

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas

Gustavo Vital de Mendonça

Análise da série histórica de malária residual em municípios do Espírito Santo com sistemas de Mata Atlântica no período de 2007 a 2018.

Vitória
2019

Gustavo Vital de Mendonça

Análise da série histórica de malária residual em municípios do Espírito Santo com sistemas de Mata Atlântica no período de 2007 a 2018.

Dissertação apresentada à banca avaliadora do Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas.

Linha de Pesquisa: epidemiologia das doenças infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
Coorientadora: Prof. Dra. Eliana Zandonade

Vitória
2019

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família. Minha esposa Brígida, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, me apoiando de maneira incondicional, e minha filha Maria Eduarda, que é a razão de todo o meu esforço e empenho. Amo vocês.

Agradecimentos

Agradeço o apoio de todos os docentes e discentes do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas, em especial ao meu orientador Crispim Cerutti Junior pelos ensinamentos, paciência e disponibilidade. Agradeço, também, a minha coorientadora Eliana Zandonade e ao Professor Adelmo Inácio Bertolde.

Agradeço o apoio institucional da SESA – Secretária de Estado da Saúde, do LACEN – Laboratório Central, do INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa Assistência Técnica e Extensão Rural e da Prefeitura Municipal de Vila Velha.

Resumo

Introdução: A malária, há milhares de anos, tem se mantido como uma das mais importantes doenças infecciosas que ocorrem no homem. É causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida pela picada da fêmea infectada de mosquito do gênero *Anopheles*. A malária autóctone de Mata Atlântica, ou malária residual de sistemas de Mata Atlântica (RSMA), deve-se à presença das bromélias, cujos verticilos são utilizados para a reprodução dos mosquitos *Anopheles* do subgênero *Kerteszia*. Estes são considerados os vetores primários, tanto da malária humana como da malária símia, nesta região, o que gera discussão se a malária bromélia poderia ser considerada uma zoonose. No primeiro semestre de 2017, o Brasil vivenciou um grande surto de febre amarela, sendo que, até 31 de maio de 2017, foram notificadas, ao Ministério da Saúde, 3.850 ocorrências de morte de primatas não humanos, sendo 642 confirmadas para febre amarela por critério laboratorial ou vínculo epidemiológico. Objetivos: Avaliar o impacto da epizootia de febre amarela sobre os casos de malária residual de sistemas de Mata Atlântica e a associação dos fatores climáticos com a ocorrência da malária na região do estudo. Métodos: Foi desenvolvido um banco de dados contendo os casos de malária autóctone registrados nos municípios de Domingos Martins e Santa Teresa (n=244), região serrana do estado do Espírito Santo, entre os anos de 2007 e 2018. Realizou-se análise por meio de um modelo de regressão de Poisson com a adoção de uma média móvel de três meses. Resultados: Modelos de Poisson puderam demonstrar correlação negativa entre a epizootia de febre amarela e o número de casos de malária. Foi encontrada correlação positiva estatisticamente significativa entre o número de casos de malária e a temperatura máxima média no mês anterior. O modelo adotado apresentou baixo poder de explicação dada a natureza multifatorial da cadeia de transmissão. Concluímos que os símios têm papel importante na ocorrência da malária de Mata Atlântica, mas a sua presença não é suficiente para explicar todos os aspectos existentes na complexa cadeia de transmissão. Palavras-chave: malária, epidemiologia, bromélia, distribuição de Poisson, febre amarela.

Abstract

Introduction: Malaria, for thousands of years, has remained one of the most important infectious diseases occurring in humans. It is caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, being transmitted by the bite of the infected female mosquito of the genus *Anopheles*. The autochthonous malaria of the Atlantic Forest, or residual malaria of the Atlantic Forest systems (RSMA), is due to the presence of the bromeliads, whose whorls are used in the reproduction of the *Anopheles* mosquitoes of the subgenus *Kerteszia*. These are considered the primary vectors of both human malaria and simian malaria in this region, which raises the question of whether bromeliad malaria could be considered a zoonosis. In the first half of 2017, Brazil experienced a large outbreak of yellow fever, and up to May 31, 2017, 3,850 deaths of non-human primates were reported to the Ministry of Health, 642 of which were confirmed for yellow fever by laboratory criterion or epidemiological link. Objectives: To evaluate the impact of the yellow fever epizootic on the cases of residual malaria in the Atlantic Forest systems and to evaluate the association of climatic factors with the occurrence of malaria in the study region. Methods: A database containing the cases of autochthonous malaria recorded in the municipalities of Domingos Martins and Santa Teresa (n = 244), in the mountain region of the state of Espírito Santo, between 2007 and 2018 was developed. Analysis were performed using a Poisson regression model with the adoption of a three-month moving average. Results: The Poisson models were able to demonstrate a negative correlation between the yellow fever epizootic and the number of malaria cases. A statistically significant positive correlation was found between the number of malaria cases and the mean maximum temperature in the previous month. The adopted model presented low power of explanation given the multifactorial nature of the transmission chain. We conclude that apes play an important role in the occurrence of Atlantic Forest malaria, but their presence is not enough to explain all the aspects of the complex chain of transmission. Keywords: malaria, epidemiology, bromeliad, Poisson distribution, yellow fever.

Sumário

1 – Introdução.....	8
2 – Revisão de literatura	
2.1 – Aspectos fundamentais da malária.....	12
2.2 – Malária bromélia.....	13
2.3 – Vetor.....	16
2.4 – Relação com fatores ambientais	20
2.5 – Zoonose	26
2.6 – Portadores assintomáticos	29
3 – Justificativa	32
4 – Materiais e métodos	
4.1 – Local e população do estudo	33
4.2 – Dados meteorológicos	34
4.3 – Análise estatística	34
5 – Resultados	
5.1 – Relação com dados ambientais	38
5.2 – Impacto do surto de Febre Amarela	38
6 – Discussão	39
7 – Conclusão	43
8 – Referências	44
9 – Apêndice	52

1 – INTRODUÇÃO

A malária, há milhares de anos, tem se mantido como uma das mais importantes doenças infecciosas que ocorrem no homem. É causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida pela picada da fêmea infectada de mosquito do gênero *Anopheles*. Existem cinco espécies capazes de causar doença nos seres humanos: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* (WHITE *et al.*, 2013). Mais recentemente, estudos de Sutherland *et al.* (2010; 2015) comprovaram que as subespécies *Plasmodium ovale curtisi* e *Plasmodium ovale wallikeri* seriam, na verdade, duas espécies que, apesar de simpátricas, não se recombinavam, devido a dimorfismo total nas sequências codificadoras de proteínas importantes na fase sexuada do ciclo de vida do parasito. No Brasil, a maioria dos casos é devida às espécies *P. vivax* (cerca de 80%) e *P. falciparum*, a qual é responsável pelos casos mais graves da doença. (PHILLIPS *et al.*, 2017).

Os sintomas da doença variam de acordo com a espécie do parasito e sua relação com a resposta imune do hospedeiro, podendo a infecção ser classificada como assintomática, não complicada ou grave. Os sintomas clássicos da malária surgem quando da ruptura de hemácias infectadas por Plasmódio. Os sintomas graves incluem anemia intensa e alterações em múltiplos órgãos, incluindo a malária cerebral (PHILLIPS *et al.*, 2017; WHO, 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima o número de casos de malária ocorridos no ano de 2017 em 219 milhões. Destes, a maior parte localiza-se na África (91,32%), seguida do sudeste da Ásia (5,15%), leste do Mediterrâneo (2,01%) e Américas (0,44%). Dezoito por cento dos casos incidentes nas Américas ocorrem no Brasil, perfazendo uma média de 396,6 mil ocorrências entre 2000 e 2013 (PINA-COSTA *et al.*, 2014), das quais 99,5% foram registradas na Região Amazônica. Mundialmente, a malária foi responsável por 435 mil mortes em 2017 (WHO, 2018).

Existem três perfis de transmissão da malária no Brasil: o perfil amazônico, os casos importados, que correspondem aos casos contraídos em áreas endêmicas fora da região do domicílio do indivíduo, e o perfil de transmissão autóctone na região de

Mata Atlântica (0,05% do total) (PINA-COSTA *et al.*, 2014). Para Carlos *et al.* (2019), os perfis de transmissão no Brasil podem ser divididos de acordo com o vetor principal envolvido: o primeiro sistema é relacionado com a floresta Amazônica, onde o vetor principal pertence ao subgênero *Nyssorhynchus*. O segundo sistema seria o de sistemas residuais de Mata Atlântica, onde as espécies do subgênero *Kerteszia* são vetores principais, porém não únicos. O terceiro sistema, encontrado ao longo da costa brasileira do Nordeste e Sudeste, é mantido por vetores *An. aquasalis*, do subgênero *Nyssorhynchus*.

A malária autóctone de Mata Atlântica, ou malária residual de sistemas de Mata Atlântica (RSMA), deve-se à presença das bromélias, cujos verticilos são utilizados para a reprodução dos mosquitos *Anopheles* do subgênero *Kerteszia*. Estes são considerados os vetores primários, tanto da malária humana como da malária símia nessa região, o que gera discussão se a malária bromélia poderia ser considerada uma zoonose (KIRCHGATTER *et al.*, 2014). Esta hipótese é respaldada pelo fato de *Plasmodium brasilianum* e *Plasmodium simium*, espécies de parasitos responsáveis pela malária símia no Brasil, serem genética, morfológica e imunologicamente indistinguíveis de *P. malariae* e *P. vivax*, respectivamente (ALVARENGA *et al.*, 2015).

Brasil *et al.* (2017) avaliaram os casos de malária autóctone de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, ocorridos entre 2006 e 2014, com o objetivo de verificar a ocorrência de uma transmissão zoonótica. Para tanto, avaliaram as amostras oriundas de hospedeiros humanos e símios por meio de microscopia e de técnicas de biologia molecular. Entre os achados, estão a diferença morfológica entre os parasitos encontrados na região e o *P. vivax* encontrado na região Amazônica. Também foi possível detectar, pelo sequenciamento do genoma mitocondrial, a presença de apenas dois Polimorfismos de Único Nucleotídeo (SNP) que diferenciaram *P. simium* de *P. vivax*. Entretanto, em estudo realizado por Buery *et al.* (2017), foram encontrados sete haplótipos distintos em vinte e duas amostras oriundas de hospedeiros humanos. Destes, dois eram partilhados com amostra obtida de hospedeiro símio, revelando a transferência dos protozoários entre hospedeiros símios e humanos. Neste estudo, os autores também investigaram a presença dos SNPs no DNA mitocondrial do parasito indicados por Brasil *et al.* (2017). Entretanto, este polimorfismo não era fixo, variando

em ao menos três amostras oriundas de hospedeiros humanos, o que inviabilizou sua utilização na identificação de *P. simium* e *P. vivax* como espécies distintas.

Entre as características da malária RSMA, estão a distância espacial e temporal entre os casos humanos, a baixa intensidade dos sinais e sintomas e a baixa parasitemia (CERUTTI Jr *et al.*, 2007). A denominação de malária bromélia se deve à sua associação com os vetores do subgênero *Kerteszia*. Em 1946, Downs e Pittendrigh descreveram a ecologia dos vetores *Anopheles (Kerteszia) bellator* e sua relação com a cadeia de transmissão de malária em regiões de plantação de cacau na ilha de Trinidad. Relataram a predileção de tal espécie por certos tipos de bromélia, em especial as que acumulam maior quantidade de água em seus verticilos. Demonstraram que, apesar de ser uma espécie que tem por habitat preferencial as matas, é capaz de sair da mata para realizar repasto sanguíneo nos assentamentos humanos localizados nas proximidades da floresta.

O Espírito Santo registra, em média, cerca de 100 casos de malária por ano, dos quais 10 a 30 são de malária RSMA. Entre os anos de 2007 e 2012, foram notificados 476 casos de malária no estado, dos quais 57% foram casos autóctones e, destes, 83,8% ocorreram na região de Mata Atlântica (SESA – ES).

No primeiro semestre de 2017, o Brasil vivenciou um grande surto de febre amarela com 3.240 casos notificados, dos quais 792 foram confirmados. Os estados de Minas Gerais e Espírito Santo foram os que concentraram o maior número de casos. No Espírito Santo, foram confirmados 260 casos de um total de 830 notificações. O pico da epidemia se deu entre os dias 12 e 26 de janeiro. No entanto, no Espírito Santo, houve um novo aumento no número de casos no mês de março, sendo o último confirmado em 29 de abril de 2017. O perfil demográfico dos casos confirmados coincide com aquele geralmente observado nos surtos de febre amarela silvestre, com a maior parte em pacientes do sexo masculino em idade economicamente ativa, uma vez que esses indivíduos se expõem com maior frequência a áreas e situações de risco, sobretudo em decorrência de atividades laborais. O número de óbitos registrados no ES foi de 122, de um total nacional de 435 (BRASIL, 2017).

Até 31 de maio de 2017, foram notificadas, ao Ministério da Saúde (MS), 3.850 ocorrências de morte de primatas não humanos, sendo 642 confirmadas para febre amarela por critério laboratorial (exame sorológico) ou vínculo epidemiológico, considerando-se sua relação com áreas afetadas (municípios com evidência de circulação viral) ou, em um critério ampliado, com municípios limítrofes àqueles afetados, o que resultou em envolvimento de 5.553 animais (BRASIL, 2017).

Mudanças na biodiversidade podem alterar o risco de exposição a doenças infecciosas de duas maneiras distintas: maior biodiversidade aumenta a quantidade de fontes potenciais de patógenos, porém, em contrapartida, pode reduzir a transmissibilidade do patógeno em doenças longamente estabelecidas ou em doenças emergentes. Entretanto, recentemente, tem-se estabelecido que uma redução na biodiversidade resultaria em um aumento na incidência de doenças infecciosas. Um exemplo é o vírus da febre do Nilo Ocidental, o qual tem como hospedeiros os pássaros. Foi estabelecido que uma redução no número de pássaros está associada a um maior risco de infecção de seres humanos por este vírus. Contudo, esse padrão não é único. No caso de a espécie a ser reduzida pela perda de biodiversidade atuar como reservatório ou amplificadora do patógeno, o efeito esperado é o de redução no número de casos da doença (KEESING *et al.*, 2010).

Ao considerar-se a hipótese de zoonose para a malária RSMA, a redução na população de primatas não humanos devido ao surto de febre amarela levaria à redução nos reservatórios naturais de *Plasmodium*, assim afetando a cadeia de transmissão desta forma de malária, o que resultaria em redução no número de casos.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - ASPECTOS FUNDAMENTAIS DA MALÁRIA

A malária é a mais importante doença infecciosa da espécie humana, com transmissão em mais de cem países, região habitada por aproximadamente três bilhões de pessoas. A doença é causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo que a grande maioria das infecções é causada pelas espécies *P. vivax* e *P. falciparum* (esta responsável pelos casos mais graves), que infectam o hospedeiro por meio da picada da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles* (WHITE *et al.*, 2013).

Nas regiões onde há intensa transmissão da malária, como na África subsaariana, as maiores taxas de morbidade e mortalidade concentram-se em crianças menores de cinco anos, devido a um certo grau de imunidade adquirida em decorrência da exposição constante ao parasito ao longo da vida. Em regiões onde a transmissão é particularmente sazonal, tal proteção não ocorre. Outra forma de proteção contra a malária decorre de fatores genéticos que oferecem vantagem evolutiva aos seres humanos na longa convivência entre parasito e hospedeiro, entre os quais anemia falciforme, hemoglobinopatia C e E, talassemia e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (WHITE *et al.*, 2013; PHILLIPS *et al.*, 2017).

Clinicamente, a malária se manifesta inicialmente com sintomas inespecíficos como mal-estar, cefaleia, mialgia, desconforto abdominal e febre irregular. Também ocorrem náusea, vômito e hipotensão ortostática. Com o transcurso da infecção, é comum o encontro de hepatoesplenomegalia. Nos casos mais graves, há anemia intensa, lesão renal, hipoglicemia, edema pulmonar ou coma (malária cerebral) (WHITE *et al.*, 2013).

Os casos de malária grave decorrem em sua maioria da infecção por *P. falciparum* e sua virulência decorre de uma série de fatores, entre os quais encontra-se a expressão de proteínas do parasito na superfície dos eritrócitos infectados, favorecendo a adesão destas células ao endotélio do hospedeiro. Características do

hospedeiro também influenciam o desenvolvimento dos casos graves de malária, entre as quais podem ser elencadas a idade, a exposição e o sistema imunológico. As manifestações mais comuns da malária grave, quando se considera o cenário mundial, são a malária cerebral e a malária placentária (WASSMER *et al.*, 2018).

O diagnóstico da malária leva em consideração dois aspectos fundamentais: sintomatologia (em especial febre) e a presença do parasito, a qual é detectada por meio de microscopia óptica ou de testes rápidos. O diagnóstico leva em consideração, também, aspectos epidemiológicos (WHITE *et al.*, 2013).

Há registro de casos de malária no Brasil desde o final do século XIX, quando ocorria principalmente ao longo de toda a costa brasileira. Hoje, a maior parte dos casos (aproximadamente 99,5%) ocorre na região Amazônica. Observa-se uma tendência de redução no número de casos nos últimos anos, caindo de aproximadamente 600 mil no início do século XXI para aproximadamente 180 mil em 2013 (de PINA-COSTA *et al.*, 2014).

A espécie de parasito predominante no Brasil é o *P. vivax*, responsável por cerca de 82% dos casos. Essa predominância se explica pelo fato desta espécie ter capacidade de permanecer em latência, o que poderia resultar em recaídas. Além disso, tem capacidade de se desenvolver em temperaturas mais amenas, permitindo adaptação a uma maior variabilidade de ecossistemas, e o estágio de gametócitos é atingido mais rapidamente em relação ao *P. falciparum*, o que aumenta a transmissão (de PINA-COSTA *et al.*, 2014).

2.2 - MALÁRIA BROMÉLIA

Nas regiões extra-amazônicas, há registro de casos autóctones, os quais correspondem a 0,05% de todos os casos de malária registrados no país. Destes casos, a maior parcela, cerca de 34,4%, está concentrada no estado do Espírito Santo. Estes casos apresentam um perfil distinto: são causados por *Plasmodium* com características morfológicas compatíveis com *P. vivax* ou *P. malariae* e apresentam-se com baixa parasitemia, ocorrendo em regiões montanhosas e seus vales, cobertos

pelo bioma de Mata Atlântica. Este é considerado o mais rico e diverso do planeta. Nele, são encontradas topografia variada e clima quente e úmido típico de regiões tropical e subtropical, além de florestas com forte presença de bromélias, características que favorecem a reprodução de vetores, em especial os do subgênero *Kerteszia*, vetor predominante da malária bromélia. A transmissão é baixa e de característica cíclica, ocorrendo maior incidência nos meses mais quentes. Clinicamente, estes casos apresentam-se com sinais e sintomas leves e a cura espontânea pode ocorrer (de PINA-COSTA *et al.*, 2014; CURADO *et al.*, 1997).

A hipótese de existência de um cenário de zoonose justifica-se em decorrência do fato de haver compartilhamento de vetor da malária humana e símia nesta região. Outra evidência é o fato de serem as formas sanguíneas de *P. simium* e *P. brasilianum* morfologicamente idênticas àquelas dos parasitos humanos *P. vivax* e *P. malariae*, respectivamente. Também, ao se realizar exames genéticos e moleculares, encontra-se identidade entre as espécies. Soma-se, ainda, o fato de haver a possibilidade da presença de primatas não humanos portadores de parasitos ou com anticorpos contra esses parasitos, o que indicaria que esses primatas poderiam atuar como reservatórios naturais (de PINA-COSTA *et al.*, 2014).

O diagnóstico é feito baseado no teste de gota espessa e a maior parte dos casos são definidos como *P. vivax* com baixa parasitemia, não havendo relação entre os casos, o que torna difícil a explicação da cadeia de transmissão pela forma tradicional. Nestes cenários, foram levantadas várias hipóteses para a manutenção da cadeia de transmissão, como mudanças no comportamento do mosquito vetor, portadores assintomáticos e primatas não humanos atuando como reservatórios naturais para o parasito (CERUTTI Jr *et al.*, 2007; ROUTLEDGE *et al.*, 2018).

Em estudo transversal de Cerutti Jr *et al.* (2007), foram encontrados 65 casos ao longo de quatro anos, dispersos durante todos os meses, com uma pequena predominância nos meses de março e abril. O perfil dos pacientes foi de homens, com idade média de 35 anos, a maior parte trabalhadores rurais, com a quase totalidade em seu primeiro episódio de malária. Clinicamente, os pacientes apresentaram sintomas moderados, sendo a febre o sinal mais encontrado, a qual era intermitente,

ocorrendo a cada 48 h. Ao exame de gota espessa, foram encontrados parasitos com características indicativas de *P. vivax* em todos os pacientes, porém não foram encontrados parasitos nas amostras colhidas de indivíduos assintomáticos com relação de proximidade espacial com os casos. Entretanto, ao se realizar teste imunológico (ELISA) nestes indivíduos, encontrou-se reatividade em 36,1%. Quando realizado o exame de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) nos pacientes, foram encontrados 93,8% de resultados correspondentes a *P. vivax* e 2,1% a *P. malariae*. Ao realizar este exame em 1777 moradores assintomáticos, foram encontrados resultados compatíveis com *P. vivax* em 1,5%, *P. malariae* em 0,9% e *P. falciparum* em 0,5%. Os resultados encontrados pelos autores apoiam a hipótese de que a cadeia de transmissão possa ser sustentada por portadores assintomáticos ou nos quais a infecção se manifeste de forma autolimitada. Outra hipótese considerada pelos autores, a qual é melhor respaldada pelas evidências, foi a participação dos primatas não humanos como reservatórios para o parasito, uma vez que o vetor é compartilhado entre humanos e símios e há semelhança molecular entre *P. vivax* e *P. simium* e entre *P. malariae* e *P. brasilianum*. Para esta hipótese, os autores realizaram testes em amostras oriundas de hospedeiro símio, encontrando resultado positivo tanto em gota espessa quanto em PCR para *P. malariae/P. brasilianum* em um dos quatro indivíduos testados.

Em outro estudo, realizado em região de Mata Atlântica no estado de SP, Hristov *et al.* (2014) buscaram realizar um levantamento epidemiológico quanto à presença de infecção por *Plasmodium* em gestantes, bem como a de anticorpos. Este grupo populacional torna-se relevante dadas as sérias consequências que esta infecção pode acarretar tanto à saúde materna quanto a do bebê. Por esse motivo, a OMS recomenda que o teste para detecção de malária seja realizado de rotina durante o pré-natal em áreas endêmicas. Entretanto, a região de Mata Atlântica não é considerada área endêmica, apesar de casos autóctones serem registrados anualmente. Nessa coorte prospectiva, foram acompanhadas 125 gestantes, as quais não relataram história prévia de malária. Ao exame microscópico, foram encontrados dois resultados positivos, um para *P. vivax* e outro para *P. malariae*. Ao exame molecular, foi possível encontrar três amostras positivas para *P. vivax* e quatro para *P.*

malariae. Os exames sorológicos mostraram presença de anticorpos para *P. vivax* (40%), *P. malariae* (15,2%) e *P. falciparum* (4%).

Casos de malária assintomáticos ou oligossintomáticos são problema de saúde pública nos estados brasileiros com sistemas residuais de Mata Atlântica. Estes casos são, geralmente, diagnosticados como *P. vivax*, clinicamente apresentam sintomas e sinais de baixa intensidade e duração e há possibilidade de cura espontânea (CARLOS *et al.*, 2019).

2.3 – VETOR

Como citado anteriormente, o principal vetor da malária em sistemas de Mata Atlântica pertence ao subgênero *Kerteszia*. As espécies deste subgênero têm a característica de realizar sua oviposição nos verticilos das bromélias. A principal espécie é o *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, que apresenta característica acrodendrofílica, realizando seu repasto sanguíneo na região da copa das árvores e também em regiões mais próximas do solo, tanto em humanos quanto em símios. Apesar de sua preferência por regiões de floresta, também pode ser encontrado em áreas de transição e em áreas modificadas pelo homem (de PINA-COSTA *et al.*, 2016).

Silva *et al.* (2012) buscaram determinar os hábitos alimentares dos mosquitos em vários biomas, inclusive o de Mata Atlântica. Neste bioma, especificamente, em áreas de proteção ambiental dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, foi observado que a espécie *An. (K.) cruzii* realiza seu repasto sanguíneo, principalmente, em pássaros e roedores, em razão de seu maior contato com esses animais decorrente de sua acrodendrofilia. Entretanto, os autores ressaltam que esses mosquitos são ecléticos e oportunistas em relação aos seus hábitos alimentares.

Deane (1986) acrescenta que as espécies do subgênero *Kerteszia*, além de utilizarem os verticílios das bromélias para sua oviposição, também compartilham outras características: são exofílicas e acrodendrofílicas, mas podem adentrar

residências para o repasto sanguíneo, podendo se alimentar de sangue humano, de pássaros ou outros mamíferos. Em estudo posterior, Deane (1992) encontrou predomínio da espécie *A. (K.) cruzii* na região das copas das árvores, o que, somado ao fato de ser a única espécie encontrada infectada naturalmente por esporozoítos, reforça seu papel como vetor principal da malária bromélia nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Neste mesmo estudo, o autor determinou a prevalência de infecção por plasmódios nos símios no município de Santa Leopoldina (região serrana do Espírito Santo) em 31,2% e o predomínio da espécie *A. (K.) cruzii*, contabilizando 96,4% dos espécimes capturados nas copas das árvores.

Guimarães *et al.* (2000) buscaram estabelecer a associação dos mosquitos com os ambientes silvestres e domiciliares inseridos em região de Mata Atlântica com bom estado de conservação no sudeste brasileiro, na região do Vale do Paraíba, divisa dos estados de Rio de Janeiro e São Paulo. Os autores observaram que a espécie *An. (K.) cruzii* foi a segunda mais predominante, com 17,9% dos 11.808 espécimes capturados no período de 24 meses com isca humana. Esta espécie foi especialmente predominante em ambientes de mata de altitude e foi uma das poucas a adentrar o ambiente peridomiciliar para realização de repasto sanguíneo, o que demonstra a sua atração pelo homem, bem como sua versatilidade alimentar.

Marques e Forattini (2009) fizeram o primeiro relato da ocorrência de larvas de *An. (K.) cruzii*, mosquito essencialmente silvestre, em bromélias de solo em área urbana do município de Ilha Bela, litoral norte do estado de São Paulo, porém em menor número que aquele encontrado em ambientes periurbanos e de mata. Isso mostra o papel dispersivo do anofelino na escolha de novos *habitats* para o desenvolvimento de suas formas imaturas e consequente adaptação a ambiente modificado. *An. (K.) cruzii* em bromélias do ambiente urbano é, provavelmente, resultante da sua ocorrência prévia na região de Mata Atlântica, aliada à elevada presença desses criadouros, de fonte alimentar e de abrigos disponíveis.

No Espírito Santo, os casos de malária autóctone estão distribuídos na região serrana próxima aos fragmentos de Mata Atlântica. Rezende *et al.* (2009) realizaram

estudos entomológicos e de infecção natural em anofelinos (*Diptera: Culicidae*) capturados no município de Santa Teresa para identificar a espécie de vetor predominante na região, bem como a espécie de parasito presente. Entre as espécies encontradas pelos autores, a predominante foi *An. (K.) cruzii* e, quando avaliadas as condições climáticas em conjunto com os dados de captura dos insetos vetores, verificou-se que houve uma maior captura de exemplares entre os meses de julho e setembro, quando as condições climáticas são mais frias e secas, exemplificando a boa adaptação deste grupo ao ambiente de montanha. Esta espécie foi encontrada, preferencialmente, em regiões de floresta ou regiões marginais, com um pico na frequência de captura ocorrendo entre 18 h e 22 h. Sua acrodendrofilia traduz predileção por se reproduzir nas bromélias presentes nas copas das árvores e por se alimentar em primatas não humanos e pássaros. Esta espécie é o vetor preferencial da malária na região. Cabe acrescentar que, conforme descoberto por Deane *et al.* (1970), esta espécie é, também, vetor da malária símia.

Laporta *et al.* (2011) procuraram determinar quais são os *habitat* mais apropriados para *An. cruzii*, *An. bellator*, e *Anopheles marajoara*. Em seu estudo, utilizaram, como variáveis, aspectos bioclimáticos, cobertura vegetal e elevação do terreno, para caracterizar o nicho ecológico de cada vetor. Dessa forma, determinaram que o *An. (K.) cruzii* está mais relacionado a áreas de floresta preservada e áreas montanhosas. Já o *An. bellator*, tem predileção por regiões de baixa altitude e pela região costeira com vegetação de restinga. O *An. marajoara*, por sua vez, apresenta predileção por áreas abertas de restinga ou áreas que sofreram transformação de seu ecossistema natural. Quando esses dados foram analisados em relação ao número de casos de malária na região estudada, foi possível verificar que o *An. bellator* não parece estar associado significativamente com os casos de malária autóctone em sistemas residuais de Mata Atlântica, estando a doença positivamente associada com a presença do *An. marajoara* e do *An. (K.) cruzii*. Este resultado foi semelhante ao obtido por Duarte *et al.* (2013), que também encontraram predominância de *An. (K.) cruzii* tanto em ambientes silvestres como em áreas de transição e antrópicas. O subgênero *Kerteszia* se concentra em *habitat* úmidos, onde há grande quantidade e diversidade de bromélias, o que também reflete a intensidade da ação humana na região, uma vez que em regiões com grande modificações do

meio ambiente em razão da ocupação humana há prevalência de espécies do subgênero *Nyssorhynchus*.

Outro estudo buscou comparar áreas endêmicas para malária bromélia com outras áreas livres de casos quanto à presença e à variedade de anofelinos. Entre os achados, temos uma maior quantidade e uma distribuição mais ampla dos espécimes capturados de *An. (K.) cruzii* na região endêmica do que nas áreas livres da doença. Também foi possível encontrar uma correlação positiva entre o número de amostras coletadas e a temperatura. Os autores identificaram, com menor frequência, a presença de *Anopheles albitarsis* e este achado indica que esta espécie pode atuar como um vetor secundário neste ambiente (REZENDE *et al.* 2013).

Laporta *et al.* (2015) identificaram infecção de anofelinos por parasitos das espécies *P. vivax* e *P. falciparum* em bioma de Mata Atlântica, achado este que levou os pesquisadores a questionar a definição de malária bromélia como sendo uma infecção exclusiva das espécies *P. vivax* e *P. malariae*. Assim, foi realizada pesquisa de infecção de anofelinos por *P. falciparum* em biomas de Mata Atlântica no estado de São Paulo. Os resultados encontrados em 921 espécimes coletados revelaram uma prevalência de 5,2% de infecção por parasitos de malária, sendo 84% de *P. falciparum* e 16% de *P. vivax*. Os autores não identificaram qualquer infecção por *P. malariae*. Entre os vetores identificados, houve maior prevalência de *An. cruzii*, com uma frequência de infecção de 88%. O estudo avaliou vários cenários diferentes, onde a modificação do bioma variava de preservado a muito alterado por ação humana e, nessa análise, foi possível verificar que a degradação ambiental contribuiu para a ocorrência de casos de malária.

De Rezende Dias *et al.* (2018) realizaram estudo filogenético e, após análise de espécimes coletados em cinco sítios de diferentes altitudes localizados em região de Mata Atlântica, concluíram haver ao menos duas linhagens distintas de *An. (K.) cruzii* coexistindo nas regiões montanhosas. Este achado tem importância na construção de estratégias de combate e controle da infecção, por se tratar de espécie vetor tanto da malária símia quanto humana (REZENDE *et al.*, 2009). Buery *et al.* (2018) determinaram que a espécie *An. (K.) cruzii* era a predominante na região

endêmica para malária autóctone de Mata Atlântica no Espírito Santo. Esta espécie também apresentou os maiores índices de infecção por *P. vivax/simium*. O estudo também revelou o predomínio absoluto desta espécie nas copas das árvores, indicando sua função como vetor da malária símia. Entretanto, a mesma espécie também foi encontrada próxima ao solo, o que abre a possibilidade de que desça de seu sítio preferencial e que possa acidentalmente infectar humanos. Como prova da capacidade adaptativa desta espécie, observou-se que houve captura de maior número de espécimes nos meses de abril e setembro, quando a expectativa era de que isso ocorresse nos meses de verão. No estudo em questão, não foi observada a presença de parasito nos tóraces dos espécimes do subgênero *Nyssorhynchus*. Assim, acredita-se que este subgênero não mais atue na cadeia de transmissão da malária bromélia na região serrana do Espírito Santo.

A determinação da espécie de mosquito predominante é necessária, pois o comportamento e as características de cada mosquito vetor contribuem para a determinação de sua importância relativa em termos de transmissão da malária humana. Localização preferencial para repasto sanguíneo, tempo de picada e hospedeiro preferencial são importantes para determinar quão eficaz dada espécie é para a transmissão da malária humana. Da mesma forma, tais características contribuirão para implantação de políticas de controle e para avaliar a probabilidade de seu sucesso. Assim, podem-se utilizar os recursos disponíveis para as medidas de controle mais eficazes em uma dada situação (MASSEY *et al.*, 2016).

2.4 - RELAÇÃO COM FATORES AMBIENTAIS

A literatura descreve vários fatores que afetam a transmissão da malária, a saber: mudanças climáticas, vegetação, desflorestamento e características das habitações, além de fatores que aumentam a exposição aos mosquitos vetores, como atividades econômicas e de lazer. Os aspectos climáticos afetam a cadeia de transmissão em três pontos fundamentais: parasito, vetor e transmissão (MACLEOD & MORSE, 2014; HUANG *et al.*, 2011; KIGOZI *et al.*, 2016; HURTADO *et al.*, 2014; IKEDA *et al.*, 2017).

Em relação à malária símia no Brasil, a ocorrência se dá em regiões de floresta úmida com densa população de símios, sendo pouco provável a ocorrência em regiões mais secas, como os biomas de cerrado ou caatinga (DEANE, 1992).

Guimarães *et al.* (2001) buscaram avaliar o impacto das variáveis climáticas sobre a fauna de mosquitos em bioma de Mata Atlântica. Durante o período do estudo (24 meses consecutivos), a espécie *An. (K.) cruzii* figurou entre as mais observadas. Os autores encontraram frequências mais altas nos períodos mais quentes, úmidos e com maiores precipitações, com ocorrência predominante nos meses de dezembro e janeiro. Eles concluíram que as variáveis climáticas de temperatura e pluviosidade exercem influência positiva estatisticamente significativa sobre a fauna culicidiana, em especial sobre a espécie *An. (K.) cruzii*.

Soto-Calle *et al.* (2017) encontraram forte associação entre a redução na incidência de malária e a aplicação de medidas de controle e combate na região da Amazônia peruana, mesmo quando a análise foi ajustada em relação aos fatores ambientais. Ao fim dessas medidas de controle, a malária que estava quase eliminada na região, contudo, rapidamente retornou aos níveis anteriores, provavelmente devido à alta proporção de infecções subclínicas, as quais podem manter ou mesmo aumentar os níveis de transmissão quando as condições ecológicas se tornam favoráveis. Outro achado dos autores é quanto à sazonalidade dos casos, estando esses mais concentrados na segunda metade da estação chuvosa, entre fevereiro e julho para a região do estudo, o que é explicado pela maior concentração de anofelinos e pela maior exposição aos vetores devido a atividades econômicas e de lazer. Este achado é marcante em áreas com certo grau de degradação ambiental.

É sabido que as condições meteorológicas afetam a dinâmica de transmissão por meio de efeitos tanto no ciclo de vida do vetor, quanto no desenvolvimento do parasito em seu interior, assim como pela maior ou menor exposição de seres humanos aos anofelinos. Entretanto, as variações anuais na incidência de malária apontam para a existência de outros aspectos, além dos fatores ambientais, atuando

em tal dinâmica, tais como espécie e abundância do vetor, comportamento do hospedeiro humano e medidas de controle do vetor (HUANG *et al.*, 2011).

Em seu estudo, Huang *et al.* (2011) estabeleceram o objetivo de encontrar a relação entre a incidência de malária e os fatores ambientais. Foram utilizadas, como variáveis ambientais, a umidade relativa, a temperatura e a precipitação. Destas, a umidade relativa foi a que mais se relacionou positivamente com a incidência de malária. O estudo confirmou a relação direta entre incidência de malária, temperatura e umidade relativa, sendo o intervalo de tempo de um mês o necessário para o desenvolvimento do vetor, a infecção do hospedeiro humano e o desenvolvimento dos sintomas. Entretanto, a relação com a pluviosidade foi menor e não linear.

Em estudo realizado no Panamá e direcionado à relação entre os fatores climáticos e a incidência de casos de malária na população de etnia Gunas, a qual encontra-se em situação de maior vulnerabilidade social, os autores relataram a ocorrência de três grandes epidemias de malária na região nos anos 1987, 1997 e 2002, todas ocorrendo simultaneamente com o fenômeno El Niño. Em 1997, também ocorreram epidemias na América do Sul e leste do continente africano, regiões susceptíveis aos efeitos deste fenômeno climático. Outro achado deste estudo foi uma relação entre o aumento na temperatura mínima média e o número de casos de malária, o que é explicado pela redução na amplitude térmica, situação que aumenta a adaptação de organismos ectotérmicos como os anofelinos. Para os dados climáticos, foram utilizadas as variáveis temperatura, pluviosidade e temperatura dos oceanos (relacionada com o fenômeno El Niño) (HURTADO *et al.*, 2014)

Arab *et al.* (2014) realizaram uma análise de série histórica de onze anos dos casos de malária em dez países africanos e relacionaram os dados com variáveis ambientais de temperatura e pluviosidade. Entre os resultados obtidos, foi observada uma associação negativa estatisticamente significativa tanto para temperatura média, como para número de dias com precipitação maior que 1mm e precipitação total. Os autores explicam este resultado pelo fato de a temperatura na região já ser relativamente elevada. Desta forma, seu aumento significativo poderia prejudicar o desenvolvimento do parasito e do vetor. Quanto à pluviosidade, afirmam que sua

relação com a incidência é mais complexa e que valores anuais não seriam os mais indicados para utilização no modelo proposto. Também, citam a importância de se propor um modelo que leve em consideração variáveis socioeconômicas, tendo em vista a natureza multifatorial da doença.

Mohammadkhani *et al.* (2016) encontraram uma forte associação entre a temperatura e a incidência da malária em estudo realizado na província de Kerman (Irã), tendo a elevação da temperatura resultado em aumento no número de casos, de tal forma que um aumento de 1°C na temperatura máxima elevou a incidência em 15% no mesmo mês e em 19% no mês subsequente.

Em um estudo semelhante, Colón-González *et al.* (2016) avaliaram o impacto dos fatores ambientais e socioeconômicos sobre a incidência de malária em Ruanda e Uganda em uma série temporal de dez anos. Os autores encontraram uma relação positiva quase linear entre a temperatura e a incidência de malária. Um aumento na temperatura acima da média resultaria em um maior número de casos e uma temperatura abaixo da média em um menor número de casos, para a região de Ruanda. Na região de Uganda, o efeito da temperatura foi diferente. Houve um pico de transmissão em torno de 27°C, com redução em temperaturas acima e abaixo deste valor. Ao avaliar o impacto da pluviosidade sobre o número de casos, os autores encontraram resultados semelhantes em ambos os países, revelando um aumento no risco relativo com um aumento nos índices até um limite de 5-7 mm/dia. Após tal limite, houve redução. Este achado se justifica porque as chuvas intensas tendem a remover as larvas do anofelino, bem como a reduzir a temperatura.

O impacto das variáveis climáticas é diferente de acordo com o cenário local, seja ele de alta, média ou baixa transmissão da doença. Segundo Kigozi *et al.* (2016), cenários onde há baixa transmissão do parasito são mais susceptíveis às alterações climáticas e este impacto necessita de um maior intervalo de tempo para ser significativo.

Estudo realizado em uma região de onde a malária praticamente foi erradicada na África do Sul, porém permaneceu sujeita a surtos ocasionais, realizado por Ikeda

et al. (2017), investigou a associação entre a incidência da doença e variações climáticas, tais como temperatura, precipitação e anomalias na temperatura da superfície do oceano. Foram encontradas correlações entre a precipitação e a ocorrência de casos de malária (positiva com intervalo de três meses) e entre temperatura média e ocorrência de casos (negativa com intervalo de zero e três meses). Porém, a correlação com a temperatura foi significativa apenas quando a precipitação foi maior que o normal. Apesar dos achados, esses fatores não são suficientes para explicar a causalidade da incidência da malária na região.

Sewe *et al.* (2017) utilizaram fatores ambientais (como temperatura e precipitação) para construção de modelos preditivos de casos de malária, dentro das medidas propostas pela Organização Mundial de Saúde para o combate a esta doença, principalmente em localidades com alta incidência no Quênia. Foi encontrada uma clara correlação entre evaporação, temperatura e pluviosidade e o número de casos de malária em crianças menores de cinco anos. O modelo desenvolvido pelos autores foi capaz de prever alterações na incidência de malária com uma boa precisão, mesmo com a utilização de medidas de controle. Entretanto, os autores reforçam que a dinâmica na transmissão da malária é diferente em cada localidade, sendo necessárias adaptações no modelo para utilização em outras realidades.

Liu *et al.* (2018), em estudo realizado na China, investigaram a influência combinada de fatores ambientais e medidas de controle da doença, encontrando significância, em um intervalo de tempo de dois meses, para temperatura, umidade e precipitação, com impacto positivo na incidência de malária. A maior incidência ocorreu quando as variáveis temperatura mínima, umidade relativa e precipitação estavam em seus maiores valores. Quanto às espécies de parasito, *P. falciparum* é mais sensível a variações climáticas que *P. vivax*.

Em seu estudo, Chaves *et al.* (2018), na região de floresta Amazônica brasileira, observaram que o desmatamento tem impacto positivo sobre a incidência de malária, bem como favorece a proliferação do vetor. O risco de infecção por plasmódio em áreas de produção agrícola decorre de sua proximidade com a mata e com criadouros de mosquitos vetores, além de sua relação com fatores sociais, como acesso a

serviços de saúde, diagnóstico precoce e educação em saúde. Outro ponto a se considerar é que quanto menor a cobertura florestal, mais próximas as residências estarão do *habitat* do anofelino.

Ssempiira *et al.* (2018) avaliaram de forma espaço-temporal a influência dos fatores climáticos na incidência de malária em Uganda entre os anos 2013 e 2017. Entre as conclusões encontradas, está o fato de que as mudanças ambientais, entre as quais o aumento na pluviosidade e na temperatura (tanto diurna quanto noturna), tiveram um efeito negativo sobre os resultados obtidos na redução do número de casos pelas medidas de combate e controle da malária. Outros fatores que influenciaram o aumento na incidência da malária na segunda metade do estudo foram a resistência aos inseticidas e a migração de população não imune, favorecendo a transmissão da doença. Por fim, os autores avaliam que as medidas de controle, bem como a melhora nas condições socioeconômicas, tendem a amenizar os efeitos nocivos das mudanças climáticas sobre a dinâmica da transmissão da doença.

Os fatores climáticos e ambientais influenciam grandemente a epidemiologia da malária. A temperatura, especialmente, afeta longevidade, sobrevivência e atividade do mosquito vetor, além de afetar a taxa de multiplicação do parasito no interior do anofelino. Neste caso, a temperatura ideal ficaria entre 25 e 30°C. Para sobreviver em ambientes com baixas temperaturas, *P. vivax* desenvolveu, ao longo do tempo, mecanismos que favorecem sua adaptação a estes ambientes, fato este que explica a sua maior distribuição global. Outros fatores são igualmente importantes, como a pluviosidade, a umidade relativa e a intensidade dos ventos. Até mesmo a intensidade e a duração da luz do dia afetam o repasto sanguíneo, o repouso e a oviposição do mosquito vetor. A vegetação é importante para o regime de chuvas em um ecossistema, além de favorecer o acúmulo de água limpa, a qual servirá de criadouro para o mosquito. Desta forma, a cobertura vegetal influencia, também, na seleção de vetores e na variabilidade e disponibilidade de hospedeiros (ROSSATI *et al.*, 2016). Os parasitos necessitam de uma determinada temperatura para se desenvolverem. A esporogonia não ocorre em temperaturas abaixo de 16°C ou acima de 33°C. Além disso, um aumento de 5°C na temperatura reduz o tempo de incubação extrínseca de 26 para 13 dias. Mudanças na umidade também afetam a transmissão

da doença, uma vez que influenciam o desenvolvimento do mosquito vetor (LIU *et al.*, 2018).

2.5 - ZOONOSE

Duas espécies de parasito são responsáveis pela malária em primatas não humanos nas Américas: *P. brasilianum* e *P. simium*. Este último é restrito a áreas de Mata Atlântica das regiões Sul e Sudeste do Brasil. Estas espécies são semelhantes morfológica, genética e imunologicamente aos parasitos humanos *P. malariae* e *P. vivax*, respectivamente. Estudos filogenéticos indicam que estas espécies são idênticas, levantando a hipótese de que primatas não humanos poderiam atuar como reservatórios naturais para o parasito e a transmissão entre hospedeiros de diferentes espécies poderia ocorrer, desde que as condições ecológicas favorecessem a proximidade entre elas (DUARTE *et al.*, 2008).

Deane (1992) determinou a prevalência de símios infectados por plasmódios em 35% na região de Mata Atlântica nas montanhas da costa brasileira, sendo que, na região Sudeste, a espécie predominantemente encontrada foi *P. simium*. O autor afirmou, ainda, que há possibilidade de ocorrência de zoonose desde que o ser humano seja susceptível ao parasito símio, haja proximidade geográfica e existam vetores susceptíveis. Assim, como na região serrana capixaba há abundância de símios infectados, seres humanos adentram as matas para trabalho ou lazer e os vetores da espécie *A. (K.) cruzii* possuem a capacidade de se alimentarem tanto na copa das árvores quanto em nível do solo, a ocorrência de um cenário de zoonose seria plausível.

Duarte *et al.* (2008) encontraram a presença de infecção natural com baixa parasitemia em região de bioma de Mata Atlântica, em símios selvagens da espécie *Alouatta*, por *P. simium/vivax* e *P. brasilianum/malariae*, demonstrando a ocorrência simultânea de parasitos e anticorpos contra formas assexuadas e proteína do circunsporozoítio nesses primatas em áreas de transmissão autóctone de malária humana. Tal achado indica que estes símios entraram em contato com os parasitos.

Deane *et al.* (1970) descreveram a infecção natural de um primata não humano da espécie *Alouatta caraya* por *P. brasilianum*. Este símio encontrava-se em reserva de proteção ambiental no estado do Mato Grosso. Os autores registraram, também, em inquérito epidemiológico, infecção por *P. malariae* em 10,3% dos indígenas que habitavam a região onde foi capturado tal símio.

Laporta *et al.* (2011) levantaram a hipótese de que as espécies de plasmódio circulantes na região do estudo (região de Mata Atlântica no Sudeste do Brasil) sejam mantidas em um ciclo silvestre pelos vetores do subgênero *Kerteszia* e primatas do gênero *Alouatta*. A infecção seria transmitida eventualmente a seres humanos, podendo haver um ciclo mais tradicional, envolvendo seres humanos e vetores do subgênero *Nyssorhynchus*, entre eles o *An. marajoara*.

Lalremruata *et al.* (2015) apresentaram casos de infecção natural de seres humanos por *P. brasilianum*, um dos parasitos associados com a malária em primatas não humanos na região da floresta Amazônica venezuelana. Por exames de biologia molecular, os autores determinaram que o parasito, presente em 12 dos casos analisados, apresentava 100% de identidade, na sequência genética da unidade 18S e da proteína circunsporozoíta, com amostra isolada de um símio do gênero *Alouatta*. Desta forma, levantaram a hipótese da transferência de parasitos entre hospedeiros e reforçaram a possibilidade de esta espécie de parasito ser idêntica ao *P. malariae*, configurando uma antropozoonose.

Costa *et al.* (2015) realizaram análise filogenética e constataram grande semelhança nas sequências codificantes da Proteína ligante de Duffy II (DBP) entre *P. simium* e *P. vivax*. Contudo, houve uma maior variabilidade nesta última espécie. Os autores chegaram, então, à conclusão de que, dadas a estreita relação filogenética entre tais espécies e a baixa variabilidade encontrada para a Proteína Ligante de Duffy II, há indícios de migração entre hospedeiros dos símios para os seres humanos recentemente na história evolutiva.

Símios dos gêneros *Alouatta* e *Brachyteles*, presentes em região de Mata Atlântica do sul e sudeste brasileiros, são encontrados infectados naturalmente por *P. simium*. De Alvarenga *et al.* (2015) investigaram, com técnicas de biologia molecular, a presença de infecção por *Plasmodium* em 30 primatas dos gêneros *Cebus* e *Sapajus*, no Centro de Primatas do Rio de Janeiro, localizado em região de Mata Atlântica. Como resultado, foi possível constatar a presença da infecção por *P. simium* em 30% das amostras estudadas, fato esse importante para o entendimento da epidemiologia da malária símia e para a manutenção da transmissão da malária humana em um contexto de zoonose. Este estudo foi o primeiro a conseguir identificar a infecção natural por *P. simium* em espécie diversa das dos gêneros *Alouatta* e *Brachyteles*. Já o *P. brasilianum*, apresenta uma maior distribuição geográfica e infecta uma gama maior de primatas não humanos do Novo Mundo.

Em estudo de Figueiredo *et al.* (2017), realizou-se a identificação da infecção natural de primatas não humanos por *P. malariae* na região Amazônica, onde a infecção de seres humanos por esse parasito é considerada uma zoonose. O estudo baseou-se na análise microscópica e de biologia molecular de 161 amostras, oriundas de reserva ambiental e cativeiro. Pela microscopia, foram encontradas cinco amostras positivas, em primatas de cativeiro. Já exames de PCR e qPCR, identificaram 48 e 55 amostras positivas, respectivamente. A espécie de parasito predominante foi o *P. malariae/ brasilianum*, porém a parasitemia foi baixa.

Buery *et al.* (2017) investigaram o ciclo de transmissão da malária bromélia em busca de evidências para confirmar ou refutar a hipótese de zoonose. Com tal objetivo, realizaram o sequenciamento total do DNA mitocondrial de *Plasmodium* encontrado em hospedeiro humano, em símio e no anofelino vetor. Os autores concluíram, com base na diversidade de haplótipos encontrados nas amostras de diferentes hospedeiros, que *P. simium* e *P. vivax* seriam a mesma espécie com pequenas variações genéticas, o que também afirmam Costa *et al.* (2014) e Rodrigues *et al.* (2017), reforçando a hipótese de que os primatas não humanos seriam os reservatórios naturais da malária em sistemas residuais de Mata Atlântica. Também reforça esta hipótese, o fato de haver compartilhamento de haplótipos entre

hospedeiros diferentes e o fato das amostras isoladas em cada espécie hospedeira não serem monofiléticas.

De Alvarenga *et al.* (2018) afirmam que, recentemente, os casos de malária autóctone em sistemas residuais de Mata Atlântica passaram a ser atribuídos ao parasito *P. simium*. Contudo, este parasito apresenta alto grau de similaridade, tanto morfológica quanto molecular, com *P. vivax*. Desta forma, os autores avaliaram uma técnica molecular capaz de identificar de forma correta o parasito envolvido na infecção, tanto na malária humana quanto na símia, baseada na pesquisa de dois SNPs exclusivos do *P. simium* presentes no DNA mitocondrial. Estes SNPs estavam presentes em todas as amostras obtidas de primatas não humanos avaliadas no estudo (16 amostras de primatas infectados com *P. simium*) e em oito das nove amostras oriundas de casos humanos de bioma de Mata Atlântica. Entretanto, dada a grande similaridade entre *P. vivax* e *P. simium*, é possível que este último seja na realidade uma linhagem diferente de *P. vivax*, a qual circula livremente entre humanos e símios no bioma de Mata Atlântica, quando os vetores e a ecologia assim permitem. Esse estudo permitiu a conclusão de que humanos e símios na região de Mata Atlântica são hospedeiros da mesma espécie de parasito, confirmando achados prévios dos mesmos autores (DE ALVARENGA *et al.*, 2017), os quais demonstram que os primatas não humanos constituem reservatórios naturais de parasito em contexto de zoonose e que isto provavelmente ocorre no bioma de Mata Atlântica

2.6 - PORTADORES ASSINTOMÁTICOS

Assim como *P. knowlesi*, outras espécies de parasito podem infectar tanto humanos como símios, o que torna inviável a eliminação da doença em um contexto de zoonose pelas medidas clássicas de controle. Outro fator que dificulta a compreensão da cadeia de transmissão é a presença de portadores assintomáticos (ALENCAR *et al.*, 2018; RAYNER, 2015).

Kirchgatter *et al.* (2014) buscaram avaliar as hipóteses de que a malária residual de sistemas de Mata Atlântica do estado de São Paulo seria uma zoonose ou

de que a cadeia de transmissão seria mantida por portadores assintomáticos. Com esse objetivo, os autores realizaram coletas de anofelinos em um raio de 100 m ao redor do domicílio de casos confirmados de malária. Essas coletas foram realizadas em um período de quase dois anos, em estações climáticas diversas e em localidades com características rurais e distância variável da floresta. Por técnicas moleculares, foram analisadas aproximadamente 13,5 mil amostras de *An. (K.) cruzii*, constatando-se uma taxa de infectividade de 0,03% para *P. vivax* e de 0,01% para *P. malariae*, valor que é cerca de 10 vezes menor que o encontrado na região Amazônica. Outro achado foi a presença exclusiva de sangue humano nos anofelinos estudados. Desta forma, os autores sustentam que a cadeia de transmissão seria mantida apenas por portadores assintomáticos, sendo a hipótese de zoonose menos plausível. Os autores sustentam, ainda, que, como a parasitemia nos casos de malária bromélia é muito baixa, assim como a intensidade dos sintomas, os indivíduos infectados pelo parasito poderiam passar despercebidos pelos sistemas de vigilância epidemiológica.

Alencar *et al.* (2018) realizaram um estudo do tipo coorte para determinar a prevalência, a incidência e a persistência do estado do portador assintomático, na região serrana do estado do Espírito Santo. Para tanto, realizaram exames de PCR em indivíduos que habitavam próximos à residência de casos positivos de malária bromélia. Foi encontrada uma incidência de 2,5 casos/100 pessoas-ano ou 1,25 casos/100 pessoas-ano para cada espécie: *P. vivax* e *P. malariae*. Sobre esses valores, foram aplicados modelos matemáticos que sugeriram que os hospedeiros humanos seriam insuficientes para a manutenção da endemia na região do estudo. Assim, seria necessário um outro tipo de reservatório natural para o parasito, que poderia ser constituído por primatas não humanos.

Em estudo para calcular a frequência de doadores de sangue de área endêmica para malária bromélia em Juquitiba - SP com infecção assintomática por *Plasmodium*, Lima *et al.* (2018) encontraram resultados positivos em três de 91 amostras por técnicas moleculares. Os testes sorológicos apresentaram resultados positivos para anticorpos da classe IgG contra *P. vivax* presente em 42,9% dos doadores e IgG contra *P. falciparum* em 6,6%. As infecções assintomáticas são descritas amplamente e podem ser associadas com todas as espécies de plasmódios que infectam os seres

humanos, estando presentes tanto em áreas de grande transmissão como em áreas de baixa transmissão, como os sistemas residuais de Mata Atlântica

3 – JUSTIFICATIVA

Dada a hipótese de zoonose para o perfil de transmissão da malária bromélia levantada em vários estudos, com primatas não humanos atuando como reservatórios para o parasito, este estudo busca avaliar o impacto da epizootia de febre amarela, ocorrida no início de 2017, com expressiva mortandade de símios, sobre o número de casos humanos de malária RSMA.

Sabe-se também que os fatores ambientais são importantes para a transmissão da malária, uma vez que afetam o desenvolvimento e a sobrevivência tanto do vetor como do parasito. O período de incubação do parasito no interior do mosquito, a frequência do repasto sanguíneo e o desenvolvimento do estágio larval do vetor são em muito influenciados pela temperatura. A pluviosidade, por sua vez, favorece a formação de criadouros adequados para a reprodução e desenvolvimento dos estágios larvais dos anofelinos. Desta forma, buscamos analisar a relação dos fatores climáticos com os casos de malária para excluir possíveis fatores de confusão ao avaliar o impacto do surto de febre amarela sobre os casos de malária residual de sistemas de Mata Atlântica.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

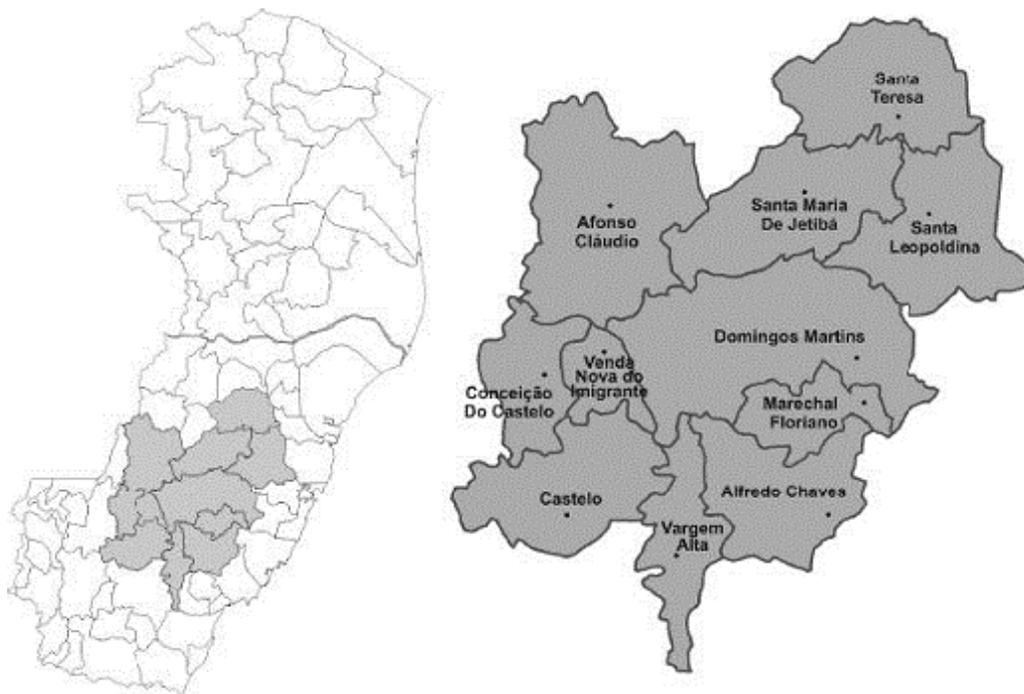
4.1 - LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foi desenvolvido um banco de dados contendo os casos de malária autóctone registrados nos municípios de Domingos Martins e Santa Teresa, região serrana do estado do Espírito Santo, entre os anos de 2007 e 2018. Os dados foram obtidos junto ao Laboratório Central – LACEN, órgão da Secretaria de Estado da Saúde – SESA-ES, responsável pelo diagnóstico laboratorial de malária.

Os dados populacionais utilizados referem-se a estimativas populacionais fornecidas pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) entre os anos de 2007 e 2017.

A região do estudo consiste nos municípios de Domingos Martins e Santa Teresa, na região serrana do Espírito Santo. Estes municípios perfazem uma área total de 2.195,74 km², com altitude na área urbana variando entre 542 e 655 m. A localização cartesiana tem como limite norte 19°56'12" S, como limite sul 20°18'30" S, como limite leste 40°35'28" O e como limite oeste 40°43'30" O.

Figura 1: mapa da região do estudo.



4.2 - DADOS METEOROLÓGICOS

Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa Assistência Técnica e Extensão Rural -INCAPER. Foram utilizadas as medidas de temperatura máxima, mínima e média mensais e os valores de pluviosidade mensais para cada grupo de casos, considerando os dados do mesmo mês dos casos e do mês anterior.

4.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações foram organizadas em um banco de dados (programa Excel – Microsoft). Por se tratarem de dados de número de casos e dentro do objetivo do estudo, realizou-se primeiro a tentativa de ajustar a um modelo de regressão de Poisson, pois é o modelo mais adequado para análises com contagem (BHASKARAN *et al.*, 2013). Porém, a natureza muito instável dos dados exigiu a adoção de uma média móvel de três meses, o que gerou um conjunto de casos com variação mais suave e com uma melhor análise de correlação com as variáveis independentes. Na figura 2, encontra-se a série de casos em razão do tempo do estudo. A série de casos original e aquela resultante da adoção da média móvel encontram-se nas figuras 3 e 4. A descrição destes modelos encontra-se na tabela 1. Foi realizada, também, análise com o modelo de Poisson inflacionado por zeros, preconizado por Imai *et al.* (2015), porém este teve um menor poder explicativo, segundo o critério de informação de Akaike, como observado na tabela 1 – apêndice.

O período de observação de 2007 a 2018 (doze anos) foi dividido em meses (144). Entretanto, os dois meses iniciais e os dois meses finais foram suprimidos em razão da adoção da técnica de média móvel de três meses. Desta forma, ficamos com 140 meses de observação.

Figura 2: Série histórica dos casos de malária residual de Sistemas de Mata Atlântica do Espírito Santo no período de 2007 a 2018.

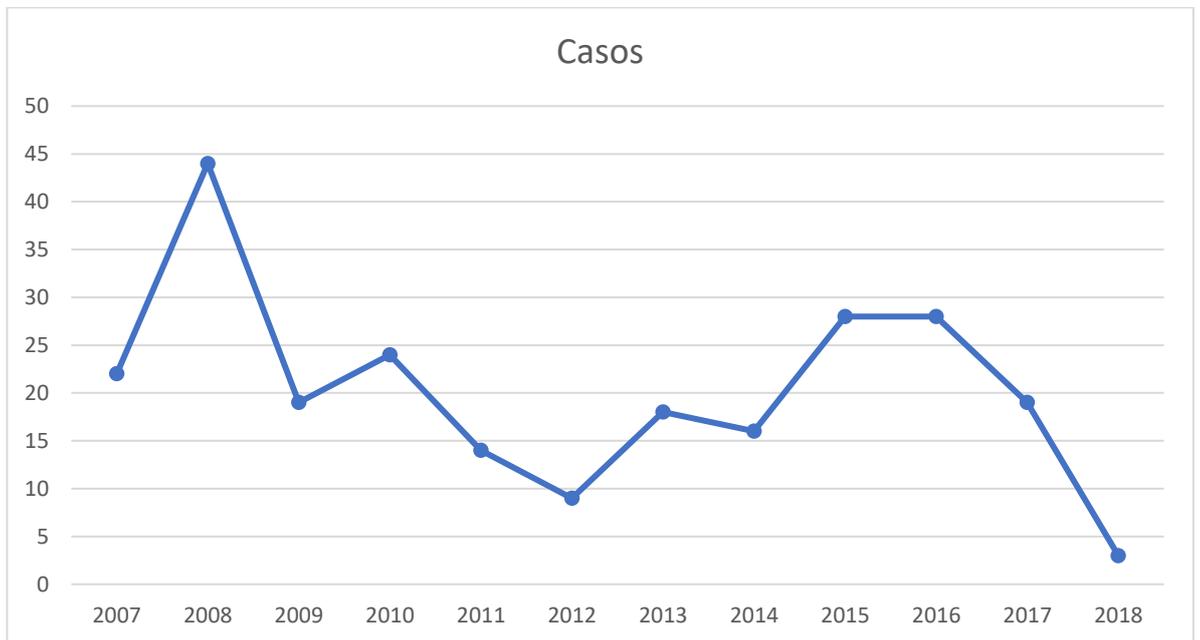


Figura 3: Série original dos casos de malária residual de Sistemas de Mata Atlântica do Espírito Santo no período de 2007 a 2018.

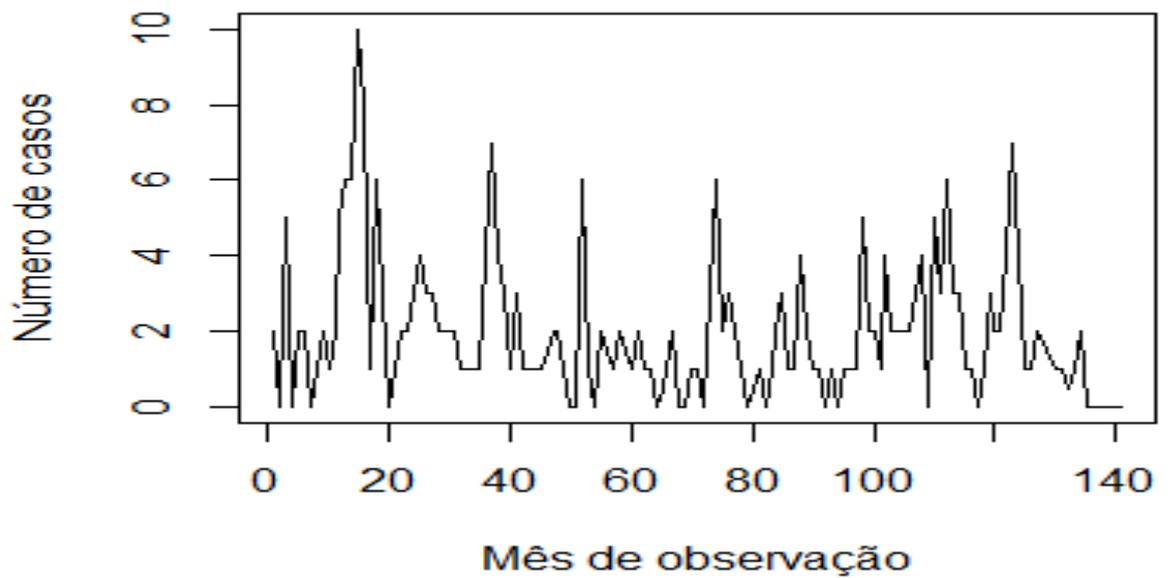


Figura 4: Série dos casos de malária residual de Sistemas de Mata Atlântica do Espírito Santo no período de 2007 a 2018 após adoção de média móvel.

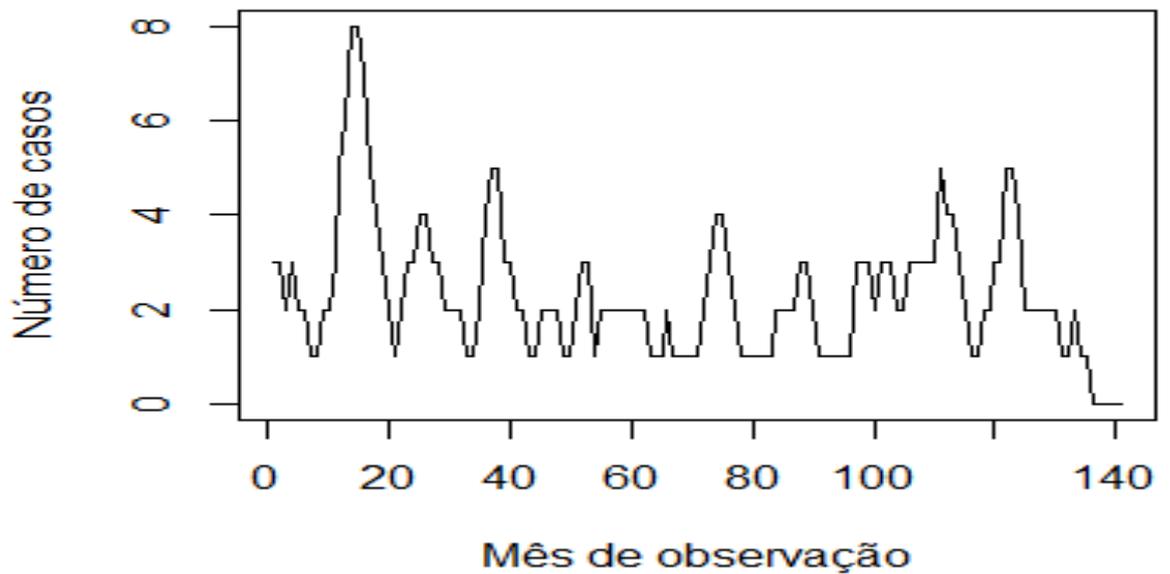


Tabela 1: descrição dos modelos de Poisson utilizados no estudo.

Modelo	Descrição
Poisson 1	Casos ~ tempo + símios + temperatura máxima mês anterior
Poisson 2	Casos ~ símios + temperatura máxima mês anterior
Poisson 3	Casos ~ tempo + temperatura máxima mês anterior

Os dados populacionais utilizados referem-se à soma da população dos municípios de Santa Tereza e Domingos Martins com interpolação entre os meses. As variáveis climáticas utilizadas são a média das medidas dos municípios do estudo. A descrição destas variáveis encontra-se na tabela 2.

Tabela 2: Estatística descritiva das variáveis independentes da região do estudo no período de 2007 a 2018.

Temperatura Mínima Média Mensal (°C)	Temperatura Máxima Média Mensal (°C)
Mínimo: 7,95 1° Quartil: 11,97 Mediana: 14,70 Média: 14,13 3° Quartil: 16,15 Máximo: 17,55 Variância: 5,65375	Mínimo: 18,70 1° Quartil: 22,38 Mediana: 24,05 Média: 24,33 3° Quartil: 26,50 Máximo: 29,35 Variância: 5,967237
Temperatura Média Mensal (°C)	Pluviosidade total Mensal (mm)
Mínimo: 13,80 1° Quartil: 16,40 Mediana: 18,70 Média: 18,36 3° Quartil: 20,40 Máximo: 22,20 Variância: 5,131235	Mínimo: 2,80 1° Quartil: 38,60 Mediana: 66,77 Média: 102,65 3° Quartil: 132,15 Máximo: 449,10 Variância: 8749,598

Para analisar o impacto da morte de símios em decorrência da epizootia de febre amarela ocorrida no primeiro semestre de 2017, na qual, segundo primatologistas, estima-se a morte de 90% de toda a população de primatas não humanos da região (dados não publicados), inserimos uma variável dicotômica a partir de janeiro de 2017, usando-a nos ajustes dos modelos acima citados.

Para análise dos dados, foi utilizado o programa R (Core Team 2015).

5 - RESULTADOS

Durante o período do estudo, de 2007 a 2018, foram registrados 244 casos autóctones de malária residual de sistemas de Mata Atlântica nos municípios estudados, sendo 110 casos em Domingos Martins e 134 em Santa Teresa.

5.1 - RELAÇÃO COM DADOS AMBIENTAIS

Foi encontrada correlação estatisticamente significativa, nos três modelos utilizados, para a temperatura máxima média do mês anterior com o número de casos, em sentido positivo, ou seja, ao aumentar a temperatura, ocorreu maior número de casos. Para as demais variáveis, não houve correlação estatisticamente significativa.

5.2 - IMPACTO DO SURTO DE FEBRE AMARELA

Com relação ao tempo, foi encontrada correlação negativa estatisticamente significativa nos modelos Poisson 1 e Poisson 3, revelando uma tendência de redução no número de casos. Ao avaliarmos o impacto da redução da população de primatas não humanos sobre o número de casos de malária, observamos uma correlação negativa, porém com significância estatística apenas no modelo Poisson 2 (tabela 3).

Tabela 3: Resultados dos modelos com as correlações das variáveis independentes em relação aos casos de malária autóctone no período de 2007 a 2018.

Modelo	Variáveis	Coefficiente	Z	p-Valor
Poisson 1	Intercepto	-2,923826	-4,834	1,34 e-06 ***
	Tempo	-0,003636	-2,196	0,0281 *
	Símios	-0,094550	-0,435	0,6634
	Temp. Máx. Mês Ant.	0,128509	5,525	3,30 e-08 ***
Poisson 2	Intercepto	-3,23289	-5,557	2,74 e-08 ***
	Símios	-0,35603	-1,986	0,0471 *
	Temp. Máx. Mês Ant.	0,13241	5,770	7,91 e-09 ***
Poisson 3	Intercepto	-2,908060	-4,807	1,53 e-06 ***
	Tempo	-0,004051	-2,985	0,00284**
	Temp. Máx. Mês Ant.	0,128518	5,515	3,48 e-08 ***

Significância: * p<0,05, **p<0,01, *** p<0,001

6 - DISCUSSÃO

A hipótese de zoonose para a malária residual de Sistemas de Mata Atlântica pôde ser avaliada, neste estudo, graças a uma ocorrência natural na região endêmica. Modelos de Poisson puderam demonstrar correlação negativa entre a epizootia de febre amarela e o número de casos de malária. Entretanto, os resultados dos modelos também permitem inferir que o elemento símio não é o único determinante, tendo havido perda da significância da referida correlação em função dos valores de temperatura máxima média. Assim, provavelmente, a cadeia de transmissão tem determinação multifatorial.

Ao avaliarmos o resultado da epizootia de febre amarela, a qual resultou na redução de aproximadamente 90% da população de símios, situação que possibilitou avaliar a hipótese de que os primatas não humanos atuariam como reservatórios naturais para o parasito e sustentariam a cadeia de transmissão dos casos de malária autóctone de Mata Atlântica, os resultados obtidos foram de uma correlação negativa, sendo estatisticamente significativa no modelo Poisson 2. Os demais modelos também evidenciaram uma correlação negativa para a epizootia de Febre Amarela com os casos autóctones de malária de sistemas residuais de Mata Atlântica, entretanto, a significância da análise ficou prejudicada pela natureza multifatorial da cadeia de transmissão da doença. A relação da série de casos com a variável tempo foi negativa e estatisticamente significativa, o que indica que há uma tendência de redução no número de casos ao longo do tempo. Este achado pode indicar indiretamente uma influência da mortalidade de primatas não humanos sobre a incidência dos casos de malária na região do estudo.

Lalremruata *et al.* (2015) afirmam que os parasitos são capazes de causar doença tanto em seres humanos quanto em símios em situação de contato próximo, em decorrência da falta de especificidade. Esta observação é compatível com o que se observa na região de estudo, onde os indivíduos adentram as matas em decorrência de sua atividade laboral ou de lazer. Para Figueiredo *et al.* (2017), parece não haver barreira biológica para a transmissão de parasitos entre hospedeiros de diferentes espécies.

Segundo Duarte *et al.* (2008), existe a possibilidade da ocorrência de zoonose devido à identificação da ocorrência simultânea de parasitos e de resposta sorológica em símios selvagens de regiões com ocorrência de casos autóctones de malária humana, o que está de acordo com a afirmação de Buery *et al.* (2017) de que, em algumas áreas, como a deste estudo, símios e humanos são infectados por um mesmo agente: *P. simum/vivax*.

As características da cadeia de transmissão em cenários de Mata Atlântica são potencialmente diferentes daquelas observadas em outras áreas em que um comportamento de zoonose é cogitado. Assim, Mvumbi *et al.* (2016) não conseguiram identificar parasitos da malária símia em isolados obtidos de amostras humanas. Porém, na região de seu estudo, no Congo, há predominância do *P. falciparum* e entre os indivíduos humanos há uma grande parcela que não apresenta o antígeno Duffy, o que dificulta a infecção por *P. vivax* e seu correspondente símio.

Evidências semelhantes existem para o outro protozoário encontrado nas áreas de malária residual. Para Rayner (2015), a infecção por *P. brasilianum* é decorrente da introdução do *P. malariae* no continente americano quando da colonização, tendo ocorrido sua migração para o hospedeiro símio.

Segundo Figueiredo *et al.* (2017), a eliminação da malária residual de Sistemas de Mata Atlântica é uma tarefa desafiadora quando se considera a perspectiva de compartilhamento de parasitos entre diferentes espécies de hospedeiros. Nesse contexto, ela não deve ser considerada apenas uma questão de saúde pública, mas também uma questão ambiental, abrangendo preservação dos ambientes de floresta e dos hospedeiros e vetores, como forma de garantir o equilíbrio ecológico em concomitância à adequada assistência aos indivíduos acometidos.

O encontro de correlação positiva estatisticamente significativa entre a incidência dos casos de malária autóctone de Mata Atlântica e a variável ambiental temperatura média máxima do mês anterior corrobora os achados de Huang *et al.* (2011), Mohammadkhani *et al.* (2016), Colón-González *et al.* (2016), Sewe *et al.* (2017)

e Liu *et al.* (2018). Também, há concordância com resultado de Huang *et al.* (2011) no que diz respeito ao tempo necessário para que o efeito do aumento de temperatura seja observado no número de casos, ou seja, um mês. Para Liu *et al.* (2018), o intervalo de tempo necessário seria de dois meses.

Arab *et al.* (2014) encontraram associação negativa entre temperatura e incidência dos casos de malária, o que difere do achado do nosso estudo. Este fato explica-se pela diferença entre os climas das regiões estudadas. A região do nosso estudo caracteriza-se por um clima tropical de altitude, com temperaturas mais amenas. Já o estudo de Arab *et al.* (2018), foi realizado no oeste do continente africano, onde as temperaturas já são constantemente altas.

Em relação à pluviosidade, não foi encontrada relação significativa, o que está de acordo com vários estudos que afirmam que a relação entre a pluviosidade e o número de casos de malária é menos linear, sendo mais difícil de ser identificada. (HUANG *et al.*, 2011; ARAB *et al.*, 2014).

Cabe ressaltar que, apesar do grau de explicação dos modelos encontrados a partir do uso da série de casos suavizada via média móvel ainda ser considerado relativamente baixo em termos genéricos (aproximadamente 37%), este foi bastante superior àqueles oriundos dos ajustes dos modelos aplicados à série original não suavizada (sejam separados por cidade ou não). O valor de 37% não deve ser *a priori* considerado baixo, uma vez que sua comparação deve ser feita com outros achados na literatura em fenômenos semelhantes aos do presente estudo. O fato da casuística ser baixa, com casos separados tanto espacial quanto temporalmente, limita e dificulta a análise das correlações. Outra limitação desta abordagem é a ausência de estudos semelhantes que pudessem permitir uma melhor avaliação da consistência dos nossos métodos de análise.

A principal contribuição deste estudo está em encontrar evidência estatística de uma relação entre a população de primatas não humanos e a ocorrência de casos humanos de malária autóctone de sistemas residuais de Mata Atlântica. Esta possibilidade, criada por um evento natural, a epizootia de Febre Amarela, permite,

senão testar a hipótese de que os símios atuam como reservatórios naturais para os parasitos, ao menos agregar evidências a seu favor.

7 - CONCLUSÃO

Os primatas não humanos têm influência estatisticamente significativa sobre a incidência de casos humanos de malária RSMA. Em razão da natureza complexa da cadeia de transmissão desta doença, esta relação não pôde ser mais claramente evidenciada pelos modelos estatísticos que utilizamos. A cadeia de transmissão também sofre influência de outros fatores, como as variáveis climáticas. Assim, este estudo demonstrou correlação positiva e estatisticamente significativa entre a temperatura máxima média e a incidência dos casos.

Em síntese, podemos afirmar que os símios têm papel importante na ocorrência da malária de Mata Atlântica, mas a sua presença não é suficiente para explicar todos os aspectos existentes na complexa cadeia de transmissão. Se a transmissão pode ser mantida mesmo na ausência dos primatas não humanos, ainda é uma questão a ser definida mediante períodos de observação mais longos da ocorrência de casos nestes municípios do Espírito Santo. Se tais períodos de observação confirmarem a hipótese de que os símios são um elemento essencial na cadeia de transmissão, dado o alto percentual observado de mortes desses primatas, talvez constatemos a extinção da malária-bromélia nos municípios do Espírito Santo.

8 - REFERÊNCIAS:

- Alvarenga, D. A. M., Pina-Costa, A. , Bianco Jr, C. B., Moreira, S. B., Brasil, P., Pissinatti, A., Daniel-Ribeiro, C. T., Brito, C. F. A. New potential *Plasmodium brasiliense* hosts : tamarin and marmoset monkeys (family Callitrichidae). **Malaria Journal**, v. 16, n.71, p. 1–7, 2017.
- Arab, A., Jackson, M. C., Kongoli, C. Modelling the effects of weather and climate on malaria distributions in West Africa. **Malaria Journal**, v.13, n. 126, p. 1–9, 2014.
- Bhaskaran, K., Gasparri, A., Hajat, S., Smeeth, L., Armstrong, B. Time series regression studies in environmental epidemiology. **International Journal of Epidemiology**, v. 7, n. 42, p. 1187–1195, 2013.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos e óbitos de febre amarela no Brasil - Informe – Nº 43/2017, p. 1–7, 2017. Retrieved from <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/02/COES-FEBRE-AMARELA---INFORME-43---Atualiza---o-em-31maio2017.pdf>
- Brasil, P. De Alvarenga, D. A. M., Zalis, M. G., Pina-Costa, A., Siqueira, A. M., Bianco Jr, C., Silva, S., Areas, A. L. L., Pelajo-Machado, M., Santeli, A. C. F. S., Albuquerque, H. G., Cravo, P., Abreu, F. V. S., Peterka, C. L., Zanini, G. M., Mutis, M. C. S., Pissinatti, A., Lourenço-de-Oliveira, R., Brito, C. F. A., Ferreira-da-Cruz, M. F. Culleton, R., Daniel-Ribeiro, C. T., Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. **Lancet Global Health**, v.5, p. 1038-1046, 2017.
- Buery, J. C., Rodrigues, P. T., Natal, L., Salla, L. C., Loss, A. C., Vicente, C. R., Rezende, H. R., Duarte, A. M. R. C., Fux, B., Malafronte, R. S., Falqueto, A., Cerutti, C Jr. Mitochondrial genome of *Plasmodium vivax/simum* detected in an endemic region for malaria in the Atlantic Forest of Espírito Santo state, Brazil: Do

- mosquitoes, simians and humans harbour the same parasite? **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2017.
- Buery, J. C., Rezende, H. R., Natal, L., Da Silva, L. S., De Menezes, R. M. T., Fux, B., ... Cerutti Junior, C. Ecological characterisation and infection of anophelines (Diptera: Culicidae) of the Atlantic forest in the southeast of Brazil over a 10 year period: Has the behaviour of the autochthonous malaria vector changed? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 2, p. 111–118, 2018.
- Carlos, B. C., Rona, I. D. P., Christophides, G. K., Souza-Neto, J. A. A comprehensive analysis of malaria transmission in Brazil, **Pathogens and Global Health**, v. 113, n.1, p. 1-13, 2019.
- de Castro Duarte, A. M. R., Malafronte, R. dos S., Cerutti, C., Curado, I., de Paiva, B. R., Maeda, A. Y., Yamasaki, T., Summa, M. E. L., Neves, D. V. D. A., Oliveira, S. G., Gomes, A. de C. Natural Plasmodium infections in Brazilian wild monkeys: Reservoirs for human infections? **Acta Tropica**, v.107, n. 2, p. 179–185, 2008.
- Cerutti, C. Jr, Boulos, M., Coutinho, A. F., Hatab, M. D. C. L. D., Falqueto, A., Rezende, H. R., Duarte, A. M. R. C., Collins, W., Malafronte, R. S. Epidemiologic aspects of the malaria transmission cycle in an area of very low incidence in Brazil. **Malaria Journal**, v. 6, n. 33, p. 1–12, 2007.
- Chaves, L. S. M., Conn, J. E., López, R. V. M., & Sallum, M. A. M., Abundance of impacted forest patches less than 5 km² is a key driver of the incidence of malaria in Amazonian Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- Colón-González, F. J., Tompkins, A. M., Biondi, R., Bizimana, J. P., & Namanya, D. B. Assessing the effects of air temperature and rainfall on malaria incidence: an epidemiological study across Rwanda and Uganda. **Geospatial Health**, v. 11. n. 1, p. 379-399, 2016.
- Costa, D.C. A infecção malárica pelo *Plasmodium simium*/*Plasmodium vivax* em primatas não humanos da Mata Atlântica brasileira, 2014. p. 178 [Tese de Doutorado, Centro de Pesquisas René Rachou—Fundação Oswaldo Cruz]
- Costa, D. C., Maíra, G., Assis, P. De, & Souza, F. A. D. *Plasmodium simium*, a *Plasmodium vivax* - related malaria parasite : genetic variability of Duffy binding

- protein II and the Duffy antigen / receptor for chemokines, **PLoS ONE**, v.10, n. 6, p. 1–16, 2015.
- Curado, I., Maria, A., Duarte, R. C., Lal, A. A., Oliveira, S. G., & Kloetzel, J. K. Antibodies anti bloodstream and circumsporozoite antigens (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae* / *P. brasilianum*) in areas of very low malaria endemicity in Brazil, **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 2, p. 235–243, 1997.
- De Alencar, F. E. C., Malafronte, R. D. S., Cerutti Junior, C., Natal Fernandes, L., Buery, J. C., Fux, B., Rezende, H. R., Duarte, A. M. R. C., Medeiros-Souza, A. R., Miranda, A. E. Assessment of asymptomatic *Plasmodium* spp. infection by detection of parasite DNA in residents of an extra-Amazonian region of Brazil. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2018.
- De Alvarenga, D. A. M., De Pina-Costa, A., De Sousa, T. N., Pissinatti, A., Zalis, M. G., Suárez-Mutis, M. C., Lourenço-de-Oliveira, R., Brasil, P., Daniel-Ribeiro, C. T., De Brito, C. F. A. Simian malaria in the Brazilian Atlantic forest: First description of natural infection of capuchin monkeys (Cebinae subfamily) by *Plasmodium simium*. **Malaria Journal**, v. 14, n. 1, p. 1–9, 2015.
- De Alvarenga, D. A. M., Culleton, R., De Pina-Costa, A., Rodrigues, D. F., Bianco, C., Silva, S., De Brito, C. F. A. An assay for the identification of *Plasmodium simium* infection for diagnosis of zoonotic malaria in the Brazilian Atlantic Forest. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.
- Deane, L. M., D'andretta, C., Kameyama, I, Malária simiana no Brasil Central: encontro do *Plasmodium brasilianum* em guariba do estado do Mato Grosso, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 12, n. 2, p. 144-148, 1970.
- Deane, L. M., Ferreira Neto, J. A., Deane, M. P., Silveira, I. P. S., *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, a natural vector of the monkey malaria parasites, *Plasmodium simium* and *Plasmodium brasilianum*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, n. 4, p. 647, 1970.
- Deane, L. M., Malaria vectors in Brazil, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, supl. 2, p. 5-14, 1986.
- Deane, L. M., Simian malaria in Brazil, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, supl. 3, p. 1- 20, 1992.

- de Pina-Costa, A., Brasil, P., di Santi, S. M., de Araujo, M. P., Suárez-Mutis, M. C., Santelli, A. C. F. e. S., Daniel-Ribeiro, C. T. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 5, p. 618–633, 2014.
- De Rezende Dias, G., Fujii, T. T. S., Fogel, B. F., Lourenço-De-Oliveira, R., Silva-Do-Nascimento, T. F., Pitaluga, A. N., Carvalho-Pinto, J., Carvalho, A. B., Peixoto, A. A., Rona, L. D. P. Cryptic diversity in an Atlantic Forest malaria vector from the mountains of South-East Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p.1–11, 2018.
- Downs, W. G., & Pittendrigh, C. S. Bromeliad malaria in Trinidad, British West Indies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 26, p. 47–66, 1946.
- Duarte, A. M. R. C., Pereira, D. M., De Paula, M. B., Fernandes, A., Urbinatti, P. R., Ribeiro, A. F., Malafronte, R. S. Natural infection in anopheline species and its implications for autochthonous malaria in the Atlantic forest in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 6, n. 1, p. 1–6, 2013.
- Figueiredo, M. A. P, Di Santi, S. M., Manrique, W. G., André, M. R., Machado, R. Z. Identification of *Plasmodium* spp. in neotropical primates of Maranhense Amazonin Northeast Brazil. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1-14, 2017.
- Guimarães, A. E., Gentile, C., Lopes, C. M., Sant’Anna, A., Jovita, A. M., Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra da Bocaina National Park, Brazil. I - Habitat distribution, **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p. 234- 250, 2000.
- Guimarães, A. E., Gentile, C., Lopes, C. M., Sant’Anna, A., Ecology of mosquitoes in areas of the National Park of “Serra da Bocaina”, Brazil. II – Monthly frequency and climatic factors, **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 392- 399, 2001
- Hristov, A. D., Carmen, M., Sanchez, A., Jarbas, J., Ferreira, B., Fernandes, G., Santi, D. Malaria in pregnant women living in areas of low transmission on the southeast Brazilian Coast : molecular diagnosis and humoural immunity profile, **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n.8, p.1014-1020, 2014 .
- Huang, F., Zhou, S., Zhang, S., Wang, H., & Tang, L. Temporal correlation analysis between malaria and meteorological factors in Motuo County, Tibet. **Malaria Journal**, v. 10, n.1, p. 1-8, 2011.

- Hurtado, L. A., Cáceres, L., Chaves, L. F., & Calzada, J. E. When climate change couples social neglect: Malaria dynamics in Panamá. **Emerging Microbes and Infections**, v. 3, n.4, p. 1–11, 2014.
- Ikeda, T., Behera, S. K., Morioka, Y., Minakawa, N., Hashizume, M., Tsuzuki, A., Kruger, P. Seasonally lagged effects of climatic factors on malaria incidence in South Africa. **Scientific Reports**, v. 7, n.1, p. 1–9, 2017.
- Imai, C., Armstrong, B., Chalabi, Z., Mangtani, P., & Hashizume, M. Time series regression model for infectious disease and weather. **Environmental Research**, v. 142, p. 319–327, 2015.
- Keesing, F., Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C. D., Holt, R. D., Ostfeld, R. S. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, v. 468, n. 7324, p. 647–652, 2010.
- Kigozi, R., Zinszer, K., Mpimbaza, A., Sserwanga, A., Kigozi, S. P., & Kanya, M. Assessing temporal associations between environmental factors and malaria morbidity at varying transmission settings in Uganda. **Malaria Journal**, v.15, n. 1, p. 4–9, 2016.
- Kirchgatter, K., Tubaki, R. M., Malafronte, R. dos S., Alves, I. C., Lima, G. F. M. de C., Guimarães, L. de O., Wunderlich, G.. *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera: Culicidae) in peridomestic area during asymptomatic malaria transmission in the Atlantic forest: molecular identification of blood-meal sources indicates humans as primary intermediate hosts. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 5, p. 403–409, 2014.
- Lalremruata, A., Magris, M., Vivas-Martínez, S., Koehler, M., Esen, M., Kempaiah, P., Metzger, W. G. Natural infection of *Plasmodium brasilianum* in humans : man and monkey share quartan malaria parasites in the Venezuelan Amazon. **EBioMedicine**, v. 2, n. 9, p. 1186–1192, 2015.
- Laporta, G. Z., Ramos, D. G., Ribeiro, M. C., & Sallum, M. A. M. Habitat suitability of *Anopheles* vector species and association with human malaria in the Atlantic Forest in Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 1950, p. 239–245, 2011.

- Laporta, G. Z., Burattini, M. N., Levy, D., Fukuya, L. A., De Oliveira, T. M. P., Maselli, L. M. F., Sallum, M. A. M. *Plasmodium falciparum* in the Southeastern Atlantic forest: a challenge to the bromeliad-malaria paradigm? **Malaria Journal**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2015.
- Lima, G. F. M. C., Sanchez, M. C. A., Levi, J. E. Fujimori, M., Caramelo, L. C., Sanchez, A. R., Ramos-Sanchez, E. M. Inoue, J., Costa-Nascimento, M. J., Mendrone Jr, A., Di Santi, S. M., Asymptomatic infections in blood donors harbouring *Plasmodium*: an invisible risk detected by molecular and serological tool, **Blood Transfusion**, v. 16, p. 17-25, 2018.
- Liu, J., Wu, X., Li, C., & Zhou, S.. Decline in malaria incidence in a typical county of China: Role of climate variance and anti-malaria intervention measures. **Environmental Research**, v. 167, p. 276–282, 2018.
- MacLeod, D. A., & Morse, A. P. Visualizing the uncertainty in the relationship between seasonal average climate and malaria risk. **Scientific Reports**, v. 4, p. 1–7, 2014.
- Marques, G. R. a M., & Forattini, O. P. *Anopheles cruzii* larvae found in bromelias in an urban area on the Brazilian coast. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 369–372, 2009.
- Massey, N. C., Garrod, G., Wiebe, A., Henry, A. J., Huang, Z., Moyes, C. L., & Sinka, M. E. A global bionomic database for the dominant vectors of human malaria. **Scientific Data**, v. 3, p. 1–13, 2016.
- Mohammadkhani, M., Khanjani, N., Bakhtiari, B., & Sheikhzadeh, K. The relation between climatic factors and malaria incidence in Kerman, South East of Iran. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 1. n. 3, p. 205–210, 2016.
- Mvumbi, D. M., Lengu Bobanga, T., Umesumbu, S. E., Kunyu, B. S., Ntumba Kayembe, J. M., Situakibanza, N. T. H., Hayette, M. P. Investigation on possible transmission of monkeys' *Plasmodium* to human in a populations living in the equatorial rainforest of the Democratic Republic of Congo. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 5, n. 1, p. 1–4, 2016.
- Oguike, M. C., & Sutherland, C. J. Dimorphism in genes encoding sexual-stage proteins of *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri*. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 7, p. 449–454, 2015.

- Phillips, M. A., Burrows, J. N., Manyando, C., Van Huijsduijnen, R. H., Van Voorhis, W. C., Wells, T. N. C.. Malaria. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1-24, 2017.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rayner, J. C. *Plasmodium malariae* malaria : from monkey to man ? **EBioMedicine**, v. 2, n. 9, p. 1023–1024, 2015.
- Rezende, H. R., Soares, R. M., Cerutti Jr, C., Alves, I. C., Natal, D., Urbinatti, P. R., Malafronte, R. dos S. Entomological characterization and natural infection of anophelines in an area of the Atlantic Forest with autochthonous malaria cases in mountainous region of Espírito Santo State, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 2, p. 272–280, 2009.
- Rezende, H. R., Falqueto, A., Urbinatti, P. R., De Menezes, R. M. T., Natal, D., Cerutti, C. Jr. Comparative study of distribution of anopheline vectors (Diptera: Culicidae) in areas with and without malaria transmission in the highlands of an extra-amazonian region in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 3, p. 598–602, 2013.
- Rodrigues PT, Valdivia HO, Oliveira TC, Alves JMP, Duarte AMRC, Cerutti Jr C, et al. Human migration and the spread of malaria parasites to the New World. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1993, p. 1-13, 2018.
- Rossati, A., Bargiacchi, O., Kroumova, V., Zaramella, M., Caputo, A., & Garavelli, P. L. Climate, environment and transmission of malaria. **Infezioni in Medicina**, v. 24, n. 2, p. 93–104, 2016.
- Routledge, I., Chevéz, J. E. R., Cucunubá, Z. M., Rodriguez, M. G., Guinovart, C., Gustafson, K. B., Bhatt, S. Estimating spatiotemporally varying malaria reproduction numbers in a near elimination setting. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2018.
- Sewe, M. O., Tozan, Y., Ahlm, C., & Rocklöv, J. Using remote sensing environmental data to forecast malaria incidence at a rural district hospital in Western Kenya. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2589, p. 1–10, 2017.

- Silva, J. S., Alencar, J., Costa, J. M., Seixas-Loroza, E., Guimarães, A. E., Feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in six Brazilian environmental preservation areas, **Journal of Vector Ecology**, v. 37, n. 2, p. 342-350, 2012
- Soto-Calle, V., Rosas-Aguirre, A., Llanos-Cuentas, A., Abatih, E., Dedeken, R., Rodriguez, H., Speybroeck, N. Spatio-Temporal analysis of malaria incidence in the Peruvian Amazon Region between 2002 and 2013. **Scientific Reports**, v. 7, n. 40350, p. 1–13, 2017.
- Ssempiira, J., Kissa, J., Nambuusi, B., Mukooyo, E., Opigo, J., Makumbi, F., Vounatsou, P. Interactions between climatic changes and intervention effects on malaria spatio-temporal dynamics in Uganda. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 3, n. 3, p. 1-16, 2018.
- Sutherland, C. J., Tanomsing, N., Nolder, D., Oguike, M., Jennison, C., Pukrittayakamee, S., Polley, S. D. Two nonrecombining sympatric forms of the human malaria parasite *Plasmodium ovale* occur globally, **The Journal of Infectious Diseases**; v. 201, n. 10, p.1544–1550, 2010.
- Wassmer, S. C., Emile, G., Grau, R., Kingdom, U., Unit, I., & Bashir, M. Severe malaria: whats new on the pathogenesis front? **International Journal for Parasitology**, v. 47, n. 2-3, p. 145–152, 2018.
- White, N. J., Pukrittayakamee, S., Hien, T.T., Faiz, M. A., Mokuolu, O. A., Dondorp, A. M. Malaria. **The Lancet**, v. 13, p. 1-13, 2013.
- World Malaria Report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

9 - APÊNDICE:

Tabela 1: resultados dos Critérios de Informação de Akaike para os modelos.

Modelo	AIC
Poisson 1	448,1907
Poisson 2	451,0514
Poisson 3	446,3818
Poisson Inflacionado de Zeros 1	479,1488
Poisson Inflacionado de Zeros 2	484,9477