	88	205	12
	MT	908	2.279	112	29
Região Extra Amazônica	PI	3	10	220	4
	CE	0	1	183	1
	RN	0	0	167	0
	PB	0	22	221	2
	PE	0	1	184	1
	AL	0	0	102	0
	SE	0	0	75	0
	BA	69	1	416	1
	MG	2	0	853	0
	ES	131	3	76	2
	RJ	5	1	91	1
	SP	10	14	637	8
	PR	2	1	399	0
	SC	0	1	294	1
	RS	0	0	497	0
	MS	5	2	78	1
	GO	1	0	246	0
DF	0	0	1	0	
	Brasil	168.846	151.432	5.410	160

*Número de Municípios

**Meta de eliminação da malária

Adaptado de BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2020.

2.4.2.1 A Malária no Acre

O Acre é o estado mais ocidental do Brasil e compõe, junto com outros 8 estados, a Amazônia Legal. O estado é composto por 22 municípios localizados ao longo dos rios Acre-Purus e Juruá.

A incidência da malária no estado aumentou significativamente no final do século XIX, quando a exploração da borracha na região atraiu muitos nordestinos sem exposição prévia à doença. Daí em diante, condições climáticas, migração rural-urbana e ocupação não planejada de espaços têm contribuído para aumentar o número de casos na região.

Acredita-se que a piscicultura, estimulada pelo governo, também tenha influência na endemicidade por propiciar focos de criadouro do mosquito *Anopheles* em tanques destinados à atividade econômica.

A região do Juruá, em especial as cidades de Cruzeiro do Sul, a segunda maior do estado, e o município de Mâncio Lima, é a localidade que concentra o maior número de casos da doença no estado.

Em Cruzeiro do Sul, o IPA chegou a 571,5 por mil habitantes em 2006, caracterizando a área como hiperendêmica. A cidade se localiza às margens do Alto Juruá, com uma área de 7.781,5 Km², limitando-se pelo estado do Amazonas e pelos municípios acreanos de Porto Valter, Tarauacá, Mâncio Lima, Rodrigues Alves e pelo Peru. O clima na cidade é quente e úmido, com chuvas frequentes e média anual de 26° de temperatura e duas estações bem caracterizadas ao longo do ano: uma seca e uma chuvosa.

De 2015 até a primeira metade de 2020, o município de Mâncio Lima foi o que obteve índices parasitários anuais mais altos no estado, alcançando mais de 518 casos por mil habitantes em 2017. Até 2017, os municípios mais endêmicos apresentaram IPA crescente, mas a partir deste ano, todos os municípios mostraram tendências decrescentes no IPA.

Rio Branco, a capital do estado, também apresentou IPA mais baixo nos anos de 2018 e 2019, mas sempre muito inferiores aos municípios mais endêmicos.

O quadro 4 mostra os índices parasitários anuais dos municípios do Acre mais endêmicos para malária, no período de 2015 a 2020. No período, houve 3 óbitos pela doença, dois em Cruzeiro do Sul e um em Mâncio Lima.

Quadro 4: Quadro comparativo do Índice Parasitário Anual (IPA) das cidades do Acre com maior endemicidade para malária, de 2015 a 2020.

Cidade	Índice Parasitário Anual - IPA					
	2015	2016	2017	2018	2019	2020*
Cruzeiro do Sul	183,9	250,9	258	157,2	71,7	38,4
Mâncio Lima	325,7	449,4	518,7	410,4	178,2	48,7
Rodrigues Alves	258	272,4	240,5	194,6	105,5	35,8
Porto Walter	61,7	36,5	36,7	16,8	22,5	9,8
Rio Branco	1,2	1,7	1,7	1,5	1,5	0,6

*(até 30 junho).

Fonte: (SIVEP, 2020; DA SILVA et al., 2010; COSTA et al., 2010).

3. PERGUNTAS DE PESQUISA

Qual é a prevalência de malária candidatos à doação de sangue no estado do Acre?

Qual a concordância entre os resultados microscópicos e moleculares para malária entre candidatos à doação de sangue em Cruzeiro do Sul?

HIPÓTESES

1. A prevalência de malária entre candidatos à doação de sangue no estado do Acre é maior que as observadas em outros estados brasileiros.
2. Existe positividade para malária em candidatos à doação de sangue no Estado do Acre que não é detectada pelos métodos laboratoriais convencionalmente utilizados.

4. JUSTIFICATIVA

A transfusão de sangue é uma necessidade na prática clínica, sendo crucial sua utilização para o sucesso na condução de diversas enfermidades. Entretanto, a exemplo de inúmeras modalidades terapêuticas, esta não é uma prática isenta de riscos. Um destes riscos envolve a transmissão de patógenos, que ocorre quando um doador infectado não é detectado pelos métodos de triagem atuais e o agente etiológico é transferido para um receptor suscetível. Para minimizar esse risco, lança-se mão de estratégias que vão desde a triagem clínico-epidemiológica dos candidatos à doação de sangue até a realização de técnicas laboratoriais, por métodos cada vez mais modernos. Entretanto, nenhum dos métodos de triagem consegue ser 100% eficaz na detecção da presença de patógenos no sangue doado, permanecendo, desta forma, um risco residual de transmissão de doenças infecciosas por via transfusional. Em locais endêmicos para malária, como o Acre, indivíduos infectados podem ser assintomáticos, pois tornaram-se semi-imunes após várias infecções. Esses indivíduos, se candidatos à doação, podem passar despercebidos tanto pela triagem clínica quanto pela laboratorial e, desta forma, serem aptos à doação, indo infectar o receptor da transfusão.

A malária transmitida por transfusão sanguínea permanece como uma infecção importante, pois pode ocasionar doença grave com evolução para o óbito. Os dados sobre malária transfusional no Brasil não são fartos e não é conhecida sua real incidência no país, uma vez que é provável a ocorrência de subnotificação. Entretanto, a doença é uma realidade no cenário brasileiro, principalmente nas áreas endêmicas, como a Amazônia, e sua transmissão deve ser minimizada por meio de triagens epidemiológicas e laboratoriais acuradas. Dessa forma, estudos que determinem a prevalência do *Plasmodium* em candidatos à doação de sangue e efetuem a validação dos sistemas de triagem clínico-epidemiológica e laboratorial são de extrema relevância.

O presente projeto propõe a realização de uma investigação para avaliar o rastreamento clínico-epidemiológico e laboratorial da malária de candidatos à doação e doadores de sangue no estado do Acre. Propõe também a análise da detecção do parasita pelo método preconizado para os serviços de hemoterapia (gota espessa), além da avaliação da concordância entre este método e um confirmatório (molecular), para comparação dos seus resultados. Esta proposta é relevante, pois oferecerá a oportunidade de avaliar a situação do estado do Acre quanto à prevalência do parasita em doadores de sangue, bem como oferecerá subsídios para avaliar a legislação atual acerca do assunto, aportando conhecimento para a adoção de novas abordagens preventivas da transmissão de malária por via transfusional.

5. OBJETIVOS

5.1 Geral

Avaliar a situação clínico laboratorial da malária entre candidatos à doação e doadores de sangue no Estado do Acre, no período de 2016 a 2022.

5.2 Específicos

1. Caracterizar a distribuição dos motivos de inaptidão relacionados à malária de candidatos a doadores de sangue no Acre, segundo os fatores sociodemográficos e local de doação.
2. Descrever a prevalência das exposições a situações de risco para malária em candidatos à doação de sangue e avaliar seu impacto na liberação dos candidatos para doação no período de outubro de 2021 a abril de 2022, no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul e no hemocentro Coordenador do município de Rio Branco.
3. Estimar a prevalência de marcadores específicos para malária por testes microscópicos (gota espessa) e moleculares (PCR) entre candidatos à doação inaptos na triagem clínica e entre doadores aptos e inaptos após a doação de sangue em Cruzeiro do Sul.
4. Investigar a pertinência de uso da PCR para a detecção da infecção malárica em candidatos à doação de sangue em Cruzeiro do Sul.

6. METODOLOGIA

Esta tese foi desenvolvida sob a forma de 3 (três) artigos científicos, visando responder os objetivos específicos, acima elencados.

Cada artigo foi desenvolvido com metodologia própria, descrita de forma individualizada, conforme os resultados da tese, descritos oportunamente.

Artigo 1: Caracterização da triagem clínica e epidemiológica para malária em candidatos à doação de sangue em um estado endêmico da Amazônia Brasileira.

Artigo 2: Exposições relacionadas à infecção por *Plasmodium* em candidatos à doação de sangue em Cruzeiro do Sul e Rio Branco.

Artigo 3: Desempenho de testes microscópicos e moleculares para o diagnóstico de malária entre doadores de sangue aparentemente saudáveis no Acre, Brasil.

7. RESULTADOS

7.1 Artigo 1

* Artigo submetido à Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde, em 30 de maio de 2022.

CARACTERIZAÇÃO DA TRIAGEM CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA PARA MALÁRIA EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE EM UM ESTADO ENDÊMICO DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Thereza Cristina Picado Pinheiro¹, Sabrina Silva Santos^{1,2}, Rosalina Jorge Koifman^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Acre, Rodovia BR 364, Km 04, CEP: 69920-900 - Rio Branco, AC – Brasil.

² Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde. Av. Leopoldo Bulhões, 1480, CEP: 21041-210 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil.

RESUMO

Introdução: A malária é uma doença infecciosa aguda causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. Sua principal forma de transmissão é pela picada do inseto do gênero *Anopheles*. Entretanto, pode ter transmissão transfusional, com maior probabilidade de evolução para a forma grave. A transmissão transfusional pode ser um problema em áreas endêmicas, principalmente pela possibilidade de haver doadores de sangue assintomáticos.

Objetivo: Caracterizar a triagem clínica para malária em candidatos à doação de sangue no Estado do Acre. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal de abordagem quantitativa, sobre os aspectos clínico-epidemiológicos e sociodemográficos da triagem para malária, de candidatos à doação de sangue, realizado no período de 01 de janeiro de 2016 a 30 de junho de 2019, no Acre. A população do estudo foi composta pelo universo de candidatos à doação de sangue no estado. As variáveis independentes foram as sociodemográficas (sexo, faixa etária, grau de escolaridade, estado civil e cor da pele) e o local de doação. As variáveis dependentes foram os motivos de inaptidão relacionados à malária. A fonte de dados foi o sistema *HEMOVIDA*, utilizado na rotina dos serviços de coleta de sangue para doação.

Resultados: No período do estudo, 57.204 candidatos procuraram um dos serviços de hemoterapia do Acre para doação de sangue. Destes 14.885 (26,0%) foram considerados inaptos na triagem clínica. O perfil do doador inapto apontado foi sexo masculino (50,5%), com até 30 anos de idade (55,4%), com mais de 12 anos de escolaridade (46,9%), solteiros (62,2%) e não brancos (96,1%). Um total de 230 (1,5%) doadores foi inapto por motivos diretamente relacionados à malária, 103 (0,7%) por febre e 22,7% por hematócrito baixo. Em Cruzeiro do Sul, 4,6% dos candidatos foram inaptos por causas relacionadas à malária e estes doadores possuíam até 9 anos de escolaridade. **Conclusão:** Embora a triagem dos doadores de sangue obedeça às recomendações legais, ainda há possibilidade de transmissão de malária por via transfusional em áreas endêmicas para a doença.

Palavras-chave: Malária. Doadores de Sangue, Acre.

ABSTRACT

Introduction: Malaria is an acute infectious disease caused by protozoa of the genus *Plasmodium*. Its main form of transmission is by the bite of the insect of the genus *Anopheles*. However, it can have transfusion transmission, with a greater probability of progressing to severe form. Transfusion transmission can be a problem in endemic areas, mainly due to the possibility of asymptomatic blood donors. **Objective:** To characterize the clinical screening for malaria in candidates for blood donation in the State of Acre. **Methods:** This is a cross-sectional study, with a quantitative approach, about clinical-epidemiological and sociodemographic aspects of screening for malaria in blood donors candidates, carried out from January 1, 2016 to June 30, 2019, in Acre. The study population was composed of the universe of blood donation candidates in the state. The independent variables were sociodemographic (gender, age group, education level, marital status and skin color) and the place of donation. The dependent variables were the reasons for malaise related to malaria. The data source was the *HEMOVIDA* system, used in the routine of blood collection services. **Results:** During the study period, 57,204 candidates sought one of Acre's hemotherapy services for blood donation. Of these 14,885 (26.0%) were considered unfit for clinical screening. The profile of the unsuitable donor was male (50.5%), up to 30 years of age (55.4%), with more than 12 years of schooling (46.9%), single (62.2%) and non-white (96.1%). A total of 230 (1.5%) donors were unfit for reasons directly related to malaria, 103 (0.7%) for fever and 22.7% for low hematocrit. In Cruzeiro do Sul, 4.6% of the candidates were unfit for malaria-related causes and these donors had up to 9 years of schooling. **Conclusion:** Although the screening of blood donors is done properly, there is still the possibility of malaria transmission by transfusion in areas endemic for the disease.

Keywords: Malaria. Blood Donors. Acre.

INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa aguda, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. Sua transmissão natural se dá por picada de inseto do gênero *Anopheles*. Entretanto, há outras formas de transmissão, dentre elas, a transfusional (ANTWI-BAFFOUR et al., 2019; IRO et al., 2019). Embora ao longo dos anos tenha havido avanços no seu controle, a doença permanece como um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo, resultando anualmente em 228.000.000 novas infecções e aproximadamente 400.000 óbitos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019; WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020).

A malária é endêmica na região da Amazônia Legal Brasileira, constituída por nove estados das regiões Norte e Nordeste, dentre eles o estado do Acre, sendo essa região responsável por 99% das notificações brasileiras anuais da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). No estado do Acre, de 2015 a 2019 foram detectados em média quase 28.000 casos anuais de malária. A região do Vale do Juruá é onde se concentra o maior número de casos do estado, sendo o município de Cruzeiro do Sul um dos principais acometidos, com uma “Incidência Parasitária Anual” (IPA) que atingiu a marca de 571,5 casos por 10.000 habitantes no ano de 2006, caracterizando o município como hiperendêmico e que, atualmente, ainda apresenta índices bastante expressivos (COSTA et al., 2010; SILVA et al., 2012).

Mesmo inseridos neste cenário, os serviços de hemoterapia do estado, até o ano de 2016, não tinham detectado nos exames de triagem laboratorial nenhum doador de sangue positivo para malária. De 2016 a 2019, a presença do plasmódio foi identificada em apenas 7 doadores de sangue. Esta baixa prevalência pode ser reflexo de uma boa triagem clínico-epidemiológica.

O exame utilizado nos serviços de hemoterapia do estado é a gota espessa, exame de elevada especificidade para o diagnóstico da infecção, porém com algumas limitações. Mesmo sendo considerado padrão ouro, há estudos descrevendo casos de positividade nesta população de doadores quando são utilizados outros métodos (FUGIKAHA et al., 2007).

Assim, este artigo objetiva caracterizar a triagem clínico-epidemiológica para malária em candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 01 de janeiro de 2016 a 30 de junho de 2019, uma vez que a literatura sobre o tema é escassa.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal descritivo exploratório sobre os aspectos clínico-epidemiológicos para malária do universo de candidatos à doação de sangue no estado do Acre, realizado no período de 01 de janeiro de 2016 a 30 de junho de 2019.

Os dados utilizados nesta pesquisa são secundários e foram extraídos do sistema *HEMOVIDA*. O estudo foi autorizado pelo Hemocentro Coordenador do Estado e, por se tratar de um estudo com análise de dados agregados, foi dispensada a sua submissão ao CEP.

Para candidatos à doação de sangue no Brasil, os critérios de inaptidão para malária, são distintos de acordo com a região do país. Em áreas endêmicas (caracterizadas de acordo com o Índice Parasitário Anual “IPA”), é considerado inapto o doador que atenda pelo menos um dos seguintes requisitos: tenha tido malária nos doze meses que antecedem a coleta, tenha apresentado sinais ou sintomas de malária nos últimos 30 dias ou seja procedente (ou tenha se deslocado) para área endêmica ($IPA > 49.9$) há menos de 30 dias.

No Acre, as coletas de sangue de candidatos à doação podem acontecer em quatro locais: no Hemocentro Coordenador, na sua na unidade móvel de coleta e nos dois hemonúcleos do estado. O Hemocentro Coordenador é localizado na capital (Rio Branco) e,

juntamente com a sua unidade móvel de coleta, em um ônibus adaptado à doação de sangue, concentram suas atividades na capital e eventualmente em municípios vizinhos. Um dos hemonúcleos se situa no município de Brasileia localizado no sul do estado com uma população estimada pelo IBGE de 26702 habitantes em 2020. O outro hemonúcleo é localizado no município de Cruzeiro do Sul com 89072 habitantes (2020), atendendo a todo Vale do Juruá, no norte do estado.

Para ser realizada a candidatura à doação de sangue, é necessário efetuar um cadastro, que contém os dados de identificação do indivíduo. Posteriormente, o candidato é encaminhado à triagem clínica, que é realizada por um profissional qualificado do serviço. Nesta ocasião, são aferidos seus sinais vitais e o hematócrito e ele é, então, submetido a um questionário padronizado, cujas perguntas obedecem a normativas legais (Portaria de Consolidação Nº 5/2017 e RDC Nº 34/2014) e onde se incluem as perguntas relacionadas à malária.

Após a entrevista, o candidato pode ser considerado apto e efetuar sua doação, ou inapto e ser dispensado por período variável conforme o motivo que o tenha levado à inaptidão. As respostas dos candidatos são digitadas no sistema informatizado *HEMOVIDA*, desenvolvido pelo *DATASUS* e fornecido pelo Ministério da Saúde para os serviços de hemoterapia.

Foram incluídas no estudo variáveis sociodemográficas: sexo (masculino e feminino) e faixa etária (até 30 anos, 31 a 60 anos e maior que 60 anos), cor da pele (branco e não branco), estado civil (solteiro, casado e outros) e grau de escolaridade (não alfabetizado, até 9 anos de escolaridade, 10 a 12 anos e mais de 12 anos). Adicionalmente, foi incluída a variável “local de coleta”, categorizada como Hemocentro Coordenador (resultante das doações de Rio Branco e da sua unidade móvel de coleta), Hemonúcleo do município de Cruzeiro do Sul e Hemonúcleo do município de Brasília, e a variável “motivos de

inaptidão”, categorizada em inaptidão por causas relacionadas à malária, febre, hematócrito baixo e inaptidão por outros motivos. A categoria “causas relacionadas à malária” se refere às inaptidões relacionadas diretamente à doença e compreendem o histórico de malária do candidato nos últimos 12 meses, o local de residência (se área endêmica ou não) e se houve deslocamento para área endêmica nos últimos 30 dias.

As categorias “febre” e “hematócrito baixo” foram selecionadas por poderem indiretamente sinalizar a presença de um quadro infeccioso, em especial, a malária, uma vez que a febre e anemia são os sinais mais característicos da doença. Assim, indivíduos sintomáticos para malária poderiam ser excluídos por estes critérios. Os demais motivos foram enquadrados na categoria “inaptidão por outros motivos”.

As variáveis, todas qualitativas, foram estudadas por meio de suas proporções e quando indicado, foi utilizado o teste X^2 ou o Teste Exato de Fisher. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 20.0, e foi considerado como estatisticamente significativo um valor de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

De 1 de janeiro de 2016 a 30 de junho de 2019, foram realizadas 57.204 triagens nas unidades de coleta de sangue do estado do Acre. A grande maioria das triagens de candidatos a doadores de sangue (83,6%; $N = 47.807$) concentrou-se no Hemocentro Coordenador de Rio Branco, sendo que 65,2% destas ($N = 37.273$) ocorreram na capital e 18,4% ($N = 10.534$) na unidade móvel de coleta. No período, foram realizadas 5.910 (10,3%) triagens no Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul e 3.426 (6,0%) no Hemonúcleo de Brasiléia. Em 73,4% do total de triagens efetuadas, os candidatos foram considerados aptos e em 26,6% considerados inaptos, não realizando, portanto, a doação de sangue (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição da frequência e percentual dos candidatos à doação de sangue segundo locais de coleta de sangue do estado do Acre, 2016-2019.

Candidato à doação de sangue	Hemocentro coordenador de Rio Branco			Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul	Hemonúcleo de Brasília	Total de candidatos à doação de sangue
	Rio Branco	Externa	Total			
	N (%)	N (%)	N (%)			
Aptos	27.478 (73,7)	7.312 (69,4)	34.790 (72,8)	4.274 (72,4)	3.187 (93,0)	42.251 (73,4)
Inaptos	9.795 (26,3)	3.222 (30,6)	13.017 (27,2)	1.629 (27,6)	239 (7,0)	14.885 (26,6)
Total	37.273 (100)	10.534 (100)	47.807 (100)	5.903 (100)	3.426 (100)	57.204* (100)

* Incluindo 64 candidatos à doação de sangue sem informação de local de coleta.

Os candidatos à doação eram, em sua maioria, do sexo masculino (50,5%), solteiros (62,2%), com até 30 anos de idade (55,4%) e com bom nível de escolaridade (46,9% com mais de 12 anos de estudo e 41,4% tinham de 10 a 12 anos). Quase todos os candidatos eram não brancos (mais de 96%).

Após a realização da triagem clínico-epidemiológica, 14.885 candidatos foram considerados inaptos à doação. Entretanto, observou-se que deste total, apenas 7,5% tiveram seus questionários preenchidos no momento da triagem.

Das 14.885 triagens de inaptos, apenas 230 (1,5%) candidatos foram inaptos por motivos relacionados diretamente à malária, sendo outros 0,7 % recusados por febre e 22,7% por hematócrito baixo. Os 75% restantes dos candidatos inaptos foram recusados por outros motivos (Tabela 2).

Do total de candidatos inaptos de Rio Branco, 1,2 % foram inaptos por causas relacionadas à malária, enquanto em Cruzeiro do Sul este percentual foi de 4,6 %. Em Brasília não houve inaptidão por causas relacionadas à malária e na coleta externa a

inaptidão por esta causa alcançou 1,4 % dos inaptos. As inaptidões por febre e por baixo hematócrito tiveram seus percentuais mais baixos em Cruzeiro do Sul (0,1% e 7,1, respectivamente). Nas unidades de Rio Branco, Brasiléia e Coleta Externa, os índices de inaptidão por febre foram respectivamente 0,8%, 1,3% e 0,65% (Tabela 2).

Tabela 2: Perfil da triagem clínico-epidemiológica dos candidatos à doação de sangue do estado do Acre, 2016-2019.

Inaptos	Hemocentro coordenador de Rio Branco			Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul	p	Hemonúcleo de Brasiléia	Total Geral
	Rio Branco	Externa	Total				
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)		N (%)	
Triagem clínica							
Febre	78 (0,8)	21 (0,6)	99 (0,8)	1 (0,06)	< 0,01	3 (1,3)	103 (0,7)
Hematócrito	2.330 (23,8)	875 (27,2)	3.205(24,6)	115 (7,1)	< 0,01	57(23,8)	3.377(22,7)
Causas relacionadas à malária							
Outros motivos de inaptidão							
relacionadas à malária	109 (1,1)	46 (1,4)	155 (1,2)	75 (4,6)	< 0,01	0 (0)	230 (1,5)
Outros motivos de inaptidão	7.278 (74,3)	2.280 (70,8)	9.558 (73,4)	1.438 (88,2)	< 0,01	179 (74,9)	11.175 (75,1)
Total	9.795 (100)	3.222 (100)	13.017 (100)	1.629 (100)		239 (100)	14.885(100)

Dos 230 inaptos por causas relacionadas à malária, 2 (0,9%) foram inaptos por residirem em área endêmica, 76 (33%) por terem apresentado malária nos últimos 12 meses e 152 (66,1%) por terem viajado para área endêmica nos últimos 30 dias, correspondendo a, respectivamente, 0,0%; 0,5% e 1,0% do total de inaptos (Tabela 3).

Uma vez que não havia detalhamento das respostas dos doadores nos questionários, não foi possível obter a informação do local para o qual os doadores se deslocaram (no caso dos que relataram ter viajado para locais endêmicos) nem quando ou qual tipo de malária o doador apresentou (daqueles que referiram malária nos últimos 12 meses).

Mais de 80% dos que foram inaptos por terem apresentado a doença nos últimos 12 meses estavam em Cruzeiro do Sul, enquanto a maior parte dos que viajaram para área endêmica nos últimos 30 dias (63,8%) estavam em Rio Branco (Tabela 3).

Tabela 3: Motivos de inaptidão por causas relacionadas diretamente à malária dos candidatos à doação de sangue no Estado do Acre, conforme o local de doação, 2016-2019.

Motivo de Inaptidão	Hemocentro Coordenador de Rio Branco			Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul	Total
	Rio Branco	Externa	Total		
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Malária nos últimos 12 meses	10 (13,2)	4 (5,3)	14 (13,2)	62 (81,6)	76 (100)
Viagem para área endêmica de malária	97 (63,8)	42 (27,6)	139 (91,4)	13 (8,6)	152 (100)
Residência em área endêmica de malária	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100)

Os dados sociodemográficos, dos candidatos à doação inaptos por causas relacionadas diretamente à malária, em Rio Branco, são apresentados na Tabela 4. Em Cruzeiro do Sul e Brasiléia não foram registrados dados sociodemográficos dos candidatos e em Brasiléia não houve inaptidão por causas relacionadas diretamente à doença. Assim, em Rio Branco, os candidatos à doação inaptos por terem apresentado a doença nos últimos 12 meses eram em sua maioria do sexo masculino (70%), com até 30 anos de idade (60%), casados (70%), com 10 a 12 anos de estudo (50%) e não brancos (89%). Os inaptos por terem viajado para áreas endêmicas nos últimos 30 dias apresentavam um perfil sociodemográfico semelhante, exceto pela maior escolaridade (58% apresentavam mais de 12 anos de estudo).

Tabela 4: Fatores socioeconômicos dos candidatos à doação de sangue, segundo motivo de inaptidão de causas relacionadas diretamente à malária em Rio Branco, 2016- 2019.

Fatores sociodemográficos	Malária nos últimos 12 meses	Viagem para área endêmica nos últimos 30 dias	Residência em área endêmica
	N (%)	N (%)	N (%)
Sexo			
Masculino	7 (70,0)	67 (69,1)	2 (100,0)
Feminino	3 (30,0)	30 (30,9)	0 (0,0)
Faixa etária (anos)			
Até 30 anos	6 (60,0)	52 (50,0)	2 (100,0)
31 a 60 anos	4 (40,0)	45 (46,4)	0 (0,0)
Estado Civil			
Solteiro	3 (30,0)	39 (40,2)	2 (100,0)
Não solteiro	7 (70,0)	58 (59,8)	0 (0,0)
Anos de Escolaridade			
Até 9 anos	1 (10,0)	5 (5,3) *	0 (0,0)
10 a 12 aos	5 (50,0)	35 (36,8)	1 (50,0)
>12 anos	4 (40,0)	55 (57,9)	1(50,0)
Cor da pele			
Branco	1 (11,1) *	0 (0,0)	0 (0,0)
Não branco	8 (88,9)	97 (100,0)	2 (100,0)

*Os totais variam devido à existência de dados faltantes.

DISCUSSÃO

A malária é uma doença infecciosa potencialmente transmissível por via transfusional. Essa forma de transmissão apresenta como peculiaridade importante uma maior probabilidade de evoluir de forma grave, além de ser mais comum uma apresentação clínica atípica, que torna mais difícil o seu diagnóstico clínico (ANTWI-BAFFOUR et al., 2019; IRO et al., 2019; VERRA et al., 2018).

Em países e áreas endêmicos para a malária, a triagem de doadores de sangue pode ser um grande desafio (ROCHA et al., 2020). Embora o estado do Acre componha a Amazônia Legal, região que concentra o maior número de casos de malária no país, e a área de Cruzeiro do Sul seja conhecida pela alta prevalência da doença, até o ano de 2016 nenhum caso de malária tinha sido identificado na triagem laboratorial de doadores de sangue no estado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Neste cenário, a nula prevalência pode ser devida a diferentes fatores como a baixa parasitemia, limitações laboratoriais ou a consequência de

uma triagem clínico-epidemiológica adequada, de forma a impedir a doação de pessoas potencialmente infectadas.

Segundo dados do Ministério da Saúde, no período de 2013 a 2018, a média de inaptidão na triagem clínica dos serviços de hemoterapia brasileiros foi de 20%. Em 2016, a média de inaptidão na triagem clínica encontrada nos serviços de hemoterapia do Brasil foi de 18.60%, enquanto na Região Norte este índice foi de 21.85% e, especificamente no estado do Acre, foi de 24.25% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Desta forma, o percentual de inaptidão clínica encontrado neste estudo no estado do Acre apresenta-se um pouco acima das médias descritas, mas ainda em limites aceitáveis, o que pode denotar uma triagem clínica mais criteriosa. Esta proporção de inaptidão clínica se reproduz em quase todas as unidades de coleta do estado, exceto pela unidade de Brasiléia, onde o índice de inaptidão apresentou-se bem abaixo da média estadual (e nacional). Este desempenho precisa ser melhor avaliado, a fim de se concluir suas possíveis causas.

No presente estudo, no período de janeiro de 2016 a junho de 2019, 57.204 indivíduos procuraram um dos quatro serviços do estado para doar sangue. O maior percentual de candidatos no estado está no hemocentro coordenador, o que é um dado esperado, uma vez que este se localiza na capital do estado, na cidade de Rio Branco, área urbana com maior densidade demográfica.

O perfil sociodemográfico dos candidatos inaptos na triagem clínica observado neste estudo também encontra-se de acordo com dados publicados. Na Região Norte, os candidatos inaptos têm representatividade praticamente igual dos dois sexos e discreta predominância dos candidatos jovens, com até 30 anos de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Chama a atenção neste estudo o grau de escolaridade dos candidatos inaptos, que totaliza 88% de indivíduos com mais de 9 anos de escolaridade.

A triagem clínico-epidemiológica é um ponto crucial para o controle da malária transfusional. Um estudo retrospectivo realizado no EUA demonstrou que um grande número de casos de malária transfusional (50%) poderia ter sido evitado por meio da triagem clínico-epidemiológica. Na Europa, um estudo também retrospectivo de 20 anos, mostrou resultados semelhantes (KITCHEN; BARBARA; HEWITT, 2005; MUNGAI et al., 2001).

No Brasil, embora a real incidência de malária transfusional seja desconhecida, este evento pode estar contribuindo para a disseminação da doença, principalmente em áreas endêmicas, se a triagem clínica e laboratorial dos doadores de sangue não funcionar adequadamente. Nestes locais, a triagem clínica do doador de sangue deve ser mais criteriosa, de modo a evitar a inaptidão excessiva de candidatos, mas também de forma a não comprometer a qualidade do sangue doado. No Acre não há casos notificados de malária transfusional, possivelmente por subnotificação. A baixa notificação de agravos transfusionais, de uma forma geral, é bem estabelecida, mas especificamente com relação à malária, a própria natureza hiperendêmica da região pode impedir ou dificultar a diferenciação entre a doença adquirida de forma transfusional ou vetorial.

Neste estudo se observou um índice relativamente baixo de inaptidão na triagem clínica de candidatos a doadores de sangue por causas relacionadas diretamente à malária. No estado, o IPA médio no período do estudo foi 28 (28 casos por 1.000 habitantes), sendo que na cidade de Rio Branco, capital do estado, onde está o hemocentro coordenador e onde se concentra o maior percentual de doadores de sangue, o IPA médio no período foi de 1,4. Por outro lado, em Cruzeiro do Sul, onde o IPA médio no período foi 155; esperava-se um percentual maior de inaptos por estes motivos.

No município de Brasília, onde não houve inaptidão de candidatos à doação de sangue por motivos relacionados diretamente à malária, o IPA médio no período foi bem

menos expressivo (0,2), o que pode explicar de certa forma este achado. Por outro lado, o baixo índice geral de inaptidão na unidade deve ser considerado.

A malária, em sua apresentação clínica característica, se evidencia por dois sinais muito típicos: a febre paroxística e a anemia, resultante de hemólise. Em locais onde a malária é comum, a presença de um destes sinais (ou de ambos), deve levantar a suspeita da doença. Porém, por outro lado, a anemia é um distúrbio altamente prevalente no mundo por diversas etiologias, afetando indivíduos de qualquer faixa etária ou grupo socioeconômico.

No Acre, principalmente nas áreas mais endêmicas, as duas condições coexistem. Um estudo realizado no estado demonstrou que a malária contribui para a prevalência da anemia em áreas geográficas onde a infecção também é bastante prevalente (ARRUDA et al., 2016).

Por ser uma condição bastante comum, a anemia também se configura numa causa prevalente de inaptidão clínica à doação de sangue. Estudos apontam a anemia como a segunda causa mais frequente de inaptidão clínica para doação de sangue (ROCHA et al., 2018; ROHR; BOFF; LUNKES, 2012).

Neste estudo a anemia também apareceu de forma importante, com índices maiores que 20% do total de inaptidões em 3 das quatro unidades de coleta do estado, exceção feita ao hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, onde a ocorrência de anemia foi bem inferior (7%).

O sistema de informação utilizado pelos serviços de hemoterapia do estado permite o registro de apenas um motivo de inaptidão do candidato à doação, mesmo que o indivíduo apresente mais de um motivo de inaptidão. A escolha do motivo de inaptidão é de responsabilidade do profissional da triagem clínica, o que pode subestimar a ocorrência de outros motivos. Nos serviços de hemoterapia do estado, a medida do hematócrito/hemoglobina é uma das primeiras etapas da triagem clínica do doador de sangue. Assim, é possível que um candidato que apresente anemia, seja registrado como inapto por este motivo, sem se considerar outros possíveis motivos que possam ser identificados até o fim da

entrevista. Desta forma, candidatos inaptos, possíveis portadores de malária e tendo anemia já como uma manifestação da doença, podem ser caracterizados no grupo de inaptos por anemia e não no de portadores de malária, subestimando assim a ocorrência deste último. O mesmo raciocínio pode ser aplicado à presença de febre.

Inaptar candidatos à doação de sangue que apresentem sinais sugestivos de uma patologia, no caso a malária, mesmo que esta não seja comprovada, é muito importante para garantir a segurança transfusional. Entretanto, em áreas endêmicas, um dos grandes problemas enfrentados pelos serviços de saúde e principalmente pelos serviços de hemoterapia é justamente a possibilidade da doença se apresentar de forma assintomática (AHMADPOUR et al., 2019; ROCHA et al., 2020). Assim, por melhor que seja a triagem clínica dos serviços de hemoterapia destes locais, seria interessante a observação de alguns critérios adicionais, epidemiológicos, para se conferir mais segurança à transfusão de sangue no que se refere à malária.

O questionário utilizado na triagem clínica dos doadores é constituído de perguntas padronizadas, respondidas de forma objetiva, mas que apresentam a possibilidade de adicionar informações de forma redigida. Assim, o questionário se configura como uma boa oportunidade para agregar outras perguntas mais relacionadas à malária. Estas perguntas, de cunho não obrigatório, sem dúvida seriam importantes para a detecção de aspectos epidemiológicos que alertem para o risco da infecção.

No período estudado, os questionários não se apresentaram com 100% de preenchimento. O preenchimento do questionário e sua utilização como ferramenta para investigação epidemiológica adicional de malária, ou de outras condições, não são obrigatórios, o que pode justificar este fato. O preenchimento incompleto do questionário não significa que a triagem clínica não tenha sido bem executada, mas significa uma oportunidade

perdida de agregar mais segurança à triagem clínica, além de representar um problema de registro, o que repercute em outros aspectos, como por exemplo, subnotificações.

Adicionalmente, foram observados alguns aspectos importantes do sistema: em raras ocasiões, respostas positivas dos candidatos para fatores de risco para malária não impediram que os mesmos efetivassem a doação de sangue. Isto pode ter sido uma simples falha de preenchimento ou um erro. Ambos poderiam ser evitados se o sistema criticasse certas respostas impedindo a liberação do candidato para doação.

“Viagem para área endêmica nos últimos 30 dias” foi a maior causa de inaptidão dentre as causas relacionadas diretamente à malária, também a mais importante em Rio Branco. Cruzeiro do Sul é vizinho de municípios ainda mais endêmicos, como Mâncio Lima, que em 2017 apresentava um IPA de 518,7. O hemonúcleo de Cruzeiro do Sul recebe os candidatos à doação provenientes de toda esta região. Assim, esperava-se um índice de inaptidão por este motivo maior neste local do que em Rio Branco.

O perfil sociodemográfico do candidato à doação de sangue inapto por motivos relacionados à malária só pôde ser estudado em Rio Branco, pois não havia dados das outras unidades. Nesta unidade, os doadores inaptos por qualquer dos motivos relacionados à malária pertenciam ao sexo masculino, eram casados e não brancos. Os candidatos também eram jovens em sua maioria, com até 30 anos de idade. O grau de escolaridade evidenciado por estes candidatos inaptos foi bom, apresentando mais de 10 anos de escolaridade. Embora a malária seja uma doença relacionada à pauperização, outros estudos corroboram estes achados (VITOR-SILVA et al., 2009).

Este estudo apresentou como principal limitação a incompletude de dados no sistema de informação utilizado na hemorrede. Entretanto, esta limitação não comprometeu o resultado final da pesquisa, pois havia variáveis que puderam ser utilizadas e apresentavam

100% de preenchimento. Outra limitação, que também se refere à informatização, foi a não emissão automática de relatórios pelo sistema, o que pode propiciar erros.

CONCLUSÃO

Nos serviços de hemoterapia do estado do Acre, a triagem clínica é feita de forma adequada e segura, obedecendo os critérios legais exigidos.

Entretanto, a triagem clínica não contempla critérios relacionados à maior segurança transfusional para malária, como por exemplo, deslocamento para trabalho ou estudo em área rural. Tais critérios não são obrigatórios, mas acrescentariam mais segurança à triagem clínica para malária numa área onde a grande endemicidade da doença propicia a existência de candidatos à doação assintomáticos.

Com o intuito de conferir maior segurança transfusional em relação à malária e a outras condições, o sistema de informação utilizado poderia ser otimizado no sentido de uniformizar informações, incluir mais questionamentos, obrigar o preenchimento de certos dados e criticar informações.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, S.; KARUNAMOORTHY, K. Malaria and blood transfusion: major issues of blood safety in malaria-endemic countries and strategies for mitigating the risk of Plasmodium parasites. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 35–47, jan. 2016.

AHMADPOUR, E. et al. Transfusion-Transmitted Malaria: A Systematic Review and Meta-analysis. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 6, n. 7, p. ofz283, 1 jul. 2019.

ANTWI-BAFFOUR, S. et al. The Incidence of Malaria Parasites in Screened Donor Blood for Transfusion. **Malaria Research and Treatment**, v. 2019, p. 1–6, 25 nov. 2019.

ARRUDA, E. F. DE et al. Associação entre malária e anemia em área urbana de transmissão do Plasmodium: Mâncio Lima, Acre, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 9, 2016.

COSTA, K. M. DE M. et al. Malária em Cruzeiro do Sul (Amazônia Ocidental brasileira): análise da série histórica de 1998 a 2008. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, n. 5, p. 353–360, nov. 2010.

FUGIKAHA, É. et al. Molecular screening of Plasmodium sp. asymptomatic carriers among transfusion centers from Brazilian Amazon region. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 1, p. 1–4, fev. 2007.

IRO, A. et al. Transfusional Malaria and Associated Factors at the National Blood Transfusion Center of Niamey-Niger. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2019, p. 1–5, 1 abr. 2019.

KITCHEN, A. D.; BARBARA, J. A. J.; HEWITT, P. E. Documented cases of post-transfusion malaria occurring in England: a review in relation to current and proposed donor-selection guidelines. **Vox Sanguinis**, v. 89, n. 2, p. 77–80, ago. 2005.

KWENTI, T. E. et al. Comparative evaluation of a rapid diagnostic test, an antibody ELISA, and a pLDH ELISA in detecting asymptomatic malaria parasitaemia in blood donors in Buea, Cameroon. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 103, dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Caderno de informação Sangue e Hemoderivados**. 1. ed. [s.l.] Ministério da Saúde, 2018. v. 1.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico- malária**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf>.

MUNGAI, M. et al. Transfusion-Transmitted Malaria in the United States from 1963 through 1999. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 26, p. 1973–1978, 28 jun. 2001.

OLIVEIRA-FERREIRA, J. et al. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, v. 9, n. 1, p. 115, 2010.

ROCHA, D. et al. Use of a NAT-based assay to improve the surveillance system and prevent transfusion-transmitted malaria in blood banks. **Malaria Journal**, v. 19, n. 1, p. 275, dez. 2020.

ROCHA, G. P. et al. Anemia as the cause of clinical inability of candidates to blood donation for a hemotherapy and hematology center in the state of Maranhão, Brazil. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 51, n. 3, p. 189–196, 26 nov. 2018.

ROHR, J. I.; BOFF, D.; LUNKES, D. S. PERFIL DOS CANDIDATOS INAPTOS PARA DOAÇÃO DE SANGUE NO SERVIÇO DE HEMOTERAPIA DO HOSPITAL SANTO ÂNGELO, RS, BRASIL. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 1, 30 mar. 2012.

SILVA, R. DO S. U. DA et al. Malária no Município de Cruzeiro do Sul, Estado do Acre, Brasil: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 1, p. 45–54, mar. 2012.

VERRA, F. et al. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 36, dez. 2018.

VITOR-SILVA, S. et al. Malaria is associated with poor school performance in an endemic area of the Brazilian Amazon. **Malaria Journal**, v. 8, n. 1, p. 230, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WORLD MALARIA REPORT 2019**. S.l.: WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019.

WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES. 1. ed. [s.l: s.n.]. v. 1.

7.2 Artigo 2

EXPOSIÇÕES RELACIONADAS À INFECÇÃO POR *PLASMODIUM* EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE EM CRUZEIRO DO SUL E RIO BRANCO

Thereza Cristina Picado Pinheiro¹ - orcid.org/0000-0002-7031-4510. E-mail:

therezopicado1@gmail.com

Sabrina Silva Santos^{1,2} - orcid.org/0000-0001-8327-3546. E-mail:

sabrina_ssantos@hotmail.com

Rosalina Jorge Koifman^{1,2} - orcid.org/0000-0002-2746-7597. E-mail:

rosalina.koifman@hotmail.com

¹ Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Rio Branco- Acre, Brasil.

² Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

Introdução: A triagem clínico-epidemiológica dos candidatos à doação de sangue, com relação à malária pode ser um problema, em locais endêmicos. A exclusão de possíveis portadores da doença é importante para evitar sua transmissão transfusional, mas pode acarretar problemas com o estoque de hemocomponentes. **Objetivo:** Descrever a prevalência das exposições a situações de risco para malária em candidatos à doação de sangue e avaliar seu impacto na liberação dos candidatos para doação. **Metodologia:** Estudo descritivo exploratório com 466 participantes, realizado em Cruzeiro do Sul e Rio Branco, no período de 15 de fevereiro de 2022 a 31 de maio de 2022. Foi realizada a aplicação de um formulário envolvendo questões sobre exposições a malária, desenvolvido para o estudo. **Resultados:** A maior proporção dos participantes era jovem (até 30 anos; 64%), do sexo masculino (64%), solteiro (61%), não branco (93%), e com mais de 9 anos de escolaridade (84%). Os candidatos residiam, trabalhavam ou estudavam em área urbana e desconheciam casos de malária nestes locais, em sua maioria. Em Cruzeiro do Sul, 55% dos candidatos tinham histórico de malária e o principal agente etiológico foi o *P. vivax*. **Conclusão:** A seleção dos candidatos à doação de sangue, embora siga as normas legais vigentes, pode representar um risco transfusional para transmissão da malária, principalmente em Cruzeiro do Sul.

Palavras-chave: Epidemiologia. Malária. Doadores de Sangue. Serviço de Hemoterapia.

ABSTRACT

Introduction: Clinical and epidemiological screening of candidates for blood donation in relation to malaria can be a problem in endemic areas. The exclusion of possible carriers of the disease is important to avoid its transfusional transmission, but it can cause problems with the stock of blood components. **Objective:** To describe the prevalence of exposure to risk situations for malaria in candidates for blood donation and to assess its impact on the release of candidates for donation. **Methodology:** Descriptive exploratory study with 466 participants, carried out in Cruzeiro do Sul and Rio Branco, from February 15, 2022 to May 31, 2022. A form was applied involving questions about exposure to malaria, developed for the study. **Results:** The largest proportion of participants were young (up to 30 years old; 64%), male (64%), single (61%), non-white (93%), and with more than 9 years of schooling (84 %). The candidates lived, worked or studied in urban areas and were mostly unaware of malaria cases in these places. In Cruzeiro do Sul, 55% of the candidates had a history of malaria and the main etiological agent was *P. vivax*. **Conclusion:** The selection of candidates for blood donation, although following the current legal norms, may represent a transfusional risk for malaria transmission, primarily in Cruzeiro do Sul.

Keywords: Epidemiology. Malaria. Blood Donors. Hemotherapy Service.

INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium spp* que pode se apresentar de diversas formas e intensidades, sendo os sintomas mais comuns a febre, que pode ter caráter cíclico; calafrios; dor de cabeça e dor no corpo. Casos não diagnosticados e/ou não tratados adequadamente podem evoluir para a forma grave da doença. A doença ainda representa um problema de saúde pública na atualidade. Sua principal forma de transmissão é a vetorial, pela picada do inseto do gênero *Anopheles*, sendo a transmissão transfusional uma forma possível, mas pouco frequente (NIEDERHAUSER; GALEL, 2022; WHITE, 2022).

A malária é endêmica na Região Amazônica Brasileira e nesta localização a adequada triagem dos candidatos à doação de sangue adquire especial relevância, uma vez que verifica-se a existência de indivíduos assintomáticos e com baixa parasitemia. Desta forma, estes indivíduos, se candidatos à doação de sangue, podem não ter a infecção detectada clínica ou laboratorialmente, pelos métodos atualmente utilizados, e assim, transmitir a infecção ao receptor da unidade doada (ROCHA et al., 2020).

A triagem clínico-epidemiológica dos candidatos à doação de sangue é realizada antes da possível doação e tem como um objetivo detectar o risco do doador ser contaminado com uma doença infecciosa (malária, inclusive) passível de transmissão transfusional e assim, não permitir a doação de sangue deste indivíduo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Obedecendo a critérios legais são avaliados na triagem clínico-epidemiológica principalmente três aspectos relacionados diretamente à doença: a procedência do indivíduo, o deslocamento para locais endêmicos e a história pregressa de malária do candidato (ANVISA, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Entretanto, não são realizados questionamentos mais pormenorizados acerca dos riscos associados à infecção pelo *Plasmodium*, uma vez que tais questionamentos não são obrigatórios. Se por um lado, o acréscimo destas perguntas adiciona teoricamente mais segurança à triagem, por outro lado, em locais endêmicos, pode significar uma limitação importante do estoque de hemocomponentes para atendimento à população.

Desta forma, este artigo tem como objetivo descrever a prevalência das exposições a situações de risco para malária em candidatos à doação de sangue e avaliar seu impacto na liberação dos candidatos para doação. Os resultados deste estudo poderão subsidiar avaliações futuras quanto ao impacto destas questões na composição do estoque de hemocomponentes para atendimento à população do Acre, integrante da Amazônia Legal Brasileira.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo quantitativo descritivo sobre as exposições a situações de risco para malária de candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro de 2022 a 31 de maio de 2022.

O Estado do Acre possui 22 municípios, distribuídos em duas mesorregiões geográficas, Vale do Acre e Vale do Juruá, e cinco microrregiões administrativas (regionais): Cruzeiro do Sul, Tarauacá, Sena Madureira, Rio Branco e Brasiléia (respectivamente, Juruá, Tarauacá/Envira, Purus, Baixo Acre e alto Acre).

As coletas de sangue de candidatos à doação de sangue no estado acontecem no Hemocentro Coordenador em Rio Branco, no Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul e no Hemonúcleo de Brasiléia. A população deste estudo se constituiu de amostra aleatória do universo de candidatos à doação de sangue de Cruzeiro do Sul do Hemonúcleo de Cruzeiro

do Sul e do Hemocentro Coordenador, que correspondem às duas maiores unidades de doação de sangue do estado do Acre.

O município de Cruzeiro do Sul foi selecionado para o estudo pela sua alta endemicidade para a doença e pelo fato do Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul ser o único local de doação de sangue de toda a região do Vale do Juruá (onde estão localizados outros municípios de alta endemicidade para malária, além de Cruzeiro do Sul, como Mâncio Lima e Rodrigues Alves). O Hemocentro Coordenador foi selecionado por concentrar a maior quantidade de doadores do estado, apresentando um número aproximadamente, 10 vezes maior de candidatos à doação do que Cruzeiro do Sul.

A pesquisa teve como critério de exclusão pertencer à etnia indígena, por questões éticas e devido ao histórico de baixíssimos números de candidatos desta etnia. No estado, de 2016 a 2020, apenas 23 candidatos se declararam indígenas.

Os candidatos à doação foram abordados sobre o interesse em participar do estudo e os que concordaram e assinaram o TCLE, procederam normalmente a triagem clínico-epidemiológica e, independente do resultado desta, foram conduzidos para um local privativo para preenchimento do formulário de pesquisa. O formulário estruturado utilizado continha questões sobre situações de exposição dos candidatos à malária, além de dados sociodemográficos. As perguntas incluídas no formulário contemplaram questões que não são abordadas regularmente durante a triagem clínico-epidemiológica do candidato à doação de sangue, referentes à possibilidade de contato com o *Plasmodium*, constituindo-se de questões mais pormenorizadas sobre este risco.

Os candidatos foram classificados em: “apto”, incluindo os candidatos aprovados para doação de sangue; “inaptos por possível malária”, englobando os candidatos inaptos por motivos relacionados diretamente ao risco de malária (procedência do indivíduo, o deslocamento para locais endêmicos e a história pregressa de malária) e os inaptos por febre e

baixo hematócrito que podem, indiretamente, indicar a presença da infecção malárica; e “inaptos por outros motivos”, incluindo os demais motivos de inaptidão.

De todos os participantes foi coletada uma lâmina para realização da gota espessa. Dos candidatos aptos, a lâmina foi coletada no momento da doação, conforme procedimento habitual do serviço. Dos candidatos inaptos, as lâminas foram coletadas ao final do preenchimento do formulário. A totalidade das lâminas (aptos e inaptos) foi lida pelo profissional do respectivo serviço de coleta, devidamente habilitado para tal.

Foi realizada a análise descritiva exploratória das respostas dos formulários. Para as variáveis categóricas foram calculadas proporções.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *SPSS*, na versão 25.0. Para comparação das variáveis categóricas entre os locais de doação e entre a situação da triagem dos candidatos foi realizado o teste Qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher, ao nível de significância de 5%.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Acre (UFAC), sob o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) nº 24058719.0.0000.5010 e Parecer número 3.989.886, no dia 24 de abril de 2020.

RESULTADOS

No período do estudo, 4.883 candidatos à doação de sangue procuraram um dos dois locais analisados, sendo que 4.480 (91,7%) compareceram ao Hemocentro Coordenador e 403 (8,3%) ao Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul. Em Rio Branco, 75,4% dos candidatos (3.380) foram considerados aptos após a triagem clínico epidemiológica e em Cruzeiro do Sul, 79,4% (320). Do total de candidatos, 469 aceitaram participar da pesquisa, assinaram o TCLE e preencheram o formulário. Entretanto, 3 questionários foram descartados por

incompletude de dados, resultando em 466 formulários válidos. Assim, os participantes incluídos no estudo representam aproximadamente 6% (260) dos candidatos do Hemocentro Coordenador e 51% (206) dos candidatos do Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul.

Predominaram candidatos do sexo masculino (64%), com até 30 anos de idade (64%), solteiros (61%), não brancos (93%) e com bom grau de escolaridade (84%). Nos dois locais de coleta, o perfil sociodemográfico dos candidatos não sofreu alteração. As características sociodemográficas dos candidatos, de acordo com o local de coleta, estão sumarizadas na Tabela 1.

A maioria dos participantes de Cruzeiro do Sul já teve malária diagnosticada pelo menos uma vez na vida. Do total de participantes, 137 (29,8%) já tiveram malária e destes, quase 50% apresentaram entre 2 e 10 episódios da doença, sendo que um candidato de Cruzeiro do Sul, de 39 anos de idade, informou ter tido a doença quase 50 vezes. Em aproximadamente 40% dos doadores, o último episódio da doença havia ocorrido há menos de um ano. O principal agente etiológico da doença na população de estudo foi o *Plasmodium vivax*. Os dados referentes ao histórico de malária dos candidatos estão sumarizados na Tabela 2.

Mais de 90% dos candidatos referiram residir em área urbana. Dos candidatos que informaram trabalhar fora de casa ou estudar, a maioria também o faz em área urbana (97% e 84%, respectivamente). Vinte e seis (5,6%) candidatos referiram ter tido casos de malária no último mês nas proximidades da residência e 87 (18,7%) referiram ter conhecimento de casos de malária num período maior que 30 dias. Casos de malária nas proximidades da residência foram mais frequentes entre os candidatos de Cruzeiro do Sul. Em Rio Branco, nenhum candidato referiu ter conhecimento de casos de malária no seu local de trabalho ou de estudo (Tabela 3).

Com relação aos deslocamentos dos candidatos nos 30 dias anteriores ao comparecimento ao hemocentro/hemonúcleo, 89 (19%) referiram deslocamento rural e 78 (17%) referiram deslocamento urbano no período. Os candidatos de Cruzeiro do Sul foram os que mais se deslocaram e informaram casos de malária nos seus destinos, tanto rural quanto urbano (Tabela 4).

Aproximadamente 90% dos doadores que tiveram malária foram considerados aptos à doação e apenas 3% foram inaptos por motivos relacionados à malária. Todos os doadores que informaram ter tido malária mais de 10 vezes foram considerados aptos à doação de sangue, assim como a maior parte daqueles que informaram histórico da doença há menos de 1 ano.

Com relação ao local de moradia, trabalho ou estudo, um menor percentual de doadores referiu morar, trabalhar ou estudar em ambiente rural e destes, mais de 74% foram aptos à doação. O mesmo ocorreu com os doadores que referiram ter conhecimento de casos de malária nestes locais (Tabela 5).

Nenhuma lâmina de gota espessa apresentou positividade para malária.

Tabela 1: Características sociodemográficas dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.

Variáveis	Rio Branco		Cruzeiro do Sul		Total	*p valor	
	N	%	N	%	N		
Faixa etária	16 a 30 anos	182	70	116	56,6	298	0,01
	31 a 55 anos	73	28,1	85	41,5	158	
	56 a 70 anos	5	1,9	4	2	9	
Sexo	Masculino	170	65,4	128	62,4	298	0,1
	Feminino	90	34,6	77	37,6	167	
Estado civil	Solteiro	190	73,1	93	45,4	283	< 0,001
	Casado	47	18,1	61	29,8	108	
	Outros	23	8,8	51	24,9	74	
Cor	Branco	5	1,9	27	13,2	32	< 0,001
	Não branco	255	98,1	178	86,8	433	
Escolaridade	Sem escolaridade	1	0,4	2	1	3	< 0,001
	Até 5 anos	1	0,4	7	3,4	8	
	Até 9 anos	11	4,2	53	2,6	64	
	Mais de 9 anos	247	95	142	69,6	389	

Tabela 2: Histórico de malária dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.

Variáveis		Rio Branco		Cruzeiro do Sul		Total	*p valor
		N	%	N	%	N	
Histórico de malária	Não	235	90,4	94	45,6	329	
	Sim	25	9,6	112	54,4	137	< 0,001
Episódios de malária	Nunca teve	235	90,4	94	45,6	329	
	Uma vez	19	7,3	36	17,5	55	
	2 a 10 vezes	6	2,3	61	29,6	67	
	11 a 20 vezes	0	0	12	5,8	12	
	21 a 30 vezes	0	0	2	1	2	
	> 30 vezes	0	0	1	0,5	1	< 0,001
Tempo desde o último episódio de malária	Nunca teve	235	90,4	94	45,6	329	
	Até um ano	19	7,3	36	17,5	55	
	Até 5 anos	4	1,5	45	21,8	49	
	> 5 anos	2	0,8	31	15,1	33	< 0,001
Espécie de Plasmodium	Nunca teve	235	90,4	94	45,6	329	
	<i>P. vivax</i>	1	0,4	12	5,8	13	
	<i>P. falciparum</i>	0	0	4	1,9	4	
	<i>P. vivax e P. falciparum</i>	3	1,2	5	2,4	8	
	Não sabe	21	8,1	91	44,2	112	< 0,001

Tabela 3: Caracterização das possíveis exposições à malária dos candidatos à doação de sangue no Acre, em relação ao local de moradia, trabalho ou estudo, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.

Variáveis		Rio Branco		Cruzeiro do Sul		Total	*p valor
		N	%	N	%	N	
Local de residência	Urbano	247	95	192	93,2	439	0,04
	Rural	13	5	14	6,8	27	
Casos de malária (até 30 dias)*	Não	258	99,2	182	88,3	440	< 0,001
	Sim	2	0,8	24	11,7	26	
Casos de malária (mais de 30 dias)*	Não	259	99,6	120	58,3	379	< 0,001
	Sim	1	0,4	86	41,7	87	
Local de trabalho	Urbano	206	79,2	140	68	346	0,01
	Rural	4	1,5	8	3,9	12	
	Não trabalha	50	19,2	58	28,2	108	
Casos de malária no local de trabalho*	Não	208	80	113	54,9	321	< 0,001
	Sim	0	0	35	17	35	
	NA	52	20	58	28,2	110	
Local de estudo	Urbano	28	10,8	75	36,4	103	< 0,001
	Rural	1	0,4	19	9,2	20	
	Não estuda	231	88,2	112	54,4	343	
Casos de malária no local de estudo*	Não	29	11,2	83	40,3	112	< 0,001
	Sim	0	0	11	5,3	11	
	NA	231	88,8	112	54,4	343	

* O candidato tem ou não conhecimento de casos de malária em seu local de moradia, trabalho ou estudo.

Tabela 4: Caracterização do deslocamento nos últimos 30 dias e relato de casos de malária nos destinos dos candidatos à doação de sangue no Acre, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.

Variáveis		Rio Branco		Cruzeiro do Sul		Total	*p valor
		N	%	N	%	N	
Deslocamento rural nos últimos 30 dias	Não	232	89,2	145	70,4	377	< 0,001
	Sim	28	10,8	61	29,6	89	
Casos de malária no destino rural	Não	29	11,2	39	18,9	68	< 0,001
	Sim	0	0	22	10,7	22	
	Não se aplica	231	88,8	145	70,4	376	
Deslocamento urbano nos últimos 30 dias	Não	255	86,5	163	79,1	388	0,03
	Sim	35	13,5	43	20,9	78	
Casos de malária no destino urbano	Não	35	13,5	39	18,9	74	0,02
	Sim	1	0,4	6	2,9	7	
	Não se aplica	224	86,2	161	78,2	385	

Tabela 5: Caracterização da situação da triagem dos candidatos à doação de sangue com histórico de malária no Acre em relação a possíveis exposições a malária, no período de 15 de fevereiro a 31 de maio de 2022.

Variáveis		Apto		Inapto por outros motivos		Inapto por possível malária		Total N	*p valor
		N	%	N	%	N	%		
História de malária	Não	167	57	118	91,4	44	91,5	329	< 0,001
	Sim	124	43	10	8,6	3	8,5	137	
Episódios de malária	Nunca teve	167	57,4	117	91,4	45	95,7	329	< 0,001
	Uma vez	46	15,8	8	6,3	1	2,1	55	
	2 a 10 vezes	63	21,6	3	2,3	1	2,1	67	
	11 a 20 vezes	12	4,1	0	0	0	0	12	
	21 a 30 vezes	2	0,7	0	0	0	0	2	
	>30 vezes	1	0,3	0	0	0	0	1	
Tempo desde o último episódio de malária	Nunca teve	167	57,4	117	91,4	45	95,8	329	< 0,001
	Até um ano	46	15,8	8	6,25	1	2,1	55	
	> 1 a 5 anos	45	15,5	3	2,3	1	2,1	49	
	> 5 anos	33	11,3	0	0	0	0	33	
Espécie de Plasmodium	Nunca teve	167	57,4	117	91,4	45	95,7	329	< 0,001
	<i>P. vivax</i>	12	4,1	0	0	1	2,1	13	
	<i>P. falciparum</i>	4	1,4	0	0	0	0	4	
	Ambos	8	2,7	0	0	0	0	8	
	Não sabe	100	34,4	11	8,6	1	2,1	112	
Local de residência	Urbano	276	94,8	118	92,2	45	95,7	439	0,5
	Rural	15	5,2	10	7,8	2	4,3	27	
Local de trabalho	Urbano	210	72,2	104	81,3	32	68,1	346	0,1
	Rural	10	3,4	0	0	2	4,3	12	
	Não trabalha	71	24,4	24	18,8	13	27,7	108	
Local de estudo	Urbano	84	28,9	9	7	10	21,3	103	< 0,001
	Rural	19	6,5	1	0,8	0	0	20	
	Não estuda	188	64,6	118	92,2	37	78,7	343	
Casos de malária no local de residência (até 30 dias)	Não	267	91,8	126	98,4	47	100	440	0,005
	Sim	24	8,2	2	1,6	0	0	26	
Casos de malária no local de residência (mais de 30 dias)	Não	205	70,4	127	99,2	47	100	379	< 0,001
	Sim	86	29,6	1	0,8	0	0	87	
Casos de malária no local de trabalho	Não	188	64,6	102	79,7	31	66	321	< 0,001
	Sim	35	12	0	0	0	0	35	
	Não se aplica	68	23,4	26	20,3	16	34	110	
Casos de malária no local de estudo	Não	92	31,6	10	7,8	10	21,3	112	< 0,001
	Sim	11	3,8	0	0	0	0	11	
	Não se aplica	188	64,6	118	92,2	37	78,7	343	

DISCUSSÃO

A transmissão de malária por via transfusional é um risco em regiões onde a doença é endêmica. No Brasil, existem dois cenários epidemiológicos distintos para a malária: uma área endêmica, a Região Amazônica, onde a prevalência da doença é alta, englobando a quase totalidade dos casos notificados no país e uma área não-endêmica, a região extra-amazônica, onde a infecção apresenta menor número de casos notificados. O estado do Acre integra a Região Amazônica brasileira. Por conta do cenário epidemiológico, as diretrizes nacionais para a seleção de doadores de sangue são distintas nas duas regiões, no que se refere ao risco de transmissão da malária, sendo mais rígidos na Região Amazônica (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020).

Durante o período deste estudo, que durou três meses e meio, 4.883 candidatos procuraram um dos dois locais de coleta para doar sangue, correspondendo a uma média mensal de aproximadamente 1400 doadores, média um pouco superior à habitualmente observada no estado (1000 doadores/ mês) (Dados do *HEMOVIDA*, extraídos em setembro de 2022). Destes candidatos, 466 aceitaram participar da pesquisa (9,5%).

O perfil sociodemográfico dos participantes se caracterizou por indivíduos jovens, com menos de 30 anos de idade, do sexo masculino, solteiros, não brancos e com bom grau de escolaridade. A maior prevalência de doadores do sexo masculino está de acordo com o perfil sociodemográfico do doador de sangue brasileiro (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020; CAVALCANTE, 2022; LIBERATO et al., 2012; MACEDO et al., 2015).

Esta alta prevalência do sexo masculino nesta população poderia se associar a maiores prevalências de malária, uma vez que determinadas atividades ocupacionais,

muito frequentes na região amazônica e prioritariamente exercidas por indivíduos do sexo masculino como, por exemplo, agricultura, garimpo, pesca e exploração de madeira podem se relacionar à maior suscetibilidade à infecção, devido à maior exposição ao mosquito vetor nos locais de trabalho, principalmente em Cruzeiro do Sul, onde o percentual de trabalhadores e estudantes em área rural é maior (DE AGUIAR; BATALHA; SILVA, 2014; PEREIRA BRAZ et al., 2020).

No Brasil, a maior prevalência etária de candidatos à doação está acima dos 29 anos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020). Neste estudo, observamos uma procura maior dos candidatos com faixa etária inferior a 30 anos, provavelmente pelos investimentos da hemorrede local em campanhas objetivando captação de doadores mais jovens. Chama a atenção o alto grau de escolaridade encontrado na população deste estudo. Embora o grau de escolaridade descrito do doador de sangue no país não seja baixo, aqui foi evidenciado que os candidatos apresentavam grau de escolaridade muito bom e isto poderia explicar, em parte, a baixa detecção de malária nestes candidatos, uma vez que eles são capazes de compreender as formas de transmissão e adotar as medidas de tratamento e prevenção da doença (KAINDOA et al., 2021; “Neglected and (re-)emergent infections of the CNS in low-/middle-income countries”, 2021; PEREIRA BRAZ et al., 2020; ZUCOLOTO et al., 2019).

O município de Cruzeiro do Sul é o segundo município mais desenvolvido do estado. Situa-se na regional do Juruá e é considerado altamente endêmico para malária, com índices parasitários anuais (IPA) nos últimos anos de 183,9 (2015); 250,9 (2016); 258,0 (2017); 157,2 (2018), 71,7 (2019), 79 (2020), 50 (2021) e 21 (até 31 de agosto de 2022). Os municípios de Mâncio Lima e Rodrigues Alves também se localizam no Vale do Juruá e seus habitantes têm o hemonúcleo de Cruzeiro do Sul como referência para

doação de sangue. Os dois municípios apresentam IPA ainda mais altos que os de Cruzeiro do Sul. Em 2019, os IPA de Mâncio Lima de Rodrigues Alves alcançaram os valores altíssimos, de 177,8 e 121,7, respectivamente (Dados extraídos do “Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica” (SIVEP- Malária), em 16/09/2022).

O município de Rio Branco é a capital do Acre e é considerado de baixa endemicidade para malária, com índices parasitários anuais (IPA) nos últimos anos de 1,2 (2015); 1,7 (2016); 1,7 (2017); 1,5 (2018), 1,5 (2019), 0,2 (2020), 0,1 (2021) e 0,1 (até 31 de agosto de 2022) (Dados extraídos do “Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica” (SIVEP- Malária), em 16/09/2022).

Desta forma, os dados apontados neste estudo se justificam. Embora na totalidade de participantes a maior prevalência (71%) seja de indivíduos que nunca apresentaram a doença, o cenário se inverte ao se analisar o recorte de indivíduos de Cruzeiro do Sul, onde 54% dos participantes referiram já ter tido malária. Ainda em Cruzeiro do Sul, chama a atenção o fato de que muitos participantes apresentaram a infecção mais de uma vez. A maioria (55%) teve entre 2 e 10 episódios de malária, com alguns que referiram a doença mais de 20 vezes e até mais de 30 vezes. Considerando que o perfil etário do candidato neste estudo é de indivíduos jovens (até 30 anos), um candidato que apresenta, por exemplo, 20 episódios de malária, passou grande parte de sua vida em contato com a doença. O indivíduo que referiu malária mais de 30 vezes tinha apenas 39 anos. Uma vez que várias exposições ao plasmódio aumentam a possibilidade do indivíduo ser um portador assintomático e, portanto, com infecção indetectável tanto clínica quanto laboratorialmente, existe o risco real destes candidatos se comportarem desta forma (CHEAVEAU et al., 2019; FUGIKAHA et al., 2007; LIMA et al., 2018; PRUSTY et al., 2021).

Nenhum caso de positividade para malária foi detectado em doadores de sangue do estado do Acre até 2016. Após este ano, foram identificados sete casos de malária em doadores de sangue no Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, sendo 1 em 2017, 1 em 2018 e 5 em 2019 (dados do hemocentro). De 2019 em diante, não houve mais positividade para malária em candidatos à doação de Cruzeiro do Sul, incluindo o período do estudo. Este baixo índice de detecção da doença pode se justificar justamente por uma baixa parasitemia em doadores assintomáticos, não detectável pela técnica utilizada, a gota espessa, que apresenta sensibilidade limitada para identificação destes casos (BAPTISTA et al., 2022; VALDIVIA et al., 2021). Como esperado, no Hemocentro Coordenador, até o fim deste estudo, não havia sido detectado nenhum doador com positividade para malária.

Nunca houve relato de malária transfusional no estado do Acre, o que pode se atribuir à subnotificação da transmissão da infecção por esta via, a exemplo do que ocorre com a maioria das reações transfusionais, ou à dificuldade de exclusão da etiologia vetorial (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020; SAHU; BAJPAI, 2020). Por outro lado, houve mais de 6.000 casos da doença notificados no município de Cruzeiro do Sul em 2019 e, em 2020, mais de 7.000. Em 2022, até 31 de agosto, já haviam sido notificados 1.884 casos de malária (Dados extraídos do “Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica” – SIVEP-Malária, em 16/09/2022).

No Brasil, as principais espécies de *Plasmodium* envolvidas nos casos de malária notificados são o *P. falciparum* e o *P. vivax*, sendo este, o principal agente etiológico da doença no país. O *Plasmodium vivax* é mais comum em áreas de clima tropical e subtropical, como o clima amazônico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). No Acre, corroborando estes dados, o *P. vivax* é o principal agente etiológico de malária,

sendo o *P. falciparum* o segundo agente mais prevalente (Dados extraídos do “Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica” – SIVEP-Malária, em 16/09/2022). Alinhado aos dados disponíveis, observou-se neste estudo que, dos casos em que se tinha conhecimento do agente etiológico, o *P. vivax* esteve envolvido em 52%, somados a 32% dos casos de infecção mista (*P. vivax* e *P. falciparum*). Em 81% dos casos relatados, os indivíduos não tinham conhecimento do agente etiológico. Pelos dados disponíveis podemos antever que destes casos, possivelmente, haveria também uma maioria de etiologia pela espécie *P. vivax* (BEZERRA et al., 2020; ZANGHI; VAUGHAN, 2021).

Uma das formas de controle de transmissão da malária é o controle do vetor da doença (MONROE, 2021; ZHOU et al., 2022). Mesmo com os investimentos específicos para controle vetorial da malária, a infecção continua a afetar principalmente os indivíduos residentes, trabalhadores ou frequentadores de comunidades rurais ou periurbanas, onde o ambiente propicia o desenvolvimento vetorial, principalmente nas residências com possibilidade da entrada do mosquito por frestas em portas, telhados ou janelas (KAINDOA et al., 2021). Como em Cruzeiro do Sul, nos municípios de Mâncio Lima e Rodrigues Alves também constituintes da Região do Juruá, o risco da doença é persistentemente alto, seja pela cobertura florestal da região, pelo desmatamento ou pelas atividades de piscicultura ali desenvolvidas. Nesta localidade a transmissão da malária é registrada de forma importante tanto nas áreas rurais quanto nas urbanas e por isso, a região do Juruá está entre os sete sítios de estudos de malária urbana dos centros internacionais de excelência de pesquisa em malária (ICEMR) (DOS REIS et al., 2015; LANA et al., 2017; OLSON et al., 2010; VALLE; TUCKER LIMA, 2014; WILSON et al., 2015).

Neste estudo, observamos que a maior parte dos participantes (mais de 94%) reside em área urbana, inclusive em Cruzeiro do Sul, assim como mais de 96% também trabalham em área rural. Um percentual menor, mas ainda bem relevante, exerce atividades escolares principalmente urbanas. Entretanto, com relação ao local de estudo observamos que 95% dos estudantes rurais se encontram em Cruzeiro do Sul. Ou seja, o perfil de residência, trabalho ou estudo na população estudada, sendo predominantemente urbano, em princípio, não favoreceria a transmissão da doença, embora nesta região a transmissão urbana não possa ser descartada.

Observou-se que ter um histórico positivo para malária não foi um fator impeditivo para a aprovação do candidato à doação de sangue. Dos 137 candidatos que informaram ter experimentado a doença pelo menos uma vez na vida, 124 chegaram a doar sangue e apenas 3 foram inaptos por possível malária. Também doaram sangue todos os candidatos que informaram mais de 10 episódios da doença, onde se inclui o candidato de 39 anos que referiu mais de 30 episódios da doença.

Porém, o que chama mais a atenção é o tempo relatado desde o último episódio da doença. De acordo com as normas preconizadas, o candidato que referir malária num período menor que 12 meses deve ser considerado inapto à doação e aqui observamos que dos doadores que informaram episódio de malária neste período de tempo, apenas um foi inapto por possível malária e outros 46 foram aptos à doação de sangue. Deve-se considerar que os doadores muitas vezes não estavam certos da data exata em que apresentaram o último episódio da doença.

O tipo de plasmódio informado pelos participantes também não apresentou impacto sobre a situação da triagem dos mesmos, uma vez que quase 100% dos que tinham conhecimento da espécie infectante foram aptos à doação, à exceção de um

único candidato, com história de malária por *P. vivax*, que foi inapto por possível malária.

Residir, trabalhar ou estudar em área rural não é, pelas normas vigentes, um motivo de inaptidão à doação de sangue, assim como não o é ter conhecimento de casos de malária nestes locais. Mas, áreas rurais tendem a ter mais mosquitos do que áreas urbanas e, assim, mais possibilidade da existência de espécies de *Anopheles* infectadas pelo plasmódio, propiciando a transmissão da malária. Tendo em vista que a maior parte do tempo as pessoas estão em casa, no trabalho ou na escola/universidade, entende-se que todo este tempo estariam expostas à picada do inseto. Mais arriscado ainda, se os indivíduos referem ter conhecimento de casos de malária nestas localidades, principalmente nos últimos 30 dias que antecedem a ida ao serviço de hemoterapia. Neste estudo não observamos inaptidão por possível malária de doador procedente de área rural, o que não contraria as normas técnicas, mas teoricamente importaria mais risco a este candidato. O mesmo foi observado sobre o relato de casos de malária nestas localidades. Nenhum candidato que referiu ter conhecimento de casos de malária em seu local de moradia, trabalho ou estudo foi inapto por motivo de possível malária.

Ressalte-se que todos os exames de gota espessa que foram realizados nos candidatos, tanto nos aptos quanto nos inaptos, foram lidas por profissional qualificado e resultaram negativas.

Tendo em vista que em Cruzeiro do Sul a maior parte dos participantes tinha fatores de exposição à doença e que o quantitativo de doadores nesta região não é grande e supre no limite as demandas transfusionais da rede hospitalar da região, pondera-se que se todos estes candidatos fossem inaptos à doação, certamente o impacto sobre o estoque de hemocomponentes seria importante de forma negativa. No período, 100% dos concentrados de hemácias foram utilizados pela rede hospitalar local, sendo

ainda necessário suporte do hemocentro coordenador para suprimento total da demanda (Dados do sistema *HEMOVIDA*, coletados em setembro de 2022). Desta forma, realmente deve-se considerar o binômio risco-estoque em localidades como Cruzeiro do Sul. Mais estudos são necessários a fim de comparar as metodologias existentes para detecção de malária em candidatos à doação de sangue em locais de alta endemicidade para a doença para que se consiga ter doações de sangue seguras e que não afetem o estoque de hemocomponentes.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA. **7º Boletim de PRODUÇÃO HEMOTERÁPICA**. Anvisa, , 2020. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>

BAPTISTA, V. et al. Review of Microdevices for Hemozoin-Based Malaria Detection. **Biosensors**, v. 12, n. 2, p. 110, 11 fev. 2022.

BEZERRA, J. M. T. et al. Changes in malaria patterns in Brazil over 28 years (1990–2017): results from the Global Burden of Disease Study 2017. **Population Health Metrics**, v. 18, n. S1, p. 5, set. 2020.

DOS REIS, I. C. et al. Contribution of fish farming ponds to the production of immature Anopheles spp. in a malaria-endemic Amazonian town. **Malaria Journal**, v. 14, n. 1, p. 452, dez. 2015.

KAINDOA, E. W. et al. Insecticide-treated eave ribbons for malaria vector control in low-income communities. **Malaria Journal**, v. 20, n. 1, p. 415, dez. 2021.

LANA, R. M. et al. Socioeconomic and demographic characterization of an endemic malaria region in Brazil by multiple correspondence analysis. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 397, dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico- malária**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf>.

MONROE, A. Unlocking the human factor to increase effectiveness and sustainability of malaria vector control. p. 6, 2021.

OLSON, S. H. et al. Deforestation and Malaria in Mâncio Lima County, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 7, p. 1108–1115, jul. 2010.

SAHU, A.; BAJPAI, M. Determining the true incidence of acute transfusion reactions: Active surveillance at a specialized liver center. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 42, n. 4, p. 326–332, out. 2020.

VALDIVIA, H. O. et al. Field validation of a magneto-optical detection device (Gazelle) for portable point-of-care Plasmodium vivax diagnosis. **PLOS ONE**, v. 16, n. 6, p. e0253232, 22 jun. 2021.

VALLE, D.; TUCKER LIMA, J. M. Large-scale drivers of malaria and priority areas for prevention and control in the Brazilian Amazon region using a novel multi-pathogen geospatial model. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 443, dez. 2014.

WILSON, M. L. et al. Urban Malaria: Understanding its Epidemiology, Ecology, and Transmission Across Seven Diverse ICEMR Network Sites. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 3_Suppl, p. 110–123, 2 set. 2015.

ZANGHI, G.; VAUGHAN, A. M. Plasmodium vivax pre-erythrocytic stages and the latent hypnozoite. **Parasitology International**, v. 85, p. 102447, dez. 2021.

ZHOU, Y. et al. Effectiveness of indoor residual spraying on malaria control: a systematic review and meta-analysis. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 11, n. 1, p. 83, dez. 2022.

7.3 Artigo 3

DESEMPENHO DE TESTES MICROSCÓPICOS E MOLECULARES PARA O DIAGNÓSTICO DE MALÁRIA ENTRE DOADORES DE SANGUE APARENTEMENTE SAUDÁVEIS NO ACRE, BRASIL

Thereza Cristina Picado Pinheiro¹ - orcid.org/0000-0002-7031-4510.

E-mail: therezpicado1@gmail.com

Sabrina Silva Santos¹⁻² - orcid.org/0000-0001-8327-3546.

E-mail: sabrina_ssantos@hotmail.com

Rosalina Jorge Koifman¹⁻² - orcid.org/0000-0002-2746-7597.

E-mail: rosalina.koifman@hotmail.com

Maria de Fátima Ferreira da Cruz³ - orcid.org/0000-0003-3522-3792.

E-mail: mffcruz@ioc.fiocruz.br

Aline Rosa de Lavigne Mello³ – orcid.org/0000-0001-9627-8426.

E-mail: aline.lavigne@ioc.fiocruz.br

¹ Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em saúde Coletiva, Rio Branco- Acre, Brasil.

² Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

³ Laboratório de Pesquisa em Malária, Instituto Oswaldo Cruz Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

Introdução: A transfusão de sangue embora seja um procedimento terapêutico importante, pode apresentar riscos, dentre eles a transmissão de doenças infecto-parasitárias como a malária. No Acre, o teste utilizado para triagem de malária em doadores de sangue é a gota espessa. Mas este teste apresenta baixa sensibilidade para detecção do *Plasmodium* em situações de baixa parasitemia, como as que acompanham os indivíduos assintomáticos e clinicamente saudáveis. **Objetivos:** Investigar a pertinência de uso da PCR para a detecção da infecção malárica em candidatos à doação de sangue em Cruzeiro do Sul, Acre, área endêmica para a malária localizada na Amazônia Legal. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal realizado no universo de candidatos à doação de sangue aptos e inaptos na triagem clínica e que responderam um questionário padrão de área endêmica, no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, no período de 18 de julho a 18 de agosto de 2022. **Resultados:** Dos 230 participantes, 209 (90,9%) foram aptos na triagem clinicoepidemiológica. Nenhum candidato referiu histórico de malária. Todos os testes microscópicos resultaram negativos e 4 (1,7%) amostras apresentaram positividade nos testes moleculares para o *P. vivax*. **Conclusão:** No Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, a utilização de técnicas moleculares na triagem laboratorial para malária é comprovadamente mais efetiva do que a técnica atualmente utilizada.

Palavras-chave: Malária, Doadores de Sangue, Microscopia, Biologia Molecular.

ABSTRACT

Introduction: Blood transfusion, although an important therapeutic procedure, can present risks, among them the transmission of infectious-parasitic diseases such as malaria. In Acre, the test used to screen blood donors for malaria is the thick blood smear. But this test has low sensitivity for detecting Plasmodium in situations of low parasitemia, such as those that accompany asymptomatic and clinically healthy individuals. **Objectives:** To investigate the relevance of using PCR for the detection of malaria infection in candidates for blood donation in Cruzeiro do Sul, Acre, an endemic area for malaria located in the Legal Amazon. **Methodology:** This is a cross-sectional study carried out in the universe of eligible and unfit candidates for blood donation in the clinical screening and who answered a standard questionnaire from an endemic area, in the blood center of Cruzeiro do Sul, in the period from July 18 to August 18 2022. **Results:** Of the 230 participants, 209 (90.9%) were able to undergo clinical and epidemiological screening. No candidate reported a history of malaria. All microscopic tests were negative and 4 (1.7%) samples were positive in molecular tests for *P. vivax*. **Conclusion:** In the Cruzeiro do Sul Hemonucleus, the use of molecular techniques in laboratory screening for malaria is proven to be more effective than the technique currently used.

Keywords: Malaria, Blood Donors, Microscopy, Molecular Biology.

INTRODUÇÃO

A malária é uma doença transmitida por vetores e causada por parasitos protozoários do gênero *Plasmodium*. A transmissão vetorial de parasitas da malária ocorre durante o repasto sanguíneo de uma fêmea infectada do mosquito *Anopheles* e é o modo de transmissão mais comum. No entanto, existem outros modos de transmissão, incluindo a transmissão vertical de mães infectadas para seus bebês ainda não nascidos (malária congênita), e transmissão horizontal de doadores de sangue infectados para seus receptores (malária transmitida por transfusão / MTT). De fato, tanto a malária congênita quanto a transmitida por transfusão são comuns e representam problemas significativos de saúde pública, particularmente nas áreas endêmicas. A transfusão de sangue é um procedimento amplamente utilizado como terapia em diversas circunstâncias médicas clínicas e cirúrgicas. Com a evolução da medicina moderna que melhora o prognóstico de muitas doenças, cada vez mais a transfusão de sangue emerge como suporte fundamental para o sucesso terapêutico. No Brasil, segundo dados recentes do Ministério da Saúde, ocorrem mais de 2.840.900 transfusões de sangue anualmente na rede pública de assistência. A este número ainda se somam as transfusões que ocorrem nos setores privados. Mesmo sendo tão importante para a condução de inúmeras enfermidades, a transfusão de sangue não é um procedimento isento de risco e a transmissão de doenças infecctoparasitárias é um deles. Para o controle da transmissão transfusional de doenças, uma das estratégias adotadas legalmente no país é a testagem laboratorial obrigatória para determinados patógenos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA, 2020; ANVISA, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; WU et al., 2022).

Neste cenário, se insere a malária sendo a testagem laboratorial obrigatória em todo sangue doado nos estados que compõem a Amazônia Legal (Amazonia brasileira mais os estados de Mato Grosso e Maranhão), onde se localizam mais de 98% dos casos de malária no país (BATISTA-DOS-SANTOS et al., 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

O Acre integra a Amazônia brasileira. No estado, o teste usado para o diagnóstico de malária em doadores de sangue é a gota espessa, um teste microscópico amplamente preconizado pelo Ministério da Saúde, mas com sensibilidade limitada para detectar a infecção em indivíduos pauciparasitados. Em regiões endêmicas, a maioria dos doadores quando infectados pelo plasmódio é assintomática, o que os torna indetectáveis na triagem por critérios clinico-epidemiológicos. Estes doadores apresentam parasitemia submicroscópica e, assim, também não são detectados pelos testes de gota espessa normalmente utilizados e tem sido recomendado o uso de metodologias mais sensíveis, como os testes moleculares (BATISTA-DOS-SANTOS et al., 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; ROCHA et al., 2020).

Desta forma, este artigo tem como objetivo investigar a pertinência do uso de testes moleculares para a triagem de candidatos a doação em áreas endêmicas de malária e estimar a existência de doadores assintomáticos para malária no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal com coleta de dados prospectiva, realizado em candidatos à doação de sangue no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, no Acre, no período de 18 de julho a 18 de agosto de 2022.

Cruzeiro do Sul é o segundo município mais desenvolvido do estado do Acre, onde está localizado o hemonúcleo regional, único local para doação de sangue na região do Juruá.

Os candidatos foram submetidos à triagem clinicoepidemiológica, sendo questionados sobre os critérios de inaptidão, conforme padronizado no serviço, incluindo os questionamentos sobre risco para malária. Considerando que esta pesquisa foi realizada em área endêmica, todos os candidatos aptos foram submetidos ao teste de identificação de plasmódio, de acordo com as normas legais vigentes. No hemonúcleo de Cruzeiro do Sul é utilizado o teste microscópico (gota espessa).

Todos os candidatos foram abordados durante a triagem clinicoepidemiológica sobre a intenção de participar da pesquisa, independente do resultado desta triagem (apto ou inapto). Foram coletadas amostras de sangue (punção digital e sangue total) daqueles que aceitaram participar do estudo. Desta forma, foram incluídos tanto os candidatos aptos quanto os inaptos na triagem clinicoepidemiológica. As amostras dos candidatos aptos foram colhidas no momento da doação e para os inaptos a coleta foi realizada antes da dispensa do candidato.

Não foram incluídos os candidatos de etnia indígena, devido ao histórico de baixíssima frequência de candidatos dessa etnia (4 candidatos entre 2016 e 2020).

A amostra de sangue colhida de cada participante por punção digital foi distribuída homoganeamente em uma lâmina (esfregaço) e utilizada para a realização da microscopia pela gota espessa, por profissional habilitado e devidamente treinado. Todas as lâminas foram avaliadas pelo mesmo profissional, não havendo assim, variabilidade interobservador.

Procedimento de coleta, processamento e armazenamento das amostras.

As amostras de sangue total foram coletadas em tubo contendo anticoagulante (K2EDTA BD Vacutainer PPT) e centrifugadas por 10 minutos a 3.500 RPMs (1.300 x g). À camada de hemácias foi adicionada solução de glicerol tamponado (3,024% de sorbitol; 0,648% de NaCl e 3,57% de glicerol em água destilada) em proporção igual ao volume celular. As amostras foram delicadamente agitadas para ressuspensão e imediatamente armazenadas a -20°C. Posteriormente, estas amostras foram encaminhadas ao laboratório de referência em diagnóstico molecular para malária da Fundação Osvaldo Cruz para a realização do teste molecular para malária, por PCR em tempo real (RT-PCR). O transporte das amostras foi realizado via aérea, obedecendo todos os critérios de viabilidade e segurança exigidos.

Procedimento de realização do RT-PCR

O DNA genômico foi extraído de 1 mL de sangue total utilizando colunas midi QIAamp, conforme descrito pelo fabricante (Qiagen®).

O diagnóstico da malária foi realizado inicialmente por PCR em tempo real usando *primers* de *Plasmodium* (GAMA et al., 2007). Em seguida, as amostras que resultaram positivas para *Plasmodium* foram submetidas a PCRs em tempo real de *P. vivax* (ALMEIDA-DE-OLIVEIRA et al., 2019) e *nested* PCR para *P. falciparum* (ZALIS et al., 1996) e *P. malariae* (SNOUNOU; SINGH, 2002), para identificar a espécie de *Plasmodium* envolvida na infecção.

Análise estatística

Foi realizada análise descritiva com auxílio do *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 20.0 considerando os fatores sociodemográficos e os resultados

dos testes laboratoriais, sendo os resultados apresentados em valores absolutos e proporcionais.

Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Acre sob o parecer número 3.989.886, em 24 de abril de 2020 (CAEE: 24058719.0.0000.5010) e todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

RESULTADOS

No período, houve um total de 346 candidatos à doação no Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, sendo que 271 foram considerados aptos e 75 inaptos. Do total, 230 candidatos (66,5%) que obedeciam aos critérios de inclusão, aceitaram participar da pesquisa e assinaram o TCLE. Dos participantes, 9,1% (21) foram inaptos na triagem clinicoepidemiológica, sendo que 2 indivíduos foram inaptos por hematócrito baixo (anemia) e 2 por antibioticoterapia em curso ou recente. Os demais motivos incluíram alterações cardiovasculares, doença neurológica pré-existente, tatuagem, hematócrito alto e uso de cigarro. Nenhum candidato foi inapto por motivos relacionados à malária.

Os candidatos eram em sua maioria do sexo masculino (58,7%), jovens de até 30 anos de idade (62,2%), solteiros (78,3%) e com segundo grau completo (38,3%) (Tabela 1).

Tabela 1: Dados sociodemográficos dos candidatos à doação de sangue do Hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, no período de 18 de julho a 18 de agosto de 2022.

Variável	N	%
Sexo		
Masculino	135	58,7
Feminino	95	41,3
Faixa etária		
16 a 30 anos	143	62,2
31 a 55 anos	81	35,2
56 a 70 anos	6	2,6
Estado civil		
Solteiro	180	78,3
Casado	45	19,6
Outros	5	2,2
Escolaridade		
Sem escolaridade	3	1,3
1º grau incompleto	13	5,7
1º grau completo	5	2,2
2º grau incompleto	43	18,7
2º grau completo	88	38,3
3º grau incompleto	46	20
3º grau completo	32	13,9
Total	230	

Durante a triagem clinicoepidemiológica, nenhum candidato referiu antecedentes maláricos no último ano.

Todas as lâminas de gota espessa foram negativas na pesquisa do *Plasmodium*.

A pesquisa de *Plasmodium* por RT-PCR resultou em 4 (1,7%) amostras positivas, sendo duas nos doadores aptos e duas nos inaptos. Em todas as amostras a espécie envolvida foi o *P. vivax*. Houve também 2 (aproximadamente 1%) amostras que resultaram inconclusivas em doadores aptos.

DISCUSSÃO

O presente estudo propõe uma avaliação da aplicabilidade de testes microscópicos e moleculares para detecção de *Plasmodium* em candidatos à doação de sangue no município de Cruzeiro do Sul, localizado na Amazônia brasileira. Foram incluídos na pesquisa 230 candidatos à doação de sangue no hemonúcleo regional.

A prevenção da malária transfusional é desafiadora, principalmente em áreas endêmicas. Identificar clínica ou laboratorialmente um doador infectado pelo parasita pode ser uma tarefa árdua nestas regiões, uma vez que os indivíduos residentes nestas localidades, depois de repetidas exposições à doença, podem adquirir um determinado grau de imunidade, fazendo com que a infecção se apresente de forma assintomática (ABDULLAH; KARUNAMOORTHY, 2016; KITCHEN; CHIODINI, 2006; VERRA et al., 2018). Estes indivíduos apresentam baixa parasitemia, o que torna também difícil sua identificação laboratorial pela técnica habitualmente utilizadas nos serviços de hemoterapia, que é a técnica microscópica (gota espessa).

O Brasil apresenta em sua extensa área territorial dois cenários epidemiológicos distintos para malária, uma área considerada endêmica, a Região Amazônica, e uma não-endêmica, o restante do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; MINISTERIO DA SAUDE, 2020). Neste contexto, a legislação brasileira adota critérios distintos para a triagem clinicoepidemiológica e laboratorial no que concerne à malária nos dois cenários. De acordo com a Portaria de Consolidação número 5, de 2017, que aprova o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos, em áreas endêmicas a triagem clinicoepidemiológica deve abordar questionamentos sobre o histórico de malária e deslocamentos do doador para locais de alta endemicidade para a doença. Candidatos à doação com histórico de malária no último ano ou com histórico de malária por *P.*

malariae em qualquer época da vida são inaptos à doação de sangue. Laboratorialmente, a Portaria de Consolidação obriga a realização de testes para detecção do *Plasmodium* ou de antígenos plasmodiais em todas as unidades de sangue doadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Cruzeiro do Sul é um município de alta endemicidade para malária, localizado em uma região onde os municípios vizinhos também apresentam alta endemicidade para a doença (COSTA et al., 2010; LAPOUBLE, 2015; SILVA et al., 2012). O hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, por ser o único centro de coleta de sangue de doadores da região, recebe candidatos procedentes de todos estes municípios endêmicos.

Baseados nisto, percebemos que os critérios clínicos são insuficientes para oferecer segurança transfusional adequada. Dos critérios de elegibilidade, considerar deslocamentos para localidade endêmica não parece ter aplicabilidade já que os candidatos residem em região endêmica. O histórico de malária do candidato nos doze meses que antecedem a doação é mais aplicável, entretanto também torna-se friável dada a possibilidade da existência de candidatos à doação portadores assintomáticos do parasita.

A triagem clínica então, não se mostra totalmente segura na prevenção da transmissão da malária. Se os critérios clínicos fossem aplicados de forma a prevenir sua transmissão de forma segura, ou seja, inaptando os candidatos sob risco, certamente haveria uma grande dispensa de doadores, que impactaria de forma negativa no estoque de hemocomponentes.

Como principal critério clínico, neste estudo todos os candidatos aptos não referiram malária nos 12 meses anteriores à doação. Embora não seja comum, espécies de *Plasmodium* podem permanecer circulantes no organismo de um indivíduo por período de tempo superior ao estipulado pelas normas reguladoras. O *Plasmodium*

vivax, a espécie mais comum no Brasil e, por conseguinte, na Região Amazônica, pode permanecer por vários anos no organismo de um indivíduo infectado (ANAND et al., 2018).

Considerando que doadores de sangue em áreas endêmicas podem caracteristicamente se apresentar sem sintomas e com baixa parasitemia, técnicas com sensibilidade limitada podem não ser eficazes nesses casos. A técnica microscópica, considerada padrão ouro e utilizada no hemonúcleo de Cruzeiro do Sul, não parece bem indicada, pois além de exigir processamento demorado e não ser aplicável em grande número de amostras, sua sensibilidade é restrita e a identificação do parasita fica diretamente dependente da experiência do observador. Assim, os resultados obtidos nas leituras microscópicas desta pesquisa foram os esperados.

Neste sentido, foi realizado o teste molecular dos candidatos. Mesmo com as diferenças de sensibilidade descritas entre as técnicas de PCR disponíveis, aproximadamente 70% das infecções submicroscópicas só podem ser identificadas pela técnica PCR e, desta forma, sua utilização na triagem laboratorial de doadores de sangue em áreas endêmicas talvez seja mais indicada (ALEMAYEHU et al., 2013; ALMEIDA-DE-OLIVEIRA et al., 2019; THE COLLABORATIVE STUDY GROUP et al., 2008).

Neste estudo, identificamos 4 (1,7%) doadores com positividade para *Plasmodium* nos testes moleculares e 2 (1,0%) doadores com resultados inconclusivos, podendo denotar uma parasitemia extremamente baixa, mas ainda assim infectante. Em hemoterapia, resultados inconclusivos não permitem a liberação do hemocomponente para uso. Estes mesmos doadores tiveram o exame microscópico negativo e quatro foram aptos na triagem clínica. Estes resultados demonstram uma prevalência considerável de indivíduos portadores assintomáticos de malária, maior do que algumas

já descritas (FUGIKAHA et al., 2007). Isto se torna especialmente relevante, uma vez que todos os hemocomponentes produzidos a partir das quatro doações positivas/inconclusivas envolvidas foram transfundidas. Vale ressaltar, que não houve notificação de malária transfusional no período, evidenciando possível subnotificação de malária transmitida por via transfusional. Já foi demonstrada transmissão de malária por transfusão a partir de todos os tipos de hemocomponentes, embora uns mais frequentes do que os outros. Isto implica na contaminação de mais receptores do que apenas os que receberam os concentrados de hemácias, podendo ser mais que o dobro deste quantitativo.

Os *Plasmodium* identificados nas amostras foram da espécie *P. vivax*. Este achado não causa surpresa, pois esta é a espécie do parasita mais comum fora do continente africano, sendo a espécie predominante na América Latina e o principal agente etiológico da infecção malárica no Brasil (WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES, 2020). Diferente da infecção pelo *P. falciparum*, a infecção por *P. vivax*, normalmente, não evolui de forma grave, embora haja relatos de malária transfusional por *P. vivax* com evolução fatal. Mas, por outro lado, a eliminação do *P. vivax* representa um desafio ainda maior que o *P. falciparum* para o controle e erradicação da doença, pela presença das formas hipnozoítas, que permanecem longo tempo ‘adormecidas’ no fígado (ALMEIDA-DE-OLIVEIRA et al., 2019).

De acordo com nossos resultados, observamos também que não é custo-efetivo manter a estratégia atualmente adotada, pois embora a técnica microscópica seja acessível, ela também envolve gastos (inclusive recursos humanos) que não são capazes de oferecer a segurança almejada, constituindo desperdício de recursos públicos.

O uso de técnicas moleculares para a triagem de doadores de sangue, embora apresente um custo mais elevado, já é uma realidade em todo o território brasileiro. Entretanto, sua realização é obrigatória apenas para alguns patógenos transmissíveis por transfusão, não se incluindo o *Plasmodium*. Aliado a isto, a alta sensibilidade da técnica de PCR permite a sua utilização em *pool* de amostras, contribuindo para a redução dos custos envolvidos.

Este estudo demonstra, em contexto real, a importância e a possibilidade da adoção de técnicas mais sensíveis para detecção do *Plasmodium* em doadores de sangue, tanto do ponto de vista técnico quanto financeiro, por meio da inclusão da pesquisa de malária numa logística já existente.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, S.; KARUNAMOORTHY, K. Malaria and blood transfusion: major issues of blood safety in malaria-endemic countries and strategies for mitigating the risk of Plasmodium parasites. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 35–47, jan. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA. **7º Boletim de PRODUÇÃO HEMOTERÁPICA**. Anvisa, , 2020. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>

ALEMAYEHU, S. et al. Comparative evaluation of published real-time PCR assays for the detection of malaria following MIQE guidelines. **Malaria Journal**, v. 12, n. 1, p. 277, dez. 2013.

ALMEIDA-DE-OLIVEIRA, N. K. et al. Analytical validation of real-time quantitative PCR assays for optimum diagnosis of vivax malaria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, p. e180350, 2019.

ANAND, A. et al. Investigation of a case of suspected transfusion-transmitted malaria: TTM INVESTIGATION BEST PRACTICES. **Transfusion**, v. 58, n. 9, p. 2115–2121, set. 2018.

ANVISA. 34. Resolução da diretoria colegiada. 2014, p. 123.

BATISTA-DOS-SANTOS, S. A. et al. Strategy to improve malaria surveillance system preventing transfusion-transmitted malaria in blood banks using molecular diagnostic. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 344, dez. 2018.

COSTA, K. M. DE M. et al. Malária em Cruzeiro do Sul (Amazônia Ocidental brasileira): análise da série histórica de 1998 a 2008. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, n. 5, p. 353–360, nov. 2010.

FUGIKAHA, É. et al. Molecular screening of Plasmodium sp. asymptomatic carriers among transfusion centers from Brazilian Amazon region. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 1, p. 1–4, fev. 2007.

GAMA, B. E. et al. Real-time PCR versus conventional PCR for malaria parasite detection in low-grade parasitemia. **Experimental Parasitology**, v. 116, n. 4, p. 427–432, ago. 2007.

KITCHEN, A. D.; CHIODINI, P. L. Malaria and blood transfusion. **Vox Sanguinis**, v. 90, n. 2, p. 77–84, fev. 2006.

LAPOUBLE, O. M. M. Situação epidemiológica da malária na região amazônica brasileira, 2003 a 2012. **Rev Panam Salud Publica**, p. 7, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 5. Portaria de consolidação 5/2017. . 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico- malária**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf>.

MINISTERIO DA SAUDE, S. DE VIGILÂNCIA EM S. **Boletim epidemiologico 17**. Ministerio da saude, , abr. 2020.

ROCHA, D. et al. Use of a NAT-based assay to improve the surveillance system and prevent transfusion-transmitted malaria in blood banks. **Malaria Journal**, v. 19, n. 1, p. 275, dez. 2020.

SILVA, R. DO S. U. DA et al. Malária no Município de Cruzeiro do Sul, Estado do Acre, Brasil: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 1, p. 45–54, mar. 2012.

SNOUNOU, G.; SINGH, B. Nested PCR Analysis of Plasmodium Parasites. Em: DOOLAN, D. L. (Ed.). **Malaria Methods and Protocols**. New Jersey: Humana Press, 2002. v. 72p. 189–204.

THE COLLABORATIVE STUDY GROUP et al. Establishment of the 1st World Health Organization International Standard for Plasmodium falciparum DNA for nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays. **Malaria Journal**, v. 7, n. 1, p. 139, dez. 2008.

VERRA, F. et al. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 36, dez. 2018.

WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES. 1. ed. [s.l: s.n.]. v. 1

WU, D. et al. The impact of nucleic acid testing to detect human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus yields from a single blood center in China with 10-years review. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 279, dez. 2022.

ZALIS, M. G. et al. Malaria diagnosis: standardization of a polymerase chain reaction for the detection of *Plasmodium falciparum* parasites in individuals with low-grade parasitemia. **Parasitology Research**, v. 82, n. 7, p. 612–616, 13 ago. 1996.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A transfusão de sangue, apesar de essencial para o tratamento de diversas patologias, não é um procedimento isento de riscos. Um destes riscos é a transmissão de doenças infecciosas. Para o controle da transmissão transfusional de doenças e adequada segurança transfusional, são adotados critérios de triagem clínica e laboratorial dos candidatos à doação de sangue, dentre outros vários cuidados exigidos legalmente.

Dentre as doenças transmissíveis por via transfusional, a malária merece destaque, pois além de sua alta incidência mundialmente, se transmitida por via transfusional, pode se apresentar de forma grave. Entretanto, a prevenção da malária transfusional é desafiadora, principalmente em áreas endêmicas. Nestes locais é necessário que os critérios de seleção clínico-epidemiológicos se alinhem aos métodos de triagem laboratorial, pois os critérios clínico-epidemiológicos são pouco sensíveis, além de poderem levar à inaptidão de uma quantidade excessiva de candidatos. Por outro lado, critérios laboratoriais devem ser específicos ao ponto de detectar indivíduos com baixa parasitemia, que são comuns nestas regiões.

Este estudo realizado no estado do Acre, região endêmica para malária, demonstrou que a triagem clínico-epidemiológica é realizada de forma adequada, contemplando os critérios exigidos legalmente. Porém, como mencionado, há o risco de desabastecimento de hemocomponentes pela inaptidão excessiva de candidatos.

Este estudo também comprovou que a técnica laboratorial atualmente empregada (técnica microscópica), não é suficiente para prevenir adequadamente a malária transmitida por transfusão, restando um percentual de portadores assintomáticos que doam sangue sem serem detectados, indo infectar os receptores, num cenário no qual, em princípio, isto poderia ser prevenido pelo emprego de técnicas moleculares, uma vez

que já há logística implantada no estado para a pesquisa de outras doenças infecciosas nesta população.

9. REFERÊNCIAS DA TESE

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA | ANVISA. **7º Boletim de PRODUÇÃO HEMOTERÁPICA** Anvisa, 2020. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>

ALHO, R. M. et al. Alternative transmission routes in the malaria elimination era: an overview of transfusion-transmitted malaria in the Americas. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 78, dez. 2017.

ANDRADE, B. B. et al. RTeosewarchards a precise test for malaria diagnosis in the Brazilian Amazon: comparison among field microscopy, a rapid diagnostic test, nested PCR, and a computational expert system based on artificial neural networks. p. 11, 2010.

ANDRÉIA PATRÍCIA GOMES¹, RODRIGO et al. Malária grave por Plasmodium falciparum. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23 (3), p. 358–369, 2011.

ANTWI-BAFFOUR, S. et al. The Incidence of Malaria Parasites in Screened Donor Blood for Transfusion. **Malaria Research and Treatment**, v. 2019, p. 1–6, 25 nov. 2019.

ANVISA. 34. Resolução da diretoria colegiada. 2014, p. 123.

ARIEY, F.; GAY, F.; MÉNARD, R. (EDS.). **Malaria control and elimination**. New York, NY: Humana Press, 2019.

ASHLEY, E. A.; PYAE PHYO, A.; WOODROW, C. J. Malaria. **The Lancet**, v. 391, n. 10130, p. 1608–1621, abr. 2018.

ASHLEY, E. A.; WHITE, N. J. The duration of Plasmodium falciparum infections. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 500, dez. 2014.

BAILEY, J. W. et al. Guideline: the laboratory diagnosis of malaria. **British Journal of Haematology**, v. 163, n. 5, p. 573–580, dez. 2013.

BATISTA-DOS-SANTOS, S. et al. Real-time PCR diagnosis of Plasmodium vivax among blood donors. **Malaria Journal**, v. 11, n. 1, p. 345, 2012.

BOUSEMA, T.; DRAKELEY, C. Epidemiology and Infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax Gametocytes in Relation to Malaria Control and Elimination. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 2, p. 377–410, 1 abr. 2011.

CAVASINI, C. E. et al. Duffy blood group gene polymorphisms among malaria vivax patients in four areas of the Brazilian Amazon region. **Malaria Journal**, v. 6, n. 1, p. 167, dez. 2007.

CHENG, Z. et al. A Novel, Sensitive Assay for High-Throughput Molecular Detection of Plasmodia for Active Screening of Malaria for Elimination. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 125–130, jan. 2013.

CHENG, Z. et al. Capture and Ligation Probe-PCR (CLIP-PCR) for Molecular Screening, with Application to Active Malaria Surveillance for Elimination. **Clinical Chemistry**, v. 61, n. 6, p. 821–828, 1 jun. 2015.

CHOTIVANICH, K.; SILAMUT, K.; DAY, N. P. J. Laboratory diagnosis of malaria infection – A short review of methods. p. 4, 2007.

CLENDENNEN, T. E.; LONG, G. W.; BAIRD, J. K. QBC® and Giemsa-stained thick blood films: diagnostic performance of laboratory technologists. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, n. 2, p. 183–184, mar. 1995.

CORDRAY, M. S.; RICHARDS-KORTUM, R. R. Emerging Nucleic Acid-Based Tests for Point-of-Care Detection of Malaria. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 2, p. 223–230, 1 ago. 2012.

COVAS, D. T.; JÚNIOR, D. M. L.; BORDIN, J. O. **Hemoterapia - Fundamentos e Prática**. 1. ed. São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto, Belo Horizonte: Atheneu, 2007. v. 1

COX, F. E. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 1, p. 5, 2010.

CUNNINGHAM, J. et al. A review of the WHO malaria rapid diagnostic test product testing programme (2008–2018): performance, procurement and policy. **Malaria Journal**, v. 18, n. 1, p. 387, dez. 2019.

DI SANTI, S. M. et al. PCR - based diagnosis to evaluate the performance of malaria reference centers. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 4, p. 183–187, ago. 2004.

ECHEVERRY, D. F. et al. Human malaria diagnosis using a single-step direct-PCR based on the Plasmodium cytochrome oxidase III gene. **Malaria Journal**, v. 15, n. 1, p. 128, dez. 2016.

ERDMAN, L. K.; KAIN, K. C. Molecular diagnostic and surveillance tools for global malaria control. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 6, n. 1–2, p. 82–99, jan. 2008.

FIGUEIREDO FILHO, A. F. et al. Performance of an immunochromatography test for vivax malaria in the Amazon region, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 3, p. 390–392, jun. 2003.

FRIED, M.; DUFFY, P. E. Malaria during Pregnancy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 7, n. 6, p. a025551, jun. 2017.

FUGIKAHA, É. et al. Molecular screening of Plasmodium sp. asymptomatic carriers among transfusion centers from Brazilian Amazon region. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 1, p. 1–4, fev. 2007.

GAY, F. et al. Direct acridine orange fluorescence examination of blood slides compared to current techniques for malaria diagnosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 5, p. 516–518, set. 1996.

GLÓRIA, J. C.; ALVES, S.; ARAÚJO, F. Métodos para diagnóstico de Malária: Atualização e desafios. **Scientia Amazonia**, v. 7, p. 8, 2018.

GOMES, A. P. et al. A infecção pelo gênero Plasmodium: epidemiologia, profilaxia e controle no Brasil. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, v. 30, n. 2, p. 47–58, 27 set. 2018.

GOTO, M. et al. Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue. **BioTechniques**, v. 46, n. 3, p. 167–172, mar. 2009.

GUERRERO, I. C. Transfusion Malaria in the United States, 1972-1981. **Annals of Internal Medicine**, v. 99, n. 2, p. 221, 1 ago. 1983.

HAN, E.-T. et al. Detection of Four Plasmodium Species by Genus- and Species-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification for Clinical Diagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 8, p. 2521–2528, 1 ago. 2007.

HAWKES, M.; KAIN, K. C. Advances in malaria diagnosis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 5, n. 3, p. 485–495, jun. 2007.

IMWONG, M. et al. High-Throughput Ultrasensitive Molecular Techniques for Quantifying Low-Density Malaria Parasitemias. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 9, p. 3303–3309, set. 2014.

IRO, A. et al. Transfusional Malaria and Associated Factors at the National Blood Transfusion Center of Niamey-Niger. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2019, p. 1–5, 1 abr. 2019.

JOÃO CARLOS PINA SARAIVA, N. H. **Hemoterapia e Doenças Infecciosas**. 1. ed. São Paulo: MANOLE, 2014. v. 1

JOSLING, G. A.; LLINÁS, M. Sexual development in Plasmodium parasites: knowing when it's time to commit. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 9, p. 573–587, set. 2015.

KANAYO, I. I.; BROWN, B. J.; SODEINDE, O. O. A COMPARISON OF RAPID DIAGNOSTIC TESTING (BY PLASMODIUM LACTATE DEHYDROGENASE), AND QUANTITATIVE BUFFY COAT TECHNIQUE IN MALARIA DIAGNOSIS IN CHILDREN. **African Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 31–38, 8 jul. 2017.

KITCHEN, A. D.; BARBARA, J. A. J.; HEWITT, P. E. Documented cases of post-transfusion malaria occurring in England: a review in relation to current and proposed donor-selection guidelines. **Vox Sanguinis**, v. 89, n. 2, p. 77–80, ago. 2005.

KITCHEN, A. D.; CHIODINI, P. L. Malaria and blood transfusion. **Vox Sanguinis**, v. 90, n. 2, p. 77–84, fev. 2006a.

KITCHEN, A. D.; CHIODINI, P. L. Malaria and blood transfusion. **Vox Sanguinis**, v. 90, n. 2, p. 77–84, fev. 2006b.

KRIEGER, H. et al. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, n. 6, p. 641–648, 1 jun. 2002.

L. J. BRUCE-CHWATT. TRANSFUSION MALARIA. **Bull. Wid Hlth Org.**, v. 50, p. 337–346, 1974.

LAPOUBLE, O. M. M. Situação epidemiológica da malária na região amazônica brasileira, 2003 a 2012. **Rev Panam Salud Publica**, p. 7, 2015.

LAU, Y.-L. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Identification of Five Human *Plasmodium* Species in Malaysia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 2, p. 336–339, 3 fev. 2016.

LEO L.M. POON,^{1*} BONNIE W.Y. et al. Sensitive and Inexpensive Molecular Test for *Falciparum* Malaria Detecting *Plasmodium falciparum* DNA Directly from Heat-Treated Blood by Loop-Mediated Isothermal Amplification. **Clinical Chemistry, Technical Briefs**. v. 2, n. 52, p. 303–306, 2006.

LOIOLA, C. C. P.; SILVA, C. J. M. DA; TAUIL, P. L. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 11, n. 4, p. 235–244, abr. 2002.

MAKLER, M. T.; PIPER, R. C.; MILHOUS, W. K. Lactate Dehydrogenase and the Diagnosis of Malaria. **Parasitology Today**, v. 14, n. 9, p. 376–377, set. 1998.

MANGANO, V. D. et al. Risk of transfusion-transmitted malaria: evaluation of commercial ELISA kits for the detection of anti-*Plasmodium* antibodies in candidate blood donors. **Malaria Journal**, v. 18, n. 1, p. 17, dez. 2019.

MARY, C. et al. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a Real-Time PCR Assay with High Sensitivity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 11, p. 5249–5255, 1 nov. 2004.

MASELLI, L. M. et al. Detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* subclinical infection in non-endemic region: implications for blood transfusion and malaria epidemiology. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 224, 2014.

MEIER, B.; DÖBELI, H.; CERTA, U. Stage-specific expression of aldolase isoenzymes in the rodent malaria parasite *Plasmodium berghei*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 52, n. 1, p. 15–27, maio 1992.

MENS, P. F. et al. Direct Blood PCR in Combination with Nucleic Acid Lateral Flow Immunoassay for Detection of *Plasmodium* Species in Settings Where Malaria Is Endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 11, p. 3520–3525, 1 nov. 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Diagnóstico de Malária**. 2a. ed. [s.l.] Editora MS, 2009. v. 1

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 5. Portaria de consolidação 5/2017. . 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Caderno de informação Sangue e Hemoderivados**. 1. ed. [s.l.] Ministério da Saúde, 2018. v. 1

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de tratamento da malária no Brasil**. [s.l.] MS, 2020a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico- malária**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf>.

MINISTERIO DA SAUDE, S. DE VIGILÂNCIA EM S. **Boletim epidemiologico 17**Ministerio da saude, abr. 2020.

MOODY, A. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 1, p. 66–78, 1 jan. 2002.

MUNGAI, M. et al. Transfusion-Transmitted Malaria in the United States from 1963 through 1999. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 26, p. 1973–1978, 28 jun. 2001.

OBEAGU, E. I.; UO, C.; IS, E. Malaria Rapid Diagnostic Test (RDTs). **Annals of Clinical and Laboratory Research**, v. 06, n. 04, 2018.

O'BRIEN, S. F.; UZICANIN, S. Impact of changes to policy for Mexican risk travel on Canadian blood donor deferrals. **Blood Transfusion**, 2013.

OCKER, R. et al. MALARIA DIAGNOSIS BY LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) IN THAILAND. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, n. 0, 8 abr. 2016.

OLIVEIRA-FERREIRA, J. et al. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, v. 9, n. 1, p. 115, 2010.

PERANDIN, F. et al. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, and *Plasmodium ovale* for Routine Clinical Diagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 1214–1219, 1 mar. 2004.

ROCK, E. P. et al. Comparative analysis of the *Plasmodium falciparum* histidine-rich proteins HRP-I, HRP-II and HRP-III in malaria parasites of diverse origin. **Parasitology**, v. 95, n. 2, p. 209–227, out. 1987.

ROTH, J. M. et al. Molecular malaria diagnostics: A systematic review and meta-analysis. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 53, n. 2, p. 87–105, 3 mar. 2016.

ROUGEMONT, M. et al. Detection of Four Plasmodium Species in Blood from Humans by 18S rRNA Gene Subunit-Based and Species-Specific Real-Time PCR Assays. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5636–5643, 1 dez. 2004.

SÁEZ-ALQUÉZAR, A. et al. Controle da malária transfusional em região endêmica e não endêmica do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 1, p. 27–34, fev. 1998.

SCURACCHIO, P. et al. Transfusion-transmitted malaria: case report of asymptomatic donor harboring *Plasmodium malariae*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 1, p. 55–59, fev. 2011.

SECRETÁRIA DE ESTADO DE SAÚDE DO ACRE. **Plano Diretor Regional de Atenção Hemoterápica e Hematológica do Estado do Acre 2016**, 2016.

SEED, C. R.; KITCHEN, A.; DAVIS, T. M. E. The Current Status and Potential Role of Laboratory Testing to Prevent Transfusion-Transmitted Malaria. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 19, n. 3, p. 229–240, jul. 2005.

SHE, R. C. et al. Comparison of Immunofluorescence Antibody Testing and Two Enzyme Immunoassays in the Serologic Diagnosis of Malaria. **Journal of Travel Medicine**, v. 14, n. 2, p. 105–111, 1 mar. 2007.

SIMON, T. L. et al. **Rossi's Principles of Transfusion Medicine**. 3a. ed. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2002. v. 1

SIROMA, T. K.; FERRARI, E. C.; RIGO, R. S. *Plasmodium vivax*: causa de malária grave. p. 6, 2016.

SITI NOOR FATHILAH AHMAD ARIFFIN. Branched DNA: A Novel Technique for Molecular Diagnostics in Bone Studies. **Research Updates in Medical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 27–29, 2013.

SNOUNOU, G. et al. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 58, n. 2, p. 283–292, abr. 1993.

TANGPUKDEE, N. et al. Malaria Diagnosis: A Brief Review. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 47, n. 2, p. 93, 2009.

TORRES, K. L. et al. Standardization of a very specific and sensitive single PCR for detection of *Plasmodium vivax* in low parasitized individuals and its usefulness for screening blood donors. **Parasitology Research**, v. 98, n. 6, p. 519–524, maio 2006.

VERRA, F. et al. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 36, dez. 2018.

WERNSDORFER, W. H. et al. A Review of Malaria Diagnostic Tools: Microscopy and Rapid Diagnostic Test (RDT). **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 6_Suppl, p. 119–127, 1 dez. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WORLD MALARIA REPORT 2019**. S.l.: WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global technical strategy for malaria 2016–2030**. 2021 update ed. Geneva: World Health Organization, 2021.

WORLD MALARIA REPORT 2020: 20 YEARS OF GLOBAL PROGRESS AND CHALLENGES. 1. ed. [s.l.: s.n.]. v. 1

XU, Y.; ZHENG, Z. Direct RNA detection without nucleic acid purification and PCR: Combining sandwich hybridization with signal amplification based on branched hybridization chain reaction. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 79, p. 593–599, maio 2016.

ZHENG, Z.; CHENG, Z. Advances in Molecular Diagnosis of Malaria. In: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2017a. v. 80p. 155–192.

ZHENG, Z.; CHENG, Z. Advances in Molecular Diagnosis of Malaria. In: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2017b. v. 80p. 155–192.

ZHENG, Z.; LUO, Y.; MCMASTER, G. K. Sensitive and Quantitative Measurement of Gene Expression Directly from a Small Amount of Whole Blood. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1294–1302, 1 jul. 2006.

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA: “SITUAÇÃO DA MALÁRIA EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DO ACRE: ANÁLISE CLÍNICA E LABORATORIAL”

1. Apresentação

A pesquisa “Situação da malária em doadores de sangue no Estado do Acre: análise clínica e laboratorial” tem por objetivo “Conhecer a situação epidemiológica da malária entre doadores de sangue no estado do Acre. A população alvo é constituída pelos candidatos à doação de sangue no estado do Acre.

A pesquisa contempla coleta de dados por meio de um questionário que será respondido pelos participantes e a coleta de uma pequena amostra de sangue.

Trata-se de uma pesquisa para elaboração de tese de doutorado, coordenada pela pesquisadora Thereza Cristina Picado Pinheiro, e para realizá-la, precisamos de sua contribuição. Neste sentido, convidamos você a participar da referida pesquisa.

2. Esclarecimento

Esclarecemos que a sua participação na pesquisa consiste em responder a um questionário e autorizar a coleta de uma pequena alíquota de sangue (3 ml). O questionário tem por objetivo verificar as situações de risco acrescido para malária, doença infecciosa endêmica na nossa região e passível de transmissão transfusional. A amostra de sangue servirá para a pesquisa laboratorial da doença, por método diferente do utilizado no serviço de hemoterapia. O método em questão é altamente específico para a detecção da doença (biologia molecular) e será realizado por instituição de fora do estado do Acre.

A sua participação implica em riscos mínimos e, para evita-los, você será esclarecido sobre todo o procedimento.

Os riscos relacionados ao preenchimento do questionário são os inerentes a qualquer pesquisa, podendo ocorrer algum desconforto psicológico e/ou social, no momento de responder às questões. Esses riscos são a possibilidade de se estressar, sentir vergonha ou medo de responder alguma parte do questionário, sofrer estigmatização ou discriminação pelo conteúdo revelado, além do risco de invasão de privacidade e quebra de sigilo e anonimato. Para evitá-los,

Rubricas:

3

você será esclarecido de todo o conteúdo do questionário, bem como o preencherá em um espaço apropriado e privado. Caso você se sinta mais à vontade, poderá também respondê-lo onde julgar apropriado. Os pesquisadores garantem manter o mais amplo, absoluto e irrestrito sigilo profissional sobre sua identidade durante e após o término da pesquisa. Para garantir o anonimato, a digitação não incluirá dados de identificação e serão utilizados códigos no banco de dados arquivado. Os questionários serão guardados em armário com chave e o banco de dados em computador com senha, acessado somente pela pesquisadora. Para isso será utilizada uma sala, no Hemoacre que conta com instalações e material adequados. Ainda para garantir o anonimato, sua identidade pessoal e/ou profissional será excluída de todos e quaisquer produtos da pesquisa para fins de relatórios e publicação científica e os resultados do estudo serão divulgados de forma consolidada, sem possibilidade de identificação individual.

Quanto à coleta da amostra, os riscos também são pequenos. Eles incluem a possibilidade de hematoma no local da punção, risco de infecção localizada, desconforto e sangramento pequeno. Para atenuar tais riscos, durante a coleta da amostra haverá um médico no serviço, o qual intervirá em caso de ocorrência de quaisquer reações mencionadas ou outras eventuais.

Os resultados dos exames serão encaminhados via e-mail pessoal da pesquisadora responsável, por respeito à ética, caso seja identificada alguma alteração nas suas condições de saúde, você receberá orientação sobre o achado, assim como será encaminhado para atenção específica. Entretanto, esta informação não será repassada ao Hemoacre.

Todos os riscos previsíveis serão evitados e será preservado o direito à desistência ou interrupção da participação na pesquisa a qualquer momento sem prejuízos pessoais. Asseguramos que você será respeitado em todas as etapas da pesquisa no que diz respeito a sua dignidade, liberdade e autonomia bem como seus valores culturais, sociais, morais, religiosos, éticos, hábitos e costume.

Esta pesquisa beneficiará a comunidade acreana, principalmente aqueles que se constituem um potencial doador de sangue e os que por ventura venham a receber o produto dessas doações. Isto se dará pelo fato de que seus resultados possibilitarão evidenciar a existência de malária entre os doadores e os seus fatores associados. Esta análise servirá de base para melhorias no serviço no sentido de avaliar as ações de controle existentes para a infecção. A pesquisa poderá também beneficiar outros serviços de hemoterapia, uma vez que os resultados serão publicados em periódico científico, podendo servir de base para a realização de novas pesquisas com o mesmo enfoque.

Você não terá custos financeiros e caso venha a sofrer possíveis danos resultantes de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste documento, terá direito à indenização, por parte da pesquisadora. Você receberá uma via deste Termo de Consentimento Livre e

Rubricas:

3

Esclarecido (TCLE), o qual terá as páginas 1,2 e 3 rubricadas e a última página assinada por você e pela pesquisadora responsável. Para maiores informações e esclarecimentos sobre a pesquisa e/ou seus procedimentos, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Thereza Cristina Picado Pinheiro, pelo e-mail therezpicado@gmail.com e telefone (68) 999523070. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Acre (CEP-UFAC) para solicitar todos e quaisquer esclarecimentos éticos sobre a pesquisa. O CEP-UFAC é localizado no Campus Universitário, Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26, telefone 3901-2711, e-mail cepufac@hotmail.com, Rio Branco-Acre, CEP 69.915-900.

Por fim, declaramos cumprir todas as exigências éticas contidas nos itens IV. 3, "a-h" e IV.5, "a" e "d", da Resolução CNS Nº 466/2012, durante e após a realização da pesquisa.

3. Consentimento

Eu, _____, RG Nº _____, CPF Nº _____, declaro que:

- 1- Li e compreendi o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).
- 2- Tenho conhecimento que minha participação nesta pesquisa é livre e espontânea e consiste em responder a um questionário e permitir coleta de alíquota do meu sangue (3 ml). Não terei nenhum custo e nem serei remunerado pela minha participação.
- 3- Posso desistir a qualquer momento como participante da pesquisa, sem ter que justificar minha desistência e nem sofrer quaisquer tipos de coação ou punição.
- 4- Não serei identificado nas publicações dos resultados da pesquisa.

Diante do exposto, aponho minha rubrica na página 1,2 e 3 do TCLE e minha assinatura abaixo como prova do meu Consentimento Livre e Esclarecido em participar da pesquisa.

Rio Branco, Acre, _____ de _____ 201____.

Participante da Pesquisa

Pesquisadora Responsável

Rubricas:

3

Rubricas:

3

ANEXO II
FORMULÁRIO DE PESQUISA DE FATORES DE RISCO PARA MALÁRIA
EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE EM RIO BRANCO E
CRUZEIRO DO SUL

Identificação do Participante

Nome:		
Data de Nasc.:	Idade:	Número de doação:
Naturalidade:	Estado Civil: ()0- Solteiro ()1- Casado ()2- Outros	
Contato:	Cor: ()0- Branco ()1- Negro ()2- Pardo ()3-Outras	
Sexo: ()0- Masc. ()1- Fem.	Registro de Doador:	
Escolaridade: ()0- Sem escolaridade ()1- Até 5 anos ()2- Até 9 anos ()3-Mais de 9 anos		

Local de Residência

Endereço Atual:			
Bairro:	Cidade:	UF:	()0- Urbano ()1- Rural
Tempo de residência:			
Endereço Anterior:			
Bairro:	Cidade:	UF:	()0- Urbano ()1- Rural
Tempo de residência no endereço anterior:			
Caso(s) de malária nos últimos 30 dias, próximo à residência		()0- Não	()1- Sim
E antes desse período?		()0- Não	()1- Sim
Casos de malária nas proximidades no endereço anterior:		()0- Não	()1- Sim
Já morou fora da Região Amazônica por período maior que 1 ano?		()0- Não	()1-Sim
Por quanto tempo (em anos, mesmo que em períodos intermitentes)?			
E por menos de 1 ano?		()0- Não	()1-Sim
Por quanto tempo (todos os períodos, mesmo que intermitentes)?			

Local de Trabalho

Ocupação atual:	
Tempo de trabalho:	
Endereço:	
()0- Urbano ()1- Rural	
Caso(s) de malária neste trabalho atual?	
Ocupação anterior:	
Tempo de trabalho:	
Endereço:	
()0- Urbano ()1- Rural	
Casos(s) de malária neste trabalho?	

Local de Estudo

Endereço:

() 0- Urbano () 1- Rural
Caso(s) de malária na escola?

Deslocamentos

Deslocamento para áreas rurais nos últimos 30 dias? () 0- Não () 1- Sim
Local (is) visitado(s):
Tempo de permanência:
Casos de malária neste (s) local (is)?

Deslocamento para outras cidades nos últimos 30 dias? () 0- Não () 1- Sim
Local (is) visitado(s):
Tempo de permanência:
Caso (s) de malária neste (s) local (is)?

Histórico de Malária

Já teve malária?
Quando (especificar quantas vezes):
Qual(is) espécie(s) de <i>Plasmodium</i> em cada vez?
Já fez teste para malária, que tenha resultado negativo?
Quando e qual tipo de teste?
Já tomou remédio para malária? () 0- Não () 1- Sim
Qual remédio e quando?

Triagem Clinicoepidemiológica

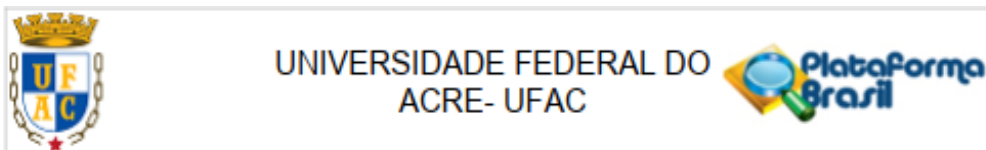
() 0-Apto () 1- Inapto
Motivo de inaptidão () 0- Febre () 1- Hematócrito baixo() 2- Risco de malária() 3-Outros
Hematócrito:
Temperatura:

Observações

Entrevistador:
Data:

ANEXO III

Parecer do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SITUAÇÃO DA MALÁRIA EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DO ACRE: ANÁLISE CLÍNICA E LABORATORIAL

Pesquisador: THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24058719.0.0000.5010

Instituição Proponente: Universidade Federal do Acre- UFAC

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Acre- UFAC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.989.888

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma terceira versão do protocolo de pesquisa de doutorado vinculada ao Programa de Pós Graduação em Saúde Coletiva que "tem como objetivo geral investigar a situação epidemiológica da malária entre doadores de sangue no estado do Acre". Trata-se de um estudo observacional descritivo transversal, onde será "aplicado aos participantes um instrumento de pesquisa, desenhado como questionário clínico, específico sob o ponto de vista da identificação de casos suspeitos de malária. Posteriormente, ocorrerá a coleta de uma alíquota de sangue de doadores, no momento da doação, a fim de se realizar a pesquisa do parasita pela técnica de PCR". Os dados serão analisados utilizando-se o programa SPSS, versão 20.0. "Serão feitas, inicialmente, as análises descritivas dos dados. Posteriormente, serão calculadas as prevalências e intervalos de confiança (IC 95%) dos fatores de risco para a infecção por Plasmodium (sic)". O estudo ocorrerá no período de janeiro a dezembro de 2020.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

"Investigar a situação epidemiológica da malária entre doadores de sangue no estado do Acre".

Objetivos Específicos

Endereço: "Campus Universitário" Rector Aulio G. A de Souza", Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26
Bairro: BR364 Km04 Distrito Industrial **CEP:** 69.915-900
UF: AC **Município:** RIO BRANCO
Telefone: (68)3901-2711 **Fax:** (68)3229-1246 **E-mail:** cepufac@hotmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
ACRE- UFAC



Continuação do Parecer: 3.989.886

1. "Descrever os fatores de risco para infecção por Plasmodium em candidatos à doação de sangue no Hemocentro do Acre".
2. "Analisar as prevalências de marcadores específicos para malária através de testes para detecção do Plasmodium (gota espessa) e moleculares entre candidatos à doação de sangue".
3. "Verificar a concordância entre os resultados sorológicos e moleculares para malária entre candidatos à doação de sangue no Estado do Acre".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

No parecer Consubstanciado nº 3.944.008 foi realizada a seguinte análise acerca dos riscos:

"Os riscos, que já estavam dimensionados adequadamente no TCLE, foram inseridos no projeto detalhado e nas informações básicas do projeto. Na carta resposta foi esclarecido que houve equívoco na descrição do delineamento de estudo nos riscos e que se trata de pesquisa transversal. Observa-se que em todos os documentos do projeto, nesta segunda submissão, consta o delineamento correto do estudo".

Benefícios:

No parecer Consubstanciado nº 3.735.099 foi realizada a seguinte análise acerca dos benefícios: "Observa-se que os benefícios indiretos estão adequados ao delineamento da pesquisa". Desta forma, não houve modificação.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

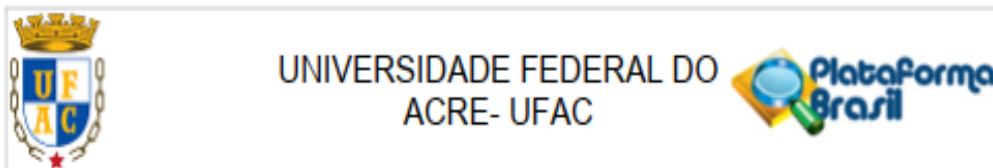
A pesquisa apresenta pertinência e relevância. Do ponto de vista científico-metodológico, a metodologia é adequada ao desenho de estudo e objetivos propostos, e foram sanadas as pendências apontadas nos pareceres Consubstanciados nº 3.735.099 e 3.944.008.

Do ponto de vista ético, foram apresentados adequadamente os riscos, providências e cautelas, além dos benefícios.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Neste parecer serão analisados os itens pendentes mencionados no parecer anterior (3.944.008).

Endereço: "Campus Universitário" Rector Aulio G. A de Souza", Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26
 Bairro: BR364 Km04 Distrito Industrial CEP: 69.915-900
 UF: AC Município: RIO BRANCO
 Telefone: (68)3901-2711 Fax: (68)3229-1246 E-mail: cepufac@hotmail.com



Continuação do Parecer: 3.989.886

Os itens não mencionados já foram analisados anteriormente e estão adequados do ponto de vista ético. Serão mantidas as numerações dos itens originais para facilitar identificação do item na comparação entre pareceres.

2.4 Problema e Hipótese de Pesquisa:

No parecer Consubstanciado nº 3.944.008 foi solicitado reformular objetivos e metodologia da pesquisa para que fosse possível responder à pergunta de pesquisa apresentada, ou reformular a pergunta e as hipóteses de forma que os objetivos e metodologia apresentados estivessem em consonância com pergunta e hipóteses da pesquisa.

Nesta terceira versão do protocolo de pesquisa foram apresentadas duas perguntas de pesquisa e duas hipóteses:

PERGUNTAS DE PESQUISA:

1. "Qual a prevalência de malária e os fatores associados a infecção por Plasmodium em doadores de sangue no estado do Acre?"
2. "Qual a concordância entre os resultados sorológicos e moleculares para malária entre candidatos à doação de sangue no Estado do Acre?"

HIPÓTESES:

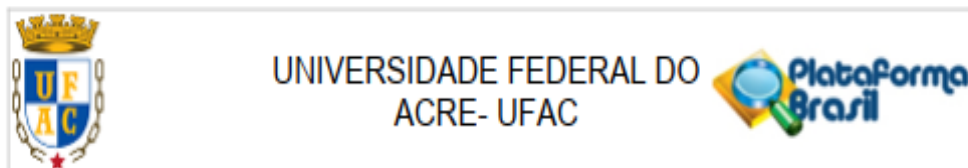
1. "A prevalência de malária entre doadores de sangue no estado do Acre é maior que as observadas em outros Estados brasileiros".
2. "Existe positividade para malária em doadores de sangue no Estado do Acre que não é detectada pelos métodos laboratoriais convencionalmente utilizados".

As novas perguntas de pesquisa e hipóteses estão adequadas e a pendência foi sanada.

2.5 Objetivos da Pesquisa:

No parecer Consubstanciado nº 3.944.008 foi solicitado reformular objetivos e metodologia da

Endereço: "Campus Universitário" Rector Aulio G. A de Souza", Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26
 Bairro: BR364 Km04 Distrito Industrial CEP: 69.915-900
 UF: AC Município: RIO BRANCO
 Telefone: (68)3901-2711 Fax: (68)3229-1246 E-mail: cepufac@hotmail.com



Continuação do Parecer: 3.989.886

pesquisa para que fosse possível responder à pergunta de pesquisa apresentada, ou reformular a pergunta e as hipóteses de forma que os objetivos e metodologia apresentados estivessem em consonância com pergunta e hipóteses da pesquisa.

A pesquisadora manteve os objetivos da pesquisa e apresentou novas perguntas de pesquisa e hipóteses conforme apresentado no item anterior desse parecer.

Observa-se que a pendência foi sanada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considerando que no Protocolo de Pesquisa constam todos os Termos de Apresentação Obrigatória, os quais estão elaborados e/ou preenchidos adequadamente, atendendo as exigências estabelecidas na Resolução CNS Nº 466/2012 e do CEP-UFAC, conclui-se pela emissão de Parecer favorável à realização da Pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP-UFAC informa que:

- 1- Esta pesquisa não poderá ser descontinuada pelo pesquisador responsável, sem justificativa previamente aceita pelo CEP, sob pena de ser considerada antiética, conforme estabelece a Resolução CNS Nº 466/2012, X.3- 4.
- 2- Em conformidade com as diretrizes estabelecidas a Resolução CNS Nº 466/2012, XI.2, d; o pesquisador responsável deve apresentar relatórios parcial e final ao CEP. O Relatório parcial deve ser apresentado após coleta de dados, "demonstrando fatos relevantes e resultados parciais de seu desenvolvimento" (Resolução CNS Nº 466/2012, II.20) e o Relatório Final deverá ser apresentado "após o encerramento da pesquisa, totalizando seus resultados" (RESOLUÇÃO CNS Nº 466/2012, II.19).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1057484.pdf	17/04/2020 16:25:14		Aceito
Outros	Respostaaparecer.doc	17/04/2020 16:23:36	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Projeto Detalhado	Projetodetalhado.doc	17/04/2020	THEREZA CRISTINA	Aceito

Endereço: "Campus Universitário" Rector Áulo G. A de Souza", Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26
 Bairro: BR364 Km04 Distrito Industrial CEP: 69.915-900
 UF: AC Município: RIO BRANCO
 Telefone: (68)3901-2711 Fax: (68)3229-1246 E-mail: cepufac@hotmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
ACRE- UFAC



Continuação do Parecer: 3.989.886

/ Brochura Investigador	Projetodetalhado.doc	16:23:24	PICADO PINHEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	17/04/2020 16:06:46	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaousodados.pdf	13/12/2019 17:38:46	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEposparecer.docx	13/12/2019 17:38:24	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Outros	Questionario.docx	22/10/2019 13:29:57	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Outros	protocolodebiorepositorio.pdf	09/10/2019 18:34:49	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	25/09/2019 23:07:48	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Outros	termoautorizacaogerente.pdf	24/09/2019 23:24:42	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocoletanaoiniciada.pdf	24/09/2019 23:23:17	THEREZA CRISTINA PICADO PINHEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO BRANCO, 24 de Abril de 2020

Assinado por:
JOÃO LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: "Campus Universitário" Retor Aulo G. A de Souza", Bloco da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, sala 26
 Bairro: BR364 Km04 Distrito Industrial CEP: 69.915-900
 UF: AC Município: RIO BRANCO
 Telefone: (68)3901-2711 Fax: (68)3229-1246 E-mail: cepufac@hotmail.com