República Democrática de São Tomé e Príncipe

(Unidade – Disciplina – Trabalho)

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Centro Nacional de Endemias

Unidade de Estudos e Pesquisa

INVESTIGAÇÃO E SEGUIMENTO DE CASOS DE PALUDISMO

RELATÓRIO

ANO 2019

São Tomé, 10 de abril de 2020

Maria de Jesus Trovoada dos Santos

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 3
2. OBJECTIVO 4
2.1. Objetivo geral 4
2.2. Objetivo específico 4
3. DADOS E METODOLOGIA 4
3.1. Tipo e local de Estudo 4
3.2. Universo de Estudo 4
3.3. Notificação dos casos 5
3.4. Recolha de dados e análise 6
3.4.1. Investigação dos casos 6
3.4.2. Seguimento dos casos 6
3.5. Controlo de qualidade das lâminas 6
4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 7
4.1. Investigação dos casos 7
4.1.2. Perfil dos doentes Estudados 10
4.1.2.1. Distribuição por grupos etários 10
4.1.2.2. Distribuição por género 12
4.1.3. Principais sintomas relatados 15
4.1.4. Terapêutica administrada 16
4.1.5. Caraterização dos focos 17
4.1.6. Classificação dos casos de paludismo por origem de infeção 19
4.1.7. Casos de paludismo classificados, por distritos, RAP e HAM 20
4.1.8. Medidas preventivas de paludismo 21
4.2. Seguimento dos casos 22
4.2.2. Distribuição por grupos etários 23
4.2.3. Local de Proveniência dos casos 25
4.2.4. Terapêutica administrada 26
4.2.5. Período de seguimento dos casos 27
5. VIESES E CONFUNDIMENTO NOS RESULTADOS OBTIDOS 28
6. CONCLUSÕES 29
7. RECOMENDAÇÃO 30
8 . REFERÊNCIAS 30

1. INTRODUÇÃO

Este relatório consiste na apresentação e na análise dos dados de investigação e de seguimento dos casos de paludismo notificados, por busca ativa nas localidades e passiva de casos, recolhidas nas unidades de Saúde dos Distritos e Região Autónoma, de janeiro a Dezembro de 2019. São alvo desse relatório os casos investigados e seguidos pelos RDEs das respectivas Áreas Distritais de Saúde e RAP, cujas Bases de Dados, foram enviadas ao CNE. e os investigados pela Equipa Central de Busca Ativa.

O paludismo em São Tomé e Príncipe (STP) ainda constitui um problema sério de saúde pública. O Estado de STP continua ano seu desafio visando a sua eliminação. O objetivo é a melhoria do nível de saúde da população e reduzir o impacto negativo ao nível do desenvolvimento sócio- económico do país. Para alcançar esse objetivo, intervenções essenciais são imprescindíveis. Elas consistem numa integração de ações de prevenção (luta anti-vetorial - o tratamento de criadores de mosquitos com produtos biológicos, a pulverização intradomiciliar (PID) das casas com inseticida de ação remanescente, distribuição e colocação de mosquiteiros impregnados de inseticida de longa duração de ação (MILDA), diagnóstico e tratamento dos casos, comunicação para mudança do comportamento, reforço institucional, manejo ambiental e de monitorização e avaliação são desenvolvidas.

Assim, particularmente nos locais onde a transmissão é baixa, os esforços são intensificados para reduzir a continuação da transmissão de novas infeções. Portanto, atingir este objetivo implica um combate, tanto aos parasitas como aos vetores em focos bem definidos de transmissão, orientado para a deteção ativa e a investigação das infeções. Como parte de um programa de vigilância e resposta ao paludismo, essas ações são importantes para eliminar focos residuais de transmissão. É nessa medida que a pesquisa operacional, confere evidências fundamentais para a tomada de decisões e consequentemente fortalece as atividades dos programas de controlo do paludismo.

2. OBJECTIVO

2.1. Objetivo geral

Detetar, investigar e seguir o tratamento de todas as infeções para atingir a eliminação e evitar o restabelecimento da doença.

2.2. Objetivo específico

- Identificar, investigar em até 48h e classificar os focos de paludismo na Região Autónoma do Príncipe (RPA) e nos distritos de São Tomé;
- Caracterizar os casos de paludismo notificados;
- Descrever a distribuição espacial do paludismo, segundo o local de transmissão;
- Tratar e monitorizar todos os casos de paludismo.

3. DADOS E METODOLOGIA

3.1. Tipo e local de Estudo

Trata-se de uma pesquisa descritivo-documental, em que são tratados os dados recolhidos por deteção ativa dos casos em diversas localidades e de deteção passiva nas unidades de saúde dos distritos de São Tomé e da Região Autónoma de Príncipe. São também considerados nesse estudo, os dados provenientes dos Centros de Saúde Distritais com internamento de doentes, os do Hospital Dr Ayres de Menezes (HAM) e os do Hospital Dr Manuel Quaresma Dias da Graça (HMQDG). As fichas cujos exames de Diagnóstico Rápido (TDR) são positivos, foram consideradas como casos.

3.2. Universo de Estudo

São Tome e Príncipe (STP) encontra-se dividido em seis distritos e uma região autónoma, a Região Autónoma do Príncipe (RAP). Os distritos de São Tomé e a RAP funcionam em termos de prestação dos cuidados de saúde, como Áreas Distritais de Saúde. O país possui um hospital de nível central (HAM), um hospital na Região Autónoma do Príncipe, (HMQDG) e, 35 Unidades de Saúde de Nível Primário (Centros de Saúde, Postos de Saúde e Postos Comunitários) distribuídos pelas Áreas Distritais de Saúde e pela Região Autónoma do Príncipe.

De acordo com uma projeção do Instituto Nacional de estatística (INE), a população é estimada em 206 423 habitantes em 2019, distribuída por diversas localidades distritais e região autónoma (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da população por distrito e Região Autónoma de Príncipe

Distritos	População total 2019	População de ≤15 anos	População de ≥15 anos
Água Grande	79225	31351	47874
Cantagalo	19798	8691	11107
Caué	7390	3316	4074
Lembá	16581	7476	9105
Lobata	22916	9891	13025
Mé-Zochi	51905	21972	29933
RAP	8608	3688	4920
Total	206423		

Fonte: INE 2019

3.3. Notificação dos casos

A investigação e o seguimento de casos em cada distrito são realizados pelos respetivos Responsáveis Distritais de Epidemiologia (RDEs).

A notificação dos casos é realizada na sequência de deteção ativa dos casos, isto é, a Busca Ativa (BA) dos casos positivos de paludismo, nos respetivos domicílios e em áreas de risco, ou por deteção passiva, ou seja, de casos detetados em indivíduos que se deslocam para os serviços de saúde, face ao surgimento de algum sintoma compatível com paludismo.

A deteção dos casos de paludismo é realizada com recurso aos TDR (*Malaria AgP.f/Pan, SD BioLine,)* seguida de análise por microscopia óptica, dos esfregaços e gota espessa de sangue periférico, para a identificação da espécie do *Plasmodium* assim como a sua densidade. A microscopia óptica convencional é reconhecida, como o teste padrão para o diagnóstico do paludismo amplamente utilizado para a deteção e quantificação dos parasitas. O TDR permite detetar os antigénios específicos (proteínas) produzidos pelos parasitas do paludismo. Esses antigénios estão presentes no sangue das pessoas infetadas. O TDR assinala a sua presença por uma mudança de cor sobre uma faixa de nitrocelulose, proporcionando apenas uma informação qualitativa isto é, presença ou não de parasita no sangue.

3.4. Recolha de dados e análise

Para a recolha de dados dos doentes infetados com o paludismo, são utilizados formulários específicos em suporte de papel, contendo variáveis demográficas, epidemiológico-clínicas. A Ficha de investigação (Anexo 1) e, a Ficha de seguimento de casos (Anexo 2). A recolha de informação é feita com recurso a um questionário em que o RDE, de acordo como as questões abordadas, regista as respostas em formato papel. A equipa central de busca ativa é indigitada para a obtenção de informações relativas à investigação e ao seguimento dos casos notificados por busca ativa e os de casos de internamento no HAM. Os dados recolhidos pela equipa de busca ativa são processados pela unidade de seguimento e avaliação do CNE. Os dados dos distritos e RAP são recolhidos e enviados ao CNE pelos RDEs em formato Excel.

A análise estatística envolveu, a estimativa de frequências simples das variáveis de interesse. A análise foi feita no programa Microsoft Excel (2013) e o software estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão *18 for Windows*. O SPSS é uma ferramenta para análise que utiliza técnicas estatísticas básicas e avançadas.

3.4.1. Investigação dos casos

Inquérito aos casos foi realizado de porta em porta ou no local de notificação. Para aferição das coordenadas geográficas, foram utilizados aparelhos de GPS (*Global Positioning System*) portáteis, para a recolha e registo da Latitude e da Longitude. A classificação e as coordenadas geográficas dos casos foram obtidas a partir das residências dos estudados, o que permitiu desse modo o mapeamento dos mesmos.

3.4.2. Seguimento dos casos

O objetivo do seguimento de casos é garantir que os doentes fiquem curados. Se se detetar casos de insucesso terapêutico comprovado, de acordo com os critérios definidos, o médico terá que prescrever o medicamento de segunda intenção (*in Relatório de avaliação a meio percurso do PNLP 2019*). Por esse motivo, após o tratamento dos casos, todos os doentes são seguidos nos dias, D3, D7, D14, D21 e D28.

3.5. Controlo de qualidade das lâminas

As lâminas observadas nos laboratórios do Serviço Nacional de Saúde (SNS), são enviadas mensalmente ao laboratório do CNE, nível superior, para o controlo de qualidade. É feita com regularidade, deslocações de supervisão aos laboratórios das áreas distritais de saúde.

São reportados neste Relatório os casos investigados pelos RDEs das respetivas Áreas Distritais de Saúde e RAP, cujas Bases de Dados, foram enviadas ao CNE e os investigados pela Equipa Central de Busca Ativa.

4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. Investigação dos casos

Todos os casos positivos de paludismo registados, são sujeitos à um estudo. O propósito é aferir a sua consistência nas Áreas de Distritais de Saúde e Região Autónoma, por meio do Estudo e do Seguimento dos casos de paludismo.

Na Tabela 2 encontra-se a distribuição dos casos registados (por Distritos, Região Autónoma e HAM) e os que são estudados.

Tabela 2. Distribuição de Casos Registados *vs* Casos Investigados por Áreas de Distritais de Saúde, HAM e RAP

Distritos	**Casos Registados**	**Percentagem (%)**	**Casos Investigados**	**Percentagem (%)**
Água Grande	981	39,9	487	49,6
Cantagalo	86	3,5	67	77,9
Caué	12	0,5	12	100,0
HAM	613	24,9	92	15,0
Lembá	336	13,7	243	72,3
Lobata	134	5,5	76	56,7
Mé-Zóchi	248	10,1	157	63,3
RAP	47	1,9	47	100,0
Total Geral	**2457**	100,0	**1181***	48,1

**Inclue apenas os dados dos casos investigados cujas informações foram remetidas ao CNE*

Os doentes notificados no HAM foram os menos estudados. Apenas 92 indivíduos, dos 613 notificados nessa unidade hospitalar.

Verifica-se que 39,9% (981/1181) de casos registados têm a sua proveniência em Água Grande, o distrito mais populoso do país devido ao êxodo rural, onde as condições de saneamento do meio são muito precárias, a adopção das medidas de prevenção (PID e MILDA) não são sistematicamente cumpridas. A taxa de cobertura de PID foi 58% (15º Ciclo PID, 2018, *in relatório a meio percurso*), valor abaixo da cobertura universal que é de 80%.

Após o registo dos casos de paludismo deve-se iniciar a investigação epidemiológica em até 48h, para permitir que as medidas de controlo possam ser adotadas. Essa atividade foi realizada em menos de 24h apenas em 20,9% (247/1181) de situações.

30,1% (355/1181) de investigações de casos, foram realizadas em mais de 48h, dados apresentados na Tabela 2A. A maior celeridade foi observada na RAP e no distrito de Lobata, com respectivamente, 76,6% e 75% de casos investigados em menos de 24h. Relativamente aos distritos, o de Água Grande levou mais tempo a realizar as investigações de casos, tendo ultrapassado as 48h recomendadas para o efeito. Nesse distrito, 52,6% de investigação de casos foram em mais de 48h. No distrito de Mé-zóchi, 36,6% de investigação de casos também foram realizadas em mais de 48h, com mostra a Tabela 2A.

Tabela 2A. Tempo que medeia o registo de casos e a realização da investigação

Distritos/ BA-CNE	**Investigados**	**<24h**		**24h**		**48h**		**> 48h**	
		Frequência	**%**	**Frequência**	**%**	**Frequência**	**%**	**Frequência**	**%**
Água Grande	487	66	13,6	62	12,7	59	12,1	256	**52,6**
Cantagalo	67	22	32,8	13	19,4	11	16,4	20	29,9
Caué	12	6	50,0	3	25,0	0	0,0	0	0,0
HAM	92	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	**13,0**
Lembá	243	21	8,6	39	16,0	10	4,1	7	2,9
Lobata	76	57	**75,0**	1	1,3	3	3,9	2	2,6
Mé-zóchi	157	39	24,8	24	15,3	13	8,3	58	**36,9**
RAP	47	36	**76,6**	8	17,0	3	6,4	0	0,0
Total	1181	247	**20,9**	150	**12,7**	99	8,4	355	**30,1**
S/I*	330	27,9							

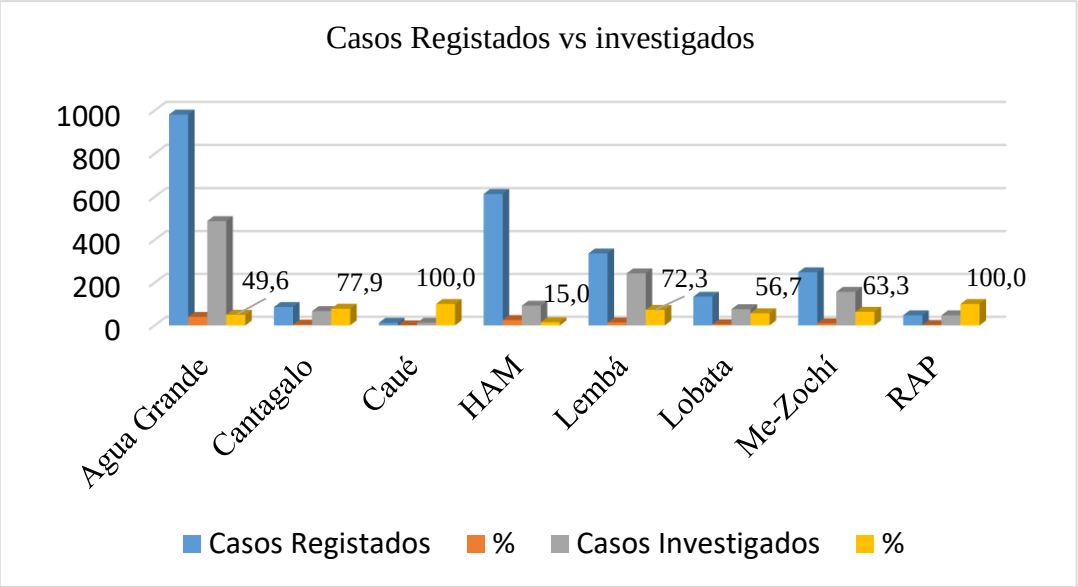
**Sem informação*

Verifica-se que dos 2457 casos de paludismo registados no país em 2019, 1181 **(**48,1%) foram investigados. Como ilustra o Gráfico 1, todos os casos registados no distrito de Cauê e na RAP foram investigados. O menor número de casos investigados, 15% (92/613) foi observado relativamente aos casos registados no HAM.

As investigações de casos notificados por Busca Ativa de casos e as de doentes internados no HAM são realizadas pela equipa de Busca Ativa do CNE (BA-CNE). Os casos investigados, 13% (12/92), de por essa equipa foi apenas após 48h.

Essa esse equipa respondeu apenas conseguiu investigar 13% de casos em mais das 48h equipa não conseguiu responder em menos

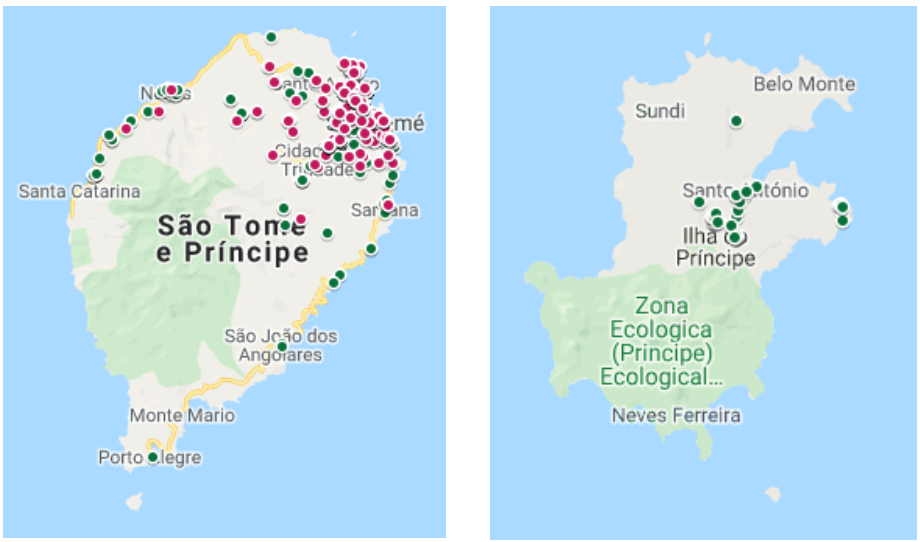
Gráfico 1. Distribuição de Casos Registados *versus* Casos Investigados



O registo das coordenadas das casas dos infetados permitiu o mapeamento dos casos registados bem como dos investigados

O Gráfico 1 ilustra a distribuição dos casos registados e os investigados em São Tomé e na RAP. Constata-se que a maior concentração dos casos encontra-se na zona norte do país.

Gráfico 2. Mapa da distribuição de Casos Registados *vs* Casos Investigados em STP



Casos investigados

Casos não investigados

Tabela 3. Distribuição dos tipos de deteção de casos de paludismo

Tipo de detecção	Frequência	Percentagem (%)
Passiva	872	73,8
Activa	185	15,7
S/I	124	10,5

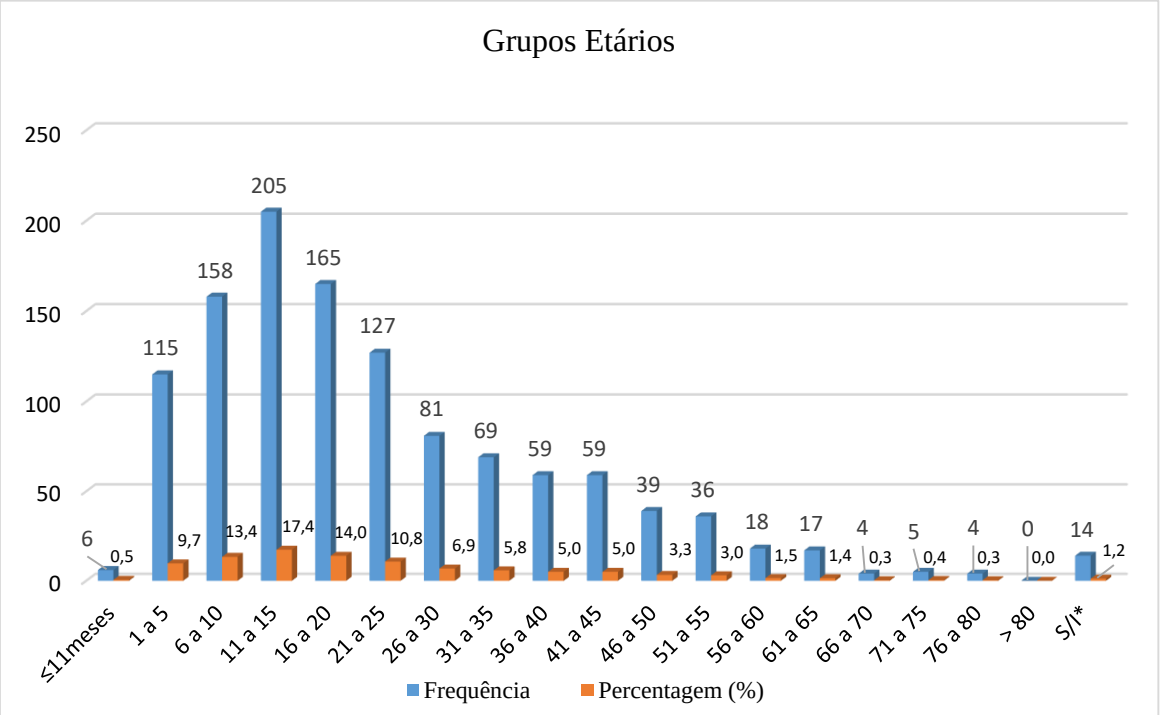
Um total de 2457 indivíduos são registados nas unidades de saúde de STP, de janeiro à dezembro de 2019. 73,8% dos casos de paludismo é por deteção passiva e 15,7 % dos casos positivos investigados e seguidos é por deteção ativa, ao nível das comunidades, como mostra a Tabela 3. A deteção ativa dos casos de paludismo é uma metodologia eficaz para promoção do diagnóstico oportuno seguido de tratamento precoce e correto e são instrumentos mais adequados para reduzir a gravidade e a letalidade por paludismo. Nos locais onde a taxa de transmissão é muito baixa como no caso de STP, a deteção ativa e o estudo das infeções, são importantes para eliminar os focos residuais de transmissão.

4.1.2. Perfil dos doentes Estudados

4.1.2.1. Distribuição por grupos etários

A distribuição etária dos doentes investigados variou de 20 dias a 80 anos de idade.

Gráfico 3. Distribuição dos doentes por grupo etário

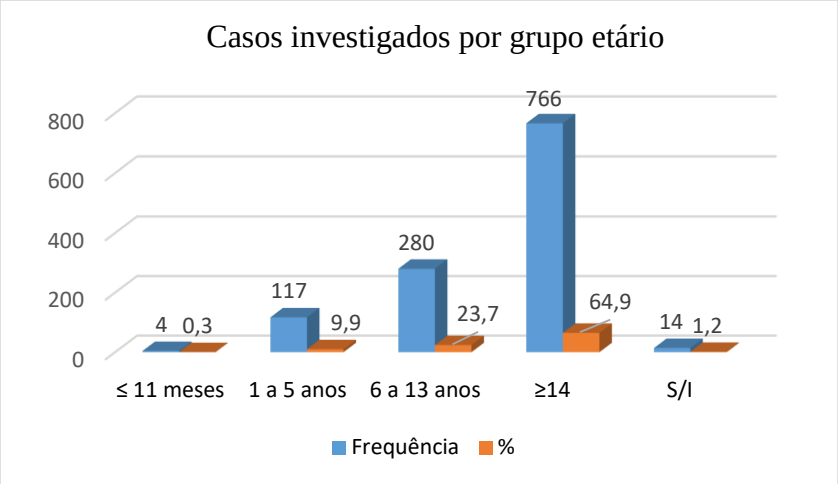


**Sem informação*

O maior número de indivíduos acometidos pelo paludismo está concentrado nos grupos etários de 11 à 15 e o de 16 a 20 anos, que constituem respectivamente, 17,4% (205/1181) e 14% (165/1181) de casos, como pode ser observado no Gráfico 3. O grupo etário menor de 5 anos apresenta uma prevalência baixa, 10,2%, compatível com as caraterísticas de países onde a taxa de infeção é baixa em virtude de campanhas de eliminação do paludismo.

Os indivíduos com idades superiores a 14 anos que representam 64,9% dos estudados, parecem constituir o grupo de maior risco de desenvolver a doença (Gráfico 4).

Gráfico 4. Distribuição dos doentes por grupo etário, agregado



**Sem informação*

Na realidade, no âmbito do Projeto Príncipe Malária, entre 2004 e 2010 na Região Autónoma de Príncipe, e da colaboração estabelecida com o Centro de Parasitologia Médica da Universidade de Copenhaga, foram realizados testes preliminares em amostras de soro repetidas de 2005 e 2008, com o propósito de avaliar a variação a nível de resposta imunológica da população face aos programas de eliminação do paludismo. Determinou-se nas amostras de soro de indivíduos, por ELISA e Citometria de Fluxo os grupos A, BA, B e C dos domínios DBLa e CIDRa (*genes var*) de 50 genes e proteínas. Os dados foram analisados para se verificar a evolução destes anticorpos ao longo do tempo. Constatou-se que a maioria de pessoas dos 0 aos 12 anos de idade, tinham ganho anticorpos, de 2005 para 2008. Enquanto que a maioria das pessoas com idade superior a 12 anos tinham perdido anticorpos. Isso parece dever-se ao facto de a população após anos de campanhas conducentes à eliminação do paludismo, tenderem a perder a imunidade que tinham adquirido ao longo dos anos de intensa exposição aos parasitas de paludismo (Trovoada MJ, 2010). A infeção por *Plasmodium* não confere uma imunidade protetora ao hospedeiro logo após a primeira infeção, sendo que a imunidade contra os sintomas da doença parece ser adquirida apenas ao longo do tempo de exposição e é específica para cada espécie de parasita. Um dos motivos que dificulta a aquisição dessa imunidade

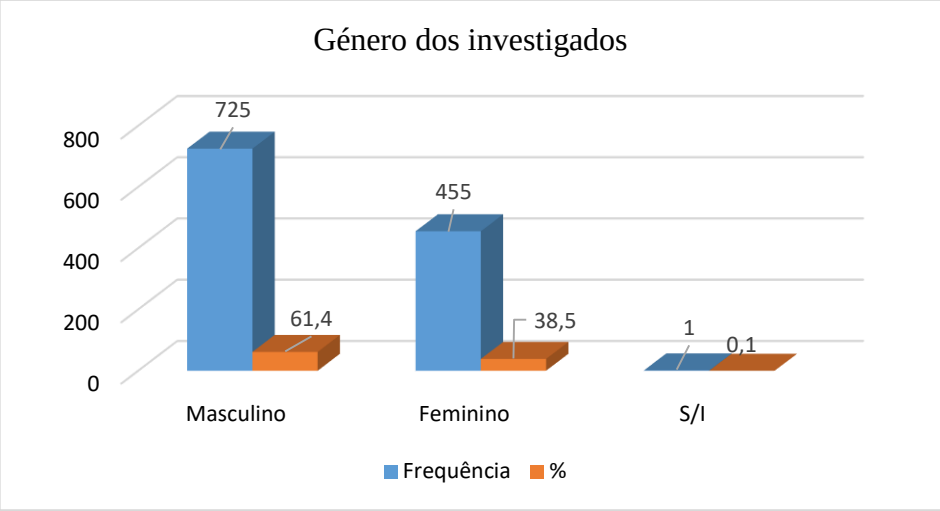
parece ser o facto de o parasita ser capaz de transportar para a superfície dos eritrócitos infectados, uma série de variantes nomeadamente a PfEMP1 (Bandeiras *et al* 2014).

Os *genes var* constituem uma família poligênica de 40 a 50 elementos, distribuídos nos 14 cromossomas do parasita, que codificam as proteínas PfEMP-1 (*Erythrocyte membrane protein n.1*), expostas na superfície do glóbulo vermelho parasitado e responsáveis pelo sequestro de formas evolutivas dos parasitas por adesão e retenção dos mesmos nos capilares pós-venosos.

4.1.2.2. Distribuição por género

Neste estudo também foi analisada a distribuição dos infetados por género e é apresentada no Gráfico 5. Constata-se que a prevalência de indivíduos infetados é maior no género masculino, 725(61,4 %), do que no feminino, que corresponde a 455(38,5%) dos infetados.

Gráfico 5. Distribuição dos infetados investigados por género



Com o objetivo de tentar perceber a razão dessa tendência, estabeleceu-se uma correlação entre as variáveis género e a profissão. Verificou-se que, dos 61,4% de indivíduos do género masculino anteriormente referidos, as profissões mais afetadas incluem os estudantes com idades entre 14 e 26 anos, 110 (32,6%) e os seguranças, 47 (13,9%), como ilustra o Gráfico 6. Na realidade, tratam-se de profissões sujeitas a grande exposição ao *Anopheles*, o inseto vetor de paludismo, o que pode explicar eventualmente poderia explicar esse resultado. O que implicaria para o efeito, a realização de testes de significância.

Gráfico 6. Distribuição das profissões mais relevantes em doentes do género masculino

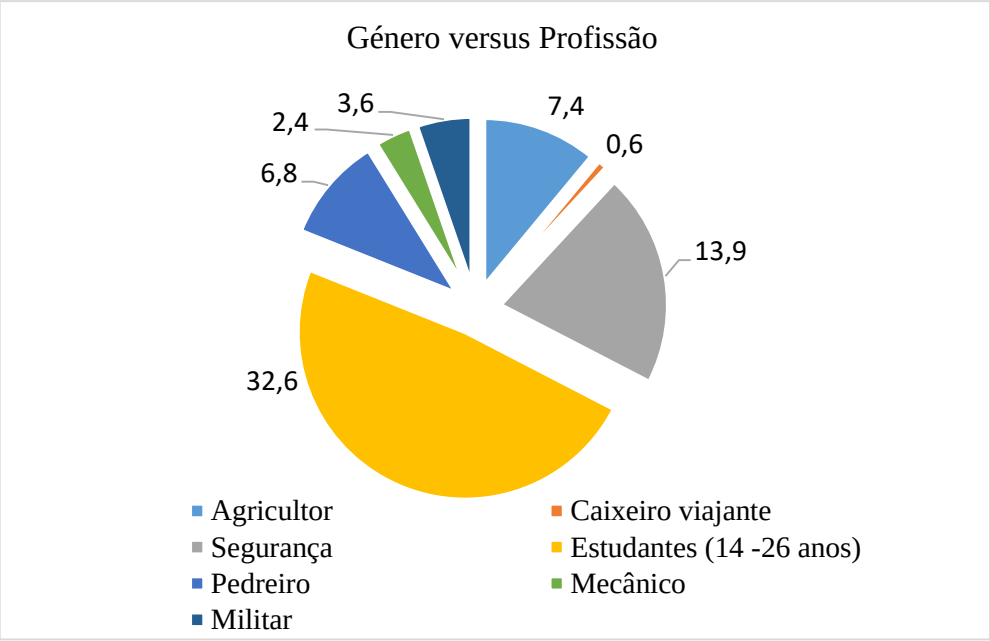


Tabela 4. Distribuição das densidades parasitárias *(adaptado de Bruce Schwatt)*

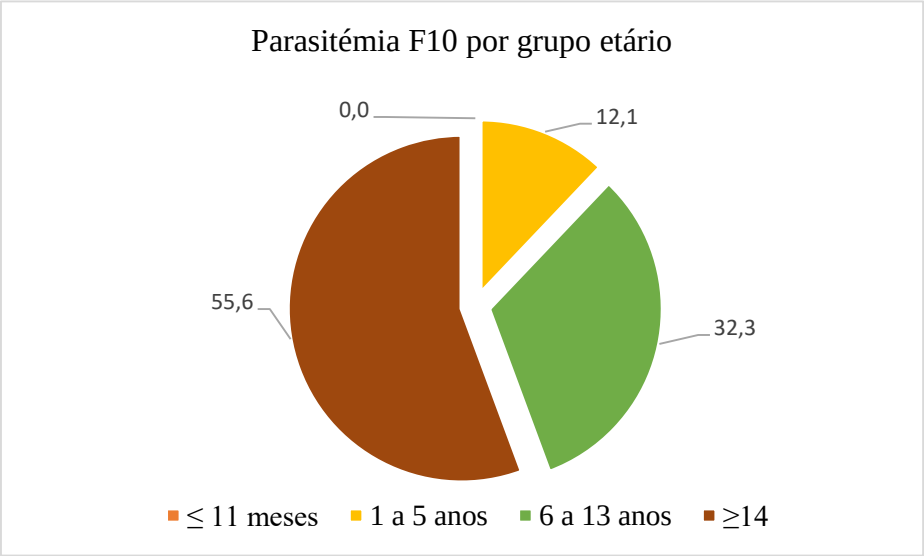
Densidade parasitária	**Frequência**	**Percentagem (%)**
F1 (0-100mm^3)	70	5,9
F2 (101-200mm^3)	89	7,5
F3 (201-400mm^3)	84	7,1
F4 (401-800mm^3)	**92**	**7,8**
F5 (801-1600mm^3)	85	7,2
F6 (1601-3200mm$^{3)}$	66	5,6
F7 (3201-6400mm^3)	61	5,2
F8 (6401-12801mm^3)	85	7,2
F9 (12801-25000mm^3)	52	4,4
F10 (≥25001 mm^3)	**124**	**10,5**
Lâminas negativas	17	1,4
Positivas	75	6,4
N/C*	48	4,1
S/O**	3	0,3
S/I***	230	19,5

**Não correcta; **Sem observação; ***Sem informação*

Verifica-se que, como mostra a Tabela 4, 10,5% de infetados com o plasmódio, apresentam a parasitémia de F10, a mais elevada na classificação de Bruce Schwatt.

O grupo etário mais afetado, com grau de parasitémia, F10 (25 601 glóbulos vermelhos parasitados por mm^3), é o de idades superiores a 14 anos, com 55,6%, como ilustra o Gráfico 7.

Gráfico 7.- Distribuição de indivíduos com a densidade parasitária F10 (≥25001 parasitas/mm3) por grupo etário



Essa constatação é compatível com a literatura, que refere que, os países submetidos a programas de eliminação, que dependam em grande medida de intervenções de controlo de vetores e que tenham sido eficazes na redução da transmissão do *Plasmodium falciparum*, a população apresenta efeitos colaterais que, consiste na perda de imunidade naturalmente adquirida ao longo dos anos, contra os antígenos dos parasitas. Esses antígenos são importantes no controlo da progressão do ciclo de vida do parasita no hospedeiro e na prevenção de diagnósticos complicados da doença (Ghani AC, *et al*, 2009). Com efeito, a incidência de paludismo em STP tem estado a diminuir devido as campanhas de eliminação e, consequentemente, as faixas etárias mais acometidas pela doença são as superiores a 14 anos.

Este estudo revelou que, dos 48,1% casos investigados 933(79%) dos quais estão infetados com *Plasmodium falciparum.* Apenas um doente, 0,1%, encontrava-se infetado com *Plasmodium malariae.*

O estudo molecular do *Plasmodium* por N*ested* PCR (*polimerase chain reaction*), um método com maior sensibilidade, usado na identificação das espécies no âmbito projeto Príncipe, realizado na Região Autónoma de Príncipe entre 2004 e 2010, revelou em amostras analisadas em 2008, a existência das 4 espécies de plasmódio que infetam os humanos bem como de infeções mistas.

4.1.3. Principais sintomas relatados

Dos 1181 infectados investigados, 429(36,3%) alegaram febre e cefaleia como os principais sintomas.

Tabela 5. Distribuição dos principais sintomas relatados

Principais sintomas	**Frequência**	**Percentagem (%)**
Febre	324	27,4
Febre+Vómito	122	10,3
Febre+Cefaleia	**429**	**36,3**
Febre+Vómito+Cefaleia	104	8,8
Febre+Astenia	6	0,5
Cefaleia	5	0,4
Sem Sintomas	**14**	**1,2**
Outros*	98	8,3
S/I**	79	6,7

**Não especificados; **Sem informação*

Apesar de os indivíduos terem sido notificados mediante a deteção ativa dos casos, que é direcionada às pessoas assintomáticas, isto é, que não apresentam sintomas clínicos, apenas 14 dos investigados (1,2%) referiram não apresentarem qualquer manifestação de paludismo. Tem sido descrito que os humanos infectados, mesmo os assintomáticos, são capazes de hospedar formas sexuadas dos parasitas, comportando-se assim, como reservatórios naturais para infecção dos mosquitos. Por esse facto, a importância dessa atividade junto às comunidades a fim de se interromper o ciclo de infeção. A Tabela 5 expõe a distribuição dos sintomas referidos.

Dos 14 indivíduos que declararam não apresentarem sintomas, 9 (64,3%) são do género feminino. 71,4% (10/14) desses indivíduos apresentam idades superiores a 5 anos.

Na realidade, as infeções assintomáticas são desenvolvidas por indivíduos, que após vários anos de exposição à doença, desenvolvem uma imunidade clínica, não apresentando sintomas, o chamado estado de premunição. Essa imunidade adquirida parece perder-se quando uma pessoa imune se move de uma área de elevada endemicidade para outra não endémica, indicando que a infeção induz memória imunológica somente a curto prazo. Infere-se portanto que a proteção por premunição (resistência a doença clínica acompanhada por uma presença de infeção patente) exige a persistência de infeção e que a queda abrupta da taxa de transmissão poderá levar a decaimento do estado de premunição.

4.1.4. Terapêutica administrada

Na Tabela 6 são apresentados os medicamentos administrados mediante a gravidade da doença, de acordo com o Protocolo Terapêutico Nacional (CNE 2018).

Dos 79% de indivíduos que receberam tratamento, a terapêutica mais utilizada foi a combinação de Artesunato+amodiaquina+primaquina, administrada a 72,2% dos infetados, revelando tratar-se de situações de paludismo não complicada. Essa percentagem está em sintonia com o exposto pela Unidade de Seguimento e Avaliação do CNE que aponta que, dos 2457 casos registados com paludismo, 86,4% foram de doentes em ambulatório e 13,6%, de casos graves que requereram internamento.

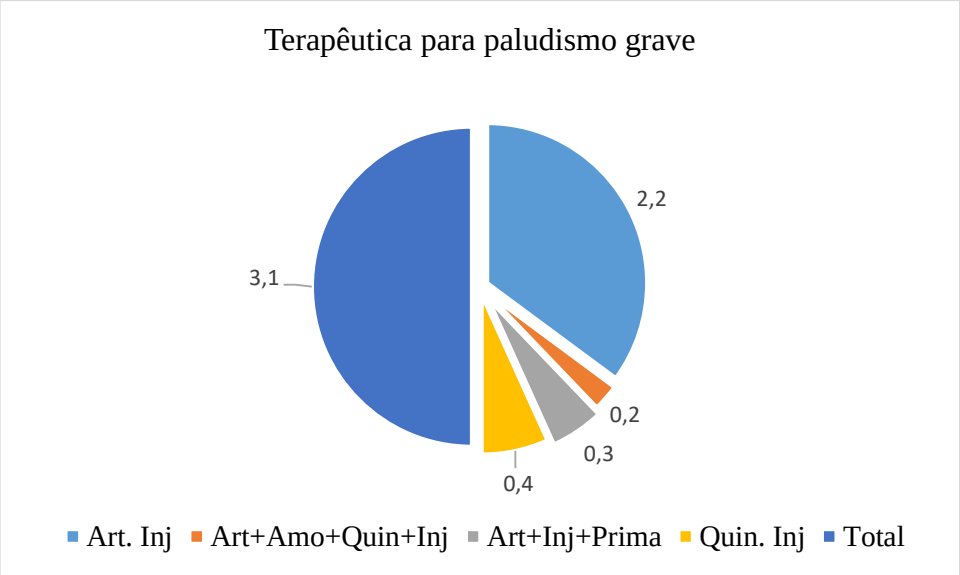
Tabela 6. Distribuição dos medicamentos administrados aos doentes

Terapêutica	**Frequência**	**Percentagem (%)**
Artesunato+Amodiaquina	42	3,6
Artesunato+Amodiaquina +Primaquina	**853**	**72,2**
Artesunato Injectável	26	2,2
Artesunato+Amodiaquina+Quinino Injectável	**2**	**0,2**
Artesunato Injectável+Primaquina	4	0,3
Quinino Injectável	5	0,4
S/I*	249	21,1

**Sem informação*

Na realidade, ao olhar-se para o Gráfico 8, constata-se que 37(3,1%) de casos recorreram a administração de uma terapêutica à base de combinação de artesunato injetável e quinino injetável. Esse facto, revela tratar-se de administração de terapêutica compatível com as formas complicadas de paludismo e, que requereram um internamento hospitalar para o devido tratamento.

Gráfico 8. Terapêutica administrada em caso de paludismo grave

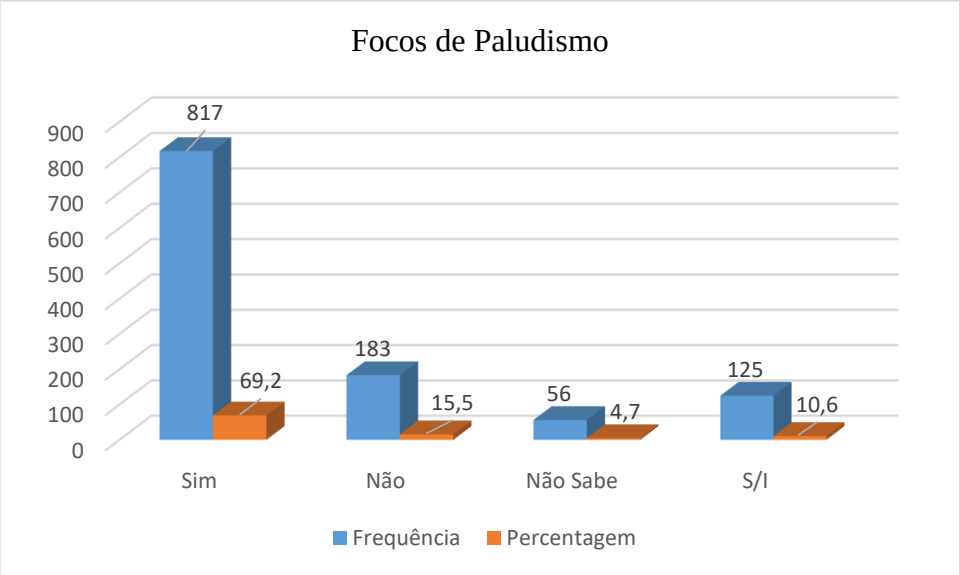


O objetivo imediato do tratamento precoce do paludismo é interromper o ciclo de reprodução do parasita, no sangue, responsável pelas manifestações clínicas agudas da doença e pelas eventuais complicações. Além desse objetivo, o tratamento visa impedir as recidivas da infeção e eliminar os gametócitos (adição de primaquina às combinações).

4.1.5. Caraterização dos focos

Este estudo revela que dos 1181 casos estudados, 817 (69,2%), têm proveniência em focos conhecidos (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Identificação dos focos de paludismo



Desses, a maior prevalência concentra-se do distrito de Água Grande, com 398 (48,7%), seguido do distrito de Lembá onde a percentagem de focos conhecidos é de 25,3%, conforme ilustra o Gráfico 10.

Gráfico 10. Frequência de focos conhecidos em cada Distrito de São Tomé e Região Autónoma de Príncipe

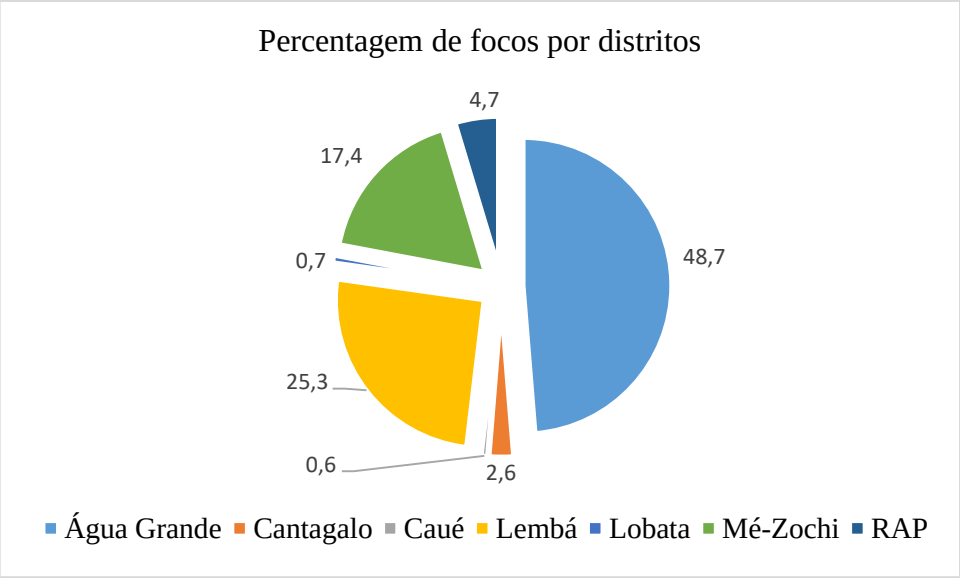


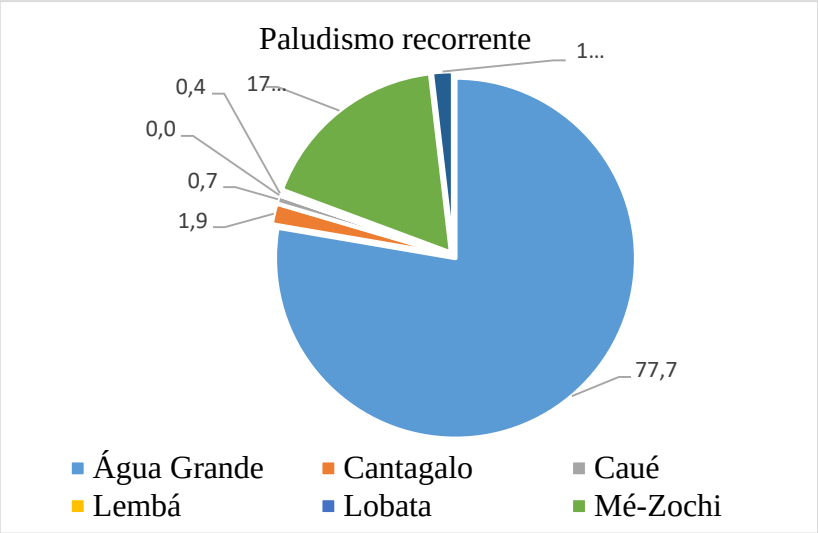
Tabela 7. Frequência de doentes que já tinham adoecido paludismo antes do episódio alvo desse estudo

Recorrência	Frequência	Percentagem (%)
Sim	269	22,8
Não	476	40,3
Não Sabe	1	0,1
S/R**	84	7,1
S/I*	351	29,7

**Sem informação; **Sem resposta*

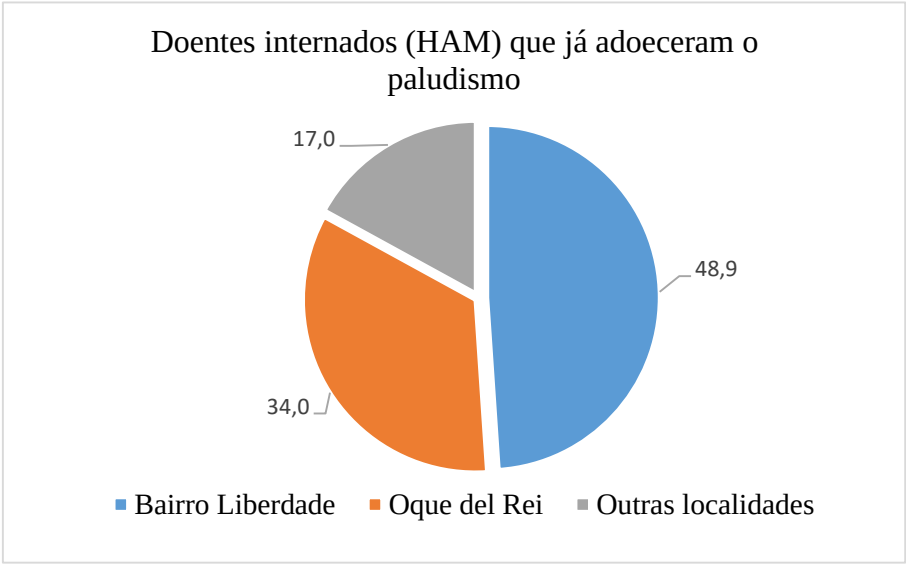
Em 269 dos doentes estudados, o paludismo é recorrente, Tabela 7. Isto é, 22,8% de estudados reportaram já terem adoecido paludismo. 68,1% dos quais são do género masculino. Em 40,3% (476/1181) dos estudados, esse afigura-se como o primeiro episódio. O distrito de Água Grande apresenta uma maior prevalência, 60,2% (162/1181) de infectados que já tinham referido ter adoecido paludismo, pelo menos uma vez antes do episódio alvo desse estudo. A seguir, temos o distrito de Mé-Zóchi com 17,5% dos casos, Cantagalo e RAP com 1,9%, Caué 0,7% e Lobata,0,4%. O distrito de Lembá não reportou qualquer caso (dados não apresentados).

Gráfico 11. Recorrências de paludismo por distrito e região autónoma



Como ilustra o Grafico 11, dos infectdaos estudados, em que paludismo é recorrente, 77,7% são de localidades pertencentes ao distrito de Água Grande. As localidades mais afetadas são: Bairro da Liberdade com 48,9% e Oque d´El Rei com 34% (Gráfico 12).

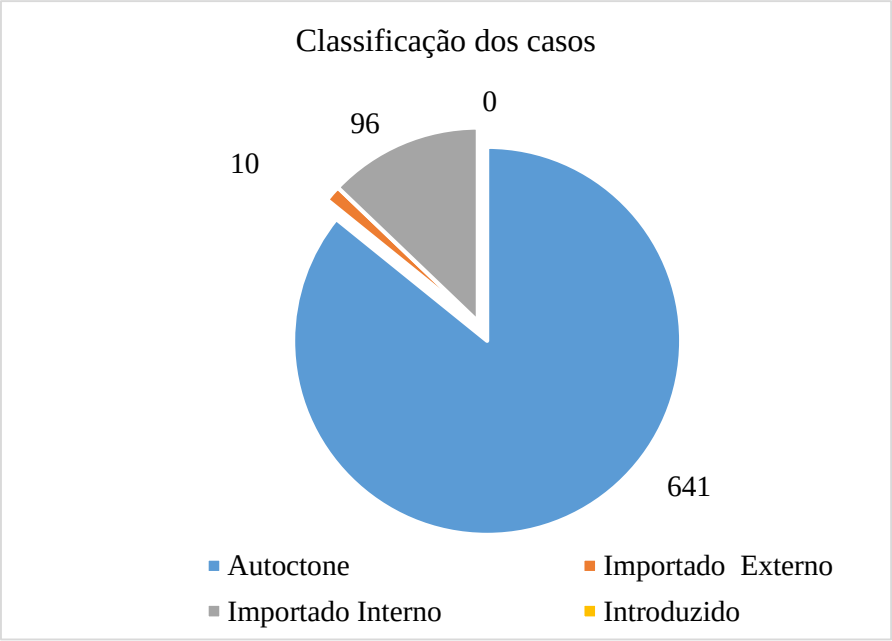
Gráfico 12. Distribuição de localidades de proveniência dos doentes internados no HAM, que já tinham adoecido o paludismo



4.1.6. Classificação dos casos de paludismo por origem de infeção

Os casos identificados nas localidades são investigados e classificados por origem de infeção, em autóctones, importados e introduzidos de acordo a distribuição apresentada no Gráfico 13. 96,3% de casos investigados foram classificados.

Gráfico 13. Frequência de casos registados segundo a origem da infeção



4.1.7. Casos de paludismo classificados, por distritos, RAP e HAM

Verifica-se que 641 dos 1181 casos investigados, isto é, 54,3% são de origem autóctone.

Tabela 8. Distribuição dos casos de paludismo classificados por Distritos, *RAP e HAM*

Locais de Notificação	**Autóctone**	**%**	**Importado**				**Introduzido**	**%**	**Induzido**	**%**
			Externo	%	Interno	%				
Água Grande	323	27	1	0,1	20	1,7	0	0,0	0	0,0
Cantagalo	55	4,7	1	0,1	11	0,9	0	0,0	0	0,0
Caué	4	0,3	1	0,1	7	0,6	0	0,0	0	0,0
Lembá	99	8,4	1	0,1	4	0,3	0	0,0	0	0,0
Lobata	12	1,0	2	0,2	4	0,3	0	0,0	0	0,0
Mé-Zóchi	86	7,3	4	0,3	46	3,9	0	0,0	0	0,0
RAP	45	3,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
HAM	17	1,4	0	0,0	4	0,3	0	0,0	0	0,0
SubTotal	641	54,3	10	0,8	96	8,1	0	0,0	0	0,0
*S/I**	*434 (36,7%)*									

**Sem informação*

A maior contribuição provém do distrito de Água Grande, com 323 (27%) dos casos, como mostra a Tabela 8.

Os indivíduos classificados como importado externo são provenientes de Angola (1), Camaroes (1), Gana (1), Gabão (6) e da Guiné Equatorial (1).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1961), a malária pode ser classificada de acordo com a origem de sua infeção em:

- ***Caso autóctone**:* ocorre quando uma infeção é contraída no local onde o indivíduo reside.
- ***Caso importado**:* ocorre quando uma infeção é contraída fora do local onde o indivíduo reside.
- ***Caso introduzido:*** um caso secundário direto derivado de um caso importado conhecido em áreas onde a transmissão foi interrompida.
- ***Caso induzido***: está relacionada à aquisição da malária por meio de transfusões sanguíneas, transmissão parenteral, compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas com plasmódios, e não à transmissão natural pelo mosquito.

4.1.8. Medidas preventivas de paludismo

As medidas preventivas adotas pelo programa Nacional de Paludismo no controlo do paludismo e reportadas no seu plano estratégico consistem em medidas (i) anti-vectorial, que inclui a distribuição em massa de mosquiteiros impregnado de longa duração de ação (MILDA) a cada 4 anos e Pulverização Intra-domiciliar (PID) e (ii) anti-larval que implica a aplicação de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti 3000) nos criadores de mosquitos. Verificou-se 50,8% dos indivíduos estudados adotaram o uso de MILDA e PID, 5,3% preferiram as medidas anti-larval isto é, preocupam-se com o tratamento dos criadores de paludismo.

A Tabela 9 mostra como se distribuem as medidas preventivas de paludismo adotadas pelos doentes. A medida preventiva adotada com maior frequência neste estudo, é o uso de MILDA, relatada por 25,4% (300/1181) dos doentes. A segunda, é o uso conjugado de PID e do MILDA, que foi relatado por 14,1%, (166/1881) doentes. 3,0% dos doentes estudados não aderem a qualquer medida preventiva.

Tabela 9. Distribuição das medidas preventivas de paludismo adotadas pelos doentes estudados

Medidas de Prevenção preventivas	Frequência	Percentagem (%)
PID	133	11,3
MILDA	300	25,4
PID e MILDA	166	14,1
Tratamento de criadores	63	5,3
Todas as medidas	8	0,7
Nenhuma medida	36	3,0
S/ mosquiteiro	2	0,2
SI*	473	40,1

**Sem informação*

4.2. Seguimento dos casos

O paludismo, devido a sua gravidade clínica e elevada capacidade de disseminação, reveste-se de importância epidemiológica. Por isso a necessidade de tomada de medidas adequadas com o propósito de se interromper o ciclo de sua transmissão. Assim, as pessoas rastreadas, com TDR positivo, são tratadas com o medicamento de primeira intenção, de acordo com o nosso protocolo terapêutico o Artesunato 4mg/kg e Amodiaquina 10 mg/kg de peso corporal, numa toma diária, durante três dias, (*in* Protocolo para o manejo de casos de paludismo, revisto em 2018). Um comprimido de Primaquina, 0,25 mg/kg de peso corporal é adicionado, no primeiro dia do tratamento, com o objetivo de eliminar os gametócitos, que eventualmente possam estar presentes na corrente sanguínea do doente. O dia em que o diagnóstico é realizado e em que se inicia o tratamento, é considerado como dia zero (D0). Após o término do tratamento que é durante 3 dias consecutivos, todos os doentes são controlados nos dias: D3, D7, D14, D21 e D28, de acordo com as diretrizes do protocolo nacional para o tratamento de casos de paludismo.

O controlo de cura, é por recurso à gota espessa e esfregaço sanguíneo, para todos os casos de paludismo. O controlo de cura tem como objetivo a observação da redução progressiva da parasitémia e da eficácia do tratamento e a identificação oportuna de recaídas. Isto é, determinar se se verifica o insucesso terapêutico, que é definido como a incapacidade do medicamento eliminar os parasitas de paludismo e de resolver os sintomas clínicos, depois de completado o regime de tratamento antipalúdico após os 28 dias de controlo.

No caso de fracasso terapêutico, após a toma correta de medicamento de 1ª intenção, o antipalúdico indicado para o tratamento, é a associação terapêutica de 2ª intenção, Artemeter+Lumefantrina - Coartem **(**20 mg de Artemeter+120 mg de Lumefantrina), durante 3 dias consecutivos.

4.2.1. Local de notificação dos doentes

Dos 2457 indivíduos registados nas unidades de saúde em 2019, os 401 (16,3%) analisados nesse estudo, referem-se aos casos seguidos durante 28 dias. 56,1% (225/401) destes, são do género masculino e 43,4% (174/401) do feminino.

O maior número de casos controlados, 89,3%, é proveniente de internamentos no HAM. A Tabela 10 refere à distribuição dos locais de proveniência, dos doentes.

Tabela 10. Distribuição de casos seguidos durante 28 dias, por local de notificação

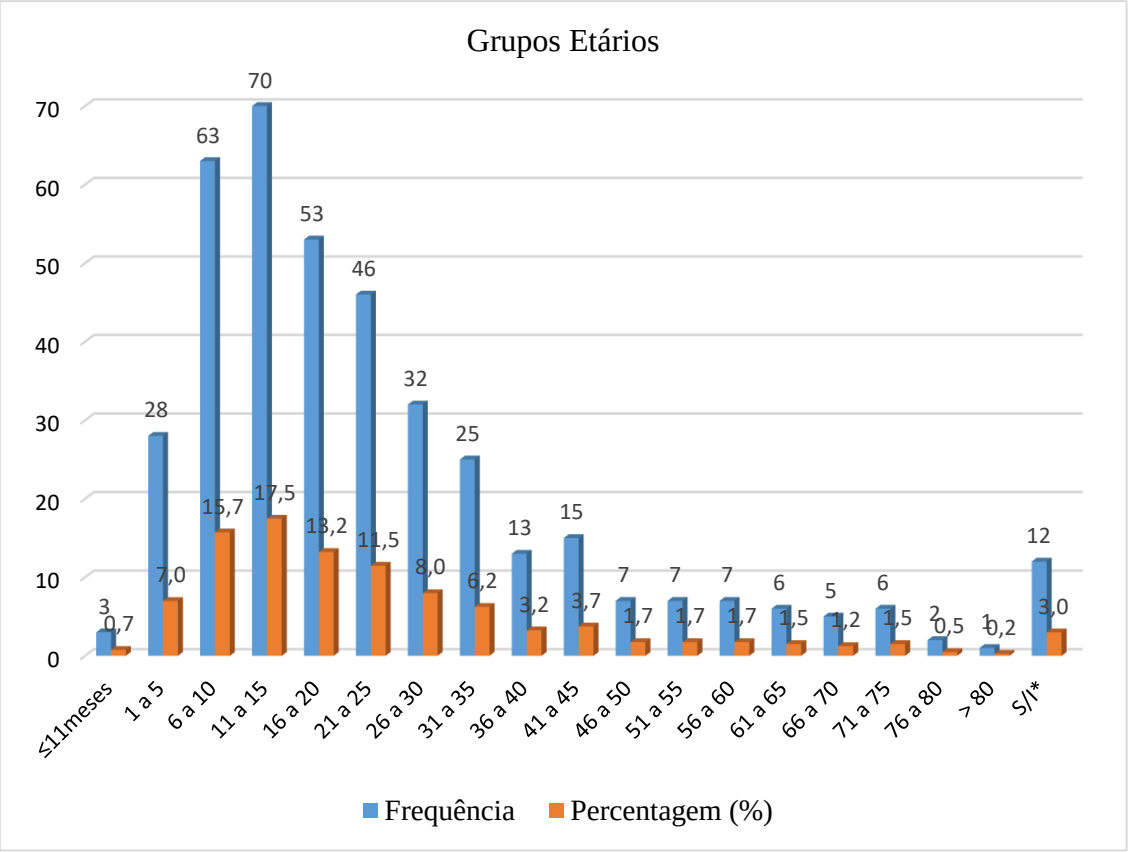
Unidade de Saúde	Frequência	Percentagem (%)
Busca ativa na comunidade	1	0,2
Bombom	35	8,7
Centro de Saúde de Água Izé	1	0,2
Caixão Grande	1	0,2
H.A.M.	358	89,3
Pantufo	5	1,2
Total	401	100,0

4.2.2. Distribuição por grupos etários

A distribuição etária dos doentes investigados variou de 3 meses a 81 anos.

O grupo etário que envolve maior número de casos é o de 11 a 15 anos, e representa 17,5% (70/401) doentes

Gráfico 14. Distribuição por grupo etário dos doentes investigados



A distribuição dos doentes por grupo etário, é agregado em menor número de classes, de modo a facilitar os cálculos (Tabela 11).

Tabela 11. Distribuição dos grupos etários

Grupos etários	Frequência	Percentagem (%)
≤ 11 meses	9	2,2
1 a 5 anos	18	4,5
6 a 13 anos	107	26,7
≥14	250	62,3
S/I*	17	4,2

**Sem informação*

O grupo etário que agrega os indivíduos maiores de 14 anos, é o que regista maior número de casos seguidos, 62,3% (250/401) como mostra a Tabela 11. O grupo etário de ≤ 11 meses apresenta menor número de casos seguidos, isto é 2,2% (9/401).

4.2.3. Local de Proveniência dos casos

Gráfico 15. Distribuição por local de proveniência dos casos

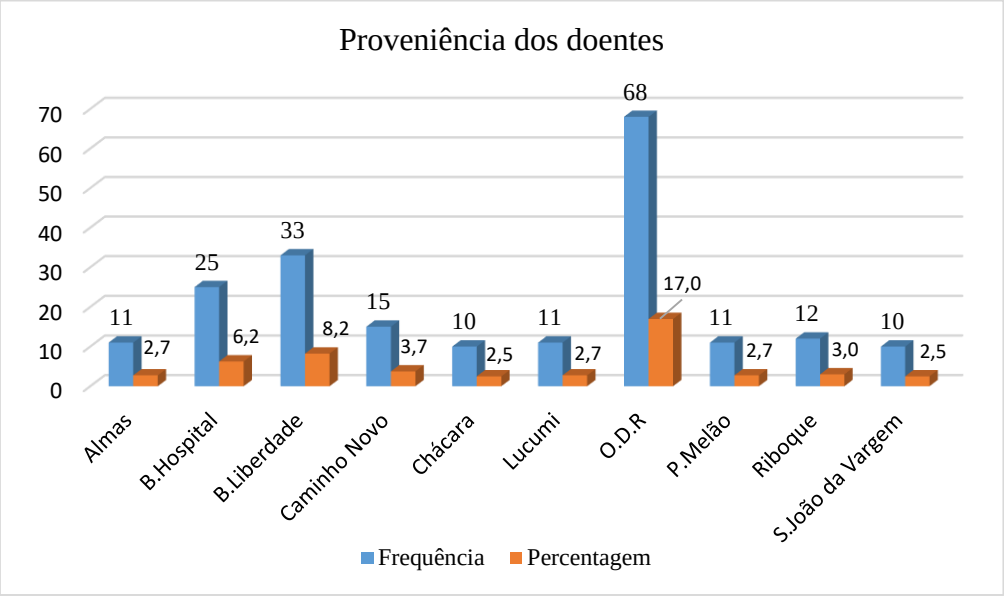


Tabela 12. Distribuição das densidades parasitárias *(adaptado de Bruce Schwatt)* por Unidade de Saúde

Parasitémia	Unidade de Saúde						Total
	B.A	Bombom	Centro Saúde A. Izé	Caixão Grande	H.A.M	Pantufo	
F1	0	0	0	0	57	0	57
F2	0	5	0	0	24	0	29
F3	1	10	0	0	31	1	43
F4	0	5	0	0	26	0	31
F5	0	4	0	0	29	1	34
F6	0	4	0	0	12	1	17
F8	0	0	0	0	6	1	7
F9	0	1	0	0	34	0	35
S/I*	0	6	1	1	139	1	148

**Sem informação*

De acordo com o resultado de teste Qui quadrado, X^2=61,45, P= 0,016, não existe diferença significativa entre a densidade parasitária e o local de notificação dos casos, (p<0,05). De referir que, o maior número de casos seguidos, é proveniente dos serviços de internamento no HAM, como mostra a Tabela 12.

O qui-quadrado é um teste estatístico aplicado a dados categóricos para avaliar o quão provável é que qualquer diferença observada aconteça ao acaso. Aplica-se portanto, quando se pretende analisar a dependência entre duas variáveis através de uma tabela de contingência.

Tabela 13. Distribuição das densidades parasitárias *(adaptado de Bruce Schwatt)* por Grupo etário

Parasitémia	Grupo etário				Total
	≤ 11 meses	1 a 5 anos	6 a 13 anos	≥14	
F1	1	2	12	41	56
F2	1	3	8	15	27
F3	0	0	13	29	42
F4	3	0	6	20	29
F5	1	4	7	21	33
F6	1	1	7	8	17
F8	0	0	1	5	6
F9	0	1	9	20	30
S/I*	2	7	44	91	144

**Sem informação*

Apesar de se constatar que grupo etário que inclui os indivíduos com as idades superiores a 14 anos é a mais afetada, (Tabela 13) o resultado de X^2=27,98, P= 0,260, indica uma diferença significativa entre os grupos etários e a densidade parasitária. Os dados indicam que, não há uma relação entre as idades e a densidade parasitária. Isto é, apesar de o grupo etário com idades superiores a 14 anos ficarem doentes com maior frequência, não significa que é esse que apresenta maior densidade parasitária.

4.2.4. Terapêutica administrada

Na Tabela 15 são apresentados os medicamentos administrados mediante a gravidade da doença, de acordo com o Protocolo Terapêutico Nacional (CNE 2018). Ela evidencia que 32,9% (132/401) de doentes foram tratados com combinação artesunato e amodiaquina, o medicamento de primeira intenção. Esse facto revela que o parasita ainda é susceptível ao medicamento de primeira intenção, e corrobora os resultados do teste de eficácia terapêutica realizado em 2017 (CNE/PNLP 2017). Apenas em 0,2 % de casos recorreu-se ao uso de quinino, revelando estar-se diante de formas graves de paludismo.

Tabela 14. Distribuição dos medicamentos administrados aos doentes

Medicamento	Frequência	Percentagem (%)
Artesunato injectável	30	7,5
Artesunato+Amodiaquina	132	32,9
Artesunato+Amodiaquina+Primaquina	104	25,9
Quinino injectável	1	0,2
Quinino	1	0,2
S/I*	133	33,2

**Sem informação terapêutica*

4.2.5. Período de seguimento dos casos

Os controlos foram efetuados por meio da lâmina de verificação de cura (LVC), de acordo com a agenda de seguimento de casos no 3º, 7º, 14º, 21º e 28 dias, isto é, D3, D7, D14, D21 e D28. Os resultados em detalhe, na Tabela 16. O controlo de cura tem como objetivo a observação da redução progressiva da parasitémia e da eficácia do tratamento e a identificação oportuna de recaídas.

De acordo com os dados de seguimento dos casos, 349/401 (98,3%), foram medicados no D0 e nos dois dias subsequentes, conforme o protocolo de manejo de casos.

Tabela 15. Resultado do tratamento de seguimento durante 28 dias

Resultado pós tratamento	D3		D7		D14		D21		D28	
	Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%
Lâminas Negativas	300	74,8	353	88,0	352	87,8	353	88,0	351	87,5
Lâminas Positivas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S/I*	101	25,2	48	12,0	49	12,2	48	12,0	50	12,5

**Sem informação*

Apenas 300 doentes, isto é, 74,8%, foram sujeitos ao controlo no D3. Em média foram seguidos de, D3 a D28, 85,2%, indivíduos (341,8/401). O máximo de casos seguidos foi obtido no D7 e D21 (88%), segundo dados exibidos na Tabela 15. De acordo com os dados, não foram registados a 100% o seguimento casos. Trata-se de uma constatação inquietante pois que, tem sido descrito que os tratamentos inadequados de casos de infeção por parasitas de paludismo conduzem à sua recrudescência. Portanto, o facto de os doentes não cumprirem os dias prescritos para o tratamento, pode originar a recrudescência de casos, com as advindas manifestações clínicas e, por outro, o doente funcionar como reservatório, disseminando a doença. Porém, de acordo com os dados apresentados, não são registados

casos de insucesso terapêutico. O resultado pós-tratamento é de 100% de resposta clínica e parasitológica adequada (RCPA).

A avaliação repetida dos resultados parasitológicos do tratamento, durante um determinado período de seguimento (D3, D7, D14, D21 e D28), são executados para se detetarem sintomas ou sinais de reemergência de paludismo clínico e/ou parasitas no sangue, o que apontaria para uma menor sensibilidade desses ao tratamento ministrado.

Foram assinalados entre 12,5% e 25% de doentes sem informações (S/I) por lacunas nas fichas de seguimento ou devido a não localização dos doentes em seguimento.

5. VIESES E CONFUNDIMENTO NOS RESULTADOS OBTIDOS

Tratam-se de erros sistemáticos, originados por uma incorreção metodológica no decorrer da investigação e que pode deturpar o seu resultado:

- Erros na recolha e introdução de dados;
- Dados de muitas variáveis não foram recolhidos, assinalados por S/I;
- A microscopia óptica permite a detecção de até 5-10 parasitas/µl, no entanto, esse limite é dependente do nível de experiência do responsável pela interpretação do teste;
- Preparação inadequada das lâminas, leva a hemólise dos glóbulos vermelhos e consequentes alterações na morfologia do *plasmodium*;
- Apesar de não terem sido considerados nesse relatório, foram relatadas situações de TDRs com resultados de falsos negativos ou de falsos positivos durante a investigação. Os TDRs baseiam-se em biomarcadores tais como as aldolases de *Plasmodium*, proteína Rica em Histidina-2 (HRP-2) de *Plasmodium falciparum* e a Lactato Desidrogenase de *Plasmodium* (pLDH). As aldolases são as principais enzimas da via glicolítica do *Plasmodium*, que são libertadas na corrente sanguínea dos infectados e são encontradas no citoplasma dos parasitas (Dzakah *et al*., 2013):
    - A proteína *Pf*HRP-2, possui o viés de permanecer nos organismos por um período de tempo mesmo após a cura do paciente, podendo originar *falsos positivos* (Houze *et al*., 2009; Iqbal *et al.*, 2004). Podem permanecer positivos durante semanas após a infeção inicial, mesmo sem recrudescência;
    - Estudos têm demonstrado que pode haver a deleção do gene de HRP2 em algumas estirpes de *Plasmodium falciparum*, originando *em falsos negativos* para os testes de diagnóstico que usam esse antígeno como marcador (Koita *et al*., 2012; Kumar *et al.*, 2013);

- O sucesso de uma investigação, que depende da memória e lembrança das pessoas sobre circunstâncias de sua vida quotidiana (tratamentos, deslocações, situação clínica, contactos), requer por esse facto que, a recolha de dados seja o mais próximo possível da ocorrência da notificação de casos o que por vezes não ocorre.

6. CONCLUSÕES

A detecção de infecções e a investigação de casos nos doentes e em pessoas que partilham o mesmo ambiente de vida com alguém a quem foi diagnosticado paludismo, numa unidade de saúde ou por deteção ativa de casos sua comunidade e, fornece informações sobre a potencial exposição às mesmas fontes de infeção, e elucida se se está perante uma transmissão local ou de importação de casos. O seguimento de casos permitiu tratar e controlar os doentes infectados salvaguardando a interrupção da doença e a sua possível disseminação.

De acordo com os dados analisados, foram as seguintes, as conclusões obtidas:

- foram investigados 1181(48,1%) indivíduos e seguidos 401(16,3%), de um total de 2457 casos registados nas unidades de saúde e nas comunidades, por busca ativa de casos em 2019;
- 20,9% foram investigados no mesmo dia em que foram notificados;
- em 24h foram investigados 12,7% e em 48h, 8,4% dos casos;
- 30% dos infetados formam investigados após as 48h, tendo-se constatado investigações realizadas com mais de 60 dias;
- RAP (76,6%) e o distrito de Lobata (75%), realizaram a investigação de casos em menos de 24h;
- os casos foram mais frequentes no género masculino e a intensidade de casos foi maior no grupo etário dos 11-15 anos, com 17,4%;
- a espécie parasitária predominante, de acordo com a metodologia utilizada, TDR e/ou microscopia, é *Plasmodium falciparum*;
- 54,3% de infeções é contraída no local onde o indivíduo reside;
- 98,3% dos casos de paludismo iniciaram o tratamento logo após a detecção dos casos por TDR;
- não foram estudados nem controlados em 100%, os casos registados em 2019;
- os registos muito incompletos com imensa de inconsistência.

7. RECOMENDAÇÃO

1. Formação/atualização urgente dos técnicos.
2. O seguimento de todos os doentes durante o tratamento dos casos, a todos os níveis dos serviços de saúde.
3. E necessário a insistência informativo-comunicacional nos pais para o uso de MILDA.
4. Preenchimento completo dos formulários para acautelar a perda de informações de variáveis imprescindíveis.
5. Incluir no formulário de investigação o local onde o doente exerce a sua profissão por forma a se classificar os casos com maior acuidade.
6. Foram relatadas situações de falsos negativos e de falsos positivos durante a investigação, pelo que o estudo molecular, usando a tecnologia PCR, deve ser usada para verificar a existência ou não de uma mutação do gene de HRP2 e distinguir entre parasitas recrudescentes e infecções recentemente adquiridas, respectivamente.
7. É fundamental que a vigilância epidemiológica da doença seja fortalecida no sistema nacional de saúde, para que os dados de investigação e seguimento dos casos, sejam regularmente obtidos e analisados a fim de permitir o acompanhamento e controlo da doença com maior acuidade.
8. Em contacto com os colaboradores cuja função é essencialmente, a colheita de dados epidemiológicos sobre o paludismo, aponta para o seguinte que o modelo utilizado até então pelo CNE no Recrutamento e Seleção desses colaboradores é inapropriado para garantir um grau de pelo menos 50% a confiabilidade dos dados. Nessa medida, sugere-se urgência de definição de critérios válidos para recrutamento e seleção de colaboradores.
9. Aquisição de GPS para o mapeamento dos casos de paludismo, visto que nem todos os casos de paludismo detetados não puderam ser devidamente mapeados;
10. Aquisição de termómetros à distância para o despiste de temperatura corporal dos investigados.

8 . REFERÊNCIAS

1. Bandeiras C, Trovoada MJ, Gonçalves LA, Marinho CRF, Turner L, Hviid L, Penha-Gonçalves, C and Gomes MG (2014) *Modeling Malaria Infection and Immunity against Variant Surface Antigens in Príncipe Island,* West Africa. PLoS ONE 9(2): e88110. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088110;

2. Dzakah, E.E.; Kang, K; Ni, C; Wang,H; Wu, P; Tang, S; Wang, J; Jufang Wang, J and Wang, X. (2013) *Plasmodium vivax aldolase-specific monoclonal antibodies and its application in*

clinical diagnosis of malaria infections in China. Malaria journal, v. 12, n. 1, p. 199, 2013. doi: 10.1186/1475-2875-12-199;

3. Ghani, AC; Sutherland; CJ; Riley, EM; Drakeley, CJ; Griffin, JT; Gosling, RD and Filipe, JAN (2009) *Loss of population levels of immunity to malaria as a result of exposure-reducing interventions: consequences for interpretation of disease trends.*PLOS One 4: e4383;
4. Houze, S; Boly, MD; Bras, JL; Deloron, P and Faucher, J-F (2009) PfHRP2 and PfLDH antigen detection for monitoring the efficacy of artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated falciparum malaria. Malaria Journal, v. 8, n. 1, p. 211,. doi: 10.1186/1475-2875-8-211;
5. Iqbal, J; Siddique, A; Jameel, M and Hira PR (2004) *Persistent histidine-rich protein 2, parasite lactate dehydrogenase, and pan malarial antigen reactivity after clearance of Plasmodium falciparum monoinfection*. Journal of clinical microbiology, v. 42, n. 9, p. 4237–41;
6. Koita, OA; Doumbo, OK; Ouattara, A; Tall, LK; Konaré, A; Diakité, M; Diallo, M; Sagara, I; Masinde, GL; Doumbo, SN; Dolo, A; Tounkara, A; Traoré, I and Krogstad, DJ (2012) *False-negative rapid diagnostic tests for malaria and deletion of the histidine-rich repeat region of the hrp2 gene.* Am J Trop Med Hyg. Feb;86(2):194-8. doi: 10.4269/ajtmh.2012.10-0665;
7. Kumar, N; Pande,V; Bhatt, RM; Shaha, NK; Mishraa, N; Srivastavaa, B; Valechaa, N and Anvikar, AR (2013). *Genetic deletion of HRP2 and HRP3 in Indian Plasmodium falciparum population and false negative malária*. Acta tropica 125(1) October;
8. Organização Mundial de Saúde – (OMS). *World Health Organization* (WHO). Classificação dos casos de malária. Genebra, 1961 (WHO/PA/164.61);
9. Protocolo para o manejo de casos de paludismo, revisto em 2018;
10. Relatório de avaliação a meio percurso do PNLP 2019;
11. Trovoada MJ (2010) Relatório de actividades FCT SFRH/BPD/35062/2007;
12. *Rapport provisoire de l'etude Efficacite et innocuite de l'artesunate-amodiaquine Pour le traitement du paludisme a Plasmodium falciparum non complique dans les unites de sante des districts d'Agua Grande et lobata de l'ile de Sao Tome, Sao Tome et Principe : mai – aout*, 2017.