

## Fatores associados às recidivas de malária causada por *Plasmodium vivax* no Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009

Factors associated with recurrent *Plasmodium vivax* malaria in Porto Velho, Rondônia State, Brazil, 2009

Factores asociados a las recidivas de malaria, causada por *Plasmodium vivax*, en el municipio de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009

Luciano Rodrigues Simões<sup>1,2</sup>  
Eduardo Rodrigues Alves-Jr<sup>1</sup>  
Daniele Ribatski-Silva<sup>1</sup>  
Luciano Teixeira Gomes<sup>1</sup>  
Andréia Ferreira Nery<sup>1</sup>  
Cor Jesus Fernandes Fontes<sup>1,3</sup>

### Abstract

*This open retrospective cohort study aimed to describe the incidence of recurrent Plasmodium vivax malaria and associated factors in Porto Velho, Rondônia State, Brazil, in 2009. Data were collected from the National Information System for Malaria Epidemiological Surveillance. There were 23,365 reported P. vivax malaria cases in 2009, 23% of which were classified as relapses. Incidence density of P. vivax recurrence was 45.1/100 patient-years, mostly occurring between the 4th and 13th week after initiating treatment. Male gender, shorter time since onset of symptoms, and higher parasitemia in the initial infection increased the risk of relapse during the year, with a 10% reduction in relative risk for longer symptoms and 11% and 15% increases in relative risk for males and higher initial parasitemia, respectively. However, the results show low clinical relevance for these associations, thereby limiting their applicability to decision-making at the public health level.*

Recurrence; *Plasmodium vivax*; Malaria

### Resumo

*Estudo de coorte histórica aberta, construída com informações registradas no Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica da Malária, com objetivo de descrever a incidência e os fatores associados à recidiva de malária causada pelo Plasmodium vivax em Porto Velho, Rondônia, Brasil. Foram notificados 23.365 casos de malária por P. vivax no município, sendo que 23% deles apresentaram recidiva no decorrer de 2009. A densidade de incidência de recidivas foi de 45,1/100 pacientes-ano, ocorrendo, principalmente, entre a 4ª e a 13ª semana após o início do tratamento. Ser homem, ter menos tempo de sintomas e ter maior nível de parasitemia na infecção inicial aumentaram o risco de recidiva no decorrer do ano, com 10% de redução relativa do risco para maior tempo de sintomas e de 11% e 15% de incremento relativo do risco para o sexo masculino e maiores níveis de parasitemia, respectivamente. Contudo, os resultados demonstram baixa relevância clínica das associações encontradas, comprometendo a sua aplicabilidade na tomada de decisão em nível de saúde pública.*

Recidiva; *Plasmodium vivax*; Malária

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Brasil.

<sup>2</sup> Faculdade de Cuiabá, Cuiabá, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina, Faculdade de Ciências Médicas de Cacoal, Cacoal, Brasil.

#### Correspondência

C. J. F. Fontes  
Núcleo de Estudos de Doenças Infecciosas e Tropicais de Mato Grosso, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso.  
Rua Tulipas, 316, Cuiabá, MT 78049-412, Brasil.  
corfontes@gmail.com

## Introdução

Durante o ano de 2011, o Ministério da Saúde registrou 293.794 casos de malária no Brasil, sendo 99,9% na Amazônia Legal. Desse total, 257.172 (87,5%) foram causados pelo *Plasmodium vivax* e com maior incidência nos estados do Pará (44,5%), Amazonas (21,8%) e Rondônia (12,8%). Em Rondônia, no ano de 2010, ocorreram 42.761 casos de malária, o que correspondeu a 13,1% do total de casos registrados no país no mesmo ano. O *P. vivax* foi o mais prevalente na região, com 89% dos casos, seguido do *Plasmodium falciparum*, com 10,1%, e menos de 1% por infecções mistas. A incidência anual da malária no Município de Porto Velho atinge níveis elevados, variando de 20 a 400 casos por 1.000 habitantes <sup>1</sup>.

A recidiva da malária é conceituada como a recorrência de parasitemia assexuada seguinte ao tratamento da doença, após ter sido constatada a sua negativação, em variado período de tempo <sup>2</sup>. Ocorre por um dos seguintes aspectos: (a) falha terapêutica resultante de não adesão ao tratamento <sup>3</sup>, resistência do parasito às drogas utilizadas <sup>4</sup>, má qualidade do medicamento instituído <sup>5</sup> ou utilização de doses subterapêuticas das drogas <sup>4</sup>; (b) reativação de hipnozoítos <sup>2</sup> e (c) exposição à nova infecção pelo mosquito vetor. Do ponto de vista conceitual, a recidiva de malária pode ser resultado de recrudescência ou recaída ou reinfeção.

Recrudescência de malária ocorre quando as formas sanguíneas do parasito não são completamente erradicadas pelo tratamento e reexpandem o seu número após o declínio da concentração sérica das drogas. Ocorre com maior frequência na malária por *P. falciparum* e *P. vivax* e, raramente, pelo *Plasmodium malariae* <sup>6</sup>.

As recaídas são definidas como o reaparecimento da parasitemia e de manifestações clínicas do paciente por uma reinvasão das hemácias pelos merozoítos provenientes de hipnozoítos dormentes no fígado. Acredita-se que podem surgir após 21 a 140 dias do tratamento com a cepa tropical e após 180 a 420 dias com a cepa temperada do parasito <sup>2</sup>. Sua principal causa é a falha no tratamento. Baseado apenas na observação clínica, é muito difícil distinguir recrudescência de recaída e recaída de reinfeção. Em algumas situações, o discernimento pode ser feito pela identificação de genótipo idêntico do parasito da recaída com a infecção primária. Contudo, a genotipagem dos parasitos da infecção inicial e da recaída não tem sido eficiente para a distinção entre recaída e reinfeção <sup>6,7,8,9,10,11</sup>.

Reinfeção por *P. vivax* é uma nova infecção adquirida por pacientes que tenham tratado de malária, após intervalo de tempo incompatível

com a ocorrência de recrudescência ou recaída. Em análise genotípica, pode-se considerar, como reinfeção, o achado de parasito geneticamente diferente daquele causador da infecção primária <sup>12</sup>. Como os tempos entre os episódios se sobrepõem, mesmo com a análise genotípica, é também difícil a distinção precisa entre recaída e reinfeção.

Tem sido consenso que até 28 dias, quando ainda há droga circulante após o tratamento, as recidivas podem ser consideradas recrudescências. A partir de 29 dias (ou mesmo antes em caso de parasitos resistentes) até mais de seis meses, podem ser consideradas recaídas, em caso de cepa tropical. As reinfeções, por sua vez, podem ocorrer a qualquer momento após a eliminação da droga do organismo <sup>2,13</sup>.

No Brasil, o Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM) faz a investigação sistemática das recidivas por meio da monitorização da parasitemia, em tempos variados, após a finalização do tratamento medicamentoso. O PNCM estabelece, como recrudescência, provável recaída e reinfeção de *P. vivax*, o ressurgimento da parasitemia nos intervalos de 7 a 28 dias, 29-60 dias e acima de 60 dias, respectivamente, após o início do tratamento da infecção primária. Esses pontos de corte são arbitrários e podem resultar em classificação errônea dos pacientes <sup>14</sup>.

Pela dificuldade operacional de se diferenciar recaídas de reinfeções, o objetivo deste estudo foi descrever e analisar todas as recidivas de malária por *P. vivax* em um município endêmico da Amazônia brasileira, com vistas a entender melhor o fenômeno do readoecimento da população por essa parasitose e fomentar a discussão sobre o seu impacto na estratégia de controle vigente.

## Metodologia

Trata-se de estudo de coorte histórica aberta, construída a partir de dados secundários sobre a malária e suas recidivas ocorridas no período de janeiro a dezembro de 2009, no Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil. Os dados foram obtidos do Sistema Nacional de Informação de Vigilância Epidemiológica da Malária (SIVEP-Malária). O banco de dados foi primeiramente organizado numa planilha Excel (Microsoft Corp., Estados Unidos) e classificado em ordem alfabética pelo nome do paciente, nome da mãe, data de nascimento e data da notificação para a identificação das recidivas. Duplicidade de notificação foi definida pela entrada de dados do mesmo paciente em uma mesma data de diagnóstico ou de tratamento para a malária, a qual foi excluída do banco de dados. Caso recidivado

foi definido para os pacientes presentes no banco de dados, com data de diagnóstico e tratamento diferentes e que apresentaram concordância entre o próprio nome, com o nome da mãe e com a data de nascimento. Apenas aqueles que contemplaram concordância entre, pelo menos, três dessas quatro variáveis foram classificados como casos recidivados. Essa etapa do estudo foi completamente manual e realizada apenas pelo autor deste trabalho.

Para a análise proposta no estudo, os dados foram posteriormente exportados para os programas Epidata Analysis, versão 2.2.1.171 (Epidata Assoc., Odense, Dinamarca) e Stata, versão 6,0 (Stata Corp., College Station, Estados Unidos). Para a estratificação dos casos recidivados em seus diferentes tipos, foram utilizados os pontos de corte do tempo decorrido desde o último tratamento de malária, conforme instrução do PNCM<sup>9</sup>. A incidência e o respectivo intervalo de 95% de confiança (IC95%) das recidivas observadas durante o ano do estudo foram descritos de acordo com variáveis demográficas (sexo, idade e escolaridade) e clínicas (tempo de sintoma e nível de parasitemia da primeira infecção), dados esses constantes no SIVEP-Malária. Para determinação do tempo de exposição dos indivíduos ao evento de interesse, foi considerado o número de dias decorrido após o primeiro episódio da doença no ano de 2009 e a ocorrência da primeira recidiva. A soma desses tempos calculados para cada indivíduo representou o universo amostral de pessoas-tempo, utilizado para o cálculo da densidade de incidência das recidivas. Portanto, o tempo contado para os pacientes que apresentaram recidiva de malária no decorrer do ano referiu-se apenas à data em que o mesmo entrou no sistema pela primeira vez, isto é, em seu primeiro episódio de malária no ano do estudo e o número de vezes que retornou ao sistema.

A análise estatística envolveu, primeiramente, a estimativa de frequências simples das variáveis de interesse. Fatores demográficos, clínicos e laboratoriais associados à densidade de incidência de recidivas foram identificados, em análise univariada, pela determinação do risco relativo (RR) e respectivo IC95%. Proporções entre grupos foram comparadas pelo teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson ou escore Z. As médias foram comparadas pelo teste *t* de Student, com seus respectivos níveis descritivos (valor de *p*). A análise do efeito do número acumulado de repetições de recidivas no mesmo indivíduo sobre o intervalo decorrido entre cada episódio de recidiva foi feita pela regressão linear simples. Para todas as conclusões sobre a análise dos fatores associados à recidiva, considerou-se o nível de significância de 5%.

Para a avaliação comparativa das densidades de incidência de recidivas entre grupos, valeu-se da análise de sobrevivência, sendo construídas curvas de função de sobrevida geral e por grupo, pelo estimador produto de Kaplan-Meier. Nessa análise, o risco acumulado de um indivíduo apresentar recidiva no decorrer do tempo após o tratamento da infecção sintomática inicial assumiu independência de ocorrência do evento entre os diferentes tempos avaliados. Para comparação das curvas de sobrevida sem recidiva, construídas para os subgrupos, foi utilizado o teste *log-rank* de Mantel-Haenszel. Por fim, para estimar o efeito das covariáveis do estudo no tempo de sobrevida até a recidiva, foi utilizado o modelo de riscos proporcionais de Cox.

O acesso ao SIVEP foi devidamente autorizado pelo PNCM, respeitando-se a não divulgação da identidade dos pacientes. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Muller, da Universidade Federal de Mato Grosso (parecer nº 600/CEP/HUJM/09 de 18/Mar/2009).

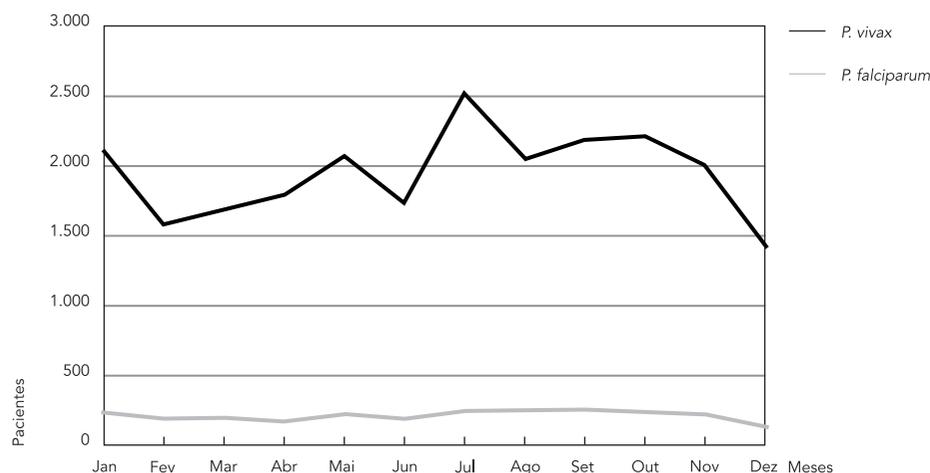
## Resultados

Durante o ano de 2009, foram notificados 26.296 pacientes com malária no Município de Porto Velho. Após análise das informações registradas no SIVEP-Malária, constatou-se que havia duplicidade de notificação de 290 pacientes, os quais foram excluídos da base de dados construída neste estudo. Foram, portanto, analisados 26.006 pacientes, sendo 23.365 (89,8%) tratados para malária causada pelo *P. vivax*, 2.580 (9,9%) pelo *P. falciparum* e 61 (0,2%) por infecção mista, isto é, pelo *P. vivax* e *P. falciparum*, simultaneamente. Predominaram homens (64%), adultos jovens entre 20 e 49 anos (57,4%), de baixa escolaridade (79,2%) e com residência no próprio Município de Porto Velho (94,1%). A transmissão da malária foi relativamente estável no decorrer do ano de 2009, com ligeiro aumento dos casos de *P. vivax* no mês de julho e um decréscimo de agosto a dezembro (Figura 1). O esquema terapêutico de cloroquina + primaquina, preconizado pelo Ministério da Saúde, foi utilizado para o tratamento de todos os pacientes com malária causada por *P. vivax*.

Dos 26.006 pacientes incluídos no estudo, 5.958 (22,9%) apresentaram recidivas da doença, sendo 5.363 (90%) causadas pelo *P. vivax*; 572 (9,6%), pelo *P. falciparum*; e 23 (0,4%), por infecção mista. No decorrer do ano avaliado, foram observadas recidivas múltiplas em vários pacientes, até em número de 11, e para ambas as espécies. Recidivas apenas pelo *P. vivax* ocorreram em

Figura 1

Distribuição mensal do número de pacientes com diagnóstico de malária causada por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.



número de apenas uma para 67% dos pacientes, duas para 21,5%, três para 7,4% dos pacientes e quatro ou mais para 4,1% dos pacientes. O tipo de recidiva mais frequentemente registrado no ano do estudo foi a provável reinfeção por *P. vivax*, que representou 65,3% dos casos recidivados. As prováveis recaídas ocorreram em 1.760 (29,5%) pacientes, e as recrudescências, em 279 (5,2%) pacientes (Tabela 1).

Proporcionalmente, as recidivas por *P. vivax* foram mais frequentes entre homens (64,7%), em pessoas com idade entre 12 e 49 anos (73,1%) e naquelas com baixa escolaridade (88,9%). A média (DP) da idade dos pacientes recidivados foi de 26,8 (15,7) anos. O nível de parasitemia mais frequentemente constatado por ocasião do diagnóstico das recidivas foi entre 100 e 500 parasitos/mm<sup>3</sup>. Entre as 1.018 mulheres em idade fértil analisadas, 215 estavam gestantes, das quais, 26 (12,1%) apresentaram recidiva de infecção por *P. vivax*. O *P. falciparum* foi a espécie causadora da infecção anterior em apenas 6,6% dos pacientes que recidivaram (Tabela 2).

A análise do tempo gasto para ocorrer a primeira recidiva por *P. vivax* em Porto Velho (2009) evidenciou distribuição assimétrica à direita, com média (DP) de 87,5 (59,0) dias, mediana (Q1-Q3) de 69,5 (48-106) dias e moda em 34 dias. Essa distribuição foi diferente daquela observada para as recidivas de malária causada por *P. falciparum*, que também foi assimétrica à direita,

porém com mediana de 42 dias e moda em 14 dias (Figura 2). A diferença entre os intervalos de tempo entre cada recidiva foi progressivamente menor ( $\beta = -7,57$ ; IC95%: -9,19; -5,95;  $p < 0,0001$ ) à medida que se aumentou o número de repetições de recidivas por paciente, no decorrer do ano (Figura 3).

Os 23.365 pacientes do estudo tiveram o seu primeiro episódio de infecção sintomática pelo *P. vivax* em diferentes meses do ano de 2009, o que resultou em variado tempo de seguimento para cada um deles nessa coorte histórica até a ocorrência do desfecho de interesse, que foi a recidiva. Dessa forma, o tempo total de seguimento correspondeu a 2.908.181 pessoas-dia, equivalendo a 7.967,2 pessoas-ano. Um total de 3.595 pacientes teve, pelo menos, uma recidiva por *P. vivax* em 2009. Isso resultou numa densidade de incidência (IC95%) de 45,1 (44,4; 45,3)/100 pessoas-ano.

A incidência da primeira recidiva foi maior entre os homens (RR = 1,10; IC95%: 1,02; 1,17;  $p = 0,009$ ) e se associou apenas à faixa etária maior que 50 anos. A frequência de recidiva também se associou ao nível de escolaridade dos pacientes com quatro a sete anos de estudo ( $p = 0,002$ ). No entanto, não se observou associação quando o nível de escolaridade analisado foi menor que três anos ( $p = 0,214$ ) e igual ou superior a oito anos ( $p = 0,897$ ). A incidência da primeira recidiva entre mulheres gestantes e não gestan-

Tabela 1

Características gerais sobre as recidivas de malária por *Plasmodium vivax*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.

Característica	n	%
Ocorrência de recidivas (n = 23.365)		
Sim	5.363 *	23,0
Não	18.002	77,0
Número de recidivas, no ano, por paciente		
Uma	3.595	67,0
Duas	1.154	21,5
Três	396	7,4
Quatro	148	2,8
Cinco ou mais	71	1,8
Tipo de recidiva **		
Recrudescência (< 28 dias)	186	5,2
Provável recaída (28-60 dias)	1.061	29,5
Provável reinfeção (> 60 dias)	2.348	65,3

\* Alguns pacientes tiveram mais de uma recidiva no período do estudo;

\*\* Classificação baseada nas orientações do Programa Nacional de Controle da Malária, Ministério da Saúde.

tes foi semelhante (RR = 0,91; IC95%: 0,62; 1,34; p = 0,641). Sobre as características clínicas dos pacientes, observou-se que a primeira recidiva ocorreu menos frequentemente entre pacientes com tempo de início de sintomas maior que 72 horas e mais frequentemente naqueles com nível de parasitemia superior a 10.000/mm<sup>3</sup> na primeira infecção sintomática de 2009 (Tabela 3).

Após análise ajustada da probabilidade de ocorrência de recidiva no decorrer do tempo, permaneceram significativamente associados o sexo masculino (HR = 1,10; IC95%: 1,03; 1,18; p = 0,006), ter tempo de início de sintomas entre 48-72 horas (HR = 1,21; IC95%: 1,08; 1,35; p = 0,001) ou inferior a 48 horas (HR = 1,36; IC95%: 1,25; 1,49; p < 0,0001) e ter maior nível de parasitemia entre 501-10.000 parasitos/mm<sup>3</sup> no momento do diagnóstico (HR = 1,32; IC95%: 1,23; 1,43; p < 0,0001) ou superior a 10.000 parasitos/mm<sup>3</sup> (HR = 1,44; IC95%: 1,19; 1,75; p < 0,0001) (Tabela 4; Figura 4).

## Discussão

A frequência de recidivas da infecção por *P. vivax* em Porto Velho foi alta no ano do estudo. A hipótese inicial para explicar essas recidivas seria a reativação de hipnozoítos, que nem sempre são eliminados pela ação da primaquina, seja por resistência a essa droga ou por outro fator que interfere na ação desse medicamento<sup>15</sup>. Do ponto de vista epidemiológico, pouco se publica

sobre a magnitude de recidivas após o tratamento de malária por *P. vivax* em uma determinada região endêmica, entendendo esse fenômeno como a tríade recrudescência, recaída e reinfeção, conforme aqui definido. No entanto, a proporção de infecções por *P. vivax* que evolui para recaídas já foi bem estudada no passado e sabe-se que ela é uma propriedade intrínseca do parasito da malária. Varia consideravelmente entre as regiões geográficas e é mais frequente com a cepa de região tropical do que com a cepa de região temperada dessa espécie. É também função do tamanho do inóculo de esporozoítos e da imunidade do paciente, quando essa existe<sup>2,15,16</sup>. Também é sabido que a probabilidade de recaída com uma cepa de um único genótipo é dependente do tempo que o paciente está doente, o que também sugere efeito da imunidade sobre a ocorrência desse fenômeno<sup>2</sup>.

A alta proporção de casos de malária causada pelo *P. vivax* em relação ao *P. falciparum* ocorridos no Município de Porto Velho não foi diferente daquela registrada na Região Amazônica para o mesmo ano, assim como o predomínio de pessoas do sexo masculino, adultos jovens e de baixa escolaridade<sup>2</sup>. A frequência global de 23% de casos recidivados de malária por *P. vivax* no município de estudo durante o ano de 2009 pode ser considerada alta, embora não muito diferente da registrada para toda a Amazônia Legal no mesmo período, que foi de 20,8%, identificada no SIVEP-Malária como LVC<sup>1</sup>. Também não foi diferente da frequência observada por Prasad et al.<sup>15</sup>, em avaliação de reinfeção/recaída feita na Índia (23,2%),

Tabela 2

Características demográficas e clínicas dos pacientes que recidivaram, pelo menos, uma vez ( $R_1$ ) por malária causada por *Plasmodium vivax*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.

Características	n	%
Sexo (n = 3.595)		
Masculino	2.327	64,7
Feminino	1.268	35,3
Se sexo feminino (n = 1.018)		
Gestantes	26	2,6
Não gestantes	992	97,4
Idade (anos)		
Média (DP)	26,8 (15,7)	
Mediana (Q1-Q3)	25,0 (14,0-38,0)	
Faixa etária (anos) (n = 3.595)		
< 12	652	18,1
12-19	678	18,9
20-49	1.950	54,2
> 50	315	8,8
Anos de escolaridade (n = 3.376)		
Nenhuma	301	8,9
1-3	2.701	80,0
4-7	239	7,1
8-11	135	4,0
Espécie da infecção anterior à recidiva (n = 3.595)		
<i>Plasmodium falciparum</i>	238	6,6
<i>Plasmodium vivax</i>	3.357	93,4
Parasitemia no primeiro episódio/mm <sup>3</sup> (n = 3.595)		
100-500	2.059	57,3
501-10.000	1.393	38,7
> 10.000	143	4,0
Tempo de sintomas (horas) (n = 3.079)		
< 48	1.741	56,5
48-72	581	18,9
> 72	757	24,6

Nota: Variação do n se deve à falta de informação para a variável.

por Adak et al.<sup>17</sup>, em um estudo dos padrões de recidivas por *P. vivax* realizado também na Índia (23,3%), e por Haghdoost et al.<sup>18</sup>, em estudo realizado no Irã (16,8%), ambos também em seguimento populacional de um ano.

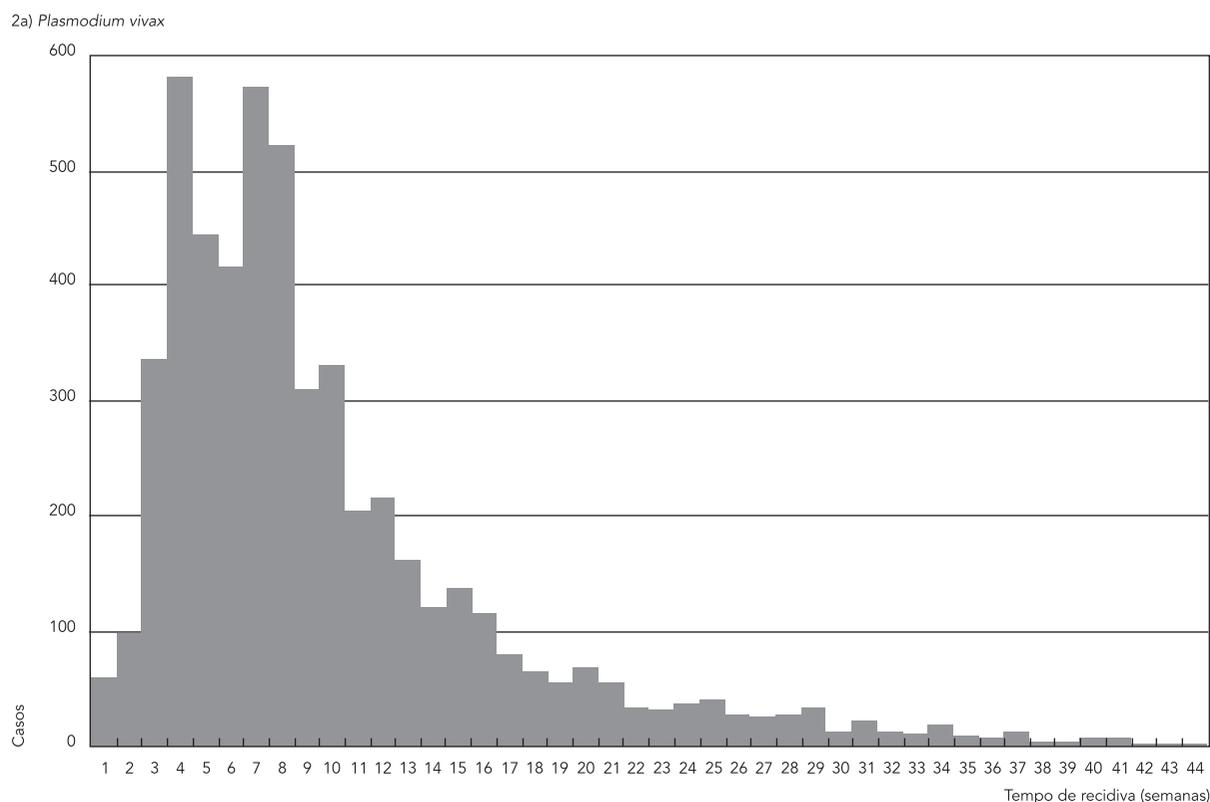
No Brasil, em análise retrospectiva dos casos de infecção sintomática por *P. vivax* notificados em São Paulo na década de 1980, quando a malária ainda era autóctone, evidenciou-se frequência semelhante de recidivas após tratamento de infecção sintomática por *P. vivax* (24,5%)<sup>19</sup>. Já em estudo feito em área não endêmica e sem risco de transmissão, as recidivas de *P. vivax*, observadas em avaliação de recaída após tratamento com primaquina, ocorreram com frequência inferior (14%) à

do presente estudo, provavelmente em função da supervisão do tratamento dos pacientes<sup>3</sup>.

A incidência global de recidivas da infecção por *P. vivax* em Porto Velho (2009) foi de 45,1/100 pessoas-ano. Essa alta frequência traduz o risco de um indivíduo com infecção sintomática por *P. vivax* naquele município apresentar um novo episódio de malária pela mesma espécie, no decorrer de um ano. Em países como Tailândia e Papua Nova Guiné, a taxa de recidivas por *P. vivax* após tratamento com cloroquina e primaquina podem alcançar até 65% no decorrer de 30 a 180 dias de seguimento<sup>20,21</sup>. Entretanto, essa frequência ainda não foi estudada na região endêmica da Amazônia brasileira. Os poucos estudos disponíveis foram

Figura 2

Distribuição do tempo decorrido entre o episódio inicial e a primeira recidiva de malária causada pelo *Plasmodium vivax* e pelo *Plasmodium falciparum*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.



(continua)

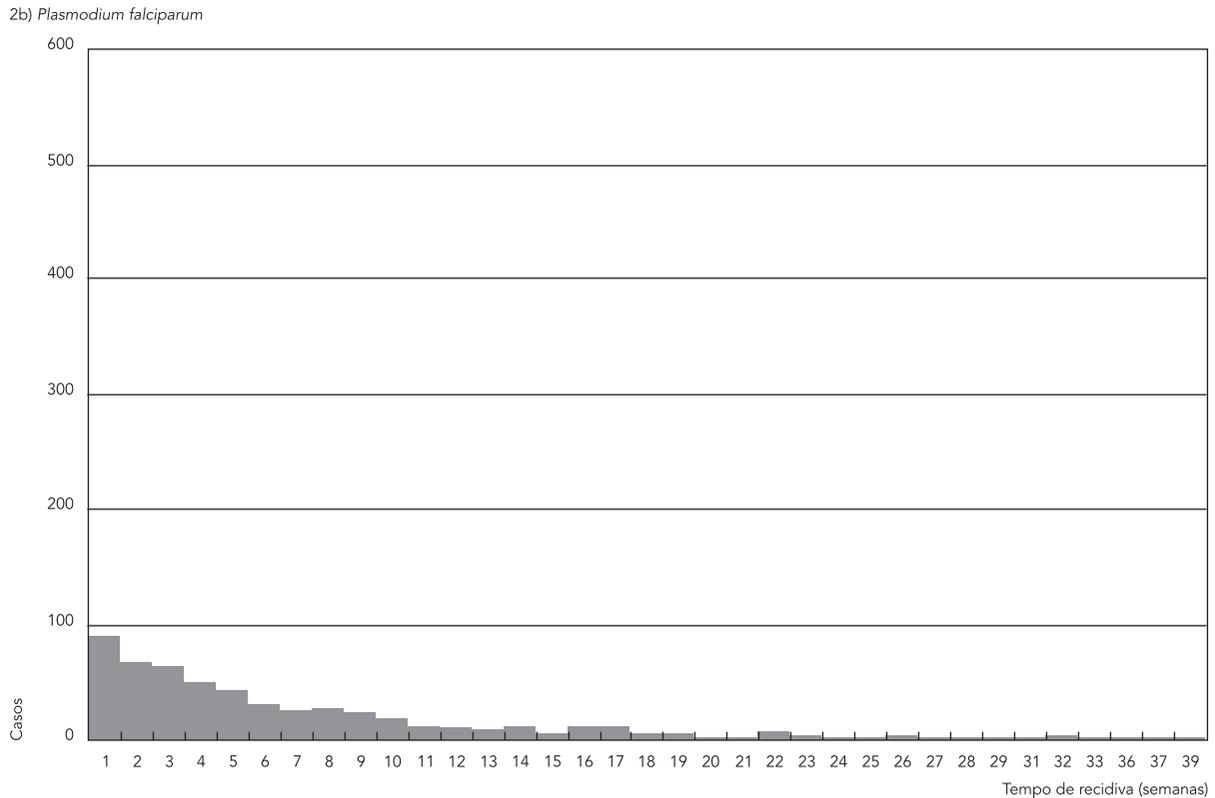
realizados em área sem transmissão<sup>3</sup> e na área endêmica da Mata Atlântica, onde é muito baixo o risco de novas infecções<sup>19</sup>. Recentemente, um estudo feito por Orjuela-Sanchez et al.<sup>9</sup> avaliou a incidência e o tempo de recidiva do *P. vivax* em duas coortes de pacientes residentes na fronteira Brasil-Peru-Bolívia, tratados com o esquema terapêutico de cloroquina + primaquina. Os autores registraram incidência acumulada de 26% e 40% de recidivas por *P. vivax* nessas duas coortes de pacientes, as quais ocorreram num período de 180 dias.

São fatores que podem explicar a alta incidência de recidivas constatada no presente estudo: (i) alto nível de transmissão do *P. vivax* no Município de Porto Velho em 2009, favorecendo as novas infecções. De fato, no período do estudo, a incidência de malária no município, registrada no SIVEP-Malária, foi superior a 50 casos/1.000 habitantes, caracterizando Porto Velho como área de alto risco de transmissão<sup>1</sup>; (ii) alta taxa de recrudescência/

recaída, em função de possíveis falhas terapêuticas com o esquema de cloroquina + primaquina, preconizado pelo PNCM para o tratamento dessa espécie em toda a Amazônia<sup>3</sup>. Uma vez que na região Amazônica o tratamento da malária não é supervisionado e que o sistema de dispensação dos medicamentos antimaláricos na rotina do serviço de saúde é muitas vezes precário<sup>2</sup>, essa hipótese não pode ser negligenciada. Não se pode descartar, porém, que fatores associados à dose total administrada de primaquina e ao desenvolvimento de resistência do hipnozoítio a essa droga também sejam realidade na região, conforme já sugeriram outros pesquisadores<sup>3,22</sup>. Um aspecto que não pode ser esquecido é a recomendação, no Brasil, do esquema curto (7 dias) de tratamento com a primaquina, diferente do esquema de 14 dias, preconizado para a maioria das regiões endêmicas do mundo<sup>3,4</sup>.

O número da recorrência de recidivas anuais entre os pacientes que recidivaram em Porto Velho

Figura 2 (continuação)



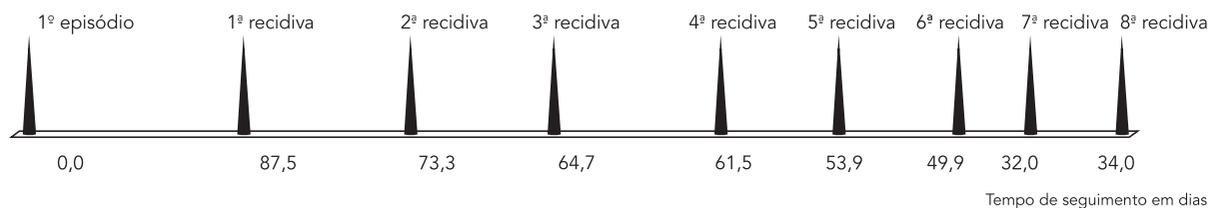
(2009) variou de 1 a 11. Essa elevada ocorrência de readoecimento por malária em um curto intervalo de tempo já foi relatada anteriormente, como resultado exclusivo de reativação de hipnozoítos<sup>2</sup>. Durante a Segunda Guerra Mundial, 70% a 80% dos soldados americanos procedentes do Sudeste Asiático tiveram recaída de malária por *P. vivax* (cepa tropical) após retorno ao país de origem, muitos deles (9%) em número superior a dez vezes no ano<sup>23</sup>. Outros autores também observaram predomínio de recidivas (e em número variado) ocorrendo dentro do primeiro ano após o tratamento da infecção primária, a despeito da dose correta de primaquina<sup>3</sup>. Em áreas onde sabidamente as cepas de longa e curta latência ocorrem simultaneamente, como na Índia, o tratamento radical do *P. vivax* é mais efetivo para a cepa temperada do que para a cepa tropical<sup>2</sup>. Esses achados, além de colocarem em dúvida a eficácia da primaquina, levantam hipóteses sobre possíveis características fenotípicas do *P. vivax*,

que tornam seus hipnozoítos mais refratários à erradicação<sup>24</sup>.

Estudos prospectivos realizados na Índia nos últimos 25 anos mostraram taxas de recaídas variando de 8,6% a 40,1%, seguindo tratamento de *P. vivax* exclusivamente com cloroquina (sem primaquina associada)<sup>17,25</sup>. Sugere-se que, sem tratamento radical com primaquina, a proporção de pacientes que experimentam um, dois, três ou mais episódios de recaída é constante, numa razão exponencial<sup>2</sup>. Estima-se, dessa forma, que, em áreas com frequência de 50% ou mais de recaídas, aproximadamente, 6,25% dos pacientes terão quatro ou mais episódios de recaída após uma única infecção primária sintomática. Essa informação é extremamente relevante para o controle da malária por *P. vivax*, pois fornece uma indicação da carga circulante de hipnozoítos em uma determinada área. Isto é, se a taxa de recaídas excede 50%, a principal determinação da persistência da malária na área seria a reativação de hipnozoítos em

Figura 3

Distribuição das recidivas de malária por *Plasmodium vivax* segundo o tempo médio entre os diferentes episódios. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.



$\beta = -7,57$ ; IC95%: -9,19; -5,95 ( $p < 0,0001$ ).

Tabela 3

Análise dos fatores demográficos e clínicos associados à incidência da primeira recidiva de malária causada por *Plasmodium vivax*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.

Características	n	Recidiva	RR	IC95%	Valor de p *
		Densidade de incidência (por 100 pessoas/ano)			
Sexo					
Feminino	1.268	42,6	1,10	1,02; 1,17	0,009
Masculino	2.327	46,6			
Gestante (n = 1.018)					
Não	992	41,9	0,91	0,62; 1,34	0,641
Sim	26	38,4			
Faixa etária (anos)					
< 12	652	45,8	1,00	-	-
12-19	678	47,1	1,03	0,93; 1,14	0,620
20-49	1.950	46,1	1,01	0,92; 1,10	0,888
> 50	315	35,8	0,78	0,68; 0,89	0,0003
Escolaridade (anos)					
Nenhuma	301	40,2	1,00	-	-
1-3	2.701	43,4	1,08	0,96; 1,21	0,214
4-7	239	52,6	1,30	1,10; 1,55	0,002
8-11	135	40,8	1,02	0,83; 1,24	0,897
Tempo de sintomas (horas)					
> 72	757	36,8	1,00	-	-
48-72	581	43,9	1,19	1,07; 1,33	0,001
< 48	1.741	49,4	1,35	1,24; 1,47	< 0,0001
Parasitemia no primeiro episódio (mm <sup>3</sup> )					
100-500	2.059	40,6	1,00	-	-
501-10.000	1.393	52,7	1,30	1,21; 1,39	< 0,0001
> 10.000	143	58,6	1,44	1,22; 1,71	< 0,0001

IC95%: intervalo de 95% de confiança; RR: risco relativo.

\* Nível descritivo do teste (valor de p) calculado pelo escore Z.

Tabela 4

Análise multivariada de fatores demográficos e clínicos associados à probabilidade de ocorrer a primeira recidiva por malária causada por *Plasmodium vivax*. Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.

Características	Primeira recidiva		HR	IC95%	Valor de p *
	n	%			
Sexo					
Feminino	1.268	19,4	1,10	1,03; 1,18	0,006
Masculino	2.327	20,8			
Faixa etária (anos)					
0-12	652	20,6	1,00	-	-
12-19	678	21,5	1,18	1,01; 1,37	0,036
20-49	1.951	20,5	1,31	1,13; 1,53	< 0,0001
> 50	315	16,6	1,27	1,12; 1,46	< 0,0001
Escolaridade (anos)					
Nenhuma	301	19,0	1,00	-	-
1-3	2.701	20,2	1,05	0,91; 1,20	0,501
4-7	239	22,3	1,13	0,93; 1,37	0,211
8-11	135	19,8	0,95	0,76; 1,19	0,640
Tempo de sintomas (horas)					
> 72	757	24,6	1,00	-	-
48-72	581	18,9	1,21	1,08; 1,35	0,001
< 48	1.741	56,5	1,36	1,25; 1,49	< 0,0001
Parasitemia (mm <sup>3</sup> )					
100-500	2.059	57,3	1,00	-	-
501-10.000	1.393	38,8	1,32	1,23; 1,43	< 0,0001
> 10.000	143	3,98	1,44	1,19; 1,74	< 0,0001

HR: hazard ratio; IC95%: intervalo de 95% de confiança.

\* Regressão de Cox.

pacientes previamente infectados por *P. vivax*. Nesse caso, as medidas de controle devem ser dirigidas prioritariamente para esse alvo <sup>2</sup>.

A proporção mensal de recidivas aumentou rapidamente nos três primeiros meses de 2009, estabilizando em torno de 22% nos meses subsequentes e não se identificando um padrão de sazonalidade de sua ocorrência. Estudos feitos com soldados americanos mostraram que a primeira recaída ocorria 60 dias após o ataque primário de *P. vivax*, reincidindo cerca de 300 dias após <sup>2</sup>. A baixa proporção de recidivas observada nos primeiros meses dessa coorte era esperada, em decorrência da definição da recidiva utilizada no estudo. É possível que muitos dos episódios de malária desse período tenham sido, na verdade, recidivas de episódios iniciais contraídos no ano anterior. De fato, analisando apenas o período de abril a dezembro de 2009, observa-se que a proporção mensal de recidivas acompanhou a curva endêmica da malária em Porto Velho no mesmo ano, mostrando que as recidivas do presente es-

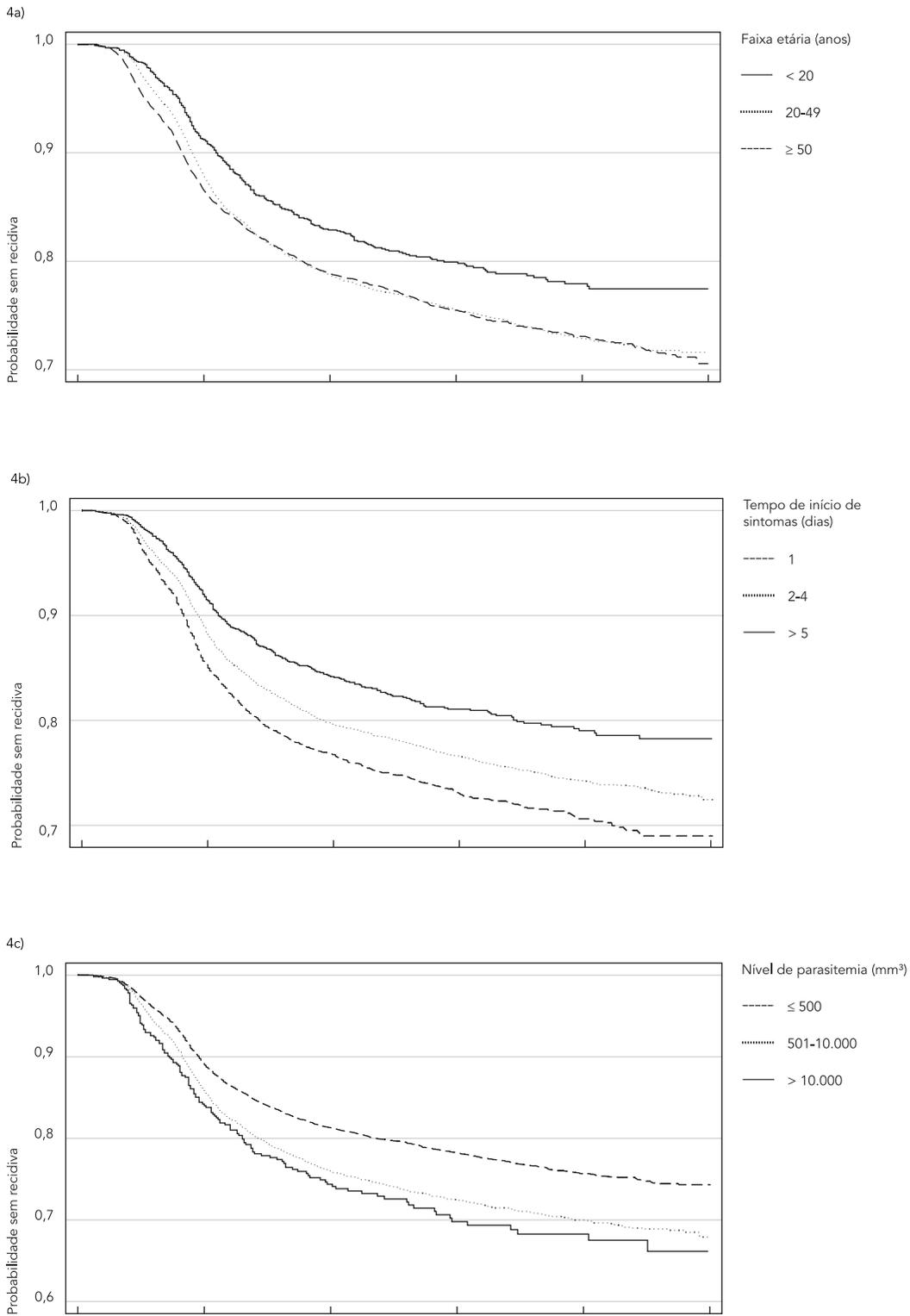
tudo são também consequência de reinfecções ocorridas simultaneamente às recaídas da infecção sintomática por *P. vivax*.

O tempo médio decorrido entre a primeira infecção sintomática de 2009 e a primeira recidiva, assim como entre cada recidiva subsequente e o episódio de tratamento anterior foi variável e decresceu com o aumento da frequência de episódios recidivantes. Redução progressiva entre os intervalos de recaída do *P. vivax* também foi observada por Lysenko et al. <sup>26</sup> e revisada por White <sup>2</sup>, ocorrendo tanto para cepas temperadas quanto para a cepa tropical do parasito. Uma teoria plausível para explicar essa variabilidade nos intervalos entre as recaídas seria a de que os esporozoítos inoculados pelo vetor seriam, na verdade, uma mistura de parasitos geneticamente distintos, que induziriam duas populações de hipnozoítos, isto é, com latência curta e longa <sup>26</sup>.

Maior risco de um paciente recidivar por *P. vivax* no ano do estudo ocorreu entre a quarta e a nona semana após o tratamento da primeira

Figura 4

Curvas de Kaplan-Meier da probabilidade de permanecer sem recidiva de malária, segundo faixa etária (4a), tempo de início de sintomas (4b) e nível de parasitemia (4c). Município de Porto Velho, Rondônia, Brasil, 2009.



malária. Uma vez que a baixa adesão ao tratamento da malária não é de elevada magnitude na Amazônia brasileira <sup>2</sup>, essas recidivas precoces podem ser, de fato, consequência de recaídas por ativação de hipnozoítos. As chamadas cepas de *P. vivax* de alta frequência de recaídas (entre elas a cepa tropical) já foram registradas na América do Sul, Índia, Sudeste Asiático e Oceania. Entretanto, nessas mesmas áreas, as cepas com hipnozoítos de longa latência também ocorrem <sup>2</sup>. Essa sobreposição, portanto, poderia explicar a grande amplitude de tempo decorrido para acontecer as recidivas observadas neste estudo, ou seja, as mais precoces sendo causadas por recaídas de cepas tropicais e as mais tardias por recaídas de cepas de longa latência. No Brasil, presume-se que a cepa do tipo tropical de *P. vivax*, caracterizada por ataque primário precoce, seguido por um período de latência curto até as recaídas que surgem durante o ano subsequente, seja predominante. Contudo, nenhuma evidência científica é disponível sobre esse tema no país nem na América do Sul. Recentes relatos de pesquisadores do Rio de Janeiro e de Brasília informaram viajantes com períodos de incubação longos para malária, variando de 3 a 12 meses, ao retornarem de viagens à Amazônia. Sugeriram que cepas temperadas estejam coexistindo com a cepa tropical em nosso meio <sup>22,27</sup>. Corroborando essa hipótese a observação de recaídas ocorrendo nos dias 33, 73, 82, 88, 113, 121 e 137 após o início do tratamento, em uma coorte terapêutica de malária causada pelo *P. vivax*, realizada no ano de 1990, em Cuiabá (Mato Grosso), onde não ocorre transmissão de malária <sup>3</sup>.

Baseada na classificação operacional das recidivas proposta pelo PNCM, foi de 29,5% a proporção de prováveis recaídas entre as recidivas de *P. vivax* ocorridas em Porto Velho (2009). É bem provável que essa frequência seja próxima da verdadeira proporção de recaídas da população de estudo. Isso porque o reaparecimento do *P. vivax* em recaídas após uma primoinfecção ocorreu entre 28 dias (3%) e 63 dias (63%) em estudo realizado na Tailândia <sup>28</sup>. E recidiva de *P. vivax* foi observada entre 28 e 90 dias em 70% dos pacientes estudados na Guiana Francesa, embora recrudescência e reinfeções não pudessem ser excluídas, como ocorreu no presente estudo <sup>29</sup>.

Era esperada maior frequência de recidivas entre gestantes. É sabido que o risco de recaídas de malária por *P. vivax* em indivíduos que não utilizam primaquina oscila entre 5% e 80%, dependendo da região geográfica <sup>30</sup>. Provável explicação para a baixa frequência de recidivas observada nesse grupo é a utilização de terapia supressiva de hipnozoítos com cloroquina semanal (5mg/kg), preconizada pelo PNCM para

pacientes com contraindicação da primaquina, a partir de 2008 <sup>14</sup>.

Embora alguns estudos não tenham encontrado maior frequência de recidivas em homens <sup>18</sup>, esse achado também foi observado por Prasad et al. <sup>15</sup>, que sugeriram a baixa adesão ao tratamento como provável explicação para essa diferença, destacando maior risco de abandono do tratamento pelos homens, em função de baixa escolaridade e maior jornada de trabalho como fatores contribuintes. Assim, as recidivas nas mulheres seriam explicadas mais por recaídas ou reinfeções e, nos homens, também por essas, somadas à maior frequência de recrudescências pela baixa adesão ao tratamento.

Nenhuma faixa etária dos pacientes estudados associou-se a maior risco de recidivas em Porto Velho (2009). Em áreas endêmicas da Tailândia, o perfil de idade dos pacientes com malária por *P. vivax* sugere aquisição de imunidade mais rápida e mais intensa com essa espécie do que com o *P. falciparum* <sup>30</sup>. Vários estudos sobre esse tema têm sugerido que tanto a proporção de recaídas por *P. vivax* quanto a taxa de inoculação entomológica declinam em pessoas idosas. É provável que a imunidade e, portanto, a idade sejam fatores de confundimento nas avaliações epidemiológicas da recidiva e da recaída de malária por *P. vivax* <sup>2,31</sup>.

Foi baixa a ocorrência de recidiva de malária por *P. vivax* após infecção sintomática por *P. falciparum*. No Sudeste Asiático, a incidência desse fenômeno é substancialmente maior do que a esperada pela taxa de inoculação entomológica, isto é, sem nenhuma relação com a infecção anterior por outra espécie <sup>32</sup>. Na Etiópia, onde as taxas de recaídas precoces de malária por *P. vivax* são menores, tal como no presente estudo, esse fenômeno ocorreu em apenas 7% dos pacientes estudados <sup>33</sup>. Uma vez que as duas espécies coexistem no Município de Porto Velho, é provável que as recidivas de *P. vivax* seguindo infecções por *P. falciparum* sejam apenas consequência do maior risco de transmissão da primeira espécie registrado nos últimos anos.

Foi observado que quanto maior o nível de parasitemia na primeira infecção por *P. vivax* diagnosticada em 2009 maior o risco de o paciente recidivar. Além disso, a recidiva foi mais precoce em pacientes com hiperparasitemia. Em áreas hiperendêmicas, maior densidade parasitária para qualquer espécie de *Plasmodium* é observada em crianças, gestantes e indivíduos adultos em primoinfecção, como resultado de menor nível de imunidade naturalmente adquirida nesses grupos <sup>34</sup>. Assim, presume-se que a associação observada seja, na verdade, efeito do menor nível de imunidade em pacientes com hiperparasitemia

mia e, conseqüentemente sobre a incidência da recidiva, conforme descrita para a ocorrência de recaídas pelo *P. vivax* <sup>2</sup>.

Por outro lado, quanto maior o tempo de sintomas relatado pelo paciente, quando do diagnóstico de sua infecção, menor a frequência de recidivas da malária por *P. vivax* na amostra estudada, que ocorreram também mais tardiamente. Não é possível descartar, como causa do maior tempo de sintomas, o atraso do diagnóstico decorrente das dificuldades de acesso ao serviço de saúde, principalmente no que se refere às distâncias das residências dos pacientes ao laboratório. Porém, é provável que os pacientes que mais atrasam na procura do diagnóstico da malária sejam os menos sintomáticos, porque já desenvolveram algum grau de imunidade clínica, já descrita para a malária em indivíduos de áreas endêmicas, provocando impacto negativo na incidência de recidiva <sup>2</sup>. Isso é corroborado também pela menor taxa de recidiva entre pacientes de faixas etárias mais altas no presente estudo, os quais são mais prováveis de serem portadores de imunidade naturalmente adquirida à malária <sup>35</sup>.

Em síntese, o estudo mostrou que ser homem, ter menos tempo de sintomas e ter maior nível de parasitemia na ocasião do diagnóstico da malária por *P. vivax* aumentaram o risco de recidiva no decorrer de um ano. A força de associação para cada um desses fatores de risco, após a análise ajustada, foi de 11% e de 15% de incremento relativo do risco para pessoas do sexo masculino e pacientes com maiores níveis de parasitemia, respectivamente, e redução de 10% do risco de recidiva para pacientes com maior tempo de sintomas. Esses valores de redução e incremento de risco, embora não sejam de grande monta, poderiam orientar os programas de controle da malária na eleição de grupos de pacientes, para os quais maior atenção deveria

ser dada, com o intuito de minimizar o sofrimento deles pelas recidivas.

É importante destacar, contudo, algumas limitações inerentes a este tipo de estudo epidemiológico. Por tratar-se de dados obtidos de fonte secundária, os resultados do estudo não estão isentos de possível viés de seleção, em virtude de subnotificação de casos no SIVEP-Malária. Mas é provável que tenha sido mínimo esse viés, uma vez que o SIVEP-Malária é reconhecidamente um sistema de informação sensível, oportuno e de boa completitude. Outro aspecto importante a se considerar e capaz de subestimar a frequência de recidivas no estudo é a mobilidade do paciente na área endêmica, podendo o mesmo paciente ter feito diagnóstico de uma ou mais de suas recidivas em município ou estado vizinho a Porto Velho. Embora não mensurada essa possível perda, a sua influência no resultado do estudo, se existir, não deve ter prejudicado o objetivo dele, uma vez que já foi alta a frequência constatada de recidivas.

Os baixos valores de medidas de risco das análises multivariadas identificados no estudo podem ser interpretados como de baixa relevância clínica das associações encontradas, comprometendo a sua relação causal para prever a incidência de recidivas ou justificar tomadas de decisão em nível de saúde pública. Embora outros estudos de coorte, que contemplem mais informações sobre os padrões clínicos e comportamentais dos pacientes devam ser realizados para uma melhor avaliação dos reais fatores relacionados às recidivas da malária, os resultados deste trabalho são relevantes para alertar o PNCM sobre a alta frequência de recidivas por malária causada pelo *P. vivax* em nosso meio e refletir sobre medidas adequadas ao seu controle.

## Resumen

*Estudio de cohorte histórica abierta, construida con información registrada en el Sistema de Información de Vigilancia Epidemiológica de la Malaria, con el objetivo de describir la incidencia y los factores asociados a la reaparición de malaria, causada por el Plasmodium vivax, en Porto Velho, Rondônia, Brasil. Se notificaron 23.365 casos de malaria por P. vivax en el municipio, donde un 23% de ellos presentaron recidiva a lo largo del 2009. La densidad de incidencia de recidivas fue de 45,1/100 pacientes-año, produciéndose, principalmente, entre la 4ª y la 13ª semana tras el inicio del tratamiento. Ser hombre, tener menos tiempo síntomas y tener un mayor nivel de parasitemia en la infección inicial aumentaron el riesgo de recidiva a lo largo del año, con un 10% de reducción relativa del riesgo, para un mayor tiempo de síntomas, y de un 11% y 15% de incremento relativo del riesgo para el sexo masculino y mayores niveles de parasitemia, respectivamente. No obstante, los resultados demostraron baja relevancia clínica de las asociaciones encontradas, comprometiendo su aplicabilidad en la toma de decisiones dentro de la salud pública.*

*Recurrencia; Plasmodium vivax; Malaria*

## Colaboradores

C. J. F. Fontes participou da concepção do estudo, da elaboração do projeto da pesquisa, da análise dos dados e da redação do manuscrito. L. R. Simões participou da organização e análise dos dados e da redação do manuscrito. E. R. Alves-Jr participou da organização do banco de dados e da revisão crítica do manuscrito. D. Ribatski-Silva participou da análise dos dados e da redação do manuscrito. L. T. Gomes participou da análise dos dados e da revisão crítica do manuscrito. A. F. Nery realizou a conferência e revisão final do banco de dados e a revisão crítica do manuscrito.

## Agradecimentos

Suporte financeiro: CNPq (processo 555652/2009-2) e FAPEMAT, PRONEX-Rede Malária, Mato Grosso.

## Referências

1. Secretaria de Vigilância Epidemiológica, Ministério da Saúde. Malária. Resumo epidemiológico por local de notificação. <http://www.saude.gov.br/svs> (acessado em 09/Ago/2013).
2. White NJ. Determinants of relapse periodicity in *Plasmodium vivax* malaria. *Malar J* 2011; 10:297.
3. Pereira EA, Ishikawa EAY, Fontes CJF. Adherence to *Plasmodium vivax* malaria treatment in the Brazilian Amazon Region. *Malar J* 2011; 10:355.
4. Duarte EC, Pang LW, Ribeiro LC, Fontes CJF. Association of subtherapeutic dosages of a standard drug regimen with failures in preventing relapses of vivax malaria. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 471-6.
5. Nogueira FH, Moreira-Campos LM, Santos RL, Pianetti GA. Quality of essential drugs in tropical countries: evaluation of antimalarial drugs in the Brazilian Health System. *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44:582-6.
6. Adhikari P. Recurrent malaria: an enigma? *Indian J Med Sci* 2000; 54:325-9.
7. Imwong M, Snounou G, Pukrittayakamee S, Tanomsing N, Kim JR, Nandy A, et al. Relapses of *Plasmodium vivax* infection usually result from activation of heterologous hypnozoites. *J Infect Dis* 2007; 195:927-33.
8. Chen N, Auliff A, Rieckmann K, Gatton M, Cheng Q. Relapses of *Plasmodium vivax* infection result from clonal hypnozoites activated at predetermined intervals. *J Infect Dis* 2007; 195:934-41.
9. Orjuela-Sanchez P, Silva NS, Silva-Nunes M, Ferreira UM. Recurrent parasitemias and population dynamics of *Plasmodium vivax* polymorphisms in rural Amazonia. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81: 961-8.
10. Restrepo E, Imwong M, Rojas W, Carmona-Fonseca J, Maestre A. High genetic polymorphism of relapsing *Plasmodium vivax* isolates in northwest Colombia. *Acta Trop* 2011; 119:23-9.

11. Araujo F, Resende A, Fontes CJ, Carvalho L, Brito C. Multiple-clone activation of hypnozoites is the leading cause of relapse in *Plasmodium vivax* infection. PLoS One 2012; 7:e49871.
12. Markus MB. The hypnozoite concept, with particular reference to malaria. Parasitol Res 2011; 108:247-52.
13. Hanf M, Stephani A, Basurko C, Nacher M, Carme B. Determination of the *Plasmodium vivax* relapse pattern in Camopi, French Guiana. Malar J 2009; 8:278.
14. Secretaria de Vigilância Epidemiológica, Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7ª Ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
15. Prasad R, Virk K, Sharma V. Relapse/reinfection patterns of *Plasmodium vivax* infection: a four year study. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1991; 22:499-503.
16. Collins WE, Jeffery GM, Roberts JM. A retrospective examination of reinfection of humans with *Plasmodium vivax*. Am J Trop Med Hyg 2004; 70:642-4.
17. Adak T, Sharma VP, Orlov VS. Studies on the *Plasmodium vivax* relapse pattern in Delhi, India. Am J Trop Med Hyg 1998; 59:175-9.
18. Haghdoost AA, Mazhari S, Bahaadini K. Estimating the relapse risk of *Plasmodium vivax* in Iran under national chemotherapy scheme using a novel method. J Vector Borne Dis 2006; 43:168-72.
19. Boulos M, Neto VA, Dutra AP, Disanti SM, Shiroma M. Analysis of the frequency of relapses due to malaria caused by *Plasmodium vivax* in a nonendemic area (São Paulo, Brazil). Rev Inst Med Trop São Paulo 1991; 33:143-6.
20. Pukrittayakamee S, Chantha A, Simpson JA, Vanijanonta S, Clemens R, Looareesuwan S, et al. Therapeutic responses to different antimalarial drugs in vivax malaria. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1680-5.
21. Karunajeewa HA, Mueller I, Senn M, Lin E, Law I, Gomorra PS. A trial of combination antimalarial therapies in children from Papua New Guinea. N Engl J Med 2008; 11:359-83.
22. Tauil PL, Luz FCO, Oliveira APL, Deckers FAL, Santos JB. Malária vivax com tempo de incubação prolongado, detectada no Distrito Federal: relato de três casos. Rev Soc Bras Med Trop 2010; 43:213-4.
23. Hill E, Amatzuzio DS. Southwest Pacific vivax malaria: clinical features and observations concerning duration of clinical activity. Am J Trop Med Hyg 1949; 29:203-14.
24. Most H. Clinical trials of anti-malarial drugs. Internal Medicine in World War II 1963; 2:525-98.
25. Gogtay NJ, Desai S, Kadam VS, Kamtekar KD, Dalvi SS, Kshirsagar NA. Relapse pattern of *Plasmodium vivax* in Mumbai: a study of 283 cases of vivax malaria. J Assoc Physicians India 2000; 48:1085-6.
26. Lysenko AJ, Beljaev AE, Rybalka VM. Population studies of *Plasmodium vivax*. 1. The theory of polymorphism of sporozoites and epidemiological phenomena of tertian malaria. Bull World Health Organ 1977; 55:541-9.
27. Brasil P, Costa AP, Pedro RS, Bressan CS, Silva S, Tauil PL, et al. Unexpectedly long incubation period of *Plasmodium vivax* malaria, in the absence of chemoprophylaxis, in patients diagnosed outside the transmission area in Brazil. Malar J 2011; 10:122.
28. Luxemburger C, van Vugt M, Jonathan S, McGready R, Looareesuwan S, White NJ. Treatment of vivax malaria on the western border of Thailand. Trans R Soc Trop Med Hyg 1999; 93:433-8.
29. John GK, Nosten F, Baird K, White NJ, Douglas NM, Seidlein LV, et al. Primaquine radical cure of *Plasmodium vivax*: a critical review of the literature. Malar J 2012; 11:280.
30. Luxemburger C, Thwai KL, White NJ, Webster HK, Kyle DE, Maelankirri L. The epidemiology of malaria in a Karen population on the western border of Thailand. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90:105-11.
31. Arnott A, Barry AE, Reeder JC. Understanding the population genetics of *Plasmodium vivax* is essential for malaria control and elimination. Malar J 2012; 10:11.
32. Looareesuwan S, White NJ, Bunnag D, Chittamas S, Harinasuta T. High-rate of *Plasmodium vivax* relapse following treatment of falciparum malaria in Thailand. Lancet 1987; 2:1052-5.
33. Graves PM, Ngondi JM, Hwang J, Getachew A, Gebre T, Mosher AW. Factors associated with mosquito net use by individuals in households owning nets in Ethiopia. Malar J 2011; 13:10.
34. Doolan DL, Dobano C, Baird JK. Acquired immunity to malaria. Clin Microbiol Rev 2009; 22:13-36.
35. Baird JK. Host age as a determinant of naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum*. Parasite Immunol 1995; 11:105-11.

---

Recebido em 06/Dez/2012

Versão final reapresentada em 24/Out/2013

Aprovado em 26/Nov/2013