Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Estudo da dinâmica de transmissão de malária autóctone
de Mata Atlântica: Análise da variação na acrodendrofilia
de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) e desenvolvimento
de modelo matemático para a transmissão zoonótica.**

Antônio Ralph Medeiros de Sousa

**Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em
Saúde Pública para obtenção do título de Doutor em
Ciências.**

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Mauro Toledo Marrelli

São Paulo

2018

Estudo da dinâmica de transmissão de malária autóctone de Mata Atlântica: Análise da variação na acrodendrofilia de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) e desenvolvimento de modelo matemático para a transmissão zoonótica.

Antônio Ralph Medeiros de Sousa

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Mauro Toledo Marrelli

Versão original

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Medeiros de Sousa, Antônio Ralph

Estudo da dinâmica de transmissão de malária autóctone de Mata Atlântica: Análise da variação na acrodendrofilia de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) e desenvolvimento de modelo matemático para a transmissão zoonótica. / Antônio Ralph Medeiros de Sousa; orientador Mauro Toledo Marrelli. -- São Paulo, 2018.

100 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2018.

1. Malária zoonótica. 2. *Anopheles cruzii*. 3. Mata Atlântica. 4. Acrodendrofilia. 5. Modelo Matemático. I. Marrelli, Mauro Toledo, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar aqui os meus mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram ou contribuem com minha formação, que hoje transpõe mais um desafio e chega ao final de mais uma fase.

Ao meu orientador, Prof. Mauro Toledo Marrelli, por ter permitido o desenvolvimento de meu aprimoramento profissional, mestrado e doutorado em seu grupo de pesquisa, me fornecendo todo apoio e respaldo durante este período, por sua amizade e preocupação com minha formação acadêmica e por toda confiança que depositou em mim para desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Walter Ceretti Junior, por sua amizade e indispensável auxílio às minhas atividades, fornecendo sempre com presteza todo o seu conhecimento e experiência.

Ao excelente taxonomista Aristides Fernandez, pela indispensável e precisa identificação dos espécimes coletados em campo, pela disposição em tirar todas as minhas dúvidas e pelos valiosos ensinamentos transmitidos em nossas conversas informais.

À Dra. Ana Maria Ribeiro de Castro Duarte e ao Dr. Luis Filipe Mucci, por todo apoio e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho, fornecendo com presteza diversas sugestões e informações baseadas na ampla experiência que ambos possuem no assunto.

A todos os agentes, motoristas, técnicos e pesquisadores da Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN), do Centro de Controle de Zoonoses da cidade de São Paulo (Labfauna/CCZ) e do Instituto Florestal do Estado de São Paulo, cujo apoio nas coletas de campo foi imprescindível para o andamento e conclusão desta e de outras pesquisas do projeto. Faço uma menção especial aos colegas João, Bilão, Bonafé, Waldomiro, Laércio e Renildo pelo imenso e indispensável esforço dispendido nas coletas de campo.

Ao Dr. Renato Mendes Coutinho e ao Dr. Luis Filipe Mucci, pelas correções, sugestões e conselhos que nortearam o desenvolvimento deste trabalho após o exame de qualificação.

Aos amigos do laboratório e agregados, Daniel, Gabriela, Ramon, Rafael, Amanda, Eduardo e Natasha, além de muitos outros amigos que não cito aqui, mas estiveram presentes em algum momento da minha formação acadêmica, por todo apoio, companheirismo e inúmeros momentos de descontração.

Enfim, a toda equipe de entomologia da Faculdade de Saúde Pública, por terem me propiciado esta fantástica experiência de aprendizado e de crescimento profissional e pessoal.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto “Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) no Parque Estadual da Cantareira e na Área de Proteção Ambiental Capivari - Monos, estado de São Paulo” (Programa BIOTA - nº 2014/50444-5), cujos recursos permitiram o desenvolvimento do presente trabalho. E pelo financiamento de minha bolsa de estudos (processo nº 2015/18630-6).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por ter financiado minha bolsa de estudos durante o meu primeiro ano de doutorado.

Aos meus queridos irmãos, José Wellington e Francisco Charles, e à minha batalhadora mãe, Conceição, sem os quais eu jamais teria chegado aqui.

A toda minha Família, pelo apoio e compreensão.

À minha amada esposa Tânia, que está sempre ao meu lado, apoiando e me dando forças em todos os momentos.

A todos estes minha sincera gratidão!

RESUMO

Medeiros-Sousa A.R. **Estudo da dinâmica de transmissão de malária autóctone de Mata Atlântica: Análise da variação na acrodendrofilia de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) e desenvolvimento de modelo matemático para a transmissão zoonótica.** 2018. Tese - Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2018.

A Malária autóctone de Mata Atlântica é caracterizada por baixa incidência de casos com pouca ou nenhuma manifestação clínica e baixa parasitemia, tendo como principal agente etiológico o *Plasmodium vivax* (ou plasmódios muito semelhantes a este). O principal mosquito envolvido na transmissão é o *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, cujas formas imaturas se desenvolvem na água acumulada nas imbricações das folhas de bromélias, vegetal muito abundante neste bioma. As formas adultas de *An. cruzii* tendem a viver e se alimentar com maior frequência na copa das árvores, comportamento conhecido como acrodendrofilia, no entanto, em diversas situações esta espécie tem sido observada em elevada densidade no estrato inferior da floresta. Evidências sugerem que a malária possa ser transmitida de forma zoonótica nestas áreas, uma vez que primatas das famílias Atelidae e Cebidae são encontrados portando plasmódios muito próximos geneticamente aos que infectam humanos e *An. cruzii* pode se alimentar do sangue de ambos os hospedeiros. O presente estudo teve como objetivo investigar a influência da composição e configuração da paisagem sobre as variações na abundância e no comportamento acrodendrófilo de *An. cruzii* e como estas variações atuam sobre a dinâmica de transmissão de malária na Mata Atlântica, considerando um cenário de transmissão zoonótica. Coletas entomológicas mensais foram conduzidas no período de março de 2015 a abril de 2017 em duas unidades de conservação situadas no município de São Paulo, ambas com histórico de malária autóctone. Em cada área foram selecionados pontos de coleta com diferentes graus de interferência antrópica e os mosquitos foram coletados utilizando armadilhas do tipo CDC e Shannon. Métricas de composição e configuração da paisagem foram mensuradas para cada ponto de estudo e modelos estatísticos foram utilizados para avaliar a relação entre estas métricas e variações na abundância e acrodendrofilia de *An. cruzii*. Foi proposto um modelo matemático de transmissão zoonótica que permitiu observar, por meio de simulações, como a dinâmica de transmissão da malária é influenciada por variações na abundância e acrodendrofilia do vetor. Os resultados obtidos sugerem que a perda de vegetação natural e aumento das áreas de borda levam a uma redução na abundância de *An. cruzii* mas favorecem uma maior atividade desta espécie próximo ao solo. As análises baseadas no modelo teórico corroboram com observações anteriores, apontando que as variações na acrodendrofilia do vetor podem ter um papel importante na dinâmica de transmissão de plasmódios entre símios e humanos na Mata Atlântica. Em condições nas quais *An. cruzii* tende a se alimentar quase exclusivamente na copa das árvores ou quase exclusivamente próximo ao solo a transmissão zoonótica parece não se sustentar, ainda que a abundância do vetor seja elevada. De outra forma, condições nas quais *An. cruzii* se desloque com maior frequência entre os estratos copa e solo tendem a favorecer a transmissão zoonótica, sendo que quanto maior o deslocamento menor é a abundância relativa do vetor

necessária para que um símio infectado gere mais do que um caso novo na população de humanos suscetível ou vice-versa.

Descritores: Malária; Mata Atlântica; *Anopheles cruzii*; Acrodendrofilia; Transmissão zoonótica.

ABSTRACT

Medeiros-Sousa A.R. **Dynamic of Autochthonous Malaria Transmission in the Atlantic Forest: Analysis of variation in *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) acrodendrophilic behavior and development of a mathematical model for zoonotic transmission.** 2018. Thesis. Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2018.

The autochthonous Malaria of the Atlantic Forest is characterized by a low incidence of cases with little or no clinical manifestation and low charge of parasites in the blood stream, being *Plasmodium vivax* (or plasmodiums very similar to it) the main etiologic agent. The main mosquito involved in transmission is the *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, whose immature forms develop in the water held in bromeliads, which are very abundant plants in this biome. The adult forms of *An. cruzii* prefer to live and feed on the treetops, a behavior known as acrodendrophily, however, in several situations this species has been observed in high density near the ground of the forest. Some evidences suggest that malaria can be transmitted zoonotically in these areas, since monkeys of Atelidae and Cebidae families are found carrying plasmodiums very close to those that infect humans and *An. cruzii* can feed on the blood of both hosts. This study aimed to investigate the influence of the landscape composition and configuration on the variations in the abundance and acrodendrophilic behavior of *An. cruzii* and how these variations affect the dynamics of malaria transmission in the Atlantic Forest, considering a zoonotic transmission scenario. Monthly entomological collections were conducted from March 2015 to April 2017 in two conservation units located in the municipality of São Paulo, Brazil, where human and simian malaria occurs. In each area, collection points with different degrees of anthropic intervention were selected and mosquitoes were collected using CDC and Shannon traps. Metrics of landscape composition and configuration were measured for each study point and generalized linear models were used to evaluate the relationship between these metrics and variations in abundance and acrodendrophily of *An. cruzii*. It was proposed a mathematical model of zoonotic transmission that allowed to observe, through simulations, how the dynamics of malaria transmission is influenced by variations in the abundance and acrodendrophily of the vector. The results suggest that loss of natural vegetation and increase in edge effect lead to a reduction in the abundance of *An. cruzii* but favor a higher activity of this species near the ground level. The analyzes based on the theoretical model corroborate previous observations, pointing out that the variations in the acrodendrophily of the vector may play an important role in the dynamics of plasmodium transmission between monkeys and humans in the Atlantic Forest. In situations in which *An. cruzii* seeks to feed almost exclusively on the treetops or in situations where it feeds almost exclusively near the ground, the zoonotic transmission does not seem to occur, even in situations of high abundance of the vector. Otherwise, conditions in which *An. cruzii* moves more frequently between canopy and ground level tend to favor zoonotic transmission, and the more vertical movement occurs, the lower is the needed relative abundance of the vector for an infected monkey to generate more than a new case in the susceptible human population or vice versa.

Descriptors: Malaria; Atlantic Forest; *Anopheles cruzii*; Acrodendrophily; Zoonotic transmission.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	9
1.1. A malária.....	9
1.1.1. Os agentes etiológicos da malária.....	10
1.1.2. A malária no Brasil.....	11
1.1.3. A malária autóctone de Mata Atlântica.....	12
1.1.4. Malária símia.....	14
1.1.5. Transmissão zoonótica da malária.....	15
1.1.6. A malária autóctone na cidade São Paulo.....	16
1.2. Vetores da malária na Mata Atlântica.....	18
1.2.1. <i>Anopheles cruzii</i> Dyar & Knab, 1908.....	18
1.2.2. Variações na acrodendrofilia de <i>Anopheles cruzii</i>	20
1.3. Modelos matemáticos para a transmissão da malária.....	21
1.4. Justificativa e hipótese do estudo.....	22
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Geral.....	25
2.2 Específicos.....	25
3. MÉTODOS.....	26
3.1. Estudo da relação entre as variações na paisagem e a abundância e acrodendrofilia de <i>Anopheles cruzii</i>	26
3.1.1. Área de estudo.....	26
3.1.2. Coletas de campo.....	29
3.1.3. Análise da paisagem.....	30
3.1.4. Análise dos dados.....	31
3.2. Modelo teórico.....	33
3.2.1. Descrição do modelo matemático.....	33
3.2.2. Valores dos parâmetros.....	37
3.2.3. Número básico de reprodução.....	43
3.2.4. Pontos de equilíbrio e análise de estabilidade.....	44
3.2.5. Integração numérica e análises de sensibilidade.....	48
4. RESULTADOS.....	49
4.1. Relação entre a composição e configuração da paisagem com a abundância e acrodendrofilia de <i>Anopheles cruzii</i>	49

4.2. Simulações do modelo teórico.....	54
5. DISCUSSÃO.....	63
6. CONCLUSÕES.....	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXOS.....	88
Anexo 1. Lista de espécies coletadas na Área de Proteção Ambiental (APA) Capivari-Monos por número de indivíduos em cada ponto de estudo.....	88
Anexo 2. Lista de espécies coletadas no Parque Estadual da Cantareira (PEC) por número de indivíduos em cada ponto de estudo.....	91
Anexo 3. Número de espécimes de <i>Anopheles cruzii</i> coletados no Parque Estadual da Cantareira (PEC) por ponto de estudo, técnica e coleta.....	93

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Número de casos autóctones de malária notificados nos Bairros Embura e Marsilac, sub-distrito de Parelheiros, no período de 2006 a 2014.....	27
Tabela 2. Quantidade de espécimes de <i>An. cruzii</i> , outros culicídeos, total e abundância relativa de <i>An. cruzii</i> para cada um dos cinco pontos de coleta na APA Capivari-monos.....	49
Tabela 3. Métricas de composição (proporção de cobertura florestal e uso antrópico) e configuração (número de fragmentos e área de borda total) da paisagem, abundância média de <i>An. cruzii</i> coletor/hora e proporção média de <i>An. cruzii</i> coletados no solo para cada um dos cinco pontos de estudo na APA Capivari-monos.....	50
Tabela 4. Estimativa dos parâmetros e valores de p e de desvio residual (<i>Deviance</i>) para cada modelo proposto para explicar variações na abundância média de <i>An. cruzii</i> coletor/hora na APA Capivari-Monos.....	52
Tabela 5. Estimativa dos parâmetros e valores de p e de desvio residual (<i>Deviance</i>) para cada modelo proposto para variações na frequência média de <i>An. cruzii</i> no solo na APA Capivari-Monos.....	53
Quadro 1. Parâmetros utilizados no modelo, estimativas ou valores atribuídos e referências ou forma de obtenção.	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécime de bugio (<i>Alouatta Guariba Clamitans</i>) fotografado no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo-SP, em setembro de 2016. Estudos realizados ao longo das décadas de 1960-70 mostraram que cerca de 62% dos bugios desta área apresentavam plasmódios nas amostras de sangue (Deane, 1992).....	15
Figura 2. Espécime de <i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> (fêmea) coletado na APA Capivari-Monos, São Paulo-SP.....	20
Figura 3. Pontos de estudo situados na APA Capivari-Monos, São Paulo-SP.....	28
Figura 4. Mapa dos municípios de São Paulo e Mairiporã destacando o Parque Estadual da Cantareira e os pontos de coleta.....	29
Figura 5. Técnicas de coleta utilizadas no estudo. A- Armadilha do tipo CDC instalada próxima ao solo e B- CDC instalada na copa de uma árvore, ambas na APA Capivari-Monos; C- Armadilha de Shannon instalada em ponto de estudo situado no PEC.....	30
Figura 6. Modelo esquemático da transmissão de plasmódios entre humanos, mosquitos e primatas.....	37
Figura 7. Representação gráfica do deslocamento copa/solo de <i>An. cruzii</i>	40
Figura 8. Evolução do número de primatas infectados por unidade de tempo (linha) ajustado a 100 ‘pseudo-observações’ (pontos) para estimativa de parâmetros de transmissão de símios.....	42

Figura 9. Gráficos de bifurcação mostrando a mudança de estabilidade entre o equilíbrio livre de doença e o equilíbrio endêmico quando $R_0=1$	47
Figura 10. Boxplot mostrando a variação da abundância observada de <i>An. cruzii</i> coletor/hora na armadilha de Shannon para pontos na APA Capivari-Monos com >90% de cobertura florestal e com <75% de cobertura florestal.....	51
Figura 11. Comparação entre as proporções médias de <i>An. cruzii</i> coletados no nível do solo no Parque Estadual da Cantareira (PEC) e na Área de proteção Ambiental Capivari-Monos (APA).....	51
Figura 12. Valores observados (pontos) e preditos (linha) para abundância média de <i>An. cruzii</i> por coletor/hora em função da proporção de cobertura florestal em um raio de 1 km no entorno de cada um dos cinco pontos de estudo situados na APA Capivari-Monos.....	53
Figura 13. Simulações do modelo proposto para avaliar a evolução do número de humanos, primatas (uma população de bugios em nosso exemplo) e mosquitos infectados por unidade de tempo (dias) considerando quatro situações distintas.....	55
Figura 14. Variação de R_0 para o aumento de $\zeta_s + \zeta_c$ considerando diferentes valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$).....	56
Figura 15. Variações de R_0 para diferentes valores de C_{th} , M e F_{ms}	57
Figura 16. Resposta de R_0^H (número de casos secundários que um humano infectado irá gerar em média na população de humanos suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th}	59
Figura 17. Resposta de R_0^P (número de casos secundários que um símio infectado irá gerar em média na população de símios suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th}	60
Figura 18. Resposta de R_0^{PH} (número de casos secundários que um hospedeiro símio infectado irá gerar em média na população de humanos suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th}	61
Figura 19. Resposta de R_0^{HP} (número de casos secundários que um hospedeiro humano infectado irá gerar em média na população de símios suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th}	62

1. INTRODUÇÃO

1.1. A MALÁRIA

A Malária é uma doença parasitária veiculada ao homem por meio de mosquitos anofelinos (Diptera: Culicidae). Esta parasitose possui elevada prevalência em países da região tropical e subtropical do planeta, sendo também conhecida como paludismo, impaludismo, febre terça ou febre quartã. Em algumas regiões do Brasil recebe o nome popular de maleita, sezão, tremedeira, entre outros (Camargo, 2003). A palavra “malária” teve origem na Itália durante século XVIII e refere-se aos termos ‘*mala*’ e ‘*aria*’, que significa ‘maus ares’, isto porque se acreditava que a doença provinha do ar insalubre emanado de regiões pantanosas, seguindo a teoria até então aceita dos miasmas (Sallares, 2002; Cox, 2010). Referências aos sintomas da malária foram encontrados em escritos chineses de 2.700 a.C., mesopotâmicos de 2000 a.C., egípcios de 1500 a.C., e Hindus no século VI a.C. Há também relatos de epidemias cíclicas da doença na Europa, que podem ter contribuído para o declínio de muitas cidades-estados gregas e mesmo do império romano (Cox, 2010; CDC, 2017).

Em 1880, o médico francês Charles Louis Alphonse Laveran foi o primeiro a identificar a presença de um parasita no interior dos glóbulos vermelhos de pessoas infectadas, propondo que aquela seria a causa da malária. Pouco tempo depois, o médico cubano Carlos Finlay apresentou evidências de que mosquitos poderiam ser os responsáveis por transmitir a febre amarela, confirmando sugestões anteriores do escocês Patrick Manson sobre a participação de mosquitos na transmissão de outra doença, a filariose. Tais evidências levaram em 1897 o britânico Ronald Ross a demonstrar o ciclo completo do parasita da malária em mosquitos e a confirmação do papel destes insetos como transmissores de plasmódios aviários. Entre 1888 e 1900 os cientistas italianos Giovanni Battista Grassi, Amico Bignami, Giuseppe Bastianelli, Angelo Celli, Camillo Golgi e Ettore Marchiafava confirmaram que a malária humana também era veiculada por mosquitos, particularmente os do gênero *Anopheles* Meigen (Tan & Sung, 2008, Chernin, 1977, CDC, 2017).

Na primeira metade do século XX foram descobertos princípios ativos antimaláricos como a quinina e a cloroquina, capazes de destruir os parasitas no organismo, além do desenvolvimento de inseticidas como o DDT (Dicloro-difenil-tricloroetano). A partir daí foram obtidos avanços importantes no controle e prevenção da malária em diversas regiões do

planeta (CDC, 2017). Em 1955 a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou a Campanha Mundial de Erradicação da Malária que eliminou o risco para mais de 50% da população de áreas endêmicas do mundo e permitiu o crescimento econômico em muitas regiões das Américas, Ásia e sul e sudeste da Europa. A partir da década de 1970, o surgimento de resistência tanto dos parasitas aos antimaláricos quanto dos mosquitos aos inseticidas, além de redução nos investimentos globais para o programa de erradicação, levaram a um recrudescimento de epidemias da doença em muitas áreas endêmicas, sobretudo em países subdesenvolvidos, fazendo com que a OMS abandonasse a proposta de erradicação e focasse apenas na redução do número de casos, o que vem sendo feito até os dias de hoje (CDC, 2017; WHO, 2017).

Atualmente, são ainda registrados centenas de milhões de casos de malária humana todos os anos, sobretudo na África, Américas do Sul e Central, sudeste da Ásia e ilhas da Oceania, regiões onde esta doença permanece altamente prevalente. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, ocorreram por volta de 216 milhões de casos com 445 mil óbitos no planeta em 2016, sendo que 90% de todos os casos de morbidade e mortalidade se concentram no continente africano, onde crianças e gestantes são os principais afetados (WHO, 2017).

1.1.1. Os agentes etiológicos da Malária.

Os agentes etiológicos da malária são protozoários do gênero *Plasmodium*, do qual se conhecem cerca de 250 espécies que infectam mamíferos, aves e répteis (Garnham, 1966; Faust & Dobson, 2015). Dentre os plasmódios que infectam os seres humanos os mais conhecidos são: o *P. falciparum*, associado a uma forma mais grave da malária, responsável por mais de 90% do número de óbitos anuais; o *P. vivax*, que geralmente causa formas menos graves da doença, mas pode se alojar nas células do fígado por mais tempo, dificultando sua eliminação e causando recaídas da doença no hospedeiro; o *P. malariae*, responsável por quadros clínicos muito semelhantes ao do *P. vivax*; e o *P. ovale*, restrito ao continente africano, regiões da Ásia e Ilhas do Pacífico. Evidências recentes sugerem que *P. ovale* compreende duas espécies que vivem em simpatria na África e Ásia, denominadas *P. ovale curtisi* e *P. ovale wallikeri* (Sutherland et al., 2010). A espécie *P. knowlesi*, parasito que circula naturalmente entre macacos do velho mundo, tem sido reconhecida como mais um plasmódio capaz de infectar humanos, com um crescente número de casos de malária

atribuídos a esta espécie na região sudeste da Ásia nos últimos anos (Jiram et al., 2012; Vythilingam, 2012).

1.1.2. A malária no Brasil

No final do século XIX a malária estava presente em quase todo o território brasileiro e estima-se que ocorriam por volta de seis milhões de casos anuais. Apesar da elevada incidência, a malária permanecia estável, sem grandes surtos epidêmicos (Camargo, 2003). Dois grandes surtos ocorreram entre o final do século XIX e início do século XX na região amazônica. Um primeiro decorrente da exploração do látex, que na ocasião se tornara matéria-prima importante para a fabricação de borracha, e um segundo ocorrido durante a construção da estrada de ferro Madeira-Mamoré, que visava traspor o trecho encachoeirado do rio Madeira, facilitando o escoamento do látex boliviano e brasileiro pela bacia Amazônica em direção ao Oceano Atlântico. Um grande número de pessoas de diversas partes do Brasil e de outros países, totalmente suscetíveis e sem contato prévio com plasmódios da malária, foram atraídos para estas regiões em busca de trabalho, tendo como resultado grandes epidemias que causaram milhares de mortes (Camargo, 2003).

Uma terceira epidemia notável ocorreu no final da década de 1930 no nordeste do país, devido à introdução do *Anopheles gambiae*, principal vetor da malária na África. A espécie foi introduzida de forma acidental no estado do Rio Grande de Norte no final da terceira década, provavelmente trazidos no interior de *Destroyers* franceses que faziam a rota postal França-Natal via Dacar (Senegal). Uma vez em território brasileiro a população do mosquito se espalhou, chegando ao estado do Ceará após algum tempo. O número de casos de malária aumentou progressivamente, causando uma elevada morbidade e mortalidade humana nestes dois Estados no final da década de 30. Estima-se que na ocasião cerca de 20% da população total tenha se infectado e tenham morrido mais de 80 mil pessoas (Barros-Barreto, 1940; Deane, 1988; Griffing et al., 2015). O grande esforço de controle empreendido pelo governo brasileiro em parceria com a Fundação Rockefeller permitiu que o mosquito fosse erradicado do Brasil em 1940 e interrompeu o ciclo de transmissão da malária nesta região (Soper & Wilson, 1943; Griffing et al., 2015).

A partir da segunda metade do século XX, a incidência da malária teve uma redução drástica no Brasil, caindo de seis milhões de casos anuais no início do século para algo em

torno de 37 mil casos em 1960. Tais avanços foram possíveis, em grande parte, pelo desenvolvimento de inseticidas e a implantação da Campanha Mundial de Erradicação da Malária (Marques & Gutierrez, 1994; Camargo, 2003). Durante a década de 70 e nas duas décadas seguintes, a rápida e desordenada ocupação do território amazônico devido a projetos de colonização e busca por recursos naturais e ganhos econômicos levaram a uma nova mudança no quadro epidemiológico da malária no Brasil. O número de casos voltou a subir seguindo a intensificação do desmatamento na região amazônica, culminando no registro de 630 mil casos de malária no Brasil no ano de 1999 (Oliveira-Ferreira et al., 2010).

Com a implantação do Plano de Intensificação das Ações de Controle da Malária no ano 2000 e do Plano Nacional de Controle da Malária em 2005, a incidência anual voltou a decrescer, chegando a 117 mil casos em 2016. Atualmente no Brasil, mais de 99% dos casos de malária notificados estão restritos à região amazônica. No ano de 2017 a incidência teve um notável crescimento em relação aos três anos anteriores, com registro de aproximadamente 194 mil casos (OPAS, 2018).

1.1.3. A malária autóctone de Mata Atlântica

Fora da região amazônica, outros dois perfis de malária podem ser identificados no Brasil. Um primeiro decorrente de casos importados de pessoas que vieram de regiões endêmicas do Brasil ou de outros países. Nesta situação há grande preocupação quanto ao diagnóstico adequado em locais onde a doença não é comum e quanto ao estabelecimento de surtos devido à presença do vetor primário, *Anopheles darlingi*, ou de outras espécies capazes de sustentar o ciclo de transmissão (Lupi et al., 2014; Pina-Costa et al., 2014). O segundo perfil extra-amazônico é a malária autóctone na região de Mata Atlântica, que ocorre principalmente no sul e sudeste brasileiro, onde também é chamada de Bromélia-malária, devido às formas imaturas de seus principais vetores, *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e *An. (Ker.) bellator*, se desenvolverem na água acumulada nas imbricações das folhas de “bromélias”, também conhecidas como “gravatás” (família Bromeliaceae), que são muito abundantes neste bioma (Reitz, 1983; Forattini, 2002; Laporta et al., 2014; Pina-Costa et al., 2014).

Nas últimas décadas os focos de malária autóctone na Mata Atlântica têm sido representados por baixa incidência de casos, com indivíduos em geral assintomáticos ou

oligossintomáticos e com baixas parasitemias (Carvalho et al., 1988; Curado et al., 2006; Cerutti et al., 2007). Evidências por estudos soroepidemiológicos apontam que indivíduos assintomáticos contribuem como reservatórios para a manutenção do ciclo de transmissão, uma vez que anticorpos contra esporozoítos e formas sanguíneas de plasmódios podem ser encontrados em populações residentes em áreas de ocorrência (Curado et al., 1997; Curado et al., 2006). Admite-se que o principal agente etiológico envolvido na transmissão de malária na Mata Atlântica é o *P. vivax*, e em menor número *P. malariae* e *P. falciparum* (Pina-Costa et al., 2014), embora encontros recentes apontem que *P. falciparum*, ou alguma variante menos patogênica deste plasmódio, circule de forma intensa e silenciosa, envolvendo primatas não-humanos, vetores com distintas características bio-ecológicas e humanos (Maselli et al., 2014; Sallum et al., 2014; Laporta et al., 2015).

O médico Adolpho Lutz, investigando um surto de malária ocorrido na serra de Cubatão durante a construção da segunda linha ferroviária São Paulo-Santos, no ano de 1898, foi o primeiro a levantar a hipótese de que um mosquito silvestre estivesse transmitindo a malária naquela região, fazendo menção à existência de diversas plantas bromeliáceas na floresta que serviam de criadouros para mosquitos. Alguns espécimes coletados foram enviados por Lutz para o entomologista inglês Frederick Vincent Theobald que, em 1901, os descreveu como *Anopheles lutzii*, mais tarde denominado *Anopheles cruzii* (Dyar & Knab, 1908; Ferreira Neto, 1956). No ano de 1904, o médico veterinário Bruno Galli-Valério identificou oocistos de plasmódio em um *An. cruzii* (até então *An. lutzii*) proveniente de uma amostra de 20 exemplares, coletados no porto de Paranaguá, Paraná (Galli-Valerio, 1904; Ferreira Neto, 1956). Na ocasião houve pouca aceitação à hipótese de que a malária fosse transmitida por mosquitos de hábitos silvestres. Apesar disto, novas evidências foram surgindo ao longo das décadas seguintes, até que os trabalhos de Amaral (1942), Corrêa (1943), Coutinho et al. (1944) e Rachou (1946a) estabeleceram definitivamente a importância dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* na veiculação da bromélia-malária.

Os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul eram considerados áreas endêmicas da bromélia-malária, com incidência anual próxima de quatro mil casos para cada 100 mil habitantes, isto em meados da década de 1940 (Deane, 1988). Após a confirmação de que os mosquitos *Kerteszia* eram os transmissores da malária na Mata Atlântica, muitas foram os esforços de controle adotados simultaneamente. As medidas consistiam na aplicação de larvicidas e inseticidas no extradomicílio, tratamento de pacientes com antimaláricos, destruição de bromélias por remoção ou por uso de herbicidas e até

mesmo o desmatamento de áreas próximas a focos de transmissão (Pinotti et al., 1947, Barata, 1973). Nos anos 70 o número de casos associados à bromélia-malária havia reduzido para cerca de 5.000 por ano e nos anos 80 já eram menos de 100 casos anuais notificados (Deane, 1988).

1.1.4. Malária símia

Atualmente por volta de 28 espécies de plasmódios que infectam primatas não-humanos (PNH) são conhecidas, muitas destas são encontradas em macacos do velho mundo (Costa, 2014). Em 1905, Laveran constatou pela primeira vez a presença de plasmódios no sangue de um orangotango da espécie *Pongo pygmaeus*. Dois anos mais tarde, foram descritas as espécies *Plasmodium pitheci*, *P. inui* e *P. cynomolgy* infectando *Macaca fascicularis* e *Macaca nemestrina* (Halberstaedter & Von Prowazek, 1907; Faust & Dobson, 2015). Nos anos seguintes, novos plasmódios foram identificados em PNH de diversas regiões do planeta, inclusive nas Américas (Deane, 1992). Um levantamento realizado por Cormier (2010) mostrou que plasmódios já foram encontrados em pelo menos 63 espécies de PNH.

No Brasil, primatas das famílias Atelidae e Cebidae têm sido encontrados infectados com duas espécies de plasmódios, o *P. brasilianum* e o *P. simium* (Lal et al., 1988; Arruda et al., 1989; Deane, 1992; Duarte et al., 2006; Duarte et al., 2008; Yamasaki et al., 2011). A primeira foi descrita a partir de um macaco amazônico da espécie *Cacajao calvus* (uacari ou macaco inglês) em 1908 (Gonder & Berenberg-Gossler 1908). Já o *P. simium* foi descrito em 1951, a partir de amostras de sangue de *Alouatta* (bugio) examinados durante estudos sobre a febre amarela silvestre na cidade de Itapecerica em São Paulo (Fonseca, 1951).

Dados reunidos por Deane (1992), sobre estudos da malária simiana no Brasil ao longo das décadas de 1960 a 1990, mostraram que na região amazônica cerca de 10% dos primatas avaliados estavam infectados por plasmódios e nas regiões sudeste e sul foram encontrados 35% e 18%, respectivamente. A espécie mais comum foi o *P. brasilianum*, encontrado em mais de 73% dos primatas infectados e presente em todas as regiões brasileiras. Por sua vez, o encontro de *P. simium* se restringiu às regiões sudeste e sul, sendo que nesta última ocorreu em maior proporção do que *P. brasilianum* (42,4% e 33,3%, respectivamente). Dentre as 64 espécies ou subespécies de símios avaliados no período, plasmódios foram encontrados em 29 destas (Deane, 1992).

Figura 1. Espécime de bugio (*Alouatta Guariba Clamitans*) fotografado no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo-SP, em setembro de 2016. Estudos realizados ao longo das décadas de 1960-70 mostraram que cerca de 62% dos bugios desta área apresentavam plasmódios nas amostras de sangue (Deane, 1992). Imagem cedida por AMRCD - Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular - Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN/SES).

1.1.5. Transmissão zoonótica da malária

A infecção de humanos por plasmódios símios era considerada até recentemente como algo raro ou acidental (Schmidt et al., 1961; Chin et al., 1965; Deane et al., 1966; Most, 1973; Ta et al., 2014). Testes moleculares realizados com amostras de sangue obtidas de 208 pacientes malarígenos, entre os anos 2000 e 2002 na Malásia, revelaram que 58% dos pacientes haviam sido infectados por *P. knowlesi*, parasita normalmente encontrado em *Macaca fascicularis* e *Macaca nemestrina*. O estudo mostrou que dos 141 pacientes diagnosticados como *P. malariae* por microscopia, 116 estavam na verdade infectados por *P. knowlesi* (Singh et al., 2004). Após esta constatação de transmissão zoonótica, outros casos de infecção humana por este plasmódio foram detectados na Malásia (Vythilingam et al., 2008; Bronner et al., 2009), Filipinas (Luchavez et al., 2008), Myanmar (Zhu et al., 2006), Tailândia (Jongwutiwes et al., 2011), Singapura (Ng et al., 2008) e Vietnã (Eede et al., 2009). No

Brasil, o primeiro caso registrado de infecção humana por plasmódio símio ocorreu em 1966 na Serra da Cantareira em São Paulo. Nesta ocasião um guarda Florestal que auxiliava o professor Leônidas de Mello Deane em coletas entomológicas nas copas das árvores, apresentou quadro febril típico de malária e logo se constatou a infecção por *P. simium* (Deane et al., 1966).

As duas espécies de plasmódios símios encontradas no novo mundo são morfologicamente indistinguíveis daquelas que infectam os seres humanos, sendo *P. simium* idêntico ao *P. vivax* e *P. brasilianum* idêntico ao *P. malariae* (Deane, 1992). Tais semelhanças foram confirmadas por estudos moleculares que demonstraram que também há uma alta similaridade genética entre estes organismos (Goldman et al., 1993; Escalante, 1995; Lim et al., 2005; Lalremruata et al., 2015). O fato é que a proximidade genética entre *P. simium* com *P. vivax* e de *P. brasilianum* com *P. malariae* sugere que estas possam representar apenas variantes da mesma espécie, suscitando as hipóteses de recente transferência de hospedeiro e a possibilidade de veiculação de plasmódios símios a humanos e vice-versa (Escalante et al., 1995; Li et al., 2001; Tazi & Ayala, 2011).

Um estudo recente realizado em pacientes que contraíram malária autóctone no Estado do Rio de Janeiro entre 2015 e 2016 evidenciou, por meio de testes moleculares, que todos haviam sido infectados por *P. simium*, sendo a primeira comprovação de infecção humana por este plasmódio após mais de 50 anos do primeiro relato feito por Deane (1966). Os autores sugerem que a malária ocorra de forma zoonótica na Mata Atlântica e que muitos casos podem ter sido erroneamente identificados como infecção por *P. vivax* (Brasil et al., 2017).

1.1.6. A malária autóctone na cidade São Paulo

Até meados da década de 1970, muitos eram os casos de malária registrados na Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Com a realização de campanhas de erradicação durante a década de 1960, a incidência diminuiu de cerca de 40 mil casos para apenas 70 casos em 1982 (Deane, 1988). Em um levantamento realizado sobre o número de casos de malária autóctone no Estado entre 1980 e 2007, foram registrados 821 casos dos quais 91,6% ocorreram na região de Mata Atlântica, tendo os exames de hemoscopia mostrado que em 97,2% destes o agente envolvido foi *P. vivax*. Para o restante foi identificado *P. falciparum*, *P. malariae* ou

infecções mistas. Neste período a cidade de São Paulo esteve entre os municípios com maior número de casos, 65 no total (Couto et al., 2010; Pina-Costa et al., 2014).

A região sul do município de São Paulo, sobretudo o subdistrito de Parelheiros, apresenta um histórico de focos de malária autóctone que abrange esta região e suas adjacências, correspondentes ao Parque Estadual da Serra do Mar e municípios vizinhos como Embu-Guaçu, São Bernardo do Campo, Itanhaém, Guarujá e Juquitiba (CVE, 2015). Uma pesquisa realizada entre os anos 2009-2011 nos bairros de Marsilac e Embura, situados na Área de Proteção Ambiental (APA) Capivari-Monos, apresentou resultados interessantes. Ao longo do estudo foi visto que o principal vetor, *An. cruzii*, foi predominante em áreas com maior cobertura vegetal e foi encontrado infectado com *P. vivax* e *P. malariae*. No entanto, espécies de mosquitos que apareceram com maior frequência em áreas antrópicas como *An. strodei*, *An. triannulatus*, *An. lutzi* também foram encontradas infectadas, o que sugere que as mesmas possam atuar no ciclo de transmissão de plasmódios nestes locais. Outro fato importante é que, embora não tivessem sido identificados casos de malária desde agosto de 2010 nestas áreas, anofelinos coletados até o mês de abril de 2011 apresentaram resultados positivos para infecção por *P. vivax*, reforçando a ideia de que indivíduos assintomáticos ou reservatórios não-humanos estejam atuando na manutenção de focos residuais (Ribeiro et al., 2012; Duarte et al., 2013).

Do outro lado da cidade de São Paulo, o Parque Estadual da Cantareira (PEC), situado na zona norte, possui um histórico diferente em relação à malária, isto porque bugios (*Alouatta guariba clamitans*) que habitam esta região desenvolvem a forma silvestre da doença (ressalta-se que recentemente a população de bugios desta área foi totalmente ou quase inteiramente dizimada devido a um surto de febre amarela). Tal situação levou à realização de uma série de trabalhos por Deane e colaboradores entre as décadas de 1960 e 1970 (Deane et al., 1966; Deane et al., 1971), formando a base do conhecimento sobre a malária símia no Brasil (Deane, 1992). Como já mencionado anteriormente, o primeiro caso de malária símia registrada em humanos no Brasil ocorreu com um guarda florestal deste parque na década de 1960. O agente etiológico identificado foi o *P. simium* e a espécie de vetor responsável foi *An. cruzii* (Deane et al., 1966).

Pesquisa sorológica realizada no PEC em 1997 mostrou a presença de anticorpos contra esporozoítos de *P. vivax*, suas variantes (*P. vivax* VK247 e *P. vivax*-like humano) e *P. brasilianum*/*P. malariae* em funcionários cujas atividades estavam relacionadas à mata,

evidenciando possível interação entre a forma símia e humana da malária (Duarte, 1998). Uma análise de amostras de sangue colhidas entre 1996 e 2011 de bugios oriundos da Serra da Cantareira e da região de Parelheiros mostrou a presença de *P. vivax* e *P. malariae*, tornando-se mais uma evidência tanto da circulação de plasmódios quanto da participação de primatas não-humanos na cadeia de transmissão (Duarte *et al.*, 2008; Yamasaki *et al.*, 2011).

1.2. VETORES DA MALÁRIA NA MATA ATLÂNTICA

A família Culicidae (Ordem Diptera), popularmente conhecidos como mosquitos, carapanãs ou muriçocas, possui aproximadamente 3,6 mil espécies válidas descritas (Harbach, 2018). Em relação ao gênero *Anopheles*, há registro de pelo menos 54 espécies no Brasil, sendo que na região amazônica as espécies do subgênero *Nyssorhynchus* sustentam a cadeia de transmissão da malária, principalmente *An. darlingi*, presente em grande parte do território nacional (Forattini, 2002; Oliveira-Ferreira *et al.*, 2010; Emerson *et al.*, 2015).

No subgênero *Kerteszia* estão os mosquitos reconhecidamente vetores de plasmódios na Mata Atlântica. Este grupo se distribui ao longo da costa do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, embora algumas espécies também possam ser encontradas na região amazônica (Zavortink, 1973). Além de *An. cruzii*, as espécies *An. bellator* e *An. homunculus* já foram incriminadas como vetores no sul e sudeste do Brasil (Rachou, 1958; Marrelli *et al.*, 2007). Também na Mata Atlântica *An. marajoara* e *An. aquasalis*, do subgênero *Nyssorhynchus*, são considerados vetores regionais, a primeira no sudeste e a segunda ao longo da Costa Atlântica do norte e nordeste do Brasil (Rachou, 1958; Deane, 1986; Rosa-Freitas *et al.*, 1998; Laporta *et al.*, 2011).

1.2.1. *Anopheles cruzii* Dyar & Knab, 1908.

Devido já ter sido encontrado naturalmente infectado por *P. vivax*/ *P. simium* e *P. malariae*/*P. brasilianum* e por conta de sua elevada abundância e antropofilia, o *An. cruzii* é considerado a espécie mais associada à transmissão de plasmódios na Mata Atlântica (Deane, 1992; Curado *et al.* 1997, Marques *et al.* 2008, Rezende *et al.* 2009, Duarte *et al.* 2013, Neves *et al.* 2013). Originalmente, esta espécie apresentava extensa distribuição ao longo da Costa Atlântica, que ia desde o Rio Grande do Sul até o Rio Grande do Norte (Zavortink, 1973).

Com a expansão do desmatamento na Mata Atlântica *An. cruzii* vem diminuindo sua área de ocorrência (Forattini, 2002; Laporta et al., 2011; Pina-Costa et al., 2014).

Assim como todos os outros representantes do subgênero *Kerteszia* (exceção a *An. bambusicolus* que se cria em internódios de bambu), as formas imaturas de *An. cruzii* se desenvolvem na água acumulada nas imbricações das folhas de bromélias. São encontrados normalmente em bromélias epífitas ou terrestres em locais sombreados pelas copas das árvores, sendo muito abundantes nas matas úmidas das encostas litorâneas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Observações feitas em laboratório mostraram que do ovo ao adulto foram necessários aproximadamente 35 dias de desenvolvimento (Wilkerson & Peyton, 1991). Os maiores índices de abundância desta espécie são observados nos períodos quentes e chuvosos, mas mesmo em períodos mais secos e menos quentes do ano este mosquito pode ser observado com frequência na mata (Forattini et al., 1986; Tubaki et al., 1993; Guimaraes, et al., 2001).

As fêmeas picam ativamente durante todo o dia no interior da mata, no peridomicílio e até mesmo no intradomicílio, com picos de atividade hematofágica nos horários crepusculares, sobretudo no vespertino (Rachou, 1946b; Forattini et al., 1986). Observações sobre a idade fisiológica desta espécie sugerem uma curta longevidade média das fêmeas adultas, o que leva a crer que seu papel como vetor dependa de uma elevada abundância populacional e de um reconhecido padrão de discordância gonotrófica que induz as fêmeas a realizarem mais de um repasto sanguíneo antes de sua primeira oviposição (Forattini et al., 1993; Bona & Navarro-Silva, 2006). A possibilidade de que *An. cruzii* possa representar um complexo de espécies crípticas tem sido levantada por resultados obtidos em estudos populacionais com marcadores moleculares (Calado et al., 2006; Malafronte et al., 2007; Rona et al., 2012; Dias et al., 2018).

Morfológicamente as formas adultas possuem um escudo (parte dorsal do tórax) dotado de quatro faixas longitudinais escuras, pernas listradas com manchas claras e escuras, no qual as manchas escuras representam cerca de 50% dos tarsos posteriores II a IV (Figura 2A), e veia alar R4+5 com escamas escuras na região proximal e distal (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994) (Figura 2B).

Figura 2. Espécime de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (fêmea) coletado na APA Capivari-Monos, São Paulo-SP. A- vista geral do espécime permitindo visualizar as faixas longitudinais no escudo e as manchas claras e escuras nas pernas; B- detalhe da veia alar R_{4+5} com escamas escuras na região proximal e distal.

1.2.2. Variações na acrodendrofilia de *Anopheles cruzii*.

O termo “acrodendrofilia” refere-se à tendência de certas espécies silvestres a viver e se alimentar, sobretudo, na copa de árvores. Este termo foi proposto por Garnham et al. (1943) ao observarem que alguns mosquitos eram coletados em maior frequência no estrato superior da vegetação na Floresta de Kaimosi no Quênia. Muitas são as observações que têm demonstrado o comportamento acrodendrôfilo de *An. cruzii* (Forattini et al., 1968; Deane et al., 1984; Guimarães et al., 1985; Ueno et al., 2007; Buery et al., 2018), no entanto, dependendo do local e situação ambiental ou climática, pode picar tanto no nível do solo quanto das copas, ou até predominantemente no solo. Tal característica faz com que esta espécie se alimente tanto de humanos quanto de outros primatas, tornando possível circulação de plasmódios entre estes hospedeiros (Deane 1986, 1992; Azevedo 1997; Cerutti 2007; Ueno et al. 2007).

Locais onde *An. cruzii* apresenta acentuada acrodendrofilia parecem favorecer a ausência de casos humanos, ou pelo menos torna-los mais raros, mesmo na presença de malária símia. Durante as pesquisas de Deane e colaboradores (1966, 1971), notou-se que na região da Serra da Cantareira mais de 99% dos indivíduos de *An. cruzii* foram coletados na altura da copa das árvores (2587 espécimes, num total de 2605). Nesta área 62% dos bugios apresentaram infecção por plasmódios. O mesmo ocorrendo no município de Campo Alegre, Santa Catarina, onde aproximadamente 90% dos *An. cruzii* foram coletados na altura da copa e 43% dos bugios apresentaram infecção por plasmódios, com casos humanos ausentes

(Deane et al. 1971). Tal padrão também pôde ser observado em coletas realizadas no município de Guaíba no Rio Grande do Sul e em Santa Leopoldina no Espírito Santo (Deane et al., 1968; Deane & Ferreira Neto, 1969). Por sua vez, no município de Joinville, Santa Catarina, onde ocorria a malária símia e humana, 42% dos *An. cruzii* foram coletados no nível do solo (Deane et al. 1971).

Posteriormente, Deane e colaboradores (1984) testaram a hipótese de isolamento reprodutivo entre as populações de *An. cruzii* coletados em armadilhas instaladas nas copas e no solo em uma floresta próxima ao município de São Francisco do Sul, Santa Catarina. Por meio de técnicas de marcação com pó fluorescente e recaptura, os autores notaram que havia uma movimentação vertical de *An. cruzii* entre copa e solo, uma vez que mosquitos previamente coletados na copa e marcados foram posteriormente coletados no solo e vice e versa. Tal observação reforçou a hipótese de que em determinadas circunstâncias esta espécie possa veicular plasmódios entre humanos e PNH.

1.3. MODELOS MATEMÁTICOS PARA A TRANSMISSÃO DA MALÁRIA

Há mais de um século Ronald Ross (1908, 1911) descreveu matematicamente como se dava a transmissão da malária. Seu trabalho consistia de equações diferenciais que descreviam as variações na densidade de pessoas e mosquitos suscetíveis e infectados. Um dos méritos do modelo de Ross foi prever que ao reduzir a população de mosquitos abaixo de um determinado nível, a malária poderia ser evitada, o que trouxe resultados expressivos para o controle da malária na época. Posteriormente, Ross estendeu seus estudos para desenvolver uma teoria mais geral da transmissão de doenças que intitulou de “patometria *a priori*” (Ross, 1915).

Após a segunda guerra mundial, com o advento do DDT, a criação da Organização Mundial da Saúde e o crescente entusiasmo pela erradicação da malária no planeta, George Macdonald (1956) atualizou e solidificou a teoria matemática de Ross, aplicando-a ao Programa Global de Erradicação da Malária (GMEP - 1955 a 1969). Estes estudos fundamentaram o que é conhecido hoje como modelo de Ross-Macdonald. Desde então, tem havido um crescente interesse no desenvolvimento de modelos que busquem compreender, prever e traçar estratégias de controle para doenças veiculadas por vetores (Mandal et al., 2011; Reinert Jr et al., 2013; Smith et al., 2014).

Uma das mais importantes contribuições do modelo de Ross-Macdonald é a definição do número básico de reprodução (R_0), que representa o número médio de casos secundários que surgem a partir de um único caso em uma população de indivíduos suscetíveis (Macdonald, 1952; Smith et al., 2007). A condição limiar para que um patógeno se espalhe por uma população é que cada hospedeiro infectado possa gerar em média mais que um caso secundário ($R_0 > 1$). Este número tem sido usado como parâmetro para medir a força da transmissão de malária em uma determinada região e também para avaliar ou planejar estratégias de controle (Smith et al., 2007; 2014).

Nas regiões de Mata Atlântica, onde ocorre a malária autóctone, poucos estudos buscam explicar a dinâmica da transmissão por meio de modelos matemáticos (Oliva & Sallum, 1996; Laporta et al., 2013; Alencar et al., 2018). Recentemente, um modelo promissor foi desenvolvido por Laporta e colaboradores (2013) para mostrar o papel da diversidade sobre o risco de transmissão da malária. Baseado em um modelo biodiversidade-orientado, obtido a partir de uma modificação do modelo de Ross-Macdonald, os autores mostraram que a presença de hospedeiros vertebrados não suscetíveis (efeito de diluição), a competição por fontes de repasto sanguíneo entre o mosquito vetor e outras espécies de mosquito não vetores (competição difusa) e a resposta defensiva dos hospedeiros ao aumento no número de picadas podem reduzir o risco e explicar melhor a dinâmica da malária em regiões de elevada biodiversidade, a exemplo da Mata Atlântica.

1.4. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO

A malária na Mata Atlântica tem se mantido persistente mesmo com baixa incidência de casos, evidenciando o caráter assintomático predominante desta parasitose na população que vive em áreas de ocorrência. Contudo, a dinâmica de transmissão da malária nestes locais ainda carece de maior investigação. Evidências apontam que primatas não-humanos que vivem nestas áreas possam atuar como reservatórios e sejam responsáveis pela manutenção dos focos de infecção humana, uma vez que estes animais têm sido encontrados portando *P. vivax*/*P. simium* ou *P. malariae*/*P. brasilianum* ou mesmo anticorpos contra as formas sanguíneas destes plasmódios (Deane, 1992; Duarte et al., 2006; Duarte et al., 2008; Yamasaki et al., 2011; Pina-Costa et al., 2014). Recentemente foi demonstrado que infecções humanas por *P. simium* ou outras formas variantes de *P. vivax* que circulam entre símios podem ser mais comuns do que se imaginava (Brasil et al., 2017), reforçando a necessidade

de se investigar mais a fundo o caráter zoonótico da bromélia-malária, sobretudo em áreas onde o homem habita próximo às florestas em que ocorre a malária símia e *An. cruzii* participa da transmissão.

Vale ressaltar a emergência de *P. knowlesi*, parasito que circula naturalmente entre macacos do velho mundo e tem causado infecções humanas graves e até letais no sudeste da Ásia (Zhu et al., 2006; Luchavez et al., 2008; Ng et al., 2008; Vythilingam et al., 2008; Bronner et al., 2009; Eede et al., 2009; Jongwutiwes et al., 2011). Até o momento não foi verificada a transmissão Homem-Vetor-Homem deste plasmódio, evidenciando a característica zoonótica desta situação (Jiram et al., 2012; Vythilingam, 2012). Este novo padrão epidemiológico, com um crescente número de notificação de casos humanos nesta região asiática, reflete as mudanças ecológicas pelas quais as áreas afetadas vêm passando, que repercutiram em alterações na diversidade, abundância e, possivelmente, sobre o comportamento de vetores, além disto, reforçam a possibilidade de que doenças que circulam naturalmente entre os animais silvestres, circulem também entre os humanos, quanto maior seja a pressão que este exerça sobre os ambientes naturais (Brock et al., 2015; Fornace et al., 2016).

De acordo com Deane (1992) a malária pode ser uma zoonose se: 1) o homem é suscetível a plasmódios que circulam entre símios, 2) vive próximo ou dentro de florestas habitadas por primatas não-humanos infectados e 3) se os vetores suscetíveis têm a oportunidade de se alimentar com frequência tanto em macacos quanto em humanos. Com base nestas afirmações foi testada a seguinte hipótese:

- *Anopheles cruzii* geralmente é um mosquito abundante nas matas onde ocorre e apresenta comportamento acrodendrófilo. Sabe-se que esta espécie é sensível às alterações de ambientes naturais promovidas pelo homem, estando a sua presença e abundância diretamente relacionada ao grau de preservação do ambiente (Dorvillé, 1996; Ribeiro et al., 2012). Variações na acrodendrofilia desta espécie poderiam ser motivadas pelo aumento da presença humana e as consequentes alterações no ambiente que, por um lado, levam a degradação de habitats favoráveis ao desenvolvimento desta espécie, mas por outro, podem aumentar as taxas de contato entre humanos e as fêmeas das populações locais deste vetor, uma vez que o aumento da presença humana representa uma maior oferta de repasto sanguíneo no nível do solo e, por vezes, menor oferta de PNH ou outros hospedeiros vertebrados no estrato superior da vegetação. Portanto, espera-se que alterações na paisagem decorrentes do aumento da presença antrópica levem a uma redução da densidade populacional de *An. cruzii*, mas

favoreçam um aumento da proporção relativa deste mosquito em busca de repasto sanguíneo no nível do solo.

Para testar esta hipótese foram utilizados dados de coletas entomológicas realizadas entre 2009 e 2010 na APA Capivarí-Monos por Ribeiro e colaboradores (2012) e entre 2015 a 2017 por nosso grupo de pesquisa na APA Capivarí-Monos e no PEC, além de mensurações da estrutura da paisagem nos locais de estudo. As regiões de Parelheiros e Cantareira apresentam mosaicos de paisagens que agregam elementos de feições urbanas, rurais e silvestres, com áreas de ocupação antiga e áreas recentemente invadidas. Ambas se situam em regiões peri-urbanas, cuja população (residentes, funcionários ou visitantes) transita entre seus diferentes ambientes, estreitando a proximidade com primatas que podem servir de reservatório e entrando em contato com mosquitos que veiculam plasmódios.

O segundo ponto analisado neste estudo refere-se a influencia das variações no comportamento acrodendrófilo de *An. cruzii* sobre a transmissão de plasmódios de símios para humanos e vice e versa. Em sua revisão sobre a transmissão da malária símia no Brasil, Deane e colaboradores (1971) afirmam que *An. cruzii* parece transmitir somente a malária símia em alguns lugares ao passo que em outros transmite tanto a malária símia quanto a humana. Os autores observaram que o vetor apresenta diferenças em seu comportamento, picando quase exclusivamente na copa nos locais onde só ocorre a malária símia e picando tanto no solo quanto na copa nos locais onde ocorre a malária símia e humana. Baseado nestas observações foi desenvolvido um modelo matemático determinístico, que é uma adaptação de modelos previamente propostos, no qual foi incluído um compartimento de transmissão para PNH e parâmetros que levam em conta o grau de acrodendrofilia do vetor. O intuito foi descrever uma dinâmica de transmissão que se aproxime de um cenário zoonótico e entender, principalmente, como número básico de reprodução (R_0) responde às variações na acrodendrofilia e abundância do vetor.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Investigar a influência da composição e configuração da paisagem sobre as variações na abundância e no comportamento acrodendrófilo de *An. cruzii* e como estas variações atuam sobre a dinâmica de transmissão de malária na Mata Atlântica, considerando um cenário de transmissão zoonótica.

2.2. ESPECÍFICOS

I) Investigar a hipótese de que alterações na composição e configuração da paisagem em ambientes com variados graus de interferência humana promovam variações na abundância e acrodendrofilia de *An. cruzii*;

II) Desenvolver modelo matemático, baseado em modelos preexistentes, que inclua a participação de primatas não-humanos e variações no comportamento acrodendrófilo de *An. cruzii* no ciclo de transmissão da malária na Mata Atlântica;

III) Observar a resposta do número básico de reprodução (R_0) às variações na acrodendrofilia e abundância do vetor.

3. MÉTODOS

3.1. ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES NA PAISAGEM E A ABUNDÂNCIA E ACRODENDROFILIA DE *Anopheles cruzii*.

3.1.1. Área de estudo

Área de Proteção Ambiental (APA) Capivari-Monos: Situa-se a aproximadamente 60 km do centro da Capital Paulista e ocupa os primeiros morros e vertentes oceânicos próximos à crista da Serra do Mar, com altitudes variando entre 740 a 800 metros acima do nível do mar (São Paulo, 2011). Considerando a classificação dinâmica de Tarifa e Armani (2001), o clima é do tipo Tropical Oceânico Super-úmido da fachada Oriental do Planalto Atlântico, mesoclima de morros, serras e escarpas do Alto Capivari-Monos, apresentando média anual das temperaturas de 19,6 a 19,3°C. O tipo de vegetação original da área é de floresta ombrófila densa montana, a qual está representada por remanescentes de Mata Atlântica em variados graus de conservação, sendo encontradas desde áreas em regeneração datadas da década de 1950, quando foi interrompida a exploração madeireira para fornecimento de carvão, até áreas recentemente degradadas devido à expansão urbana e rural. O distrito de Engenheiro Marsilac está inserido dentro da área da APA e possui por volta de 10 mil habitantes, com densidade demográfica de aproximadamente 41 habitantes por Km². A população é de baixa renda e a maior parte vive em núcleos rurais (São Paulo, 2011).

A APA Capivari-Monos (Figura 2) tem a origem de seu nome ligada a dois importantes rios da região que alimentam as bacias Billings e Guarapiranga, e são considerados mananciais estratégicos, cuja proteção é essencial para o abastecimento de água da região metropolitana de São Paulo. O rio dos Monos recebeu este nome pela antiga presença do mono-carvoeiro ou muriqui (*Brachyteles arachnoides*), espécie de macaco que atualmente está ausente na área em questão. A APA Capivari-Monos abrange 1/6 da área do município de São Paulo, e compartilha 15% de sua área com o Parque Estadual da Serra do Mar, estando inserida na Reserva da Biosfera do Cinturão Verde de São Paulo (São Paulo, 2011).

De acordo com dados obtidos no ano de 2015 no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e nas Unidades Básicas de Saúde de dois bairros do distrito de Eng. Marsilac, Embura e Marsilac, de 2011 a 2014 não foram registrados casos (sintomáticos) de malária autóctone nestes locais (Tabela 1).

Tabela 1 – Número de casos autóctones de malária notificados nos Bairros Embura e Marsilac, sub-distrito de Parelheiros, no período de 2006 a 2014.

Localidade	2006	2007	2008	2009	2010	2011 a 2014	Total(63)
Bairro Embura	SI	16	0	0	0	0	16
Bairro Marsilac	27	10	2	4	4	0	47

Fonte: SINANNET (Sistema de Informação de Notificação pela Internet) e Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Embura e de Marsilac. **SI** = Sem informação.

Parque Estadual da Cantareira (PEC): Trata-se de um remanescente de mata tropical, situado dentro da região metropolitana de São Paulo, administrado pela Fundação Florestal da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. Situa-se na região norte da cidade, abrangendo também partes dos Municípios de Caieiras, Mairiporã e Guarulhos, totalizando área de 7.916,52 hectares (**Figura 3**). O parque é dividido em quatro núcleos: Pedra Grande, Engordador, Águas Claras e Cabuçu, e em área contígua encontra-se o Parque Estadual Alberto Löfgren, conhecido popularmente como Horto Florestal. Com altitudes variando entre 755 e 1215 metros acima do nível do mar, a região possui vegetação típica de Mata Atlântica, rica em bromélias e espécies exóticas introduzidas, como bambus e pinus (Montes *et al.*, 2005; São Paulo, 2009a).

Considerando a classificação dinâmica de Tarifa e Armani (2001), o clima do PEC é do tipo Tropical Úmido Serrano, mesoclima Cantareira-Jaraguá. Nesse tipo climático a temperatura média está entre 17,7 e 19,3 °C e a pluviosidade é de 1.400 a 1.590 mm.

A seleção de cada ponto de estudo levou em conta variações paisagísticas entre os locais de coleta, incluindo desta forma áreas com forte influência antrópica, áreas de transição com a mata e área preservada em estágio avançado de regeneração. Na APA Capivari-Monos foram selecionados locais com antecedentes de casos humanos de malária, todos associados com presença abundante de bromélias e do mosquito vetor. No PEC foram selecionadas áreas com presença de bromélias e frequentadas na ocasião por diferentes grupos de bugios.

Os pontos de estudo na APA Capivari-Monos foram (Figura 3):

- 1) Embura - aglomeração urbana circundada por propriedades particulares como chácaras e pequenos sítios e pela mata da APA Capivari-Monos (23° 53.036'S 46° 44.485'O);

- 2) Marsilac - aglomeração urbana circundada pela mata e próximo à linha de ferro Mairinque-Santos ($23^{\circ} 54.395'S$ $46^{\circ} 42.486'O$);
- 3) Sítio Águas de Siloé - localizado próximo ao núcleo urbano de Marsilac, constitui área de transição entre a área urbana e rural circundada pela mata ($23^{\circ} 54.556'S$ $46^{\circ} 42.167'O$);
- 4) Cachoeira do Marsilac - propriedade particular adjacente à mata e próxima a uma cachoeira com área de visitação ($23^{\circ} 56.378'S$ $46^{\circ} 41.659'O$);
- 5) Evangelista de Souza – área de mata situada nas proximidades de uma estação ferroviária ($23^{\circ} 56.140''S$ / $46^{\circ} 38.090''O$).

Em relação a este último ponto, os dados de abundância e frequência de *An. cruzii* no solo e na copa foram obtidos a partir de Ribeiro e colaboradores (2012) e Duarte e colaboradores (2013), em coletas realizadas no período de maio de 2009 a junho de 2010. Durante os estudos desenvolvidos por estes autores utilizou-se a mesma metodologia de coleta e armadilhas empregadas no presente estudo (informações que foram cedidas em maiores detalhes pelos autores dos estudos). Para o ponto de coleta situado no bairro Embura (ponto 1) foram incluídas tanto as informações obtidas dos estudos citados acima, quanto informações obtidas nas coletas do presente estudo.

Figura 3. Pontos de estudo situados na APA Capivari-Monos, São Paulo-SP. 1) Embura, 2) Marsilac, 3) Sítio Águas do Siloé, 4) Cachoeira do Marsilac, 5) Evangelista de Souza. As áreas do município foram classificadas de acordo com o Mapa de remanescentes de vegetação do Bioma Mata Atlântica no município de São Paulo (disponível em http://geosampa.prefeitura.sp.gov.br/PaginasPublicas/_SBC.aspx). A cor verde representa a floresta ombrófila densa, em azul os bosques heterogêneos, em rosa os campos gerais e em branco as áreas de uso antrópico (estradas, propriedades rurais ou aglomerados urbanos). A cruz no interior dos círculos indicam os pontos de coleta. O círculo interno representa um buffer de 500 metros e o círculo tracejado representa um buffer de 1 km em torno dos pontos de coleta.

Os três pontos de estudo no PEC foram:

- 1) Trilha da Bica - área limite entre o PEC (Núcleo Pedra Grande) e moradias nas imediações do Bairro Vila Rosa na cidade de São Paulo (23° 26.945'S 46° 37.800'O);
- 2) Sede Administrativa do PEC – situado no interior do núcleo Pedra Grande (23° 26.865'S 46° 38.091'O), apresentando área com árvores esparsas e residências de funcionários do parque rodeadas pela mata;
- 3) Trilha do Pinheirinho - Floresta em estágio avançado de regeneração situada próximo ao núcleo Águas Claras no município de Mairiporã (23° 24.624'S 46° 37.205'O).

Figura 4. Mapa dos municípios de São Paulo e Mairiporã destacando o Parque Estadual da Cantareira (cinza escuro). 1) Trilha da Bica, 2) Sede Administrativa do PEC; 3) Trilha do Pinheirinho.

3.1.2. Coletas de campo

As coletas de culicídeos transcorreram de março de 2015 a abril de 2017, compreendendo amostragens mensais em cada uma das duas Unidades de Conservação.

Para verificar a frequência de *An. cruzii* na copa e no solo foram utilizadas armadilhas automáticas do tipo CDC com isca de CO₂ instaladas em cada ponto de coleta, sendo uma na altura da copa das árvores (acima de 10 metros) e uma na altura do solo (aproximadamente 1

metro). As armadilhas foram instaladas por volta das 14 horas e retiradas após 18 horas de exposição, permitindo a coleta de mosquitos de hábitos diurnos, crepusculares e noturnos (Figuras 2A e B).

Armadilhas do tipo Shannon também foram instaladas em cada ponto, em distâncias apropriadas para não interferir no rendimento das CDCs, visando à coleta de culicídeos durante as duas horas pós-crepúsculo vespertino (período de maior atividade hematofágica de muitas espécies, inclusive de *An. cruzii*). Nesta armadilha, dois indivíduos munidos com roupas de proteção e aspiradores entomológicos manuais coletaram os mosquitos que pousavam na superfície externa ou interna da barraca (Figura 2C).

Figura 5. Técnicas de coleta utilizadas no estudo. A- Armadilha do tipo CDC instalada próxima ao solo e B- CDC instalada na copa de uma árvore, ambas na APA Capivarí-Monos; C- Armadilha de Shannon instalada em ponto de estudo situado no PEC. Imagens: Laboratório de Entomologia em Saúde Pública da Universidade de São Paulo (LESP/FSP/USP).

A identificação morfológica dos espécimes coletados foi realizada no Laboratório de Entomologia em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (LESP/FSP/USP). Para a identificação morfológica foram utilizadas as chaves taxonômicas de Rozeboom & Komp (1950), Lane (1953), Galindo et al., (1954), Corrêa & Ramalho (1956), Bram (1967), Arnell (1976), Cotrim & Galati (1977), Sirivanakarn (1982), Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002). Os dados obtidos foram registrados em banco de dados do Microsoft Excel® 2010.

3.1.3. Análise da Paisagem

Para investigar se fatores da paisagem podem influenciar as variações na abundância e no comportamento acrodendrófilo de *An. cruzii* foram calculadas métricas de composição e configuração da paisagem e estas foram usadas como variáveis explanatórias. Os pontos de instalação das armadilhas foram georreferenciados em campo e com o auxílio do programa

QGIS 2.18 as informações foram plotados no Mapa de remanescentes de vegetação do Bioma Mata Atlântica no município de São Paulo (disponível em <http://geosampa.prefeitura.sp.gov.br/PaginasPublicas/SBC.aspx>).

A partir de cada ponto foram criados *buffers* de 500 metros e de 1 km, definindo assim a paisagem do entorno de cada ponto de estudo. Observou-se a presença de cinco classes de vegetação ou de uso do solo: floresta ombrófila densa, bosque heterogêneo, campos gerais, áreas antrópicas e aglomerado urbano. As classes “floresta ombrófila densa” e “bosque heterogêneo”, por representarem ambientes propícios ao desenvolvimento de *An. cruzii*, foram reunidas em uma única classe designada “cobertura florestal”. Já as classes “áreas antrópicas” e “aglomerados urbanos” foram reunidas em uma classe designada “uso antrópico”. A composição da paisagem foi mensurada considerando a abundância relativa de cada classe da paisagem dentro de cada *buffer*. Por sua vez, a configuração da paisagem, considerada aqui como o grau de fragmentação da cobertura florestal nativa em cada matriz de paisagem, foi mensurada como o número de fragmentos de “cobertura florestal” e também pela sua área total de borda (Tabela 2). As métricas de configuração da paisagem foram mensuradas com o auxílio do programa Fragstats v4.2 (McGarigal et al., 2012).

3.1.4. Análise dos dados

As análises se restringiram aos pontos de estudo situados na APA Capivari-monos, uma vez que a incidência e abundância de espécimes adultos de *An. cruzii* nos pontos de estudo do PEC foi muito baixa e tornou pouco útil a aplicação de testes estatísticos ou modelos de predição, como será visto nos resultados e comentado na discussão.

A abundância e frequência de *An. cruzii* coletados no solo foram consideradas variáveis resposta. Os mosquitos coletados na armadilha de Shannon foram utilizados para o cálculo de abundância, pois com esta técnica é possível mensurar o número de mosquitos por hospedeiro humano/hora nos horários de maior atividade hematofágica do vetor (primeiras duas horas pós crepúsculo vespertino). Desta forma, a variável “abundância” utilizada nos testes estatísticos refere-se ao número médio de *An. cruzii* por coletor/hora na armadilha de Shannon, calculado para cada ponto de coleta na APA Capivari-Monos. Por sua vez, para cálculo da frequência de *An. cruzii* coletados no solo e na copa foram considerados os dados obtidos a partir das armadilhas CDC, sendo a frequência de mosquitos no solo calculada pelo

número de indivíduos de *An. cruzii* na CDC solo dividido pelo total de indivíduos da espécie coletados no ponto (total de indivíduos de *An. cruzii* somadas as CDC's copa e solo). O cálculo de frequência foi feito somente para as amostras onde ao menos um indivíduo da espécie foi coletado no ponto.

Primeiramente foi realizada uma análise exploratória agrupando as amostras obtidas em cada ponto segundo duas categorias arbitrárias de paisagem, sendo um grupo formado pelo ponto Cachoeira do Marsilac e Evangelista de Souza, onde a cobertura vegetal nativa cobre mais de 90% da paisagem (considerando um *buffer* de 1 km) e outro grupo formado pelos pontos Embura, Engenheiro Marsilac e Sítio Águas do Siloé, onde a cobertura vegetal compreende menos que 75% da paisagem do entorno (Tabela 2). Este agrupamento reflete também diferenças em relação às demais variáveis de paisagem mensuradas, sendo que o primeiro agrupamento (Cachoeira do Marsilac e Evangelista de Souza) apresenta menores valores para área antrópica, número de fragmentos e tamanho de borda em relação ao segundo agrupamento. Desta forma, partindo da hipótese nula de abundância de *An. cruzii* igual entre os grupos, foi empregado um teste de Mann-Whitney (uma vez que os dados mostraram um desvio significativo da distribuição gaussiana). Por sua vez, para testar a hipótese de igualdade nas frequências médias de mosquitos no solo/copa foi empregado um teste qui-quadrado de igualdade de proporções para duas amostras.

Uma vez que as amostras dentro de cada ponto de estudo representam pseudo-réplicas, já que foram obtidas em um mesmo local ao longo do tempo, utilizou-se também um modelo linear generalizado de efeito misto (GLMEM) para testar a significância da abundância e frequência copa/solo de *An. cruzii* em relação às duas categorias de cobertura vegetal referidas acima. Neste caso, o efeito fixo foi representado pelas categorias >90% e <75% de cobertura vegetal e o efeito randômico foi representado pelo ano e mês de coleta. Para a abundância foi utilizado distribuição de erros do tipo Poisson e para a frequência copa/solo distribuição de erros binomial.

Por fim, foram empregados modelos lineares generalizados (GLM's) para avaliar a relação preditiva entre cada métrica mensurada de composição e configuração da paisagem com as médias de abundância e frequência copa/solo de *An. cruzii* em cada ponto. Novamente, para os dados de abundância média coletor/hora optou-se por distribuição de erros do tipo Poisson e para os dados de frequência de mosquitos no solo/copa optou-se por uma distribuição de erros binomial, sendo o número de tentativas igual à média de espécimes de *An. cruzii* coletados no ponto (somadas as armadilhas CDC instaladas na copa e no solo) e o número de sucessos a média de *An. cruzii* coletados somente na CDC solo do mesmo ponto.

Uma vez que todos os modelos apresentaram sobredispersão, foi necessário utilizar erros quasipoisson e quasibinomial nos modelos propostos. Devido ao baixo n amostral (cinco pontos amostrais) optou-se por testar modelos com apenas uma variável preditora, visando não comprometer ainda mais os graus de liberdade de cada modelo. Para cada modelo linear foram calculados os valores de seus parâmetros (intercepto e inclinação), bem como os valores de p e de desvio (*deviance*) residual.

Todas as análises foram feitas com o auxílio do ambiente computacional R (R Development Core Team, 2018).

3.2. MODELO TEÓRICO

3.2.1. Descrição do modelo matemático

O modelo matemático proposto para este estudo é do tipo SIS (suscetível, infectado, suscetível) considerando que indivíduos que se recuperam de uma infecção por plasmódio não se tornam imunes a novas infecções. Baseando-se no modelo biodiversidade-orientado, proposto por Laporta e colaboradores (2013), foi incluído aqui um compartimento de infecção para primatas não-humanos (dP_i/dt) e parâmetros que consideram o deslocamento do vetor entre o estrato superior (copas das árvores) e inferior (próximo ao solo) da floresta (F_{mc} e F_{ms}). O modelo proposto é determinístico e considera inicialmente 19 parâmetros e seis variáveis, podendo ser reduzindo para 14 parâmetros em sua forma mais simples (desconsiderando abundância de outros vetores e hospedeiros e o comportamento defensivo do hospedeiro).

As variáveis do modelo são:

P_i = primatas (bugios) infectados;

$P_s = N_P - P_i$ = primatas (bugios) suscetíveis (sendo $N_P = P_i + P_s$);

H_i = humanos infectados;

$H_s = N_H - H_i$ = humanos suscetíveis (sendo $N_H = H_i + H_s$);

M_i = mosquitos infectados;

$M_s = M - M_i$ = mosquitos suscetíveis (sendo $M = M_i + M_s$).

Uma fêmea suscetível de *An. cruzii* (M_s) pica a uma determinada taxa diária (b) que depende de seu ciclo gonotrófico e se há ou não discordância em relação a este. Ao realizar o repasto sanguíneo em um hospedeiro infectado (P_i e H_i) o vetor suscetível será infectado com uma determinada probabilidade (T_{PM} — quando em um primata ou T_{HM} — quando em um humano). A probabilidade de um vetor se infectar a partir de um primata ou de um humano irá depender da frequência com que ele pica no estrato superior da floresta, onde há a presença do hospedeiro símio (F_{mc} — frequência de mosquitos vetores picando na copa), ou da frequência com que ele pica próximo ao solo, onde há atividade humana (F_{ms} — frequência de mosquitos vetores picando no solo). Um mosquito infeccioso (M_i) poderá exercer um novo repasto sanguíneo em um vertebrado no estrato superior da floresta ou próximo ao solo. A chance de um mosquito infectado vir a infectar um novo hospedeiro da população de primatas (N_P) ou da população humana local (N_H) irá depender da quantidade de primatas e humanos suscetíveis (P_s e H_s), da probabilidade de transmissão do plasmódio do mosquito para o hospedeiro primata ou humano (T_{MP} e T_{MH} , respectivamente), da taxa de picadas diária (b), da frequência com que o mosquito se alimenta na copa ou próximo ao solo (F_{mc} e F_{ms}), do número de mosquitos infectados (M_i) e da taxa de mortalidade (μ) da população do vetor (M). Primatas e humanos se recuperam da infecção a uma determinada taxa natural (τ e γ , respectivamente) e tornam-se novamente suscetíveis.

Existe a possibilidade de que o mosquito vetor se alimente também em outros vertebrados presentes na copa das árvores (B_c) ou no solo (B_s), o que promove o efeito de diluição do patógeno no ambiente, uma vez que estes animais não seriam capazes de desenvolver o parasita no organismo e transmiti-lo para outro vetor. Além disto, a população do mosquito vetor (M) compete por fontes de repasto sanguíneo com mosquitos não vetores que habitam ou transitam entre a copa e o solo (C_c e C_s) da floresta, levando a um aumento do número de culicídeos totais por hospedeiro (C_{th}) que, conseqüentemente, desencadeia uma resposta reativa de defesa (h) por parte dos hospedeiros (Laporta et al., 2013).

Com base nisto, o modelo proposto é composto por um sistema de seis equações diferenciais não-lineares para expressar a variação por unidade de tempo no número de bugios suscetíveis (1), bugios infectados (2), humanos suscetíveis (3), humanos infectados (4), mosquitos suscetíveis (5) e mosquitos infectados (6):

$$(1) \quad \frac{dP_s}{dt} = -\frac{bT_{MP}P_sM_iF_{mc}}{N_P+\zeta_c} + \tau P_i$$

$$(2) \quad \frac{dP_i}{dt} = \frac{bT_{MP}P_sM_iF_{mc}}{N_P+\zeta_c} - \tau P_i$$

$$(3) \quad \frac{dH_s}{dt} = -\frac{bT_{MH}H_sM_iF_{ms}}{N_H+\zeta_s} + \gamma H_i$$

$$(4) \quad \frac{dH_i}{dt} = \frac{bT_{MH}H_sM_iF_{ms}}{N_H+\zeta_s} - \gamma H_i$$

$$(5) \quad \frac{dM_s}{dt} = \mu M_i - \frac{bT_{PM}M_sP_iF_{mc}}{N_P+\zeta_c} - \frac{bT_{HM}M_sH_iF_{ms}}{N_H+\zeta_s}$$

$$(6) \quad \frac{dM_i}{dt} = \frac{bT_{PM}M_sP_iF_{mc}}{N_P+\zeta_c} + \frac{bT_{HM}M_sH_iF_{ms}}{N_H+\zeta_s} - \mu M_i$$

Em que:

$$N_P + \zeta_c = (B_c + N_P) \left(1 + \frac{1}{h} \frac{C_c + M F_{mc}}{B_c + N_P}\right) \text{ e } N_H + \zeta_s = (B_s + N_H) \left(1 + \frac{1}{h} \frac{C_s + M F_{ms}}{B_s + N_H}\right), \text{ termo}$$

baseado na proposta de Laporta e colaboradores (2013), que implica em considerar o efeito de diluição do patógeno causado por animais vertebrados não-hospedeiros que vivem no local (B_c e B_s) e o efeito da competição entre vetores (M) e não-vetores (C_c e C_s) por uma fonte de repasto sanguíneo que reage defensivamente após tomar certo número de picadas (h).

Apenas por simplificação foi realizada a seguinte alteração na expressão:

$$(B_c + N_P) \left(1 + \frac{1}{h} \frac{C_c + M F_{mc}}{B_c + N_P}\right) = \frac{(N_P + B_c)h + M F_{mc} + C_c}{h} = N_P + B_c + \frac{M F_{mc}}{h} + \frac{C_c}{h} =$$

$$N_P + \frac{B_ch + M F_{mc} + C_c}{h}. \text{ Portanto, } \zeta_c = \frac{B_ch + M F_{mc} + C_c}{h}.$$

$$\text{Seguindo a mesma lógica, } \zeta_s = \frac{B_sh + M F_{ms} + C_s}{h}.$$

Os parâmetros ζ_c e ζ_s podem assim ser considerados como valores de ponderação que representam o efeito dos parâmetros B_c , B_s , C_c , C_s e h sobre a dinâmica de transmissão do plasmódio, podendo ser opcionalmente adicionados a N_P e N_H .

De forma a simplificar o processo de modelagem, variáveis são desconsideradas e pressupostos são assumidos durante o desenvolvimento do modelo. Isto nos permite reduzir a quantidade de parâmetros tornando o modelo menos complexo e específico e mais operacional e passível de generalizações (Otto & Day, 2007). No modelo proposto aqui,

dentre os principais pressupostos assumidos estão: 1) o número de indivíduos na população de humanos e primatas é constante, isto é, o número de nascimentos e imigrações é igual ao de mortalidade natural e emigrações nas populações; 2) O único vetor local de plasmódios é o *An. cruzii* e este pode picar humanos, macacos e outros vertebrados com a mesma frequência se desconsiderada a acrodendrofilia; 3) Serão considerados os parâmetros de infecção disponíveis na literatura para *P. vivax* como modelo; 4) O parâmetro “*h*” (número de picadas que determinado hospedeiro sofre até que apresente um comportamento defensivo) será considerado semelhante entre diferentes espécies de hospedeiros; 5) Não há mortalidade devido a infecção e nem tratamento uma vez que a maioria dos casos tendem a ser assintomáticos ou oligossintomáticos; 6) A abundância do vetor (*M*) é constante [a natalidade (α) equivale à mortalidade (μ), ou seja, $\mu M_i + \mu M_s = \alpha M$] e representa uma proporção constante em relação ao total de culicídeos local ($\frac{M}{C_{th}} \mid M \leq C_{th}$), o mesmo sendo considerado para os culicídeos não-vetores; 7) Devido a melhor disponibilidade de dados e por questões práticas a espécie de PNH considerada aqui será o bugio (*Alouatta Guariba clamitans*); 8) Não é considerado aqui o período de latência do patógeno em humanos, primatas e mosquitos (compartimento de expostos).

A Figura 6 apresenta uma ilustração da dinâmica de transmissão baseada no modelo proposto.

Figura 6. Modelo esquemático da transmissão de plasmódios entre humanos, mosquitos e primatas. As setas preenchidas indicam a taxa de transmissão entre o vetor e os hospedeiros, as setas tracejadas curvas indicam a taxa de recuperação dos hospedeiros e transferência do compartimento de infectados para o de suscetíveis e as setas tracejadas retas indicam a dinâmica populacional do vetor. Ilustração adaptada de Yakob et al. (2010).

3.2.2. Valores dos Parâmetros

Os valores dos parâmetros foram obtidos a partir de informações disponíveis na literatura ou por estimativa (quando não havia informações disponíveis). Valores arbitrários foram atribuídos para os parâmetros relacionados ao tamanho da população humana e de bugios, à abundância de mosquitos vetores e não-vetores e à frequência (ou deslocamento) do vetor entre o estrato superior e inferior da floresta. Para estes parâmetros foram conduzidas análises de sensibilidade para investigar o efeito de suas variações sobre o número

reprodutivo básico (R_0). O Quadro 2 apresenta os parâmetros, os valores estimados ou atribuídos e as referências disponíveis.

Quadro 1. Parâmetros utilizados no modelo, estimativas ou valores atribuídos e referências ou forma de obtenção.

Parâmetro	Descrição	Estimativa ou valor atribuído	Referência ou forma de obtenção
N_H	Tamanho estimado da população humana nos locais de estudo	250-1000 habitantes	Variação de valores simulados
N_P	Tamanho da população de bugios nos locais de estudo	1-100 indivíduos	Variação de valores simulados
C_{th}	Culicídeos (fêmeas) totais por hospedeiro	0,1 a 200	Variação de valores simulados
M	Abundância de fêmeas de <i>A. cruzii</i>	$0,01C_{th}$ a $0,99 \cdot C_{th}$	Variação de valores simulados
C_c	Abundância de fêmeas de culicídeos não-vetores na copa	$(C_{th} - M) \frac{1}{2}$	Variação de valores simulados
C_s	Abundância de fêmeas de culicídeos não-vetores no solo	$(C_{th} - M) \frac{1}{2}$	Variação de valores simulados ($C_c = C_s$)
F_{mc}	Frequência de <i>A. cruzii</i> picando na copa	0,01 a 0,99	Variação de valores simulados
F_{ms}	Frequência de <i>A. cruzii</i> picando no solo	$1 - F_{mc}$	Variação de valores simulados
b	Taxa de picadas de <i>A. cruzii</i> por dia	0,5	Santos 2001; Laporta et al., 2013
μ	Taxa de mortalidade de <i>A. cruzii</i>	0,8	Santos 2001; Laporta et al., 2013
T_{MH}	Probabilidade de transmissão de plasmódios de <i>A. cruzii</i> para humanos	0,022	Chitnis et al., 2008
T_{HM}	Probabilidade da transmissão de plasmódios de humanos para <i>A. cruzii</i>	0,24	Chitnis et al., 2008
γ	Taxa de recuperação humana	0,0035 (286 dias)	Chitnis et al., 2008
T_{MP}	Probabilidade de transmissão de plasmódios de <i>A. cruzii</i> para bugios	0,044 (EP $\pm$ 0,011)	Valor estimado
T_{PM}	Probabilidade da transmissão de plasmódios de bugios para <i>A. cruzii</i>	0,27 (EP $\pm$ 0,08)	Valor estimado
τ	Taxa de recuperação sítia	0,004 (EP $\pm$ 0,0001)	Valor estimado

h	Número de picadas que um hospedeiro tolera por dia antes de apresentar um comportamento defensivo dividido pela taxa de picadas diárias de <i>A. cruzii</i> (b)	$20 = 10/b$	Laporta et al., 2013
B_s	Abundância de aves e mamíferos próximos ao solo	0	Valores não estimados
B_c	Abundância de aves e mamíferos na copa das árvores	0	Valores não estimados

Aos parâmetros b , μ , T_{MH} , T_{HM} , γ e h foram atribuídos os mesmos valores considerados por Laporta e colaboradores (2013). O parâmetro b representa a taxa de picadas diária de *An. cruzii* e equivale ao número picadas efetuadas ao longo de um ciclo gonotrófico. Devido à discordância gonotrófica apresentada por esta espécie considerou-se que *An. cruzii* pique em média duas vezes por ciclo, que é de aproximadamente 4 dias (Santos, 2001), sendo portanto $b = \frac{2}{4} = 0,5$. Se considerarmos que a mortalidade de *An. cruzii* é independente da densidade, pode-se então calcular a taxa de mortalidade (μ) a partir da taxa de sobrevivência diária (θ), sendo $\mu = -\log(\theta)$. A taxa de sobrevivência diária de *An. cruzii* foi estimada por Santos (2001) em aproximadamente 0,45, assim $\mu = -\log(0,45) \cong 0,8$. Chitnis e colaboradores (2008) avaliaram a importância de diversos parâmetros utilizados em modelos de transmissão de malária na dinâmica e prevalência da doença. A partir de uma revisão de diversos trabalhos, os autores atribuíram valores para $T_{MH} = 0,022$, $T_{HM} = 0,24$ e $\gamma = 0,0035$ (9,5 meses), considerando áreas de baixa endemia.

Conforme definido por Laporta e colaboradores (2013), h é um parâmetro fenomenológico que fornece uma resposta funcional do hospedeiro à densidade de mosquitos, pois se assume que o hospedeiro tolere um número máximo de picadas por dia antes que apresente uma resposta defensiva. O valor $h = 20$, proposto pelos autores, refere-se ao número médio de picadas que um hospedeiro tolera por dia, para o qual foi atribuído o valor 10, multiplicado pela taxa de picadas diária do vetor, $b = 0,5$. Fazem-se duas simplificações, a de que todos os hospedeiros tenham a mesma tolerância e a de que a taxa de picadas seja igual entre todos os culicídeos.

Os parâmetros F_{mc} e F_{ms} definem aqui as variações no comportamento acrodendrófilo do vetor *An. cruzii*. Estes dois parâmetros variam de 0 a 1 e são complementares, sendo

$F_{mc} = 1 - F_{ms}$ e $F_{ms} = 1 - F_{mc}$. Ambos os parâmetros não definem o tamanho da população em cada estrato da floresta, pois se assume que haja uma única população do vetor (M) em panmixia. Entende-se que F_{mc} e F_{ms} representem a taxa de deslocamento dos mosquitos entre os estratos, podendo ser interpretado como a probabilidade (ou tentativa) de um mosquito realizar o repasto sanguíneo no estrato superior da floresta (F_{mc}) ou próximo ao solo (F_{ms}) em uma determinada unidade de tempo, ou ainda, a chance de, em dois repastos sucessivos, um mesmo mosquito picar uma vez na copa e outra no solo (ou vice e versa). Portanto a probabilidade máxima (ou deslocamento máximo entre os estratos) ocorre quando $F_{mc} = F_{ms}$, conforme mostrado na Figura 7.

Figura 7. Representação gráfica do deslocamento copa/solo de *An. cruzii*. A probabilidade foi calculada aqui como a chance de, em duas tentativas sucessivas, um mesmo mosquito picar uma vez na copa e outra no solo (ou vice e versa), que equivale a $2F_{mc}F_{ms}$. A linha tracejada representa a probabilidade máxima, que ocorre quando $F_{mc} = F_{ms} = 0,5$.

Devido à falta de informações sobre os parâmetros de transmissão τ , T_{MP} e T_{PM} , relacionados ao hospedeiro símio, buscou-se estimar valores plausíveis por meio de técnicas de otimização. Foi utilizado o método de otimização de Levenberg-Marquardt (Levenberg, 1944; Marquardt, 1963), implementado na função *modFit* do pacote *FME* do ambiente R (Soetaert & Petzoldt, 2010). Este método estima de forma iterativa os mínimos locais em

funções não-lineares. Desta forma, buscou-se encontrar valores dos parâmetros que melhor ajustem o modelo proposto aos dados observados. Dado a falta de estudos observacionais na literatura sobre como se dá a evolução temporal da infecção por plasmódios em populações de primatas na Mata Atlântica, buscou-se construir um cenário de observações hipotéticas a partir da seguinte estratégia:

- 1) Foram tomados como referencial os dados obtidos por Deane e colaboradores (1971) em estudo realizado na cidade de Joinville-SC, ocasião em que a malária humana era endêmica na região. De acordo com o estudo, por volta de 46% dos bugios amostrados estavam infectados por plasmódios e 42% dos *An. cruzii* foram coletados próximos ao solo. Portanto, considerou-se que neste cenário havia uma dinâmica de transmissão zoonótica da malária;
- 2) Assumiu-se que a proporção populacional de bugios infectados na ocasião estava em equilíbrio e que a evolução do número de infectados pudesse ser representada por uma curva logística, seguindo a introdução hipotética do plasmódio na população até que se atingisse o equilíbrio endêmico.
- 3) Foram obtidos 100 valores aleatórios de uma distribuição beta (parâmetros $shape1=0,3$ e $shape2=0,1$) variando entre 0 e 1. Estes valores foram colocados em ordem crescente e multiplicados pelo número 46 (que representa 46% da população de primatas infectados considerando uma população de 100 indivíduos) obtendo assim uma curva logística de pseudo-observações da evolução do número de infectados na população. Estes dados simulados foram então utilizados para ajuste dos parâmetros do modelo, considerando que o conjunto de observações hipotéticas teria sido tomado em um intervalo de 10.000 unidades de tempo (dias) (Figura 8).

Figura 8. Evolução do número de primatas infectados por unidade de tempo (linha) ajustado a 100 ‘pseudo-observações’ (pontos). Os parâmetros estimados para obtenção do ajuste foram: $\tau=0,004$, $T_{MP}=0,044$ e $T_{PM}=0,27$. Os demais parâmetros foram previamente fixados: $b=0,5$, $\mu=0,8$, $T_{MH}=0,022$, $T_{HM}=0,24$, $\gamma=0,0035$, $h=20$, $F_{mc}=0,58$, $F_{ms}=1 - F_{mc}$, $N_H=1000$, $N_P = 100$, $C_{th} = 10(N_P + N_H)$, $M = 0,6C_{th}$, $C_c = (C_{th} - M)^{\frac{1}{2}}$, $C_s = C_c$, $B_c=0$ e $B_s=0$.

Por fim, os valores dos parâmetros que permitiram o melhor ajuste foram: $\tau = 0,004$ (EP $\pm 0,0001$), $T_{MP} = 0,044$ (EP $\pm 0,01$) e $T_{PM} = 0,27$ (EP $\pm 0,08$).

Para fins de simulação considerou-se um cenário de floresta fragmentada devido a atividade humana, com assentamentos em pequenos vilarejos e propriedades rurais inseridas na borda da floresta. Neste cenário o ser humano (N_H) vive próximo a uma população de bugios (N_P) em um ambiente em que circulam plasmódios e o mosquito vetor (M) representa uma proporção, geralmente dominante, do total de culicídeos da assembleia local (C_{th}). Os mosquitos não-vetores de plasmódios estão igualmente distribuídos entre a copa (C_c) e solo (C_s) da floresta.

Optou-se por considerar nulos os parâmetros relacionados à presença de outros hospedeiros vertebrados na copa e no solo, isto é, $B_c=0$ e $B_s=0$. Desta forma, simulou-se apenas o efeito da abundância de culicídeos sobre a resposta defensiva do hospedeiro símio e humano. Portanto:

$$\zeta_c = \frac{M F_{mc} + C_c}{h} \text{ e } \zeta_s = \frac{M F_{ms} + C_s}{h}.$$

3.2.3. Número básico de reprodução

A equação do número básico de reprodução (R_0) pode ser obtido pelo raio espectral (o maior autovalor em módulo) da Matriz de Próxima Geração (NGM – *Next Generation Matrix*). Para a obtenção do R_0 utilizou-se o método proposto por Diekmann et al. (1990; 2009).

Para que se obtenha o número básico de reprodução é preciso que exista um ponto equilíbrio livre da doença. Para o modelo proposto o equilíbrio livre de doença ocorre quando: $P_i = 0, P_S = N_P, H_i = 0, H_S = N_H, M_i = 0, M_S = M$.

Os compartimentos de infecção do modelo podem ser representados por dois subsistemas descritos em forma matricial:

$$\mathcal{F} = \begin{bmatrix} \frac{bT_{MP}N_P M_i F_{mc}}{N_{P+}\zeta_c} \\ \frac{bT_{MH}N_H M_i F_{ms}}{N_{H+}\zeta_s} \\ \frac{bT_{PM}M_P F_{mc}}{N_{P+}\zeta_c} + \frac{bT_{HM}M_H F_{ms}}{N_{H+}\zeta_s} \end{bmatrix} \quad \mathcal{V} = \begin{bmatrix} \tau P_i \\ \gamma H_i \\ \mu M_i \end{bmatrix}$$

Em que, $\mathcal{F}$ compreende as taxas que aumentam as novas infecções e $\mathcal{V}$ as taxas que alteram o estado dentro dos compartimentos de infecção (recuperação e mortalidade). Em seguida, a linearização dos subsistemas em torno do ponto de equilíbrio livre de doença é dado pela matriz Jacobiana de $\mathcal{F}$ e $\mathcal{V}$:

$$F = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \frac{bT_{MP}N_P F_{mc}}{N_{P+}\zeta_c} \\ 0 & 0 & \frac{bT_{MH}N_H F_{ms}}{N_{H+}\zeta_s} \\ \frac{bT_{PM}M_F F_{mc}}{N_{P+}\zeta_c} & \frac{bT_{HM}M_F F_{ms}}{N_{H+}\zeta_s} & 0 \end{bmatrix} \quad \text{e} \quad V = \begin{bmatrix} \tau & 0 & 0 \\ 0 & \gamma & 0 \\ 0 & 0 & \mu \end{bmatrix}$$

A Matriz de Próxima Geração (K) é igual a FV^{-1} , isto é, a matriz F multiplicada pela inversa da matriz V . Assim:

$$V^{-1} = \begin{bmatrix} \frac{1}{\tau} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{\gamma} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{\mu} \end{bmatrix} \quad \text{e} \quad K = FV^{-1} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \frac{bT_{MP}N_P F_{mc}}{\mu(N_{P+}\zeta_c)} \\ 0 & 0 & \frac{bT_{MH}N_H F_{ms}}{\mu(N_{H+}\zeta_s)} \\ \frac{bT_{PM}M_F F_{mc}}{\tau(N_{P+}\zeta_c)} & \frac{bT_{HM}M_F F_{ms}}{\gamma(N_{H+}\zeta_s)} & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & R_{MP} \\ 0 & 0 & R_{MH} \\ R_{PM} & R_{HM} & 0 \end{bmatrix}$$

Onde:

$R_{MP} = \frac{bT_{MP}N_P F_{mc}}{\mu(N_{P+}\zeta_c)}$ = número de infecções secundárias geradas por mosquitos em símios;

$R_{MH} = \frac{bT_{MH}N_H F_{ms}}{\mu(N_{H+}\zeta_s)}$ = número de infecções secundárias geradas por mosquitos em humanos;

$R_{PM} = \frac{bT_{PM}M F_{mc}}{\tau(N_{P+}\zeta_c)}$ = número de infecções secundárias geradas por símios em mosquitos;

$R_{HM} = \frac{bT_{HM}M F_{ms}}{\gamma(N_{H+}\zeta_s)}$ = número de infecções secundárias geradas por humanos em mosquitos;

Sendo R_0 definido por:

$$R_0 = \sqrt{R_{MP}R_{PM} + R_{MH}R_{HM}} = \sqrt{\frac{bT_{MP}N_P F_{mc}}{\mu(N_{P+}\zeta_c)} \frac{bT_{PM}M F_{mc}}{\tau(N_{P+}\zeta_c)} + \frac{bT_{MH}N_H F_{ms}}{\mu(N_{H+}\zeta_s)} \frac{bT_{HM}M F_{ms}}{\gamma(N_{H+}\zeta_s)}}$$

$$= \sqrt{\frac{F_{mc}^2 M N_P T_{PM} T_{MP} b^2}{(N_{P+}\zeta_c)^2 \mu \tau} + \frac{F_{ms}^2 M N_H T_{HM} T_{MH} b^2}{(N_{H+}\zeta_s)^2 \mu \gamma}}$$

Observa-se então que:

O número médio de infecções secundárias geradas por um hospedeiro humano infectado na população de humanos suscetíveis pode ser obtido por:

$$R_0^H \equiv \sqrt{R_{MH}R_{HM}}$$

O número médio de infecções secundárias geradas por um hospedeiro símio infectado na população de símios suscetíveis pode ser obtido por:

$$R_0^P \equiv \sqrt{R_{MP}R_{PM}}$$

O número médio de infecções secundárias geradas por um hospedeiro símio infectado na população de humanos suscetíveis pode ser obtido por:

$$R_0^{PH} \equiv \sqrt{R_{PM}R_{MH}}$$

O número médio de infecções secundárias geradas por um hospedeiro humano infectado na população de símios suscetíveis pode ser obtido por:

$$R_0^{HP} \equiv \sqrt{R_{HM}R_{MP}}$$

3.2.4. Pontos de equilíbrio e análise de estabilidade

Denomina-se ‘ponto de equilíbrio’ o estado no qual não há mudanças no sistema. Uma determinada variável está em equilíbrio quando ao atingir certo valor este não sofre alterações

ao longo do tempo ($dy/dt = 0$) (Otto e Day, 2007). Para encontrar os pontos de equilíbrio é necessário igualar o sistema de equações diferenciais a zero e solucionar o sistema de equações resultantes para cada variável.

As condições de equilíbrio para o presente sistema de equações diferenciais, considerando somente os compartimentos de infecção, são:

$$\begin{aligned}\frac{dP_i}{dt} = 0 &= \frac{bT_{MP}(N_P - P_i^*)M_i^*F_{mc}}{N_P + \zeta_c} - \tau P_i^* \\ \frac{dH_i}{dt} = 0 &= \frac{bT_{MH}(N_H - H_i^*)M_i^*F_{ms}}{N_H + \zeta_s} - \gamma H_i^* \\ \frac{dM_i}{dt} = 0 &= \left(\frac{bT_{PM}(M - M_i^*)P_i^*F_{mc}}{N_P + \zeta_c} + \frac{bT_{HM}(M - M_i^*)H_i^*F_{ms}}{N_H + \zeta_s} \right) - \mu M_i^*\end{aligned}$$

Onde, P_i^* , H_i^* e M_i^* representam às variáveis em equilíbrio. As soluções encontradas para cada variável são:

$P_i^* = 0$, $H_i^* = 0$ e $M_i^* = 0$, quando no equilíbrio livre de doença, isto é, não ocorre a circulação do patógeno e a doença está ausente nas populações;

Ou,

$$P_i^* = \frac{bT_{MP}N_P M_i^* F_{mc}}{bT_{MP}M_i^* F_{mc} + (N_P + \zeta_c)\tau}, \quad H_i^* = \frac{bT_{MH}N_H M_i^* F_{ms}}{bT_{MH}M_i^* F_{ms} + (N_H + \zeta_s)\gamma} \quad e$$

$M_i^* = \frac{b(T_{PM}M P_i^* F_{mc}(N_H + \zeta_s) + T_{HM}M H_i^* F_{ms}(N_P + \zeta_c))}{b(T_{PM}P_i^* F_{mc}(N_H + \zeta_s) + T_{HM}H_i^* F_{ms}(N_P + \zeta_c)) + \mu(N_P + \zeta_c)(N_H + \zeta_s)}$, quando na condição de equilíbrio endêmico, na qual a circulação do patógeno ocorre e a doença se estabelece endemicamente nas populações.

Como se pode observar na própria condição de equilíbrio: $P_s^* = N_P - P_i^*$, $H_s^* = N_H - H_i^*$ e $M_s^* = M - M_i^*$.

A estabilidade dos pontos de equilíbrio, isto é, se o sistema irá se aproximar (estável) ou se afastar (instável) dos pontos de equilíbrio quando em suas proximidades, depende do

limiar $R_0 = 1$ (bifurcação). Quando $R_0 < 1$ irá ocorrer apenas o ponto de equilíbrio livre de doença que é assintoticamente estável. Se $R_0 > 1$, ocorrem os dois pontos equilíbrio, sendo o equilíbrio endêmico assintoticamente estável e o livre de doença instável (Driessche & Watmough, 2002; Chitnis et al., 2006). A Figura 9, obtida por simulação numérica, apresenta o fenômeno de bifurcação do sistema quando R_0 passa pelo valor limiar 1.

Figura 9. Gráficos de bifurcação mostrando a mudança de estabilidade entre o equilíbrio livre de doença e o equilíbrio endêmico quando $R_0=1$. A- proporção de primatas infectados para o sistema em equilíbrio, B- proporção de humanos infectados para o sistema em equilíbrio, C- proporção de mosquitos infectados para o sistema em equilíbrio. Os valores de R_0 foram obtidos pela variação de M (de 0,08 a $0,98C_{th}$). Os demais parâmetros foram fixados em: $b=0,5$, $\mu=0,8$, $T_{MH}=0,022$, $T_{HM}=0,24$, $\gamma=0,0035$, $h=20$, $F_{mc}=0,58$, $F_{ms}=1 - F_{mc}$, $N_H=500$, $N_P = 50$, $C_{th} = 10(N_P + N_H)$, $C_c = (C_{th} - M)\frac{1}{2}$, $C_s = C_c$, $B_c=0$, $B_s=0$, $\tau=0,004$, $T_{MP}=0,044$ e $T_{PM}=0,27$.

3.2.5. Integração numérica e análises de sensibilidade

A evolução do número de infectados ao longo do tempo foi avaliada simulando diferentes cenários de transmissão, considerando variações no número inicial de infectados em cada compartimento de transmissão e variações no deslocamento copa/solo do vetor.

Análises de sensibilidade foram realizadas para avaliar o efeito de variações de alguns parâmetros sobre o R_0 . Primeiramente, buscou-se verificar a resposta do R_0 aos parâmetros relacionados com a abundância de mosquitos e deslocamento copa/solo do vetor: C_{th} , M , ζ_c , ζ_s e F_{ms} . Foi avaliada também a resposta de R_0^H , R_0^P , R_0^{PH} e R_0^{HP} às variações nos parâmetros C_{th} , M e F_{ms} .

A integração numérica do modelo foi feita por meio do método de Runge-Kutta de quarta ordem, implementado no pacote *deSolve* do ambiente computacional R (Soetaert et al., 2010). Para análise dos dados e elaboração dos gráficos também foram utilizados os pacotes *rootSolve* (Soetaert, 2009), *FME* (Soetaert & Petzoldt, 2010), *lattice* (Sarkar, 2008) e *grid* (Murrel, 2005). As manipulações algébricas foram realizadas com o auxílio do sistema de computação algébrica *Maxima* (Maxima.sourceforge.net, 2014).

4. RESULTADOS

4.1. Relação entre a composição e configuração da paisagem com a abundância e acrodendrofilia de *Anopheles cruzii*

No período de março de 2015 a abril de 2017 foram coletados 15764 culicídeos na APA Capivari-Monos e 3713 no PEC, somadas as coletas com armadilhas de Shannon e CDC. Na APA foram identificadas 80 espécies/táxons pertencentes a 15 gêneros e no PEC foram 68 espécies/táxons de 15 gêneros (Anexos 1 e 2).

Ao longo de todo o período de estudo, foram coletados somente 18 espécimes de *An. cruzii* no PEC (menos de 1% do total de culicídeos coletados neste parque), sendo um único indivíduo em armadilha de Shannon (na Sede Administrativa do PEC) e os demais em CDCs instaladas nas copas das árvores, dos quais 16 destes obtidos na Trilha do Pinheirinho e um na Trilha da Bica (Anexo 3). Devido ao baixo número de indivíduos coletados as análises deste estudo se restringiram aos dados obtidos na APA Capivari monos, assumindo-se que no PEC *An. cruzii* ocorra em baixa densidade e exerça o repasto sanguíneo prioritariamente na copa das árvores.

Na APA foram identificados 6823 espécimes de *An. cruzii*, destes 781 indivíduos foram coletados em armadilhas CDC (11,4% do total) e o restante em armadilhas de Shannon. Ao reunir estas informações com os dados das coletas de 2009/2010, realizadas nos pontos Embura e Evangelista de Souza, se observa que *An. cruzii* representa 48% do total de culicídeos amostrados nesta região. No entanto, a abundância relativa desta espécie foi variável entre os pontos de coleta, indo de aproximadamente 5% no Embura para mais de 74% do total de culicídeos em Evangelista de Souza (Tabela 2).

Tabela 2. Quantidade de espécimes de *An. cruzii*, outros culicídeos, total e abundância relativa de *An. cruzii* para cada um dos cinco pontos de coleta na APA Capivari monos. Nos pontos Engenheiro Marsilac, Sítio Águas do Siloé e Cachoeira do Marsilac as coletas transcorreram no período de março de 2015 a abril de 2017. No ponto Embura as coletas foram realizadas entre maio de 2009 e junho de 2010 e entre de março de 2015 a abril de 2017. Em Evangelista de Souza as coletas foram realizadas somente no período de maio de 2009 a junho de 2010.

Espécie	Pontos de coleta na APA Capivari-Monos					Total
	Embura	Engenheiro Marsilac	Sítio Águas do Siloé	Cachoeira do Marsilac	Evangelista de Souza	
<i>Anopheles cruzii</i>	270	841	2049	3913	4377	11450
Outros culicídeos	4689	1967	2528	1725	1516	12425
Total	4959	2808	4577	5638	5893	23875
Abundância relativa de <i>Anopheles cruzii</i>	0.054	0.300	0.448	0.694	0.743	0.480

A abundância média de *An. cruzii* por coletor/hora na armadilha de Shannon variou de 0,5 no Embura para 57,5 em Evangelista de Souza. Quanto à frequência média desta espécie no solo (medido com base nas armadilhas CDC), a variação foi de 0,18 (18%) em Evangelista de Souza a 0,69 (69%) no Embura. A tabela 3 apresenta as informações sobre as métricas de paisagem mensuradas no entorno de cada ponto de coleta, bem como os dados de abundância e frequência no solo de *An. cruzii* na APA.

Tabela 3. Métricas de composição (proporção de cobertura florestal e uso antrópico) e configuração (número de fragmentos e área de borda total) da paisagem, abundância média de *An. cruzii* coletor/hora e proporção média de *An. cruzii* coletados no solo para cada um dos cinco pontos de estudo na APA Capivari-monos. As métricas da paisagem foram mensuradas para buffers de 1 km e de 500 metros no entorno dos pontos de coleta. Os números entre parênteses mostram o intervalo de confiança de 95% para a média.

	Ponto de estudo	proporção de cobertura florestal	proporção de uso antropico	nº fragmentos	Área de borda total em metros	Abundância média de <i>A. cruzii</i> coletor/hora (armadilha de Shannon)	Proporção média de <i>A. cruzii</i> coletados no solo (CDC's)
Buffer de 1 km	Embura	0.617	0.375	7	26627	0.5 (0.3-0.8)	0.69 (0.55-0.82)
	Engenheiro Marsilac	0.634	0.366	13	25516	7.25 (2-12)	0.24 (0.18-0.30)
	Sítio Águas do Siloé	0.709	0.291	12	27948	22 (9-34)	0.47 (0.40-0.53)
	Cachoeira do Marsilac	0.920	0.064	1	17375	42.5 (8-77)	0.22 (0.19-0.26)
	Evangelista de Souza	0.915	0.080	7	20545	57.5 (34-137)	0.18 (0.13-0.24)
Buffer de 500 metros	Embura	0.596	0.404	4	7515	0.5 (0.3-0.8)	0.69 (0.55-0.82)
	Engenheiro Marsilac	0.532	0.468	6	7644	7.25 (2-12)	0.24 (0.18-0.30)
	Sítio Águas do Siloé	0.531	0.469	5	5940	22 (9-34)	0.47 (0.40-0.53)
	Cachoeira do Marsilac	0.883	0.117	1	6208	42.5 (8-77)	0.22 (0.19-0.26)
	Evangelista de Souza	0.988	0.011	3	4534	57.5 (34-137)	0.18 (0.13-0.24)

Ao separar as amostras em dois grupos, um primeiro formado por amostras obtidas nos locais com cobertura vegetal nativa maior que 90% e um segundo com amostras de locais com menos de 75% de cobertura vegetal nativa (considerando um raio de 1 km em torno de cada ponto), verificou-se uma diferença estatisticamente significativa tanto para a abundância média quanto para a frequência copa/solo de *An. cruzii*. Nas áreas com maior proporção de cobertura vegetal houve uma tendência a se coletar um maior número de *An. cruzii* por coletor/hora ($W=1336$, $p<0,001$) (Figura 10). De forma similar, nos pontos da APA onde a cobertura florestal cobre mais que 90% da paisagem a proporção média de *An. cruzii* frequentando o solo foi estatisticamente menor do que o observado para as áreas com menos que 75% de cobertura florestal na paisagem ($X^2 = 36,762$, $GL = 1$, $p<0,001$) (Figura 11). A análise baseada em modelos lineares generalizados de efeito misto também mostraram que há uma diferença estatisticamente significativa entre a abundância por coletor/hora (Intercepto= $3,3 \pm 0,37$; inclinação= $-1,3 \pm 0,04$; $p<0,001$) e a frequência copa/solo de *An. cruzii*

(Intercepto= $2,36 \pm 1,09$; inclinação= $-1,29 \pm 0,27$; $p < 0,001$) em relação às duas categorias de proporção de cobertura vegetal.

Figura 10. Boxplot mostrando a variação da abundância observada de *An. cruzii* coletor/hora na armadilha de Shannon para pontos na APA Capivari-Monos com >90% de cobertura florestal e com <75% de cobertura florestal. Os dados de abundância foram colocados em escala log + 1.

Figura 11. Comparação entre as proporções médias de *An. cruzii* coletados no nível do solo no Parque Estadual da Cantareira (PEC) e na Área de proteção Ambiental Capivari-Monos (APA). As linhas verticais representam a proporção média observada e as barras de erros representam o intervalo de confiança de 95% para a estimativa. As linhas tracejadas ilustram a densidade probabilística de distribuições teóricas para diferentes médias. Para o PEC considerou-se a estimativa de Deane e colaboradores (1971).

Dentre os modelos lineares generalizados propostos (incluindo um modelo nulo) para explicar variações na abundância média de *An. cruzii* em relação às variáveis de composição e configuração de paisagem mensuradas, as variáveis “proporção de cobertura florestal 1 km” e “proporção de uso antrópico 1 km”, apresentaram os melhores ajustes (Tabela 4; Figura 12). Observa-se a tendência a um aumento da abundância média de *An. cruzii* por coletor/hora em função de um aumento na proporção de cobertura florestal ou em função de uma diminuição na proporção de uso antrópico (variáveis antagônicas) em um raio de um quilometro em torno de cada ponto de estudo na APA Capivari-Monos.

Tabela 4. Estimativa dos parâmetros e valores de p e de desvio residual (*Deviance*) para cada modelo proposto para explicar variações na abundância média de *An. cruzii* coletor/hora na APA Capivari-Monos. Os valores entre parênteses mostram o erro padrão da estimativa.

Variável explanatória	intercepto	Inclinação	p	Deviance
proporção de cobertura florestal 1km	-2,200 (1,654)	6,693 (1,900)	0,039	37,037
proporção de uso antrópico 1km	5,079 (0,325)	-6,342 (1,926)	0,046	42,093
número de fragmentos florestais 1km	4,606 (0,724)	-0,092 (0,095)	0,404	163,51
área de borda total 1km	7,350 (1,884)	-0,001(0,0001)	0,189	106,49
proporção de cobertura florestal 500m	0,922 (1,314)	3,886 (1,516)	0,083	66,394
proporção de áreas de uso antrópico 500m	4,805 (0,350)	-3,878 (1,513)	0,084	66,492
número de fragmentos florestais 500m	4,961 (0,720)	-0,303 (0,215)	0,253	131,91
área de borda total 500m	7,814 (1,427)	-0,001 (0,0002)	0,083	63,345
modelo nulo	3,951 (0,410)	-	-	206,19

Figura 12. Valores observados (pontos) e preditos (linha) para abundância média de *An. cruzii* por coletor/hora em função da proporção de cobertura florestal em um raio de 1 km no entorno de cada um dos cinco pontos de estudo situados na APA Capivari-Monos.

Dentre os modelos lineares propostos para explicar as variações da frequência média de *An. cruzii* na copa/solo, nenhum parece indicar uma forte relação preditiva entre variações na frequência média de *An. cruzii* frequentando o solo com as medidas de paisagem mensuradas (Tabela 5). No entanto, a variável ‘área de borda total’ para *buffer* de 1 km apresenta o melhor ajuste (menor valor de *deviance*), seguida da variável ‘proporção de cobertura florestal’ também para *buffer* de 1 km.

Tabela 5. Estimativa dos parâmetros e valores de *p* e de desvio residual (*Deviance*) para cada modelo proposto para variações na frequência média de *An. cruzii* no solo na APA Capivari-Monos. Os valores entre parênteses mostram o erro padrão da estimativa.

Variável explanatória	Intercepto	Inclinação	<i>p</i>	Deviance
proporção de cobertura florestal 1km	-2,078 (1,695)	3,653 (2,267)	0,205	27,952
proporção de uso antrópico 1km	1,515 (0,648)	-3,499 (2,243)	0,217	28,791
número de fragmentos florestais 1km	0,932 (0,847)	-0,034 (0,092)	0,734	50,324
área de borda total 1km	3,906 (1,785)	-1,356 (0,001)	0,158	23,353
proporção de cobertura florestal 500m	-1,005 (1,176)	2,402 (1,682)	0,248	30,793

proporção de áreas de uso antrópico 500m	1,394 (0,625)	-2,397 (1,681)	0,249	30,825
número de fragmentos florestais 500m	1,142 (0,955)	-0,126 (0,224)	0,612	47,547
área de borda total 500m	2,396 (2,119)	-0,001 (0,001)	0,462	42,422
modelo nulo	0,654 (0,343)	-	-	52,710

4.2. Resultados das Simulações para o modelo teórico

A partir da integração numérica do modelo proposto foram simulados quatro cenários (em que $R_0 > 1$) para avaliar a evolução no número de infectados em cada compartimento ao longo do tempo. No primeiro cenário, simula-se a entrada de humanos suscetíveis e sadios em uma determinada área, onde inicialmente 35% dos bugios estão infectados, e há 1% dos mosquitos infectados, com uma proporção de 90% de *An. cruzii* picando no nível das copas das árvores e 10% no solo (Figura 13A). No segundo, a proporção de *An. cruzii* picando no solo sobe para 42% (Figura 13B). O terceiro e quarto cenário simulam a chegada de um humano infectado em área com presença do vetor e de símios suscetíveis, tendo 10% de *An. cruzii* picando no solo no primeiro caso (Figura 13C) e 42% no segundo caso (Figura 13D).

Figura 13. Simulações do modelo proposto para avaliar a evolução do número de humanos, primatas (uma população de bugios em nosso exemplo) e mosquitos infectados por unidade de tempo (dias) considerando quatro situações distintas. Em **A** e **C** a proporção copa/solo de *An. cruzii* é de $F_{mc} = 0,9$ e $F_{ms} = 0,1$ e em **B** e **D** é de $F_{mc} = 0,58$ e $F_{ms} = 0,42$; os valores iniciais para **A** e **B** são $P_i = 0,38N_p$, $H_i = 0$ e $M_i = 0,01M$ e para **C** e **D** são $P_i = 0$, $H_i = 1$ indivíduo e $M_i = 0$. Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $C_{th} = 10(N_H + N_P)$, $M = 0,6C_{th}$, $C_c = (C_{th} - M)\frac{1}{2}$, $C_s = C_c$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

Com base nas simulações, observa-se que quanto menor é a diferença entre os parâmetros F_{mc} e F_{ms} menor é a proporção de primatas não-humanos e mosquitos infectados, no entanto, maior é a proporção de humanos infectados. Para o sistema em equilíbrio endêmico teríamos: 49,3% da população de primatas infectados em A e C e 24,8% em B e D; em relação a humanos teríamos 2,7% da população local infectada em A e C e 5,7% em B e D; para a população de mosquitos seriam 1,5% em A e C e 0,8% em B e D. Quanto aos valores iniciais de P_i , H_i , M_i , nota-se apenas que nas situações A e B as curvas de evolução do

número de infectados tendem a estabilidade em período de tempo menor do que o observado nas situações C e D.

A análise sensitiva para observar o efeito dos parâmetros ζ_s e ζ_c sobre R_0 para diferentes valores de F_{ms} mostram que, para valores pequenos de $\zeta_s + \zeta_c$ (quando C_{th} e M também são baixos), um ligeiro aumento leva a uma rápida elevação de R_0 que ultrapassa o limiar e atinge imediatamente um valor máximo (Figura 14A-D). Conforme os valores de ζ_s e ζ_c continuam a crescer, R_0 passa a diminuir de forma assintótica ficando abaixo do limiar $R_0=1$. Para $F_{ms} = 0,5$ e $0,3$ (Figura 14A e B) os valores máximos de R_0 mostraram-se menores em relação ao observado para $F_{ms} = 0,1$ e $0,01$ (Figura 14C e D). Nota-se também que para F_{ms} maiores foram necessários valores maiores de $\zeta_s + \zeta_c$ para que R_0 retornasse para valores abaixo do limiar epidêmico.

Figura 14. Variação de R_0 para o aumento de $\zeta_s + \zeta_c$ considerando diferentes valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$). A linha tracejada representa o limiar epidêmico $R_0=1$. Para obtenção dos valores de $\zeta_s + \zeta_c$ o parâmetro C_{th} variou de 0,1 a $150(N_H + N_P)$, fazendo com que $M = 0,6C_{th}$, $C_c = (C_{th} - M)\frac{1}{2}$ e $C_s = C_c$ também variassem. Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$ e $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

O mesmo padrão pode ser notado ao se observar as variações de R_0 para diferentes valores de C_{th} , M e F_{ms} (Figura 15A-D). Os picos máximos de R_0 são atingidos em valores baixos de C_{th} e conforme este parâmetro aumenta R_0 diminui e fica abaixo do limiar. Quando há uma maior movimentação vertical do vetor ($F_{ms} \cong F_{mc}$) os valores máximos de R_0 mostram-se menores, mas por outro lado, necessitam de valores maiores de C_{th} para cair abaixo do limiar epidêmico. Enquanto isto, as variações no parâmetro M foram responsáveis por diferenças na magnitude dos valores máximos de R_0 .

Figura 15. Variações de R_0 para diferentes valores de C_{th} , M e F_{ms} . Os valores de ζ_s e ζ_c variaram de acordo com os valores de M , C_c , C_s , F_{ms} e F_{mc} . Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $\mu = 0.8$, $\gamma = 0.0035$, $T_{MH} = 0.022$, $T_{MP} = 0.044$, $T_{HM} = 0.24$, $\tau = 0.004$, $T_{MP} = 0.044$ e $T_{PM} = 0.27$, $b = 0.5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

As análises sensitivas seguintes mostram as respostas de R_0^H , R_0^P , R_0^{PH} e R_0^{HP} às variações nos parâmetros C_{th} , M e F_{ms} . Ao se observar a figura 16, nota-se que para que um humano infectado gere mais que um novo caso na população humana suscetível ($R_0^H > 1$) é necessário que F_{ms} apresente valores elevados (o que equivale a baixos valores de F_{mc}). Quanto maior o valor de F_{ms} menor é o valor necessário de M para que o limiar $R_0^H = 1$ seja ultrapassado. Para valores de F_{ms} baixos nota-se que não é possível $R_0^H > 1$. Conforme C_{th} aumenta de $10(N_H + N_P)$ para $30(N_H + N_P)$ (Figuras 16A-C), observa-se uma expansão da área

$R_0^H > 1$, sugerindo que o aumento da densidade de mosquitos neste intervalo aumente a possibilidade de que o limiar epidêmico seja ultrapassado. Apesar disto, para $C_{th} = 50(NH + NP)$ ou $C_{th} = 100(NH + NP)$, valores testados durante as simulações, foi observado uma retração da área $R_0^H > 1$, isto por conta do aumento da resposta defensiva do hospedeiro diante da elevada densidade de mosquitos.

Na figura 17 observa-se a resposta de R_0^P (quantos casos secundários em média cada símio infectado irá gerar na população de símios suscetíveis) às variações em C_{th} , M e F_{ms} . Para valores baixos de F_{ms} e quando $C_{th} = 10(NH + NP)$, o limiar $R_0^P = 1$ pode ser ultrapassado mesmo em baixos valores de M . Conforme F_{ms} aumenta (e consequentemente diminui F_{mc}) torna-se necessário valores maiores de M para que R_0^P ultrapasse o limiar, sendo que $R_0^P > 1$ não é possível para valores elevados de F_{ms} (Figura 17A). Conforme C_{th} aumenta ocorre uma retração da área $R_0^P > 1$, tornando-se uma porção bastante limitada no canto superior esquerdo do gráfico quando $C_{th}=30(NH + NP)$ (Figura 17B e C).

Para o número de casos secundários gerados por símios infectados a humanos suscetíveis (R_0^{PH}), observa-se que quando F_{ms} possui valores baixos o limiar $R_0^{PH} = 1$ não é ultrapassado. Conforme F_{ms} aumenta e atinge valores intermediários, isto é, tende a se aproximar de F_{mc} quando há intensa movimentação vertical do vetor, menores valores de M são necessários para que o limiar seja ultrapassado. Para valores elevados de F_{ms} o limiar será ultrapassado somente para valores elevados de M , até o ponto em que não é mais possível transpor $R_0^{PH} = 1$ (Figura 18A-C). A área $R_0^{PH} > 1$, que assume um formato côncavo no gráfico, tende a sofrer uma retração com o aumento nos valores de C_{th} . Pode ser notado nos três gráficos da Figura 18 que há uma assimetria da área $R_0^{PH} > 1$ em relação a F_{ms} . Tal assimetria foi reduzida em simulações onde as populações de símios possuem tamanhos semelhantes ao da população humana ($N_P \cong N_H$).

Em relação ao número de casos secundários gerados por humanos infectados em símios suscetíveis (R_0^{HP}), em nenhuma das simulações considerando $N_P= 50$ e $N_H= 500$ foi ultrapassado o limiar $R_0^{HP}=1$. Desta forma optou-se por fazer a análise sensitiva, considerando $N_H = N_P$, ou seja, $N_H=50$, obtendo-se um padrão semelhante ao observado para R_0^{PH} mas com uma maior simetria entre a área $R_0^{HP} > 1$ e F_{ms} . Nesta análise quando $C_{th}=30(NH + NP)$ a área côncava $R_0^{HP} > 1$ mostrou-se maior em relação a valores menores deste parâmetro (Figura 19A-C).

Figura 16. Resposta de R_0^H (número de casos secundários que um humano infectado irá gerar em média na população de humanos suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th} . A) $C_{th} = 10(N_H + N_P)$; B) $C_{th} = 20(N_H + N_P)$; C) $C_{th} = 30(N_H + N_P)$. O valor de R_0 é representado pelo gradiente cinza e a isolinha representa o limiar $R_0=1$. Os valores de C_c e C_s variaram de acordo com C_{th} e M . Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$ e $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

Figura 17. Resposta de R_0^P (número de casos secundários que um símio infectado irá gerar em média na população de símios suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th} . A) $C_{th} = 10(N_H + N_P)$; B) $C_{th} = 20(N_H + N_P)$; C) $C_{th} = 30(N_H + N_P)$. O valor de R_0 é representado pelo gradiente cinza e a isolinha representa o limiar $R_0=1$. Os valores de C_c e C_s variaram de acordo com C_{th} e M . Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$ e $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

Figura 18. Resposta de R_0^{PH} (número de casos secundários que um hospedeiro símio infectado irá gerar em média na população de humanos suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th} . A) $C_{th} = 10(N_H + N_P)$; B) $C_{th} = 20(N_H + N_P)$; C) $C_{th} = 30(N_H + N_P)$. O valor de R_0 é representado pelo gradiente cinza e a isolinha representa o limiar $R_0 = 1$. Os valores de C_c e C_s variaram de acordo com C_{th} e M . Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 500$, $N_P = 50$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$ e $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

Figura 19. Resposta de R_0^{HP} (número de casos secundários que um hospedeiro humano infectado irá gerar em média na população de símios suscetíveis) para variações nos valores de F_{ms} (ou $1 - F_{mc}$) e na proporção de M em relação a C_{th} . A) $C_{th} = 10(N_H + N_P)$; B) $C_{th} = 20(N_H + N_P)$; C) $C_{th} = 30(N_H + N_P)$. O valor de R_0 é representado pelo gradiente cinza e a isolinha representa o limiar $R_0 = 1$. Os valores de C_c e C_s variaram de acordo com C_{th} e M . Os demais parâmetros foram fixados em: $N_H = 50$, $N_P = 50$, $\mu = 0,8$, $\gamma = 0,0035$, $T_{MH} = 0,022$, $T_{MP} = 0,044$, $T_{HM} = 0,24$, $\tau = 0,004$, $T_{MP} = 0,044$ e $T_{PM} = 0,27$, $b = 0,5$, $h = 20$, $B_c = 0$ e $B_s = 0$.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo foi testada a hipótese de que fatores associados às alterações na paisagem podem ser em parte responsáveis pela variação observada na abundância e acrodendrofilia de *An. cruzii*. Além disto, foi possível avaliar por meio de um modelo teórico como tais variações no comportamento e densidade do vetor podem influenciar a dinâmica de transmissão da malária entre símios e humanos na Mata Atlântica. Os resultados obtidos sugerem que a perda de vegetação natural leva a uma redução na abundância de *An. cruzii* mas, por outro lado, favoreça uma maior atividade desta espécie próximo ao solo, o que também pode estar associado ao aumento do efeito de borda em áreas mais fragmentadas. As análises baseadas no modelo teórico apontam que as variações na acrodendrofilia do vetor podem ter um papel importante na dinâmica de transmissão de plasmódios entre símios e humanos na Mata Atlântica, corroborando com as observações anteriores de Deane e colaboradores (1971). Em condições nas quais *An. cruzii* busque se alimentar quase exclusivamente na copa das árvores ou se alimente quase exclusivamente próximo ao solo a transmissão zoonótica parece não se sustentar mesmo em situações de elevada abundância do vetor, sendo os casos observados possivelmente acidentais e pouco comuns. De outra forma, condições nas quais *An. cruzii* se desloque com maior frequência entre os estratos copa e solo tendem a favorecer a transmissão zoonótica, sendo que quanto maior o deslocamento menor é a abundância relativa do vetor necessária para que um símio infectado gere mais do que um caso novo na população de humanos suscetíveis, ou vice e versa.

Variações na frequência com que *An. cruzii* pica na copa ou no solo tem sido observadas em diferentes locais estudados nas regiões sul e sudeste do país (Forattini, 1968; Deane et al., 1971; Guimarães et al., 1985; Ueno et al., 2007; Santos-Neto & Lozovei, 2008; Buery et al., 2018). Apesar disto, há um consenso entre os diversos estudos no que se refere à acrodendrofilia desta espécie (Deane, 1992; Forattini, 2002; Marrelli, 2007). Poucas têm sido as tentativas em explicar o porquê de tal comportamento. Forattini e colaboradores (1968) fizeram um estudo minucioso sobre o comportamento de mosquitos silvestres, investigando, dentre outros fatores, a estratificação vertical da fauna de culicídeos em áreas de floresta na região nordeste do Estado de São Paulo. Os autores realizaram coletas no solo e na altura das copas em quatro pontos de estudo entre os anos de 1963 e 1965, tendo observado que *An. cruzii*, além de ter sido a espécie mais abundante, demonstrou considerável acrodendrofilia. Foi notado que este comportamento da espécie não apresentou diferenças em relação às variações climáticas, mas mostrou certa diferença entre os pontos de estudo e entre o período

do dia, visto que a acrodendrofilia se acentuava nas coletas noturnas. Quanto às diferenças locais os autores levantaram a hipótese de que em um dos pontos, a proximidade com áreas habitadas pelo homem teria levado a uma pequena redução na acrodendrofilia de *An. cruzii*. No que se refere ao aumento da acrodendrofilia no período noturno, os autores sugeriram uma possível relação com a maior presença de animais em repouso nas copas, sobretudo as aves.

Alguns anos antes, Veloso e colaboradores (1956) haviam investigado a estratificação vertical de mosquitos do subgênero *Kerteszia* em áreas de floresta do município de Brusque, Santa Catarina, ocasião na qual também notaram que a acrodendrofilia do vetor se acentuava no período noturno, assim como observado posteriormente por Forattini e colaboradores (1968). Os autores observaram ainda que a atividade de vôo dos *Kerteszia* ao longo do ano tendia a cair consideravelmente com o aumento da umidade relativa, levantando à hipótese de que tal redução de atividade pudesse se dar pela condensação do vapor de água no corpo do inseto. Em um estudo realizado entre os anos de 1981 e 1982 no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, situado no estado do Rio de Janeiro, Guimarães e colaboradores (1985) novamente apontam um aumento da acrodendrofilia desta espécie no período noturno e uma distribuição mais equitativa entre a copa e o solo durante as horas claras do dia. Neste mesmo estudo, os autores observaram que, ao longo do ano, o estrato superior da floresta apresentava médias de umidade relativa do ar menores do que aquelas registradas no estrato inferior, o que poderia explicar, em parte, a tendência de *An. cruzii* picar na copa das árvores. Deane (1992) por outro lado, observou que nas florestas de Mata Atlântica situadas nas regiões de planalto mais ao interior da costa litorânea, a exemplo do Horto Florestal no PEC, *An. cruzii* mostrou acentuada acrodendrofilia. Por sua vez, nas montanhas costeiras sujeitas a elevada umidade relativa do ar, a espécie parecia se alimentar com maior frequência próxima ao solo.

Estas observações sugerem que variações locais na acrodendrofilia de *An. cruzii* são influenciadas tanto por fatores ambientais quanto por fatores microclimáticos, sendo acrescentado a isto as variações genéticas entre as populações de diferentes regiões e a possibilidade de que este mosquito represente na verdade um complexo de espécies crípticas (Rona et al., 2009; Dias et al., 2018). Nossas observações sugerem que o comportamento acrodendrôfilo desta espécie varie em função de mudanças na composição e na configuração da matriz de paisagem do entorno, com um aumento da atividade hematofágica deste mosquito no estrato inferior da floresta em resposta à redução de cobertura florestal e ao aumento do efeito de borda nas áreas com maior atividade humana. Dado que o número de pontos amostrais estudados foi pequeno e o modelo linear apresenta um fraco ajuste, deve-se

encarar com certa cautela os resultados obtidos no presente estudo. Apesar disto, dois fatos devem ser argumentados, um primeiro refere-se ao aumento da presença do hospedeiro humano e o outro às variações microclimáticas decorrentes do efeito de borda.

O simples aumento da atividade humana nas áreas de borda ou mesmo no interior da floresta representa um incremento no número de hospedeiros disponíveis para o vetor e para outros mosquitos em busca de repasto sanguíneo, não seria de se estranhar que *An. cruzii* se desloque da copa ao solo mais frequentemente em situações em que o humano e seus animais domésticos representem as fontes sanguíneas mais próximas e abundantes. Guimarães e colaboradores (1987) ao conduzirem um estudo para identificar o hábito alimentar de culicídeos coletados na copa e no solo, no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, observaram que a maioria dos culicídeos, inclusive *An. cruzii*, demonstraram um comportamento oportunista, se alimentando tanto em humanos quanto em outros animais utilizados como isca. Chaves e colaboradores (2010) reuniram diversos estudos sobre hábitos alimentares de mosquitos e utilizaram um modelo nulo de co-ocorrência de espécies para testar se o comportamento alimentar de mosquitos tendia a ser randômico (sem preferência por determinadas espécies), segregado (determinados mosquitos se alimentam somente de determinado hospedeiro) ou agregado (mosquitos tendem a se alimentar principalmente de um determinado hospedeiro). Os autores observaram que em estudos onde os dados foram coletados em vários locais houve a tendência a um comportamento agregado, concluindo que o contato entre mosquitos e hospedeiros irá depender mais da disponibilidade de determinado hospedeiro do que de uma preferência inata por parte da espécie de mosquito.

No que se refere ao efeito das variações microclimáticas, é sabido que fatores como luminosidade, velocidade do vento, temperatura e umidade do ar variam da borda para o interior dos fragmentos (Chen et al., 1995; Didham & Lawton, 1999; Ewers & Banks-Leite, 2013). Em um estudo conduzido na Mata Atlântica, Magnano e colaboradores (2015) demonstraram que os ambientes de borda são mais suscetíveis à baixa umidade, a ventos fortes e a temperaturas mais elevadas do que o interior da floresta. Com base nisto, uma segunda hipótese é de que a redução da umidade devido ao efeito de borda em áreas mais fragmentadas possa favorecer uma maior atividade de *An. cruzii* no estrato inferior, o que iria de encontro às observações de Veloso e colaboradores (1956) e Guimarães e colaboradores (1985) em relação ao efeito da umidade do ar sobre a atividade de voo dos mosquitos *Kerteszia*.

O presente estudo também buscou investigar como a abundância de *An. cruzii* é influenciada pela redução de áreas naturais e aumento da fragmentação de habitats promovida pela ação humana, trazendo evidências de uma associação positiva entre proporção de cobertura florestal nativa e abundância desta espécie. Durante as coletas de campo pode-se observar nitidamente que a densidade e dominância de *An. cruzii* mostrava-se menor nas áreas mais alteradas da APA Capivari–Monos, cujo a atividade humana era mais intensa, a exemplo dos bairros Marsilac e Embura. Deve-se mencionar que Ribeiro e colaboradores (2012) haviam previamente observado tal diferença na abundância de *An. cruzii* em área preservada e degradada da APA Capivari-Monos (Evangelista de Souza e Embura, respectivamente), estudo do qual parte dos dados foram utilizados aqui. Conforme se tem observado em muitos estudos, *An. cruzii* tende a ser a espécie de culicídeo dominante, ou pelo menos uma das mais abundantes, nas matas úmidas da encosta litorânea do sudeste e sul do Brasil, com sua densidade populacional estando diretamente relacionadas à abundância de bromélias (Forattini et al., 1968; 1986; Ueno et al., 2007; Bona & Navarro-Silva, 2008; Guedes & Navarro-Silva, 2014). Recentemente Chaves e colaboradores (2016) conduziram um estudo para investigar a influência da paisagem sobre a distribuição e abundância de *An. cruzii* e *An. belator*, notando que a configuração e composição da paisagem parecem exercer um papel significativo na abundância das duas espécies, sendo que a primeira se mostrou mais abundante em área de floresta densa enquanto que a segunda foi mais prevalente no ambiente de restinga. Os autores observaram ainda que ambas as espécies não ocorreram em ambiente rural, onde as bromélias tendem a ser escassas ou ausentes. Dorvillé (1996) ao analisar uma série de estudos sobre culicídeos no sudeste do Brasil, concluiu que mosquitos do subgênero *Kerteszia* podem ser utilizados como bioindicadores, uma vez que são altamente suscetíveis à degradação do ambiente e sua presença reflete um alto grau de preservação. Em estudos conduzidos entre os anos de 2010 a 2013 em parques inseridos na área urbana da cidade de São Paulo, não foram amostrados espécimes de *Kerteszia*, mesmo diante de quantidade apreciável de bromélias em fragmentos preservados ou bosques nos quais estes vegetais tem sido utilizados para fins paisagísticos (Medeiros-Sousa et al., 2013; Ceretti-Junior et al., 2016), sendo mais um indicativo da suscetibilidade deste grupo às alterações do ambiente.

Curiosamente, em nossas coletas no PEC foram obtidos somente 18 espécimes de *An. cruzii*, apesar do relativo grau de preservação desta área. Deane e colaboradores (1966) em coletas nesta região utilizaram plataformas construídas entre 10 e 15 metros acima do solo nas quais os próprios coletores serviam de isca para atrair os mosquitos (procedimento geralmente

não adotado nos dias de hoje devido aos riscos à saúde dos coletores). Na ocasião, *An. cruzii* correspondeu a quase 30% (1156) do total de culicídeos coletados (3887), sendo a grande maioria dos espécimes obtidos nas plataformas instaladas nas copas das árvores, como já mencionado anteriormente. Posteriormente, Montes (2005) em coletas com armadilhas luminosas CDC, o mesmo tipo utilizado em nosso estudo, não observaram a presença de mosquitos do subgênero *Kerteszia*, mesmo após um ano de estudo com coletas quinzenais.

Uma das hipóteses que podem ser levantadas é um possível declínio local de *An. cruzii* ao longo das últimas décadas, uma vez que o PEC sofre uma intensa pressão da área urbana em seu entorno que tem se expandido ao longo do tempo (São Paulo, 2009a). Tal declínio populacional poderia se dar tanto por conta da suscetibilidade natural deste grupo às alterações do meio quanto por uma redução na densidade de bromélias e aumento de competidores e predadores antes inexistentes no local. Outra hipótese é a de que as armadilhas CDC não sejam tão eficientes para a coleta de espécimes de *An. cruzii* desta população. Tal hipótese não foi testada devido à inviabilidade logística de se instalarem plataformas ou outros tipos de armadilhas na copa das árvores, como feito décadas antes por Deane e colaboradores (1966). A esta segunda hipótese reforça-se o fato de que Montes (2005) também não obteve sucesso em coletar mosquitos deste grupo utilizando a mesma técnica. O que contrapõe esta hipótese é o fato de ter sido utilizado armadilhas de Shannon e estas também não terem obtido êxito na coleta desta espécie, já que apenas um espécime de *An. cruzii* foi coletado nesta armadilha ao longo de todo período de estudo nesta área. No entanto, se considerarmos que a população desta espécie no PEC é extremamente acrodendrófila, não era de se esperar que fossem coletados muitos indivíduos na armadilha de Shannon ou na CDC de solo. É importante mencionar aqui que, apesar da baixa densidade observada deste mosquito no PEC, estudos moleculares que transcorreram paralelamente a este detectaram a presença de *P. simium* e *P. brasilianum* em dois dos 18 espécimes adultos de *An. cruzii* coletados nesta área, além disto, foram obtidas sequências genéticas de *P. simium* em fezes coletadas de bugios que habitavam o PEC (Fernandes et al., 2018 – Artigo no prelo).

Na APA Capivari-Monos, além da presença do bugio ruivo (*Alouatta guariba clamitans*), há também o registro de outras cinco espécies de PNH: macaco prego (*Cebus nigritus*), sauá (*Callicebus nigrifrons*), sagui (*Callithrix* sp.), sagui-da-serra-escuro (*Callithrix aurita*) e o miquiqui-do-sul (*Brachyteles arachnoides*). Com exceção do sagui todas as demais são endêmicas de Mata Atlântica, sendo que as duas últimas estão ameaçadas de extinção (São Paulo, 2011). Não há informações exatas sobre a prevalência de infecção por plasmódios

nas populações de PNH que vivem na APA, no entanto, Duarte e colaboradores (2008), Yamasaki e colaboradores (2011) e dados disponibilizados pela Prefeitura da Cidade de São Paulo (São Paulo, 2009b) relatam o encontro de plasmódios em amostras de sangue de bugios recebidos pelo Departamento de Parques e Áreas Verdes do Municípios de São Paulo (DEPAVE) entre os anos de 1996 e 2011, provenientes de diversos locais, incluindo a região da APA e suas adjacências. Apesar destas evidências de circulação de plasmódios entre símios, ressalta-se que nos locais da APA investigados em nosso estudo não se observou atividade de bugios ou outros PNH, o que nos leva a acreditar que a circulação e manutenção de plasmódios nestes locais ocorram principalmente entre *An. cruzii* (principalmente mas não exclusivamente esta espécie) e humanos, conforme observado por Duarte e colaboradores (2013).

Poucos tem sido os modelos matemáticos que incluem compartimentos de transmissão para hospedeiros não-humanos na dinâmica de transmissão de doenças zoonóticas veiculadas por mosquitos. Modelos deste tipo têm sido utilizados para o estudo da dinâmica do Vírus do Nilo Ocidental e consideram compartimentos de transmissão para aves que se infectam e transmitem o vírus, mosquitos de diversas espécies, além de humanos e equinos que são hospedeiros acidentais e terminais (*dead-ends*) (Thomas & Urena, 2001; Chowell-Puente et al., 2004; Bowman et al., 2005; Laperriere et al., 2011; Chen et al., 2016). Recentemente, foram desenvolvidos modelos matemáticos para explicar a dinâmica de transmissão de *P. knowlesi* no sudeste da Ásia (Yakob et al., 2010; Imai et al., 2014; Brock et al., 2016). Estes novos modelos assumem que a transmissão natural deste patógeno ao ser humano ocorra de forma zoonótica e possuem compartimentos de transmissão para PNH, mosquitos e humanos. Yakob e colaboradores (2010) propuseram um modelo de transmissão para *P. knowlesi* no qual previram que um aumento da população humana em áreas endêmicas poderia levar à seleção de vetores mais antropofílicos e de plasmódios que seriam transmitidos de maneira mais eficiente entre humanos. Baseado neste modelo, Imai e colaboradores (2014) incorporaram o efeito do deslocamento espacial de macacos e humanos entre vilarejos, área rural e floresta, bem como o efeito das medidas de controle e prevenção sobre o risco de infecção por *P. knowlesi*. Os autores demonstraram que a transmissão dificilmente poderia se sustentar somente entre vetores e humanos e que a prevalência de infecções em humanos deve aumentar quanto maior seja a movimentação de macacos entre a floresta e a área rural.

O modelo matemático proposto no presente estudo aparentemente é o primeiro que considera um cenário de transmissão zoonótica da malária na Mata Atlântica. Embora seja um

modelo bastante preliminar, foi possível investigar como as variações na acrodendrofilia e na abundância do vetor devem influenciar a dinâmica de transmissão. As simulações do modelo matemático para a evolução na proporção de bugios, humanos e mosquitos infectados sugerem que quanto maior o deslocamento do vetor entre os estratos copa e solo maior será a proporção de infectados na população local de humanos e menor será a proporção de infectados na população de bugios e do próprio vetor. A explicação para o aumento na proporção de humanos infectados e redução na proporção de primatas infectados parece mais óbvia, uma vez que com o aumento da atividade hematofágica do vetor no solo o número de picadas infectivas direcionadas ao hospedeiro humano cresceria e, por outro lado, menos picadas infectivas seriam direcionadas à população de bugios. Por sua vez, a explicação para uma redução na proporção de mosquitos infectados devido a um aumento de sua atividade alimentar no solo parece menos intuitiva. O que foi observado por meio de simulações é que esta redução em M_i ocorreu, principalmente, porque a população simulada de primatas (N_P) era bem menor do que a população de humanos (N_H). Em simulações nas quais os tamanhos populacionais de N_P e N_H foram mais semelhantes (não apresentadas aqui) houve uma redução menos acentuada na proporção de mosquitos infectados quando estes passaram a picar com maior frequência no solo. Outro fator que contribui para que M_i tenha apresentado tal redução em resposta a um aumento em F_{ms} é o fato de que os valores atribuídos aos parâmetros T_{HM} e T_{MH} são menores do que os valores estimados para T_{PM} e T_{MP} . Assim, a probabilidade de que um mosquito suscetível ao picar um humano infectado consiga se infectar, ou de outro modo, um mosquito infectado infecte um humano suscetível ao picar este, é menor do que as mesmas situações em relação aos símios.

Quanto à prevalência de infecção nas populações de símios, humanos e mosquitos, Deane e colaboradores (1971) relatam que em torno de 62% dos primatas examinados no PEC (Horto Florestal) apresentaram plasmódios no sangue e em torno de 2% dos mosquitos *An. cruzii* examinados apresentaram esporozoítos nas glândulas salivares. Os autores também relatam que no Estado de Santa Catarina 46% dos bugios apresentaram infecção por plasmódios nos arredores de Joinville e 43% em Campo Alegre, tendo sido observado esporozoítos em aproximadamente 0,7% dos mosquitos examinados. Branquinho et al. (1997) demonstraram por meio do teste imunoenzimático ELISA uma proporção de 0,179% de *An. cruzii* positivos para o *P. vivax* no município de São Vicente, São Paulo, e 0,086% de indivíduos desta mesma espécie positivos para a variante *P. vivax* VK247, no município de Juquitiba, também no estado de São Paulo. Em estudo entomológico conduzido nas

proximidades de uma tribo indígena na reserva Curucutu, município de Itanhaém, São Paulo, foi observado taxa de infecção de 0,24% para *An. cruzii* (Neves et al., 2013). Em relação à prevalência em populações de humanos, Cerutti Junior e colaboradores (2007) detectaram, por meio de testes moleculares, DNA de plasmódios em 3,1% (48/1527) dos moradores assintomáticos de uma região de Mata Atlântica no estado do Espírito Santo. Em um estudo de coorte recente com 92 habitantes da mesma região do Espírito Santo, observou-se uma prevalência de 3,4% de infecção por plasmódios, sendo 2,3% por *P. vivax* e a mesma porcentagem para *P. malariae*. A incidência observada foi de 1,25 infecções por 100 habitantes/ano para cada um dos plasmódios (Alencar et al., 2018). Curado et al. (2006) investigaram amostras de sangue de 318 habitantes de uma região de Mata Atlântica no Vale do Ribeira, estado de São Paulo, tendo sido amplificado por PCR sequências de plasmódios em 6 habitantes (1,9%). Estas informações sugerem que as proporções de infectados sob o equilíbrio endêmico, obtidas por meio das simulações do modelo proposto aqui, parecem coerentes e próximas do esperado no mundo real, uma vez que nas áreas de Mata Atlântica o que se tem observado normalmente é uma alta prevalência de infecção por plasmódios nas populações de bugios e prevalência relativamente baixa nas populações de mosquitos e humanos.

As análises sensíveis apresentadas nas figuras 14 e 15 mostraram como a força de propagação da infecção nas populações, traduzida pelo R_0 , responde tanto às variações na abundância de mosquitos quanto às variações na acrodendrofilia do vetor. Um primeiro padrão que se pôde notar é que em condições de baixa abundância um ligeiro aumento no número de mosquitos promoveu uma elevação abrupta de R_0 , tendo este atingido imediatamente um valor máximo. A partir daí se deduz que neste intervalo de condições a elevação da abundância do mosquito vetor aumente as chances de que o parasita se espalhe na população de hospedeiros enquanto que a abundância total de culicídeos (soma de todas as espécies de mosquitos em busca de repasto) ainda não é suficiente para que haja uma resposta defensiva por parte dos hospedeiros. Foi observado ainda que os valores máximos de R_0 foram maiores nas simulações em que o vetor apresentava-se mais acrodendrófilo (menores valores de F_{ms}), o que se deve ao simples fato de que nesta situação a transmissão de plasmódios se dá quase exclusivamente entre os símios cujos valores estimados para os parâmetros de transmissão T_{MP} e T_{PM} são maiores do que aqueles assumidos para os mesmos parâmetros em humanos (T_{MH} e T_{HM}), permitindo assim que plasmódios se espalhem em maior velocidade pela população de símios. Outro ponto a se observar nas simulações das

figuras 14 e 15 é que, logo após atingir o valor máximo, R_0 começa a decrescer seguindo o aumento da abundância de mosquitos, caindo para valores abaixo do limiar epidêmico. Isto se deve ao efeito da resposta defensiva dos hospedeiros atuando como um fator de proteção que reduz a força de espalhamento de plasmódios entre as populações de símios e humanos em cenários onde ocorre um aumento exacerbado na abundância de culicídeos. As simulações mostraram que quando a população do vetor tem um maior deslocamento entre o estrato superior e inferior da floresta, torna-se necessário uma maior abundância de mosquitos para que R_0 caia abaixo do limiar, o que pode ser explicado pelo fato de que, nessas circunstâncias, as picadas dos mosquitos estão mais bem distribuídas entre humanos e símios, havendo, portanto, uma evolução mais lenta da resposta defensiva.

A possibilidade de que o comportamento de defesa dos hospedeiros possa influenciar na taxa de sucesso de picadas de mosquitos foi inicialmente sugerida por Edman & Kale (1971). Seguindo evidências preliminares (Shemanchuk et al., 1963; Edman and Downe, 1964), os autores conduziram um experimento no qual observaram que o mosquito *Culex nigripalpus* obteve diferentes taxas de sucesso em se alimentar de sete espécies de aves, notando que nas espécies em que o mosquito obteve menos sucesso houve um comportamento de defesa mais ativo, espantando, matando e mesmo comendo os insetos que buscavam repasto sanguíneo. Os autores concluíram que os mosquitos rejeitados por um hospedeiro ou irão falhar em se alimentar ou irão buscar um hospedeiro mais permissivo. Em um segundo estudo, Edman e colaboradores (1974) conduziram um novo experimento com diversas espécies de aves e mamíferos, no qual notaram as mesmas variações na taxa de sucesso alimentar de *Cx. nigripalpus*. Neste estudo foi observado ainda que ao aumentar a densidade de mosquitos por hospedeiro as taxas de sucesso de ingurgitamento do mosquito permaneciam estáveis para hospedeiros tolerantes, mas diminuía em hospedeiros mais defensivos. Day & Edman (1984) em outro experimento utilizaram, além de *Cx. nigripalpus*, as espécies *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, *An. quadrimaculatus*, *An. stephensis* para investigar a taxa de sucesso alimentar mediante a resposta defensiva de espécies de mamíferos e aves. Pode-se observar neste estudo que os mosquitos obtiveram maior sucesso em se alimentar de hospedeiros cujo período de repouso coincide com os horários de maior atividade do vetor e que hospedeiros que possuem horário de atividade coincidente com o dos mosquitos infligiram uma maior mortalidade a estes insetos. A relação entre uma redução da taxa de sucesso alimentar de insetos hematófagos devido a um aumento da densidade e o comportamento defensivo de hospedeiros tem sido também observada para *Triatoma*

infestans (Schofield, 1982), flebotomíneos (Kelly et al., 1996) e moscas Tse-Tse (Vale, 1997). Baseado nestas observações, Kelly & Thompson (2000) desenvolveram um modelo que prediz que vetores tendem selecionar evolutivamente hospedeiros menos reativos a fim de maximizar o sucesso alimentar. Por fim, Laporta e colaboradores (2013) estudando o efeito da biodiversidade sobre a dinâmica de transmissão da malária na Mata Atlântica, desenvolveram parâmetros que consideram a resposta defensiva dos hospedeiros ao aumento no número de picadas e o aplicaram ao modelo matemático do estudo.

As análises sensitivas apresentadas nas figuras 16 a 19 permitiram uma visualização mais detalhada do efeito da abundância relativa do vetor e sua movimentação entre os estratos da floresta sobre o número básico de reprodução. O que se nota é que em determinados intervalos de condições a malária de Mata Atlântica não se sustentaria endemicamente como uma zoonose, e em outros intervalos de condições a malária só se sustentaria se a transmissão envolver os hospedeiros símios e humanos. A primeira condição, por exemplo, poderia ser observada em situações nas quais *An. cruzii* apresenta elevada acrodendrofilia, como observado, por exemplo, nos estudos de Deane e colaboradores (1971) no Horto Florestal da Cantareira e no município capixaba de Santa Leopoldina. Um possível exemplo para a segunda condição seria a situação observada no município de Santa Teresa, também no Espírito Santo, onde diversos casos humanos autóctones têm sido registrados (Cerutti Junior et al., 2007; Alencar et al., 2018) e entre 80 a 90% dos espécimes de *An. cruzii* coletados por meio de armadilhas CDC foram obtidos na copa das árvores (Rezende et al., 2009, 2013), tendo ainda o registro de bugios infectados por plasmódios (Buery et al., 2017). Dado que o vetor *An. cruzii* possui tendências comprovadamente acrodendrofilicas, é de se esperar que na maior parte das situações encontradas na Mata Atlântica a transmissão de plasmódios não se sustente somente entre estes mosquitos e seres humanos, ou seja, dependerão ou do reservatório símio ou de outras espécies de anofelinos que atuem como vetores auxiliares do parasita, conforme observado por Duarte e colaboradores (2013).

Muitas são as limitações do presente estudo que devem ser levadas em conta. Com relação ao estudo observacional deve ser mencionado o baixo número de pontos investigados e a restrição destes a uma única área, a APA Capivari-Monos, uma vez que se optou por não aplicar as mesmas análises aos dados do PEC devido ao baixo número de exemplares obtidos neste local. Outro ponto importante a se considerar é que as coletas realizadas neste estudo transcorreram no período de 2015 a 2017, enquanto que as coletas em Evangelista de Souza e parte das coletas no bairro Embura transcorreram de 2009 a 2010, o que poderia implicar em

um possível viés temporal. Apesar disto, baseado em nossas observações de campo, se assumiu que a região da APA não sofreu alterações ambientais drásticas ao longo deste período que pudessem impactar nas populações de *An. cruzii*. Ainda com relação às coletas, não foi possível observar qual seria a densidade de mosquitos coletados por homem/hora na copa das árvores, dado que durante as pesquisas de campo não foi possível, por questões logísticas, a instalação da armadilha de Shannon em plataformas suspensas para abrigar os coletores. Não se sabe se de outro modo seriam obtidos resultados diferentes dos apresentados aqui, no entanto, deve-se admitir que a presença de coletores humanos tanto no solo quanto na copa seria um procedimento mais adequado para a presente proposta, uma vez que as armadilhas CDC, mesmo com a utilização de CO₂ ou cairomônios que atraíam as fêmeas em busca de repasto, não mimetizam plenamente a presença do hospedeiro humano ou símio. Informações sobre a prevalência de plasmódios nas populações de *An. cruzii* coletadas nos pontos Cachoeira do Marsilac, Sítio Águas do Siloé e bairro Marsilac foram obtidas por estudos que transcorreram paralelamente a este, no entanto, alguns trabalhos laboratoriais ainda estão em andamento e os dados ainda não estão disponíveis para que se possa relacioná-los aos dados de abundância e acrodendrofilia obtidos aqui, o que poderá ser feito posteriormente a este trabalho.

Quanto ao modelo matemático proposto, muito dos pressupostos descritos na seção Métodos podem ser considerados como limitações óbvias, decorrentes da própria simplificação do processo de modelagem na busca de um modelo que responda as questões de interesse com o mínimo de complexidade possível. O modelo apresentado aqui teve como principal intuito avaliar o efeito das variações na acrodendrofilia e abundância do vetor, servindo também como um modelo preliminar a ser aprimorado em estudos futuros, uma vez que fatores importantes não foram considerados, a exemplo do período de latência do patógeno no vetor e nos hospedeiros e a dinâmica populacional do vetor. Outros fatores relevantes que podem ser considerados em modelos futuros seriam a diferenciação entre os casos humanos sintomáticos e assintomáticos, a inclusão de vetores auxiliares na dinâmica de transmissão e a distinção entre as infecções com diferentes espécies de plasmódios, além disto, estimativas mais concretas dos parâmetros de transmissão relacionados aos vetores e hospedeiros, sobretudo bugios e humanos, precisam ser obtidas a partir de dados empíricos, o que traria um maior realismo e confiabilidade às predições.

Deve ser lembrado que no passado a bromélia malária representou uma endemia de grande importância epidemiológica nas regiões sudeste e sul do país. Embora tenha sido

controlada com o emprego de muitos esforços, não foi totalmente eliminada, pois persistem focos de transmissão em diversas regiões, muitos dos quais provavelmente não cheguem ao conhecimento dos órgãos de saúde, considerando a elevada proporção de assintomáticos e oligossintomáticos na população, além da possibilidade de que os sintomas aparentes sejam confundidos com aqueles causados por outras enfermidades (Brasil et al., 2013, 2017; Maselli et al., 2014, Alencar et al., 2018). O fato é que, diante da importância da malária na região Amazônica, são escassos os estudos que tem se voltado ao entendimento da malária na Mata Atlântica, e muitos aspectos da ecologia do vetor e dinâmica de transmissão carecem ser investigados, sobretudo buscando elucidar a hipótese que foi levantada a mais de meio século sobre a possibilidade de estarmos diante de uma zoonose (Deane, 1992; Pina-Costa et al., 2014). As alterações da paisagem promovidas pelo ser humano e a consequente redução da biodiversidade tem se mostrado fatores importantes para o surgimento de surtos de malária na região amazônica, onde se reconhece o fenômeno da malária de fronteira (Sawyer, 1988; Castro et al., 2006; Chaves et al., 2018). Apesar disto, pouco se sabe sobre o efeito de tais alterações na dinâmica de transmissão da malária na Mata Atlântica. O desenvolvimento de modelos preditivos que busquem melhorar a compreensão sobre como os vetores e reservatórios respondem às alterações do meio e como isto influencia a dinâmica de transmissão de plasmódios aos seres humanos podem fornecer importantes informações para o planejamento e direcionamento das ações de prevenção e controle da malária. Cabendo aos pesquisadores a responsabilidade de desenvolver modelos cada vez melhores em sua capacidade preditiva e a busca por meios e ferramentas que os tornem mais acessíveis aos gestores e técnicos do serviço de saúde, os quais representam a linha de frente no monitoramento, prevenção e controle de tais endemias.

6. CONCLUSÕES

- Os dados observados corroboram com a hipótese de que alterações da paisagem promovidas pelo aumento da presença e ação antrópica levam à redução na abundância de *Anopheles cruzii*, mas favorecem um aumento da atividade hematofágica destes mosquitos próximo ao solo.
- O modelo matemático proposto permitiu simular diferentes cenários de transmissão zoonótica da malária na Mata Atlântica e suas predições poderão ser futuramente validadas e utilizadas para testar hipóteses sobre fatores que favoreçam ou inibam a transmissão de plasmódios entre símios e humanos.
- As simulações baseadas no modelo teórico corroboram com observações anteriores de Deane, apontando que em condições nas quais *An. cruzii* se desloque com maior frequência entre os estratos copa e solo tendem a favorecer a transmissão zoonótica, sendo que quanto maior o deslocamento menor é a abundância relativa do vetor necessária para que um símio infectado gere mais do que um caso novo na população de humanos suscetível ou vice-versa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, F. E. C. et al. 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. 113, 2018.
- AMARAL, J. Infecção natural do *Nyssorhynchus* (*Kerteszia*) *cruzei* e *bellator* (Diptera Culicidae). **Folha med**, v. 15, p. 1-9, 1942.
- ARNELL, J. H. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae). XXXIII. A revision of the Scapularis group of *Aedes* (*Ochlerotatus*). **Contrib. Amer. Entomol. Inst.** 13(2): p. 1-174, 1976.
- ARRUDA, Mercia de et al. Sero-epidemiological studies of malaria in Indian tribes and monkeys of the Amazon Basin of Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 41, n. 4, p. 379-385, 1989.
- AZEVEDO, A. L. Aspectos da epidemiologia da malária e da biologia de *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzei* Dyar & Knab em vales montanhosos do sistema de Mata Atlântica. Rio de Janeiro: **Instituto Oswaldo Cruz**, 1997.
- BARATA, J. M. S. **Estado atual da bromélia-malária no Brasil**. 1973. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.
- BARROS-BARRETO, J. **Malária: doutrina e prática**. Rio de Janeiro: Editora a noite, 338 pp. 1940.
- BONA, A. C. D.; NAVARRO-SILVA, M. A. Paridade de *Anopheles cruzei* em floresta Ombrofila Densa no Sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, p. 1118-1123, 2006.
- BONA, A. C. D.; NAVARRO-SILVA, M. A. Diversidade de Culicidae durante os períodos crepusculares em bioma de Floresta Atlântica e paridade de *Anopheles cruzei* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, n. 1, p. 40-48, 2008.
- BOWMAN, C. et al. A mathematical model for assessing control strategies against West Nile virus. **Bulletin of mathematical biology**, v. 67, n. 5, p. 1107-1133, 2005.
- BRAM, R. A. Classification of *Culex* subgenus *Culex* in the new world (Diptera: Culicidae). **Proceedings of The National Museum**. 120(3557): p. 1-120. 1967.
- BRANQUINHO, M. S. et al. Infecção do *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzei* por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium vivax* variante VK247 nos municípios de São Vicente e Juititaba, São Paulo. **Pan American Journal of Public Health** 1997; 2 (3): p. 189-193, 1997.
- BRASIL, P. et al. Malaria, a difficult diagnosis in a febrile patient with sub-microscopic parasitaemia and polyclonal lymphocyte activation outside the endemic region, in Brazil. **Malaria journal**, v. 12, n. 1, p. 402, 2013.
- BRASIL, P. et al. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. **The Lancet Global Health**, v. 5, n. 10, p. e1038-e1046, 2017.
- BROCK, P. M. et al. *Plasmodium knowlesi* transmission: integrating quantitative approaches from epidemiology and ecology to understand malaria as a zoonosis. **Parasitology**, v. 143, n. 4, p. 389-400, 2016.
- BRONNER, U. et al. Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. **Malaria journal**, v. 8, n. 1, p. 15, 2009.

- BUERY, J. C. et al. Mitochondrial genome of *Plasmodium vivax/simium* 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. 437, 2017.
- BUERY, J. C. et al. 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.
- CALADO, D. et al. PCR-RAPD and PCR-RFLP polymorphisms detected in *Anopheles cruzii* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 3, p. 423-430, 2006.
- CAMARGO, E. P. Malária, maleita, paludismo. **Ciência e cultura**, 55(1), p. 26-29, 2003.
- CARVALHO M. E. et al. Sorologia de malária vivax no foco Aldeia dos Índios, município de Peruíbe, estado de São Paulo, 1984 a 1986. **Cad Saude Publica**, 4: p. 276-292, 1988.
- CASTRO, M. C. et al. Malaria risk on the Amazon frontier. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 7, p. 2452-2457, 2006.
- CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **The History of Malaria, an Ancient Disease**. Atlanta, USA: CDC, 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/history/index.html>. Acesso em: 9 abr. 2018.
- CERETTI-JUNIOR, W. et al. Species composition and ecological aspects of immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in bromeliads in urban parks in the city of Sao Paulo, Brazil. **Journal of arthropod-borne diseases**, v. 10, n. 1, p. 102, 2016.
- CERUTTI JUNIOR, C. et al. Epidemiologic aspects of the malaria transmission cycle in an area of very low incidence in Brazil. **Malaria journal**, v. 6, n. 1, p. 33, 2007.
- CHAVES, L. F. et al. Blood feeding patterns of mosquitoes: random or structured?. **Frontiers in Zoology**, v. 7, n. 1, p. 3, 2010.
- CHAVES, L. S. M. et al. *Kerteszia* Theobald (Diptera: Culicidae) mosquitoes and bromeliads: A landscape ecology approach regarding two species in the Atlantic rainforest. **Acta tropica**, v. 164, p. 303-313, 2016.
- CHAVES, L. S. M. et al. 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. 7077, 2018.
- CHEN, J. et al. Growing-season microclimatic gradients from clearcut edges into old-growth douglas-fir forests. **Ecological Applications**, 5(1), 74-86, 1995.
- CHEN, J. et al. Modeling and control of local outbreaks of West Nile virus in the United States. **Discrete & Continuous Dynamical Systems-B**, v. 21, n. 8, p. 2423-2449, 2016.
- CHERNIN E. Patrick Manson (1844–1922) and the transmission of filariasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 26 (5 Pt. 2 Suppl.): p. 1065–70. PMID 20786. 1977.
- CHIN, W. et al. A naturally acquired quotidian-type malaria in man transferable to monkeys. **Science**, v. 149, n. 3686, p. 865-865, 1965.
- CHITNIS, N. et al. Bifurcation analysis of a mathematical model for malaria transmission. **SIAM Journal on Applied Mathematics**, v. 67, n. 1, p. 24-45, 2006.

- CHITNIS, N. et al. Determining important parameters in the spread of malaria through the sensitivity analysis of a mathematical model. **Bulletin of mathematical biology**, v. 70, n. 5, p. 1272, 2008.
- CHOWELL-PUENTE, D. et al. The Impact of Mosquito-Bird Interaction on the Spread of West Nile Virus to Human Populations. **Department of Biometrics, Cornell University, Technical Report Series**, 2004.
- CONSOLI, R. A. G. B; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 1994.
- CORMIER, Loretta A. The historical ecology of human and wild primate malarias in the New World. **Diversity**, v. 2, n. 2, p. 256-280, 2010.
- CORRÊA R. R. Infecção natural pela plasmodiose malárica do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (D.K., 1908). **Folha Clínica et Biologia**, 17, p. 23-32. 1943.
- CORRÊA R. R.; RAMALHO G. R. Revisão de *Phoniomyia* Theobald, 1903:(Diptera, Culicidae, Sabethini). **Folia Clinica et Biologica**. 25: p. 1-176, 1956.
- COSTA, D. C. **A infecção malárica pelo *Plasmodium simium*/*Plasmodium vivax* em primatas não humanos de três regiões da Mata Atlântica brasileira**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde), Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2014.
- COTRIM, M. D.; GALATI E. A. B. Revisão da série *Pleuristriatus* do subgênero *Microculex* Theobald, 1907 (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 20(3/4): p. 169-205. 1977.
- COUTINHO, J. O.; RACHOU, René; FERREIRA, Mario. Considerações em torno de uma inspecção preliminar de malária em zona de alta endemicidade no Estado de Santa Catarina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 41, n. 1, p. 1-19, 1944.
- COUTO, R. D.'Avila et al. Malária autóctone notificada no Estado de São Paulo: aspectos clínicos e epidemiológicos de 1980 a 2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 52-58, 2010.
- COX, F. E. G. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. **Parasites & vectors**, v. 3, n. 1, p. 5, 2010.
- CURADO, Izilda et al. Antibodies anti bloodstream and circumsporozoite antigens (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae*/*P. brasilianum*) in areas of very low malaria endemicity in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 235-243, 1997.
- CURADO, Izilda et al. Malaria epidemiology in low-endemicity areas of the Atlantic Forest in the Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. **Acta tropica**, v. 100, n. 1-2, p. 54-62, 2006.
- CVE – CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Caso Autóctones de Malária no Estado de São Paulo**. 2015. Disponível em <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/malaria0309_cautoctone.htm>. acessado em: 24 jul de 2015.
- DAY, J. F.; EDMAN, J. D. Mosquito engorgement on normally defensive hosts depends on host activity patterns. **Journal of Medical Entomology**, v. 21, n. 6, p. 732-740, 1984.
- DEANE, L. M. et al. Studies on transmission of simian malaria and on a natural infection of man with *Plasmodium simium* in Brazil. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 35, n. 5, p. 805, 1966.

- DEANE, L. M. Estudo sobre a malária simiana no estado do Espírito Santo. **Ver, Brasil. Biol.** 28: 531-536. 1968.
- DEANE, L. M.; FERREIRA-NETO, J. A. Malária em macacos do Estado do Rio Grande do Sul. Observações preliminares. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 11, p. 299-305, 1969.
- DEANE, L. M. et al. On the transmission of simian malaria in Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**. 13: p. 311-319, 1971.
- DEANE, L. M. et al. The vertical dispersion of *Anopheles (Kerteszia) cruzi* in a forest in southern Brazil suggests that human cases of malaria of simian origin might be expected. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 79(4), p. 461-463, 1984.
- DEANE, L. M. Malaria vectors in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 5-14, 1986.
- DEANE, L. M. Malaria studies and control in Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 38, n. 2, p. 223-230, 1988.
- DEANE, L. M. Simian malaria in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 1-20, 1992.
- DIAS, G. R. et al. Cryptic diversity in an Atlantic Forest malaria vector from the mountains of South-East Brazil. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 36, 2018.
- DIEKMANN, O. et al. On the definition and the computation of the basic reproduction ratio R_0 in models for infectious diseases in heterogeneous populations. **Journal of mathematical biology**, v. 28, n. 4, p. 365-382, 1990.
- DIEKMANN, O. et al. The construction of next-generation matrices for compartmental epidemic models. **Journal of the Royal Society Interface**, p. rsif20090386, 2009.
- DRIESSCHE, P. V. D.; WATMOUGH, J. Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission. **Mathematical biosciences**, v. 180, n. 1-2, p. 29-48, 2002.
- DIDHAM, R. K.; LAWTON, J. H. Edge structure determines the magnitude of changes in microclimate and vegetation structure in tropical forest fragments. **Biotropica**, 31(1), 17-30, 1999.
- DORVILLÉ, L. F. M. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 31, n. 2, p. 68-78, 1996.
- DUARTE, A. M. R. C. **Estudo da malária em macacos silvestres brasileiros**. 1998. Dissertação (Mestrado), Instituto de Ciências Biomédicas, USP, São Paulo. 115 f. 1998.
- DUARTE, A. M. R. C. et al. Widespread occurrence of antibodies against circumsporozoite protein and against blood forms of *Plasmodium vivax*, *P. falciparum* and *P. malariae* in Brazilian wild monkeys. **Journal of medical primatology**, v. 35, n. 2, p. 87-96, 2006.
- DUARTE, A. M. R. C. et al. Natural *Plasmodium* infections in Brazilian wild monkeys: reservoirs for human infections?. **Acta tropica**, v. 107, n. 2, p. 179-185, 2008.
- DUARTE, A. M. R. C. et al. Natural infection in anopheline species and its implications for autochthonous malaria in the Atlantic Forest in Brazil. **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 58, 2013.
- DYAR, H. G.; KNAB, F. Descriptions of some new mosquitoes from tropical America. **Proceedings of the United States National Museum**, 1908.

- EDMAN, J. D.; DOWNE, A. E. R. Host-blood sources and multiple-feeding habits of mosquitoes in Kansas. **Mosquito News**, v. 24, n. 2, 1964.
- EDMAN, J. D.; KALE, H. W. Host behavior: its influence on the feeding success of mosquitoes. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 64, n. 2, p. 513-516, 1971.
- EDMAN, J. D. et al. Effect of host defenses on the feeding pattern of *Culex nigripalpus* when offered a choice of blood sources. **The Journal of parasitology**, p. 874-883, 1974.
- EEDE, P. V. D. et al. Human *Plasmodium knowlesi* infections in young children in central Vietnam. **Malaria journal**, v. 8, n. 1, p. 249, 2009.
- EMERSON, K. J. et al. Brazilian *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) clusters by major biogeographical region. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0130773, 2015.
- ESCALANTE, Ananias A.; BARRIO, Eladio; AYALA, Francisco J. Evolutionary origin of human and primate malarias: evidence from the circumsporozoite protein gene. **Molecular biology and evolution**, v. 12, n. 4, p. 616-626, 1995.
- EWERS, R. M.; BANKS-LEITE, C. Fragmentation impairs the microclimate buffering effect of tropical forests. **PLOS one**, 8(3), e58093, 2013.
- FAUST, C., DOBSON, A. P. Primate malarias: diversity, distribution and insights for zoonotic *Plasmodium*. **One Health**, 1, p. 66-75. 2015.
- FERNANDES, N. L. et al. The current status of simian malaria in an Atlantic Forest fragment in São Paulo, Brazil: its implications for the discussion on a potential zoonosis due to *P. simium*. Artigo no prelo. Submetido para a revista **Parasites & Vectors**. 2018.
- FERREIRA NETO, J. A. *Anopheles (Kerteszia)* no Estado de Santa Catarina (Diptera, Culicidae). **Trabalho de pesquisa bibliográfica e observações pessoais, apresentados como parte do programa do Curso Livre de Entomologia Médica, realizado no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP**, 1956.
- FONSECA, F. Plasmódio de primata do Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 49, p. 543-551, 1951.
- FORATTINI, O. P. et al. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 2(2), p. 111-173. 1968.
- FORATTINI, O. P. et al. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20, p. 1-20, 1986.
- FORATTINI O. P. et al. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 1- Parity of blood seeking *Anopheles (Kerteszia)* in south-eastern Brazil. **Rev Saude Publica**. 27: p. 1-8. 1993.
- FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia** Vol. 2. São Paulo: Edusp, 2002.
- FORNACE, K. M. et al. Association between landscape factors and spatial patterns of *Plasmodium knowlesi* infections in Sabah, Malaysia. **Emerging infectious diseases**, v. 22, n. 2, p. 201, 2016.

- GALINDO, P. et al. A revision of the *Uranotaenia* of Panama with notes on other American species of the genus (Diptera, Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 47, n. 1, p. 107-177, 1954.
- GALLI-VALERIO, B. Sur la présence d'oocystes chez *Anopheles lutzii*, Theobald. **Notes de parasitologie**, v. 35, p. 81-91, 1904.
- GARNHAM, P. C. C. et al. The mosquitos of the Kaimosi Forest, Kenya Colony, with special reference to yellow fever. **Bulletin of entomological research**, 36(4), p. 473-496, 1946.
- GARNHAM, P. C. C. **Malaria parasites and other haemosporidia**. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1966.
- GOLDMAN, I. F. et al. Circumsporozoite protein gene of *Plasmodium simium*, a *Plasmodium vivax*-like monkey malaria parasite. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 57, n. 1, p. 177-180, 1993.
- GONDER, R.; VON BERENBERG-GOSSLER, H. Untersuchungen über malariaplasmodien der affen. **Malaria Intern Archiv (Leipzig)**, v. 1, p. 47-50, 1908.
- GRIFFING, Sean Michael et al. A historical perspective on malaria control in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 6, p. 701-718, 2015.
- GUEDES, M. L. P.; NAVARRO-SILVA, M. A. Mosquito community composition in dynamic landscapes from the Atlantic Forest biome (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, n. 1, p. 88-94, 2014.
- GUIMARÃES, A. E. et al. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II. Distribuição vertical. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 2, p. 171-185, 1985.
- GUIMARÃES, A. E. et al. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. IV-Preferência alimentar. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 2, p. 277-285, 1987.
- GUIMARÃES A. E. et al. Ecology of mosquitoes in areas of the National Park of "Serra da Bocaina", Brazil II. Monthly frequency and climatic factors. **Rev Saude Publica**. 35: p. 392-399, 2001,
- HALBERSTAEDTER, Lv; VON PROWAZEK, S. Untersuchungen über die Malariaparasiten der Affen. **Arb K GesundhAmt**, v. 26, p. 37-43, 1907.
- HARBACH R. E. Mosquito Taxonomic Inventory. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>. Acessado em: 13 mar. 2018.
- IMAI, Natsuko et al. Transmission and control of *Plasmodium knowlesi*: a mathematical modelling study. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, p. e2978, 2014.
- JIRAM, Adela I. et al. Entomologic investigation of *Plasmodium knowlesi* vectors in Kuala lipis, Pahang, Malaysia. **Malaria journal**, v. 11, n. 1, p. 213, 2012.
- JONGWUTIWES, S. et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans and macaques, Thailand. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 10, p. 1799, 2011.
- KELLY, D. W. et al. Density-dependent feeding success in a field population of the sandfly, *Lutzomyia longipalpis*. **Journal of Animal Ecology**, p. 517-527, 1996.
- KELLY, D. W.; THOMPSON, C. E. Epidemiology and optimal foraging: modelling the ideal free distribution of insect vectors. **Parasitology**, v. 120, n. 3, p. 319-327, 2000.

- LAL, Altaf A. et al. Circumsporozoite protein gene from *Plasmodium brasilianum*. Animal reservoirs for human malaria parasites?. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 12, p. 5495-5498, 1988.
- LALREMRUATA, A. et al. 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.
- LANE J. **Neotropical Culicidae**. 2. v. Universidade de São Paulo, São Paulo; 1953.
- LAPERRIERE, V. et al. Simulation of the seasonal cycles of bird, equine and human West Nile virus cases. **Preventive veterinary medicine**, v. 98, n. 2-3, p. 99-110, 2011.
- LAPORTA, G. Z. et al. Habitat suitability of *Anopheles* vector species and association with human malaria in the Atlantic Forest in south-eastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 239-245, 2011.
- LAPORTA, G. Z. et al. Biodiversity can help prevent malaria outbreaks in tropical forests. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 3, p. e2139, 2013.
- LAPORTA, G. Z.; SALLUM, M. A. M. Coexistence mechanisms at multiple scales in mosquito assemblages. **BMC ecology**, v. 14, n. 1, p. 30, 2014.
- LAPORTA, G. Z. et al. *Plasmodium falciparum* in the southeastern Atlantic forest: a challenge to the bromeliad-malaria paradigm?. **Malaria journal**, v. 14, n. 1, p. 181, 2015.
- LEVENBERG, K. A method for the solution of certain non-linear problems in least squares. **Quarterly of applied mathematics**, v. 2, n. 2, p. 164-168, 1944.
- LI, Jun et al. Geographic subdivision of the range of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. **Emerging infectious diseases**, v. 7, n. 1, p. 35, 2001.
- LIM, C. S. et al. *Plasmodium vivax*: recent world expansion and genetic identity to *Plasmodium simium*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 43, p. 15523-15528, 2005.
- LUCHAVEZ, J. et al. Human infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 5, p. 811, 2008.
- LUPI, Otilia et al. Estudo dos casos suspeitos de malária importada, um Centro de Referência na região extra-Amazônica. **Research**, 1: 613, 2014.
- MAGNAGO, L. F. S. et al. Microclimatic conditions at forest edges have significant impacts on vegetation structure in large Atlantic Forest fragments. **Biodiversity and Conservation**, 24(9), p. 2305-2318. 2015.
- MALAFRONT, R. S. et al. Intraspecific variation of second internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA among populations of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 44, n. 3, p. 538-542, 2007.
- MARQUARDT, D. W. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. **Journal of the society for Industrial and Applied Mathematics**, v. 11, n. 2, p. 431-441, 1963.
- MARQUES, A. C.; GUTIERREZ, H. C. Combate à malária no Brasil: evolução, situação atual e perspectivas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 27, n. supl III, p. 91-108, 1994.

- MARQUES, G. R. A. M. et al. Aspectos epidemiológicos de malária autóctone na mata atlântica, litoral norte, Estado de São Paulo, 1985-2006. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, n. 4, p. 386-389, 2008.
- MARRELLI, M. T. et al. *Kerteszia* subgenus of *Anopheles* associated with the Brazilian Atlantic rainforest: current knowledge and future challenges. **Malaria Journal**, v. 6, n. 1, p. 127, 2007.
- MASELLI, Luciana MF et al. Detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* subclinical infection in non-endemic region: implications for blood transfusion and malaria epidemiology. **Malaria journal**, v. 13, n. 1, p. 224, 2014.
- MACDONALD, George. The analysis of equilibrium in malaria. **Tropical diseases bulletin**, v. 49, n. 9, p. 813, 1952.
- MACDONALD, G. Theory of the eradication of malaria. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 15, n. 3-5, p. 369, 1956.
- MANDAL, S. et al. Mathematical models of malaria-a review. **Malaria journal**, v. 10, n. 1, p. 202, 2011.
- MAXIMA.SOURCEFORGE.NET. Maxima, a Computer Algebra System. Version 5.34.1. Disponível em: <<http://maxima.sourceforge.net/>>. 2014.
- MCGARIGAL, K. et al. FRAGSTATS v4: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical and Continuous Maps. Department of Environmental Conservation, University of Massachusetts, Amherst, 2012.
- MEDEIROS-SOUSA, A. R. et al. Mosquito fauna in municipal parks of São Paulo City, Brazil: a preliminary survey. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 29, n. 3, p. 275-279, 2013.
- MONTES, J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 578-584, 2005.
- MOST, Harry. *Plasmodium cynomolgi* malaria: accidental human infection. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 22, n. 2, p. 157-158, 1973.
- MURRELL, Paul. grid: Grid Graphics, **R package version**, v. 2, n. 0. 2005.
- NEVES, A. et al. Malaria outside the Amazon region: natural *Plasmodium* infection in anophelines collected near an indigenous village in the Vale do Rio Branco, Itanhaém, SP, Brazil. **Acta tropica**, v. 125, n. 1, p. 102-106, 2013.
- NG, O. T. et al. Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 5, p. 814, 2008.
- OLIVA, W. M.; SALLUM, E. M. Periodic dynamic systems for infected hosts and mosquitoes. **Revista de saude publica**, v. 30, n. 3, p. 218-223, 1996.
- OLIVEIRA-FERREIRA, Joseli et al. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria journal**, v. 9, n. 1, p. 115, 2010.
- OPAS - Organização Panamericana de Saúde. Malaria epidemiological update: 30 January 2018. Washington, D.C: c.2018. Disponível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=33&Itemid=40757&lang=en. Acesso em: 13 mar. 2018.
- OTTO, S. P.; DAY, T. **A biologist's guide to mathematical modeling in ecology and evolution**. Princeton University Press, 2011.

- PINA-COSTA, Anielle de et al. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 5, p. 618-633, 2014.
- PINOTTI, M.; RACHOU, R. G.; FERREIRA, M. O. Alguns aspectos epidemiológicos da malária do litoral sul do Brasil, em zona de transmissão por anofelinos do sub-gênero *Kerteszia*. **Publicação do M.S.E. - Serviço Nacional da Malaria**. 1947.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. 2018. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. 2018.
- RACHOU, R. G. Da efectividade de anofelinos do subgênero *Kerteszia* pelos parasitas da malária humana. **A Folha Med**, v. 27, p. 1-10, 1946a.
- RACHOU, R. G. Da domesticidade dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* no litoral do Estado de Santa Catarina. **Folha méd**, v. 27, n. 1, p. 1-8, 1946b.
- RACHOU, R. G. Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. **Rev Bras Malariol Doencas Trop**. v. 10, p. 145-181, 1958.
- REINER, R. C. et al. A systematic review of mathematical models of mosquito-borne pathogen transmission: 1970–2010. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 10, n. 81, p. 20120921, 2013.
- REITZ, R. Bromeliaceas: e a malária-bromelia endêmica. In: **Flora Ilustrada Catarinense** (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, p.1-58, 1983.
- REZENDE, H. R. et al. 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. et al. 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.
- RIBEIRO, A. F. et al. Mosquitoes in degraded and preserved areas of the Atlantic Forest and potential for vector-borne disease risk in the municipality of São Paulo, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 37, n. 2, p. 316-324, 2012.
- RONA, L. D. P. et al. Assessing the molecular divergence between *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzei* populations from Brazil using the timeless gene: further evidence of a species complex. **Malaria Journal**, v. 8, n. 1, p. 60, 2009.
- ROSA-FREITAS, M. G. et al. Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 5, p. 651-655, 1998.
- ROSS, R. **Report on the Prevention of Malaria in Mauritius**. London, UK. Waterlow & Sons Limited. 1908.
- ROSS, R. **The prevention of malaria**. New York, NY. Dutton. 1911.
- ROSS, Ronald. Some a priori pathometric equations. **British medical journal**, v. 1, n. 2830, p. 546, 1915.
- ROZEBOOM, L. E.; KOMP, W. H. W. A review of the species of *Culex* of the subgenus *Melanoconion* (Diptera, Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 43, n. 1, p. 75-114, 1950.

- SALLARES R. **Malaria and Rome: A History of Malaria in Ancient Italy**. [S.l.]: Oxford University Press, ISBN 978-0-19-924850-6, 2002.
- SALLUM, M. A. Mureb et al. Finding connections in the unexpected detection of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* DNA in asymptomatic blood donors: a fact in the Atlantic Forest. **Malaria journal**, v. 13, n. 1, p. 337, 2014.
- SANTOS, R. L. C. D. **Medida da capacidade vetorial de *Anopheles albitarsis* e de *Anopheles (Kerteszia)* no Vale do Ribeira, São Paulo**. 2001. Tese [Doutorado em Saúde Pública], Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. 2001.
- SANTOS-NETO, L. G. dos; LOZOVEI, A. L. Ecological aspects of *Anopheles cruzii* and *Culex ribeirensis* (Diptera, Culicidae) in Atlantic Forest of Morretes, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 1, p. 105-111, 2008.
- SÃO PAULO (ESTADO). INSTITUTO FLORESTAL - Secretaria do Estado do Meio Ambiente, Governo do Estado de São Paulo. **Plano de Manejo do Parque Estadual da Cantareira**. 2009a. Disponível em: <<http://fflorestal.sp.gov.br/pagina-inicial/planos-de-manejo/planos-de-manejo-planos-concluidos/plano-de-manejo-pe-da-cantareira/>>. Acessado em: 9 fev 2018.
- SÃO PAULO (MUNICÍPIO). SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E MEIO AMBIENTE - Prefeitura de São Paulo. **Projeto "Manejo e Conservação do Bugio, *Alouatta clamitans* (Primates, Atelidae) na Região Metropolitana de São Paulo: aprimorando o programa de reintrodução"**. 2009b. Disponível em: <http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/meio_ambiente/arquivos/Rel_BugioDepave3_FemaVol1.pdf> Acesso em: 2 mar 2018.
- SÃO PAULO (MUNICÍPIO). SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E MEIO AMBIENTE - Prefeitura de São Paulo. **Plano de Manejo – Área de Proteção Ambiental (APA) Capivari-Monos**. 2011. Disponível em: <http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/meio_ambiente/publicacoes_svma/>. Acessado em: 9 fev 2018.
- SARKAR, Deepayan. **Lattice: multivariate data visualization with R**. Springer Science & Business Media, 2008.
- SAWYER, D. R. Frontier malaria in the Amazon region of Brazil: types of malaria situations and some implications for control. Brasília: **PHO/WHO/TDR**, 1988.
- SCHMIDT, L. H. et al. Natural occurrence of malaria in rhesus monkeys. **Science**, v. 133, n. 3455, p. 753-753, 1961.
- SCHOFIELD, C. J. The role of blood intake in density regulation of populations of *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, n. 4, p. 617-629, 1982.
- SHEMANCHUK, J. A. et al. Hosts of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from the irrigated areas of Alberta. **Mosquito News**, v. 23, n. 4, 1963.
- SINGH, Balbir et al. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. **The Lancet**, v. 363, n. 9414, p. 1017-1024, 2004.
- SIRIVANAKARN, S. A. Review of the Systematics and Proposed Scheme of Internal Classification of New World Subgenus *Melanoconion* of *Culex* (Diptera, Culicidae). **Mosq Syst.** 14: p. 265-333, 1982.

- SMITH, D. L. et al. Revisiting the basic reproductive number for malaria and its implications for malaria control. **PLoS biology**, v. 5, n. 3, p. e42, 2007.
- SMITH, D. L. et al. Recasting the theory of mosquito-borne pathogen transmission dynamics and control. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 108, n. 4, p. 185-197, 2014.
- SOETAERT, K. E. R. rootSolve: Nonlinear root finding, equilibrium and steady-state analysis of ordinary differential equations. **R package version**, v. 1, 2009.
- SOETAERT, K. E. R. et al. Solving differential equations in R: package deSolve. **Journal of Statistical Software**, 33. 2010.
- SOETAERT, K.; PETZOLDT, T. Inverse modelling, sensitivity and monte carlo analysis in R using package FME. **Journal of Statistical Software**, v. 33, n. 3, p. 1-28, 2010.
- SOPER, F. L., WILSON, D. B. *Anopheles gambiae* in Brazil 1930 to 1940. New York: Rockefeller. 1943.
- SUTHERLAND, C. J., TANOMSING, N., NOLDER, D. et al. Two nonrecombining sympatric forms of the human malaria parasite *Plasmodium ovale* occur globally. **The Journal of infectious diseases**, 201(10), p. 1544-1550. 2010.
- TA, Thuy H. et al. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. **Malaria journal**, v. 13, n. 1, p. 68, 2014.
- TAN S. Y., SUNG H. Carlos Juan Finlay (1833–1915): Of mosquitoes and yellow fe ver. **Singapore Medical Journal**. 49 (5): p. 370–1. PMID 18465043. 2008.
- TARIFA, J. R.; ARMANI, G. Os climas naturais. Os climas da cidade de São Paulo. GEOUSP, FFLCH, Universidade de São Paulo, **Novos Caminhos**. 4: p. 34-70. 2001.
- TAZI, L.; AYALA, F. J. Unresolved direction of host transfer of *Plasmodium vivax* v. *P. simium* and *P. malariae* v. *P. brasilianum*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 1, p. 209-221, 2011.
- THOMAS, D. M.; URENA, B. A model describing the evolution of West Nile-like encephalitis in New York City. **Mathematical and computer modelling**, v. 34, n. 7-8, p. 771-781, 2001.
- TUBAKI R. M. et al. Biting activity of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera, Culicidae) in domiciliary habitats in the southern Atlantic Forest, Peruibe, State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**. 1993, 37: 569-575.
- UENO, H. M. et al. Distribuição vertical e sazonal de *Anopheles (Kerteszia)* em Ilha Comprida, SP. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 269-275, 2007.
- VALE, G. A. Feeding responses of tsetse flies (Diptera: Glossinidae) to stationary hosts. **Bulletin of Entomological Research**, v. 67, n. 4, p. 635-649, 1977.
- VELOSO, H. P. et al. Os anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* em relação à distribuição das bromeliáceas em comunidades florestais do município de Brusque, Estado de Santa Catarina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 54, n. 1, p. 1-86, 1956.
- VYTHILINGAM, Indra et al. *Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia. **Parasites & Vectors**, v. 1, n. 1, p. 26, 2008.
- VYTHILINGAM, Indra. *Plasmodium knowlesi* and *Wuchereria bancrofti*: their vectors and challenges for the future. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 115, 2012.

- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2017**. Geneva: c2017. Disponível em: <<http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/en/>>. Acesso em: 24 abr. 2018.
- WILKERSON, R. C.; PEYTON, E. L. The Brazilian malaria vector *Anopheles (Kerteszia) cruzii*: life stages and biology (Diptera: Culicidae). **Mosquito System**, 23: p. 110-122. 1991.
- WRBU - WALTER REED BIOSYSTEMATICS UNIT. **Systematic catalog of Culicidae**. Washington, USA: 2018. Disponível em: <http://www.mosquitocatalog.org/default.aspx?pgID=2>. Acessado em: 24 abr. 2018.
- YAKOB, L. et al. Modelling knowlesi malaria transmission in humans: vector preference and host competence. **Malaria journal**, v. 9, n. 1, p. 329, 2010.
- YAMASAKI, Tasciane et al. Detection of etiological agents of malaria in howler monkeys from Atlantic Forests, rescued in regions of São Paulo city, Brazil. **Journal of medical primatology**, v. 40, n. 6, p. 392-400, 2011.
- ZAVORTINK, T. J. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXIX. A review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. **Contributions of the American Entomological Institute**. v. 9, n. 3, p. 1-54, 1973.
- ZHU, H. M. et al. Human natural infection of *Plasmodium knowlesi*.. **Chinese journal of parasitology & parasitic diseases**, v. 24, n. 1, p. 70-71, 2006.

8. ANEXOS

Anexo 1. Lista de espécies coletadas na Área de Proteção Ambiental (APA) Capivari-Monos por número de indivíduos em cada ponto de estudo. Coletas realizadas no período de março de 2015 a abril de 2017.

Espécies	Embura	Engenheiro Marsilac	Sítio Águas do Silóe	Cachoeira do Marsilac	Total
<i>Aedeomyia (Aedeomyia) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga, 1878)	6	2	0	2	10
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> (Lutz, 1904) * <i>Georgecraigius (Horsfallius) fluviatilis</i>	7	24	237	10	278
<i>Aedes (Ochlerotatus) crinifer</i> * <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) crinifer</i>	1	11	99	9	120
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> (Rondani, 1848) * <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) scapularis</i>	11	93	44	3	151
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald, 1901) * <i>Ochlerotatus (Protoculex) serratus</i>	18	22	36	91	167
<i>Aedes (Protomacleaya) terrens</i> (Walker, 1856) * <i>Ochlerotatus (Protomacleaya) terrens</i>	1	31	24	5	61
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus, 1762) * <i>Stegomyia (Stegomyia) aegypti</i>	0	1	0	0	1
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1895) * <i>Stegomyia albopicta</i>	3	15	1	0	19
<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> Dyar & Knab, 1908	20	841	2049	3913	6823
<i>Anopheles (Lophopodomyia) pseudotibiamaculatus</i> Galvão & Barretto, 1941	0	0	3	0	3
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</i> (Brèthes, 1926)	0	2	0	0	2
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) strodei</i> Root, 1926	4	29	44	6	83
<i>Chagasia fajardi</i> (Lutz, 1904):	0	0	3	0	3
<i>Coquillettidia (Rhynchoaenia) albicosta</i> (Chagas, 1908)	2	2	16	0	20
<i>Coquillettidia (Rhynchoaenia) chrysonotum/albifera</i> (Peryassú, 1922)	94	150	129	104	477
<i>Coquillettidia (Rhynchoaenia) juxtamansonii</i> (Chagas, 1907)	0	0	6	1	7
<i>Coquillettidia (Rhynchoaenia) venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	11	23	80	15	129
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905):	4	1	0	1	6
<i>Culex (Culex) chidesterei</i> Dyar, 1921	166	130	84	47	427
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar and Knab, 1906	2	1	0	0	3
<i>Culex (Culex) dolosus/eduardoi</i> (Lynch Arribáizaga, 1891)	73	74	194	30	371
<i>Culex (Culex) grupo Coronator</i> Dyar and Knab, 1906	11	7	10	0	28
<i>Culex (Culex) lygrus</i> Root, 1927	1	0	0	1	2
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i> Theobald, 1901	775	634	388	277	2074
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	18	43	5	235	301
<i>Culex (Culex) spp.</i>	909	301	380	193	1783
<i>Culex (Microculex) imitator</i> Theobald, 1903	0	1	0	2	3
<i>Culex (Microculex) sp.</i>	0	0	0	1	1
<i>Culex (Melanoconion) akritos</i> Forattini & Sallum, 1995	1	0	0	0	1
<i>Culex (Melanoconion) aliciae</i> Duret, 1953	0	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) bahiensis</i> Duret, 1969	0	0	2	1	3
<i>Culex (Melanoconion) bastagarius</i> Dyar and Knab, 1906	0	0	0	2	2

<i>Culex (Melanoconion) delpontei</i> Duret, 1969	47	0	0	1	48
<i>Culex (Melanoconion) dureti</i> Casal & García, 1968	2	0	0	0	2
<i>Culex (Melanoconion) glyptosalpinx</i> Harbach, Peyton & Harrison, 1984	2	0	0	0	2
<i>Culex (Melanoconion)</i> grupo <i>Atratus</i> Theobald, 1901	0	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) pereyrai</i> Duret, 1967	0	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) pilosus</i> (Dyar & Knab, 1906)	2	0	0	0	2
<i>Culex (Melanoconion)</i> cf. <i>maxinocca</i> Dyar, 1920	0	0	0	1	1
<i>Culex (Melanoconion) ribeirensis</i> Forattini and Sallum, 1985	193	12	7	4	216
<i>Culex (Melanoconion)</i> seção <i>Melanoconion</i> sp.	0	2	4	0	6
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp.	44	9	1	80	134
<i>Culex (Melanoconion) vaxus</i> Dyar, 1920	27	30	16	82	155
<i>Culex (Phenacomyia) corniger</i> Theobald, 1903	3	9	2	1	15
<i>Limatus durhami</i> Theobald, 1901	39	124	131	131	425
<i>Limatus flavisetosus</i> de Oliveira Castro, 1935	0	0	1	0	1
<i>Mansonia (Mansonia) flaveola</i> (Coquillett, 1906)	1	0	0	0	1
<i>Mansonia (Mansonia) indubitans</i> Dyar and Shannon, 1925	8	21	214	11	254
<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> (Theobald, 1901)	3	0	0	0	3
<i>Mansonia (Mansonia) titillans</i> (Walker, 1848)	11	9	22	1	43
<i>Mansonia (Mansonia) wilsoni</i> (Barreto and Coutinho, 1944)	3	9	1	0	13
<i>Mansonia (Mansonia)</i> sp.	4	0	0	0	4
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> (von Humboldt, 1819)	0	1	16	5	22
<i>Psorophora (Janthinosoma) lutzii</i> (Theobald, 1901)	0	0	0	1	1
<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	21	14	48	38	121
<i>Sabethes (Peytonulus) undosus/fabrici/ignotus</i> (Coquillett, 1906)	0	0	0	4	4
<i>Sabethes (Sabethes) purpureus</i> (Theobald, 1907)	3	1	6	3	13
<i>Shannoniana fluviatile</i> (Theobald, 1903)	0	0	2	1	3
<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) pallidiventer</i> (Lutz, 1905)	7	2	6	17	32
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) apicalis</i> Theobald, 1903	1	0	0	0	1
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) davisi</i> Lane, 1943	5	0	0	0	5
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica</i> Theobald, 1901	6	0	0	1	7
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) nataliae</i> Lynch Arribálzaga, 1891	2	0	0	0	2
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	1	0	0	0	1
<i>Uranotaenia (Uranotaenia)</i> sp.	1	0	0	0	1
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) quasilongirostris</i> (Theobald, 1907)	0	0	0	22	22
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) davisi</i> (Lutz, 1904)	9	11	14	49	83
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) edwardsi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	15	13	12	19	59
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) incaudata</i> Root, 1928	2	1	3	7	13
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) pallidoventer</i> (Theobald, 1907):	3	1	6	11	21
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) palmata</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	1	0	2	3	6
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) pilicauda</i> Root, 1928	6	2	3	7	18
<i>Wyeomyia (Phoniomyia)</i> sp.	11	1	5	7	24
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) theobaldi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	36	10	35	49	130
<i>Wyeomyia (Prosopolepis) confusa</i> (Lutz, 1905)	79	87	178	133	477
<i>Wyeomyia (Spilonympha) aiosai/ howardi/(Dendromyia) luteoventralis</i>	0	1	3	0	4
<i>Wyeomyia (Triamyia) aporonoma</i> Dyar & Knab, 1906	0	0	1	0	1
<i>Wyeomyia (Exallomyia) colononus/tarsata</i> Lane & Cerqueira, 1942	1	0	1	0	2

<i>Wyeomyia soucouyana/chalcocephala</i> Dyar & Knab, 1906	2	0	0	0	2
<i>Wyeomyia undulata</i> del Ponte & Cerqueira, 1938	2	0	0	0	2
Total	2741	2808	4577	5638	15764

* O gênero *Aedes* Meigen, 1818 (segundo a classificação tradicional de ¹Knight e Stone, 1977) passou por uma reclassificação taxonômica e atualmente o grupo foi dividido em dezenas de outros gêneros que têm sido aceitos com base nos trabalhos de ^{2,3}Reinert et al. (2004, 2009). São mostrados aqui os nomes tradicionais e os atuais.

Anexo 2. Lista de espécies coletadas no Parque Estadual da Cantareira (PEC) por número de indivíduos em cada ponto de estudo. Coletas realizadas no período de março de 2015 a abril de 2017.

Espécies	Trilha da Bica	Sede Administrativa do PEC	Trilha do Pinheirinho	Total
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> (Lutz, 1904) * <i>Georgecraigius (Horsfallius) fluviatilis</i>	25	3	3	31
<i>Aedes (Ochlerotatus) crinifer</i> * <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) crinifer</i>	0	3	1	4
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> (Rondani, 1848) * <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) scapularis</i>	128	44	83	255
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald, 1901) * <i>Ochlerotatus (Protoculex) serratus</i>	0	1	1	2
<i>Aedes (Protomacleaya) terreus</i> (Walker, 1856) * <i>Ochlerotatus (Protomacleaya) terreus</i>	10	14	14	38
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus, 1762) * <i>Stegomyia (Stegomyia) aegypti</i>	1	0	0	1
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1895) * <i>Stegomyia albopicta</i>	10	3	4	17
<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> Dyar & Knab, 1908	1	1	16	18
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) strodei</i> Root, 1926	0	1	0	1
<i>Coquillettidia (Rhynchoetania) albicosta</i> (Chagas, 1908)	0	1	0	1
<i>Coquillettidia (Rhynchoetania) chrysonotum/albifera</i> (Peryassú, 1922)	1	8	4	13
<i>Coquillettidia (Rhynchoetania) venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	7	3	0	10
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	1	1	3	5
<i>Culex (Carrollia) sp.</i>	0	1	0	1
<i>Culex (Culex) chidesteri</i> Dyar, 1921	1	25	7	33
<i>Culex (Culex) declarator</i> Dyar & Knab, 1906	0	1	0	1
<i>Culex (Culex) dolosus/eduardoi</i> (Lynch Arribáizaga, 1891)	13	36	13	62
<i>Culex (Culex) lygrus</i> Root, 1927	0	3	0	3
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i> Theobald, 1901	42	132	31	205
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	1	0	0	1
<i>Culex (Culex) restuans</i> Theobald, 1901	0	0	3	3
<i>Culex (Culex) spp.</i>	30	93	69	192
<i>Culex (Microculex) imitator</i> Theobald, 1903	0	7	1	8
<i>Culex (Microculex) pleuristriatus</i> Theobald, 1903:	0	2	0	2
<i>Culex (Microculex) sp.</i>	4	1	0	5
<i>Culex (Melanoconion) aureonotatus</i> Duret & Barreto, 1956	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) bahiensis</i> Duret, 1969	0	15	0	15
<i>Culex (Melanoconion) bastagarius</i> Dyar and Knab, 1906	1	0	0	1
<i>Culex (Melanoconion) grupo Atratus</i> Theobald, 1901	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) grupo intricatus</i> Brèthes, 1916	0	7	0	7
<i>Culex (Melanoconion) ocosa</i> Dyar & Knab, 1919	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion) pereyrai</i> Duret, 1967	0	20	9	29
<i>Culex (Melanoconion) cf. maxinocca</i> Dyar, 1920	0	2	0	2
<i>Culex (Melanoconion) ribeirensis</i> Forattini and Sallum, 1985	1	17	0	18
<i>Culex (Melanoconion) sacchettae</i> Sirivanakarn & Jakob, 1982	2	13	6	21

<i>Culex (Melanoconion)</i> seção Melanoconion sp.	0	20	0	20
<i>Culex ocellatus</i> Theobald, 1903:	0	1	0	1
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp.	1	103	13	117
<i>Culex (Melanoconion) vaxus</i> Dyar, 1920	1	626	11	638
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	4	2	3	9
<i>Limatus durhami</i> Theobald, 1901	165	87	32	284
<i>Lutzia (Lutzia) bigoti</i> (Bellardi, 1862)	0	0	1	1
<i>Mansonia (Mansonia) titillans</i> (Walker, 1848)	8	6	2	16
<i>Mansonia (Mansonia) wilsoni</i> (Barreto and Coutinho, 1944)	1	0	0	1
<i>Mansonia (Mansonia)</i> sp.	0	0	1	1
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> (Theobald, 1907)	1	0	0	1
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> (von Humboldt, 1819)	5	5	25	35
<i>Psorophora (Janthinosoma) lutzii</i> (Theobald, 1901)	1	0	0	1
<i>Runchomyia (Runchomyia) frontosa</i> Theobald, 1903	0	0	1	1
<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	3	2	106	111
<i>Sabethes (Peytonulus) identicus</i> Dyar & Knab, 1907	2	0	0	2
<i>Sabethes (Peytonulus) undosus/fabrici/ignotus</i> (Coquillett, 1906)	0	0	2	2
<i>Sabethes (Sabethes) gymnothorax</i> Harbach & Petersen, 1992	0	1	0	1
<i>Sabethes (Sabethes) purpureus</i> (Theobald, 1907)	0	2	13	15
<i>Sabethes (Sabethes) quasicyaneus</i> Peryassú , 1922	1	0	0	1
<i>Sabethes</i> sp.	0	0	1	1
<i>Shannoniana fluvatile</i> (Theobald, 1903)	2	0	8	10
<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) pallidiventer</i> (Lutz, 1905)	0	5	46	51
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) davisi</i> Lane, 1943	0	0	1	1
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) davisi</i> (Lutz, 1904)	0	0	5	5
<i>Wyeomyia (Phoniomyia)</i> sp.	1	0	0	1
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) theobaldi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	0	2	1	3
<i>Wyeomyia (Prosopolepis) confusa</i> (Lutz, 1905)	477	514	376	1367
<i>Wyeomyia (Wyeomyia) sabethea</i> Lane & Cerqueira, 1942	1	0	0	1
<i>Wyeomyia (Spilonympha) aiosai/howardi/(Dendromyia) luteoventralis</i>	3	1	0	4
<i>Wyeomyia (Exallomyia) colononus/tarsata</i> Lane & Cerqueira, 1942	1	0	0	1
<i>Wyeomyia (Decamyia) felicia/pampeithes</i> (Dyar & Nunez Tovar, 1927)	0	0	1	1
<i>Wyeomyia (Spilonympha) mystes/finlayi</i> Dyar, 1924:	0	0	1	1
Total	957	1838	918	3713

Anexo 3. Tabela apresentando o número de espécimes de *Anopheles cruzii* coletados no Parque Estadual da Cantareira (PEC) por ponto de estudo, técnica e coleta. As coletas foram realizadas no período de março de 2015 a abril de 2017.

Técnica e data	Ponto de estudo no PEC			Total
	Trilha da bica	Sede administrativa PEC	Trilha do Pinheirinho	
CDC copa	1		16	17
21/07/2015			1	1
20/10/2015	1			1
15/12/2015			14	14
23/02/2016			1	1
Shannon		1		1
28/04/2015		1		1
Total	1	1	16	18

¹KNIGHT K. L.; STONE A. A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). Volume 6. **Entomological Society of America**. College Park eMd, Md; 1977.

²REINERT J. F. et al. Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. **Zoological Journal of the Linnean Society**. 142(3): p. 289-368, 2004.

³REINERT J. F. et al. Phylogeny and classification of tribe Aedini (Diptera: Culicidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**. 157(4): p. 700-794. 2009.

CURRÍCULO LATTES

Antônio Ralph Medeiros de Sousa

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9517080023071094>
- Última atualização do currículo em 20/06/2018

Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade São Judas Tadeu (2006-2009) e Mestre em Ciências pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (2012-2014). Estagiou no Centro de Controle de Zoonoses da cidade de São Paulo no setor de fauna sinantrópica, com ênfase no estudo de culicídeos (2007-2009). Possui aprimoramento profissional desenvolvido na Faculdade de Saúde Pública/USP na área Entomologia médica e Soroepidemiologia (2011-2012). Atualmente está desenvolvendo o doutorado na mesma instituição. Tem experiência em temas como ecologia de culicídeos e epidemiologia de doenças veiculadas por estes insetos. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Antônio Ralph Medeiros de Sousa

Nome

Nome em citações bibliográficas

SOUSA, A. R. M.; MEDEIROS-SOUSA, ANTÔNIO RALPH; MEDEIROS-SOUSA, ANTÔNIO R.; MEDEIROS-SOUSA, ANTÔNIO RALPH; MEDEIROS-SOUSA, ANTONIO RALPH

Formação acadêmica/titulação

2014

Doutorado em andamento em Saúde Pública (Conceito CAPES 6).

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Estudo da dinâmica de transmissão de malária autóctone de Mata Atlântica: Análise da distribuição vertical de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae) e desenvolvimento de modelo matemático para a transmissão zoonótica.,

Orientador: Mauro Toledo Marrelli.

Palavras-chave: Mata Atlântica; *Anopheles* (Kerteszia) *cruzii*; malária; primatas.

Grande área: Ciências da Saúde

Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública.

Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Parasitologia / Subárea: Entomologia e Malacologia de Parasitos e Vetores.

2012 - 2014

Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6).

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Estudo dos padrões de diversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em parques urbanos da cidade de São Paulo, SP., Ano de Obtenção: 2014.

Orientador: Mauro Toledo Marrelli.

Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

Palavras-chave: mosquitos; Culicidae; parques urbanos; biodiversidade.

Grande área: Ciências da Saúde

Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Ecologia.

Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Parasitologia / Subárea: Entomologia e Malacologia de Parasitos e Vetores.

2011 - 2012

Aperfeiçoamento em Entomologia Médica e Soroepidemiologia. (Carga Horária: 2000h).

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Diversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em parques municipais da cidade de São Paulo: levantamento preliminar de espécies em 35 parques. Ano de finalização: 2012.

Orientador: Mauro Toledo Marrelli.

Mauro Toledo Marrelli

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6872138193111416>
- Última atualização do currículo em 04/06/2018

Professor Associado do Depto. de Epidemiologia da FSP-USP (desde 2011). Possui Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Mackenzie (1990). Aperfeiçoamento em Protozoologia pelo Instituto de Medicina Tropical (FM-USP, 1992). Mestrado em Parasitologia, pelo ICB, Universidade de São Paulo (1995) e doutorado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) (ICB-USP, 2000). Pós-doutorado pela Case Western Reserve University (Cleveland-OH) (2002), e pela Johns Hopkins School of Public Health (Johns Hopkins University) (Baltimore-MD) (2005). Tem experiência na área de Parasitologia e Epidemiologia de doenças transmitidas por vetores, atuando principalmente nos seguintes temas: ecologia e biologia molecular de vetores, marcadores moleculares em entomologia, controles alternativos de vetores. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Mauro Toledo Marrelli

Nome em citações bibliográficas

MARRELLI, M. T.;MARRELLI, MAURO TOLEDO;MARRELLI, MAURO;Marrelli, MT;Marrelli, Mauro Toledo;Marrelli, Mauro T.

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
Av. Dr. Arnaldo 715
Cerqueira César
01246904 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30617922

Formação acadêmica/titulação

1996 - 2000

Doutorado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro)pgbmp@icb.usp.br (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: *Anopheles oswaldoi* (Diptera, Culicidae): Análise do segundo espaçador interno transcrito (ITS2) do DNA ribossômico e da susceptibilidade à infecção com *Plasmodium vivax*, Ano de obtenção: 2000.
Orientador: Osvaldo Marinotti.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

1993 - 1995

Mestrado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro)pgbmp@icb.usp.br (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Anticorpos anti-Pfs2400 de gametócitos de *Plasmodium falciparum* em populações da Região Amazônica, Ano de Obtenção: 1996.
Orientador: JK.Kloetzel.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.