

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

Alessandra Bittencourt de Lemos

**ASPECTOS HISTÓRICOS E ECOLÓGICOS DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO
SUL, BRASIL.**

Porto Alegre

2022

Alessandra Bittencourt de Lemos

**ASPECTOS HISTÓRICOS E ECOLÓGICOS DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO
SUL, BRASIL.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para o título de doutor(a) em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Onilda Santos da Silva
Coorientador(a): Dr. Jáder da Cruz Cardoso

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

de Lemos, Alessandra Bittencourt
ASPECTOS HISTÓRICOS E ECOLÓGICOS DA MALÁRIA NO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL. / Alessandra Bittencourt de
Lemos. -- 2022.
138 f.
Orientadora: Onilda Santos da Silva.

Coorientador: Jáder da Cruz Cardoso.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e
do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Malária. 2. Rio Grande do Sul. 3. História. 4.
Reemergência. 5. Ecologia. I. da Silva, Onilda Santos,
orient. II. Cardoso, Jáder da Cruz, coorient. III.
Título.

“...Para extingui-la será preciso um Hercules. Mas esse Hercules só existirá nos poderes publicos, na boa orientação daquelles que se dizem directores e guias do povo, sem atritos que geram a rebeldia; sem censuras que não corrigem; sem explorações que não dignificam; sem presumpções absoletas que não ensinam. É um inimigo commum que se tem a combater, e é preciso faze-lo, custe o que custar; portanto reclama o concurso de todos.”

Angelo Dourado, 1900.

AGRADECIMENTOS

À minha família, amor maior, pelo total apoio e compreensão nos momentos felizes e difíceis desta jornada. Em especial aos meus pais Vera Bittencourt e Tulio Flores de Lemos pelas palavras e ajuda no desenvolvimento e nas leituras deste trabalho;

Aos meus orientadores Prof^a Dr^a Onilda Santos da Silva e Dr. Jáder da Cruz Cardoso, pelos ensinamentos técnicos, conversas, apoio, discussões, almoços e por todos os momentos especiais;

A todas as instituições envolvidas, que foram fundamentais para a execução deste trabalho nas suas diversas facetas: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS), Prefeitura Municipal de Eldorado do Sul (PMES), Biblioteca Pública do Estado, Museu de História de Medicina (MUHM) representado pelas historiadoras Angela Pomatti e Gláucia Kulzer muito generosas em buscar e ceder materiais e Criadouro Conservacionista Arca de Noé que abriu suas portas para as coletas;

Um agradecimento muito especial a Edmilson dos Santos e Harry Luiz Pilz Junior pelos seus esforços em campo, ensinamentos, incentivos, risadas e conselhos. Sem vocês teria sido impossível continuar;

A todos aqueles que ajudaram no trabalho de campo: Abner Moraes da Silva da Rosa, Marcelo de Souza Sampaio, Juliana Querino Goulart e Liliane Lazier;

Às gestoras de Eldorado do Sul Juliana Carvalho e Fabiani Tadini pelo apoio e flexibilidade de horário de trabalho; também aos demais colegas de trabalho por compreenderem minhas ausências, dando seu melhor;

Um agradecimento especial ao Nícolas Felipe Drumm Müller, da Divisão de Vigilância Ambiental do CEVS, pelas identificações dos mosquitos, brilhante e fundamental para o desenvolvimento deste trabalho;

Também meus agradecimentos para toda a equipe do Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) do CEVS, representado pela bióloga Cláudia Maria Dornelles da Silva, coordenadora do laboratório de Genética Molecular, que colaborou com as análises moleculares.

Ao historiador Cristiano Enrique de Brum que gentilmente forneceu alguns documentos de grande importância e relevância, além de ter sido o consultor histórico na construção da história da malária no RS;

Aos professores Gabriel Cremona e Thiago Azevedo pela ajuda de grande valia na construção de mapas e cálculos de NDVI. Vocês foram fundamentais.

A todos meus amigos e amigas pela compreensão, apoio e presença. Vocês foram fundamentais para o cumprimento desta missão;

A todos os colegas de laboratório da UFRGS, técnicas e alunos de Iniciação Científica pela ajuda e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pelos pequenos e grandes momentos;

A todos os demais professores que contribuíram para a construção de meu conhecimento, formal ou informalmente.

ASPECTOS HISTÓRICOS E ECOLÓGICOS DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Autor: Alessandra Bittencourt de Lemos
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Onilda Santos da Silva
Co-orientador: Dr. Jáder da Cruz Cardoso

RESUMO

A malária, também chamada de impaludismo, é uma doença antiga e de grande impacto na saúde pública, causando milhares de mortes anuais pelo mundo. No Brasil, sua ocorrência está relacionada a duas regiões, sendo a amazônica considerada endêmica e a região extra-amazônica, não endêmica. O bioma Mata Atlântica tem apresentado importância na transmissão de malária extra-amazônica, uma vez que propicia um ambiente para que ocorra todos os elementos necessários para sua manutenção: vetores anofelinos, parasitos do gênero *Plasmodium* e hospedeiros como o homem e os primatas-não-humanos. O Rio Grande do Sul teve endemismo de malária na região litorânea, onde possui grande área coberta por Mata Atlântica, apesar de ser considerada livre desta doença desde meados de 1960. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar a construção histórica de ocorrência da malária no Estado e relacionar aspectos ecológicos relacionados ao vetor *Anopheles*, uma vez que houve confirmação de um caso humano autóctone na região em 2014. Para tanto, foi realizada extensa busca documental e visitas a acervos e museus para reunir relatórios e materiais relativos ao impaludismo no RS. Dados do caso autóctone foram resgatados e analisados para definir a reemergência da malária no Rio Grande do Sul. Para as coletas de mosquitos, foram amostrados os municípios de Três Cachoeiras, Três Forquilhas, Eldorado do Sul e Morro Reuter, onde foram instaladas armadilhas do tipo CDC e Shannon, com capturas noturnas das 18h às 6h e das 18h às 22h, respectivamente. Os dados foram analisados estatisticamente para a associação com fatores abióticos. As ocorrências de mosquitos também foram relacionadas com NDVI em busca de uma associação com a vegetação. Como resultados, se discorre desde o primeiro relato de malária no RS, em 1900, passando pelos períodos da Primeira República (1889-1930), entre 1930 e 1960, entre 1960 e 2000, até chegar entre 2000 até 2019, passando por 2014 quando acontece a reemergência da doença. Por sua vez, esta foi determinada após análises de informações epidemiológicas. Com relação aos dados amostrais, foram realizadas 142 amostragens que, juntas, coletaram 266 indivíduos de *Anopheles* e 2.773 espécimes de outros grupos taxonômicos, totalizando 3.039 mosquitos. As espécies foram afetadas de forma diferente pelas condições abióticas, de acordo com a localidade amostrada, provavelmente porque o esforço amostral entre elas foi diferente. Não houve diferença significativa entre as estações do ano ou entre as localidades. O NDVI também não mostrou diferença significativa.

HISTORICAL AND ECOLOGICAL ASPECTS OF MALARIA IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Author: Alessandra Bittencourt de Lemos
Adviser: Professor Doctor Onilda Santos da Silva
Co-adviser: Dr. Jáder da Cruz Cardoso

ABSTRACT

Malaria, also called impaludism, is an ancient disease with great impact on public health, causing thousands of deaths annually worldwide. In Brazil, its occurrence is related to two types of regions, with the Amazon being considered endemic and the extra-Amazonian region, non-endemic. The Atlantic Forest biome has shown importance in the transmission of extra-Amazonian malaria, since it provides an environment for all the elements necessary for its maintenance: anopheline vectors, plasmodium parasites and hosts such as humans or non-human primates. Rio Grande do Sul was endemic for malaria in the coastal region, where it has a large area covered by Atlantic Forest, despite being considered free of this disease since the mid-1960s. Thus, the objective of this work was to carry out a historical rescue of malaria occurrence in the State and to relate ecological aspects related to the *Anopheles* vector, since there was confirmation of an autochthonous human case in the region in 2014. To this end, an extensive documentary search and visits to collections and museums were carried out to gather reports and materials related to impaludism in RS. Data from the autochthonous case were retrieved and analyzed to define the reemergence of malaria in Rio Grande do Sul. For mosquito collections, the municipalities of Três Cachoeiras, Três Forquilhas, Eldorado do Sul and Morro Reuter were sampled, where CDC and Shannon traps were installed, with night catches from 6:00 pm to 6:00 am and from 6:00 pm to 10:00 pm, respectively. Data were statistically analyzed for association with abiotic factors. Mosquito occurrences were also linked to NDVI in search of an association with vegetation. As a result, it goes from the first report of malaria in RS, in 1900, through the periods of the First Republic (1889-1930), between 1930 and 1960, between 1960 and 2000, until reaching between 2000 and 2019, passing through 2014 when disease reemergence. In turn, this was determined after analysis of epidemiological information. Regarding the sampling data, 142 samples were taken, which together collected 266 individuals of *Anopheles* and 2,773 specimens from other taxonomic groups, totaling 3,039 mosquitoes. Species were affected differently by abiotic conditions, according to the sampled locality, probably because the sampling effort between them was different. There was no significant difference between seasons or between locations. The NDVI also showed no significant difference.

SUMÁRIO

1	<u>INTRODUÇÃO</u>	16
2	<u>OBJETIVOS</u>	18
2.1	Objetivo Geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	<u>REVISÃO DA LITERATURA</u>	19
3.1	Aspectos biológicos - o parasito	19
3.1.1	Ciclo de <i>Plasmodium</i> sp.	19
3.2	Aspectos biológicos - o vetor	20
3.2.1	Subgênero <i>Kerteszia</i> Theobald, 1905	22
3.3	Aspectos históricos e epidemiológicos	23
3.3.1	Malária no mundo	23
3.3.2	Malária no Brasil	27
3.3.3	Malária zoonótica	29
4	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	31
4.1	Registros históricos documentais	31
4.2	Locais de coleta de amostras biológicas	33
4.3	Procedimentos de campo	34
4.4	Procedimentos de laboratório	37
4.5	Dados meteorológicos e estações do ano	37
4.6	Geoprocessamento e NDVI	38
4.7	Análise estatística	39
5	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	41
5.1	CAPÍTULO I - A HISTÓRIA DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO SUL	42

5.1.1	O impaludismo e o Rio Grande do Sul na Primeira República (1889-1930)....	42
5.1.2	A luta contra a malária entre 1930 e 1960 no Rio Grande do Sul	58
5.1.3	A malária humana e símia no Rio Grande do Sul, durante o período de 1960 até os anos 2000	72
5.1.4	A vigilância e o ressurgimento da malária a partir dos anos 2000	82
5.2	CAPÍTULO II – A REEMERGÊNCIA DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO SUL	91
5.3	CAPÍTULO III – ASPECTOS ECOLÓGICOS A PARTIR DE AMOSTRAS DE CAMPO	96
5.3.1	Diversidade, abundância e distribuição de mosquitos.....	96
5.3.2	Diversidade pelas localidades	97
5.3.3	Amostras totais e elementos abióticos	100
5.3.4	Amostras totais e elementos bióticos - vegetação	102
5.3.5	<i>Anopheles</i> e elementos abióticos.....	107
5.3.6	<i>Anopheles</i> e elementos bióticos – vegetação	113
6	<u>CONSIDERAÇÕES FINAIS</u>	<u>116</u>
7	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>121</u>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Prédios inspecionados e focos encontrados pela Polícia de Focos de Mosquitos do Departamento Estadual de Saúde, entre 1939 e 1941.....	64
Tabela 2 – Quantidade de imóveis cadastrados constantes no relatório de 1941, classificados por tipo e localidade.....	64
Tabela 3 – Ações de saneamento realizadas como medida de controle da malária na década de 40.	65
Tabela 4 - Distribuição mensal das espécies de <i>Anopheles</i> coletadas nos municípios de Três Cachoeiras.	108
Tabela 5 - Distribuição mensal das espécies de <i>Anopheles</i> coletadas no município de Eldorado do Sul.....	109
Tabela 6 - Distribuição mensal das espécies de <i>Anopheles</i> coletadas no município de Morro Reuter.	111

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Resumo dos casos observados de acordo com a localidade, quantidade de casos relatados, pacientes positivos ou com histórico de malária e examinados, quando especificado.	58
Quadro 2 – Número de pacientes necessitando tratamento para malária na década de 40 no Rio Grande do Sul.	66
Quadro 3 – Quantidade de casos de malária no Rio Grande do Sul, provavelmente importados, entre 1956 e 1961.	72
Quadro 4 – Quantidade de bugios-ruivos (<i>Alouatta fusca clamitans</i>) amostrados de acordo com o município de coleta e a espécie de <i>Plasmodium</i> encontrada.	75
Quadro 5 – Quantidade de indivíduos de <i>Anopheles</i> sp. identificados de acordo com o município.	76
Quadro 6 – Espécies de Anophelinae vetores primários ocorrentes no Rio Grande do Sul, conforme distribuição nos municípios de ocorrência.	83
Quadro 7 – Espécies de Anophelinae vetores secundários ocorrentes no Rio Grande do Sul, conforme distribuição nos municípios de ocorrência.	84
Quadro 8 – Quantidade de espécies coletadas por gênero e ocorrência em armadilhas.	96
Quadro 9 - Diversidade e quantidade de espécimes de mosquitos coletados nos diferentes municípios durante o período de março/2019 a fevereiro/2020.	98
Quadro 10 – Quantidade total de mosquitos amostrados pela estação do ano com meses comparáveis, de acordo com o município.	101
Quadro 11 – Quantidade de <i>Anopheles</i> amostrados e sua relação com o NDVI de cada ponto de coleta.	113

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Total de mosquitos coletados de acordo com o município e tipo de armadilha.....	100
Gráfico 2 - Total de mosquitos coletados de acordo com o mês, com destaque nos meses de maior esforço amostral.	100
Gráfico 3 – Teste two-way ANOVA aplicado para comparar as estações do ano e as localidades para o total de mosquitos coletados.....	102
Gráfico 4 – Análise de Regressão Linear para associação entre NDVI e diversidade nos pontos amostrados..	106
Gráfico 5 – <i>Anopheles</i> spp. coletados de acordo com o mês, com destaque aos meses de maior esforço amostral.	107
Gráfico 6 - Análise de Correspondência Canônica de <i>Anopheles</i> em Três Cachoeiras.....	109
Gráfico 7 - Análise de Correspondência Canônica de <i>Anopheles</i> em Eldorado do Sul.	110
Gráfico 8 - Análise de Correspondência Canônica de <i>Anopheles</i> em Morro Reuter.	112
Gráfico 9 – Abundância de <i>Anopheles</i> spp. com relação ao NDVI.....	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Posição de angulação do corpo de uma fêmea adulta de <i>Anopheles</i> sp. com relação à superfície durante repasto sanguíneo.....	22
Figura 2 – Estimativa de casos de malária no mundo, nos últimos vinte anos (intervalo de confiança: 95%).....	25
Figura 3 – Estimativa de mortos por malária nas diferentes regiões da Organização Mundial de Saúde, entre 2000 e 2019 (intervalo de confiança: 95%)..	26
Figura 4 – Casos confirmados de malária notificados na região extra-amazônica, por espécie parasitária, no período de 2007 a março/2021. No gráfico estão excluídas Lâminas de Verificação de Cura (LVC).....	28
Figura 5 – Tela do Tabnet para obtenção de dados epidemiológicos da malária no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2006.....	32
Figura 6 – Tela do Datasus para obtenção de dados epidemiológicos da malária no Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2019.....	32
Figura 7 – Imagem representando os pontos amostrados nos quatro municípios. A: Três Forquilhas e Três Cachoeiras; B: Morro Reuter à esquerda e à direita um mapa do Rio Grande do Sul com as localidades amostradas; C: Eldorado do Sul.....	35
Figura 8 – Armadilhas utilizadas para as capturas. A: Barraca de Shannon (observa-se ao fundo à esquerda uma CDC instalada); B: CDC com isca de CO ₂ ...	36
Figura 9 – Procedimentos de campo após as coletas. A: triagem; B: acondicionamento de amostras.....	37
Figura 10 - Propaganda do Elixir de Vanadato de Sódio, indicado para o tratamento do impaludismo em Porto Alegre, 1900.....	47
Figura 11 – Propaganda do Esthenol Granado, indicado para o tratamento do impaludismo em Pelotas, 1908.....	48
Figura 12 – Propaganda do Licor de Arnoux, indicado para o tratamento do impaludismo em Porto Alegre, 1910.....	49
Figura 13 – Imagem referente a uma publicação em revista dedicada aos médicos, na forma de “noticiário”, mostrando a preocupação da classe com o saneamento e as endemias rurais em 1920.....	51
Figura 14 – Propaganda do tônico Vitamonal, indicado para o tratamento	

de diversas doenças, incluindo o impaludismo em Porto Alegre, 1921.....	52
Figura 15 – Internações anuais no Hospital da Santa Casa de Porto Alegre, referente a casos importados de impaludismo.	53
Figura 16 – Frasco de sulfato de quinina do início do século XX.....	57
Figura 17 – Mapa da zona de “bromélia-malária” do sul do Brasil, em 1947.	68
Figura 18 – Matéria publicada em jornal relatando as ações de combate à malária no município de São Borja em 1950.	69
Figura 19 – Matéria publicada em jornal relatando as ações que serão tomadas para o controle e combate da malária, em resposta ao surto epidêmico nos municípios de São Borja e São Luiz Gonzaga.....	70
Figura 20 – Publicidade sobre o fechamento de convênio com o Ponto IV, no qual os Estados Unidos realizarão contribuições financeiras para a erradicação da malária no Brasil até o ano de 1962.	71
Figura 21 – Mapas com as perspectivas da SUCAM quanto ao Programa da Malária indicando o Rio Grande do Sul como área não endêmica. A) Mapas de perspectivas para 1977 e 1978; B) Mapas de perspectivas para 1979 e 1980; C) Perspectiva para 1981.....	78
Figura 22 – Matéria publicada em jornal expressando os esforços do governo em divulgar suas ações de erradicação da malária, tornando o país mais seguro quanto a esta moléstia.....	79
Figura 23 – Frequência de casos importados no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2006, conforme faixa etária do paciente.....	85
Figura 24 – Quantidade de casos importados no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2006, conforme resultado parasitológico. Legenda: Ign/Em Branco: casos sem identificação parasitológica ou com identificação ignorada; F: P. falciparum; F+FG: formas assexuadas + sexuadas (gametócitos) de P. falciparum; F+V: P. falciparum + P. vivax; M: P. malariae.....	86
Figura 25 – Quantidade de casos importados no Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2019, conforme idade do paciente.....	87
Figura 26 – Quantidade de casos importados no Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2019, conforme resultado parasitológico. Legenda: F+FG: formas assexuadas + sexuadas (gametócitos) de P. falciparum; F+V: P. falciparum + P. vivax;	

FG: apenas formas sexuadas (gametócitos) de <i>P. falciparum</i>	88
Figura 27 – Quantidade anual de casos importados de malária notificados no Rio Grande do Sul.....	89
Figura 28 - Proporção de casos importados notificados no Rio Grande do Sul entre 1999 e 2019, classificados por sexo, de acordo com as duas plataformas disponíveis no Datasus.	90
Figura 29 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Três Forquilhas.	103
Figura 30 – Imagem NDVI do ponto amostrado em Três Cachoeiras.	104
Figura 31 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Eldorado do Sul.	105
Figura 32 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Morro Reuter....	106

1 INTRODUÇÃO

A construção histórica acerca de uma doença em determinado território, associado à análise de sua incidência atual, pode prever e revelar dados importantes quanto aos riscos de surtos e epidemias. Um dos campos da saúde pública que atua neste contexto é a Vigilância Ambiental em Saúde, cujo conceito se baseia no estudo de alterações ambientais que possam interferir na saúde humana, de modo a identificar e indicar medidas de controle e prevenção desses riscos associados às doenças e agravos à saúde (Brasil, 2002).

A Vigilância Ambiental da malária no estado do Rio Grande do Sul tem se desenvolvido de forma gradual. A revisão da subfamília Anophelinae do Rio Grande do Sul (RS) foi um passo importante para conhecer as espécies que podem se envolver na transmissão do protozoário no Estado (Cardoso, 2004). É importante que este tipo de trabalho, típico de Vigilância Entomológica, seja realizado de forma sistemática e contínua a fim de manter a lista de espécies de mosquitos e sua distribuição atualizada.

Desde que o Estado foi considerado não malarígeno, no final da década de 60 (Barata, 1973; Moreira et al., 2017), os esforços têm sido voltados apenas para o controle de casos importados. Entretanto, em 2014 um paciente foi diagnosticado com malária na forma grave, atribuída ao *Plasmodium vivax*. Seu local de residência foi o município de Terra de Areia, mas o Local Provável de Infecção (LPI) foi em Três Forquilhas. Chamou a atenção dos órgãos públicos o paciente não ter realizado deslocamento, marcando sua reemergência no Estado (Lemos et al., 2021).

Em 2015 uma fêmea de *Alouatta guariba clamitans* (bugio-ruivo) de cativeiro foi notificada por Wink et al. (2017) com inclusões sanguíneas compatíveis com *Plasmodium* sp. no município de Morro Reuter, levantando um alerta quanto à possibilidade de um início de transmissão zoonótica na região.

Estes casos alertaram sobre a importância de se reconsiderar a ausência do parasito circulante no Rio Grande do Sul. Para tanto, a construção histórica é importante para a compreensão da dinâmica passada que, juntamente com a distribuição de vetores nos tempos atuais, comporia a história completa da malária no

Rio Grande do Sul.

Dentro do sistema de saúde, a Vigilância Ambiental se envolve com doenças emergentes e reemergentes relacionadas a reservatórios, vetores e hospedeiros. Desta forma, torna-se importante a associação entre os trabalhos acadêmicos e o serviço de saúde para a busca de resultados responsivos e qualitativos para ambas as áreas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Estudar aspectos históricos e ecológicos da malária no Rio Grande do Sul.

2.2 Objetivos específicos

- Construir a história da malária no Rio Grande do Sul;
- Resgatar dados epidemiológicos da investigação de um caso autóctone e registrá-lo como a reemergência da malária no Rio Grande do Sul;
- Amostrar os mosquitos de áreas com ocorrência histórica de malária ou circulação de *Plasmodium* spp.;
- Relacionar as amostras totais de mosquitos com dados bióticos e abióticos;
- Relacionar a ocorrência de *Anopheles* com fatores bióticos e abióticos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Aspectos biológicos - o parasito

3.1.1 Ciclo de *Plasmodium* sp.

Para entender a distribuição e epidemiologia da malária, é necessário conhecer os aspectos biológicos do seu agente causador. Representantes de *Plasmodium* são protozoários que pertencem ao filo Apicomplexa, cuja característica é a presença de um conjunto de organelas organizadas em um dos polos da célula parasitária denominada de Complexo Apical. Este parasito passa por um ciclo de vida complexo, que envolve uma fase sexuada em mosquitos, que atuam como vetores, e ciclos de reprodução assexuada em hospedeiros intermediários (vertebrados). As fases desses ciclos também podem ser classificadas em: estágio esporogônico, que ocorre no vetor; estágio exoeritrocítico e eritrocítico, quando em hospedeiros vertebrados os parasitos encontram-se infectando hepatócitos ou eritrócitos, respectivamente (Matteelli & Castelli, 1997).

O ciclo se inicia quando fêmeas de determinadas espécies de *Anopheles* ingerem gametócitos femininos (macrogametócitos) e masculinos (microgametócitos) provenientes de um hospedeiro infectado. No organismo do mosquito ocorre o processo de exflagelação dos microgametócitos, dando origem a oito microgametas haploides. Esses microgametas possuem dois flagelos que lhe dão mobilidade e permitem que encontrem o macrogameta para a formação de um zigoto, num processo semelhante aos espermatozoides e óvulos em vertebrados. O zigoto sofre uma replicação transformando-se em um oocineto, que atravessará o tecido epitelial do intestino do vetor, se desenvolvendo em um oocisto que se fixará logo abaixo da lâmina basal do tecido. Ocorre divisão esporogônica até a ruptura da sua parede, quando há liberação de milhares de esporozoítos na hemocele dos mosquitos. Os esporozoítos migram para as glândulas salivares e são inoculados em novo hospedeiro quando a fêmea do anofelino faz o repasto sanguíneo (Neves, 2016; Smith et al., 2014).

Uma vez no hospedeiro vertebrado, o ciclo pode ser dividido em três etapas: pré-eritrocítico, eritrocítico e pós-eritrocítico. Na fase pré-eritrocítica, os esporozoítos inoculados são transportados pela circulação ou por células

inflamatórias até o fígado, onde invadem e replicam-se assexuadamente nos hepatócitos, num processo chamado merogonia. Como resultado, milhares de merozoítos são produzidos e liberados na corrente sanguínea através de pequenas vesículas, chamadas merossomos. Sua função é o transporte e proteção contra a ação das células de defesa do fígado (Neves, 2016; Tilley et al., 2011, Prudêncio et al., 2006).

O ciclo eritrocítico inicia quando os merozoítos liberados pelos hepatócitos interagem com proteínas de membrana dos eritrócitos, invadindo-os ativamente. Dentro das hemácias cada merozoíto se desenvolve sequencialmente em anel (trofozoíto jovem), trofozoíto (consumo da hemoglobina da hemácia), esquizonte e divisão em merozoítos (de 8 a 32 merozoítos), momento em que a membrana eritrocítica se rompe liberando-os para infectarem novas hemácias. Após alguns ciclos se inicia uma diferenciação em gametócitos, que não se dividem e ficam na circulação sanguínea disponíveis para seguirem o ciclo dentro do vetor, numa fase pós-eritrocítica (Neves, 2016; Pishchany & Skaar, 2012; Tilley, et al., 2011; Miller et al., 2002).

Em alguns casos os plasmódios podem permanecer em estado não ativo nos hepatócitos, como é o caso de *P. vivax*, sendo chamado de hipnozoítos. Este período pode variar de dias a anos e os mecanismos utilizados para sua reativação não estão bem esclarecidos. Estudos sugerem que a abundância sazonal dos mosquitos e a reativação dos hipnozoítos estariam relacionadas, representando uma coevolução dos agentes envolvidos (Wells et al., 2010).

A malária se caracteriza por uma fase aguda, cujos sinais clínicos aparecem por consequência da ruptura dos eritrócitos. O paciente pode apresentar quadro clínico de leve a grave, podendo evoluir a óbito dependendo da espécie e carga parasitaria. Sabe-se que *P. falciparum* tende a gerar quadros mais graves de malária, quando comparado às outras espécies (Brasil/SVS/MS, 2020). Por esta razão, o diagnóstico precoce e o tratamento correto são algumas das estratégias preconizadas pelo Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária – PNCM para diminuição da letalidade desta doença (Brasil/MS, 2010a).

3.2 Aspectos biológicos - o vetor

Popularmente chamados de “mosquitos-pregos” (Forattini, 2002) os

vetores pertencem à família Culicidae, compondo especificamente a subfamília Anophelinae. Atualmente, este grupo se divide em três gêneros, sendo eles: *Anopheles* Meigen, 1818 distribuído nas áreas temperadas, subtropicais e tropicais do mundo, *Bironella* Theobald, 1905 restrito à região Australásica e *Chagasia* Cruz, 1906 pertencente à região neotropical (Harbach, 2019; Forattini, 2002).

Dentro do gênero *Anopheles*, são descritos oito subgêneros: *Anopheles* Meigen, 1818; *Baimaia* Harbach, Rattanarithikul & Harrison, 2005; *Cellia* Theobald, 1902; *Christya* Theobald, 1903; *Kerteszia* Theobald, 1905; *Lophopodomyia* Antunes, 1937; *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902; e *Stethomyia* Theobald, 1902. Entretanto, *Baimaia*, *Cellia* e *Christya* não ocorrem no Brasil (Harbach, 2019). Em 2017, Foster et al. realizaram estudos acerca das relações filogenéticas deste grupo, sugerindo a elevação dos subgêneros *Kerteszia*, *Lophopodomyia*, *Nyssorhynchus* e *Stethomyia* para nível de gênero, uma vez que possuem monofilia estável e características anatômicas justificáveis.

Na região neotropical existem 92 espécies deste gênero, pertencentes aos subgêneros: *Anopheles* (42), *Kerteszia* (12), *Lophopodomyia* (6), *Nyssorhynchus* (29) e *Stethomyia* (5), sendo *Lophopodomyia* e *Stethomyia* os únicos representantes sem importância epidemiológica para a transmissão da malária (Forattini, 2002). No Brasil são 55 espécies do gênero *Anopheles*, sendo 54 citadas em Rosa-Freitas et al. (1998) e uma espécie descrita em Nascimento & Lourenço-de-Oliveira (2002). No Rio Grande do Sul, Cardoso et al. (2004; 2012) registraram 14 espécies de *Anopheles*, sendo duas pertencentes ao subgênero *Anopheles*, três espécies de *Kerteszia* e nove de *Nyssorhynchus*.

Esses mosquitos possuem metamorfose completa, passando pelos estágios de ovo, larva, pupa e adulto. Seus ovos são colocados diretamente na coluna d'água de forma isolada e possuem um tipo de flutuador (CDC, 2019; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1998).

Anofelinos adultos podem ser reconhecidos pela sua postura em repouso, uma vez que permanecem em angulação de 30 a 45° com relação à superfície (Figura 1). Suas asas são bicolors com aspecto manchado, e algumas espécies podem apresentar as veias das asas completamente cobertas por escamas escuras. Podem ser diferenciados dos culicíneos pelos palpos maxilares das fêmeas, que são tão longos quanto a probóscide (Harbach, 2019).



Figura 1 – Posição de angulação do corpo de uma fêmea adulta de *Anopheles* sp. com relação à superfície durante repasto sanguíneo..

Fonte: CDC/PHIL, 2021. Foto: James Gathany, 2005

Quanto às características morfológicas das larvas, são desprovidas de sifão respiratório, e, portanto, respiram através de um par de aberturas respiratórias (espiráculos) localizados no VIII segmento abdominal, o que é característica importante para diferenciá-las de larvas de outros grupos, como da subfamília Culicinae (Harbach, 2019; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1998).

3.2.1 Subgênero *Kerteszia* Theobald, 1905

Os principais vetores na região extra-amazônica são mosquitos do subgênero *Kerteszia* (Harbach, 2019; Marrelli, 2007). Apesar de haver a sugestão de alteração na sua posição taxonômica, aqui será mantida a classificação original. O subgênero *Kerteszia* se distribui pela região neotropical, passando do sul do México até a América Central e Atlântico Sul, ao longo dos Andes, Argentina e Rio Grande do Sul (Brasil), se estendendo ao longo da costa do Pacífico da América do Sul (Harbach, 2019). O subgênero está ausente nas ilhas das Índias Ocidentais, exceto Trinidad, e na maior parte da bacia amazônica (Zavortink, 1973). Este subgênero possui 12 espécies descritas (Harbach, 2019), mas apenas sete ocorrem no Brasil, sendo elas: *Anopheles* (Ker.) *bambusicolus*, *Anopheles* (Ker.) *bellator*, *Anopheles* (Ker.) *cruzii*, *Anopheles* (Ker.) *homunculus*, *Anopheles* (Ker.) *laneanus*, *Anopheles* (Ker.) *lepidotus*, *Anopheles* (Ker.) *neivai* (Marrelli et al., 2007; Forattini, 2002). No estado do Rio Grande do Sul ocorrem três espécies deste grupo: *Anopheles* (Ker.) *cruzii*, *An.* (Ker.) *bellator*

e *An. (Ker.) homunculus*.

Entre as espécies, algumas diferenças na biologia podem ser observadas, como preferências por interior ou exterior de mata, luminosidade, acrodendrofilia (altura em que vivem sobre as árvores), entre outras (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1998; Forattini, 1962). Característica importante deste grupo se refere ao seu hábito reprodutivo, uma vez que suas formas imaturas são facilmente encontradas na água acumulada nas axilas foliares de bromélias das mais variadas espécies e tamanhos, no interior das matas e no peridomicílio (Forattini, 2002; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1998). Devido a esta relação, Downs e Pittendrigh (1946) propuseram o termo “bromélia-malária” para definir a característica epidemiológica dos casos de malária envolvendo estes mosquitos. Neste sentido, ressalta-se *Anopheles (Ker.) cruzii* e *An. (Ker.) bellator* por serem vetores primários de *Plasmodium* spp. em áreas de Mata Atlântica do Brasil, ou seja, extra-amazônica. Existem ainda outras espécies que podem ser consideradas secundárias ou com importância epidemiológica ainda desconhecida (Costa et al., 2014; Marrelli et al., 2007; Deane, 1992; Forattini, 1962).

3.3 Aspectos históricos e epidemiológicos

3.3.1 Malária no mundo

A malária é uma doença grave que acomete milhões de pessoas em todo o mundo, porém não é nova. É uma doença antiga, sendo registrada pela primeira vez na China em torno de 2.700 anos a.C. (Cox, 2010). Em 400 a.C. o médico grego Hipócrates relaciona pela primeira vez a ocorrência de febres na população com a proximidade de águas estagnadas, contrariando a crença comum da época de que sua origem se dava pela punição divina. Da mesma forma, os romanos observaram essa associação e adotaram a drenagem dos pântanos como medida de prevenção (França et al., 2008).

O próprio termo malária é relacionado ao ambiente, tendo origem do italiano antigo e significando “mal’aire” ou “ar estragado”. Como o nome já diz, fazia menção ao adoecimento das pessoas que entravam em contato com uma suposta atmosfera contaminada (Cox, 2010). Já o termo “paludismo” foi adotado pelos franceses para fazer referência aos ambientes palustres, ou pântanos, que estariam relacionados à doença (França et al., 2008).

No final do século XIX Sampaio (1872) descreveu a malária como miasma, refletindo a compreensão da doença desde os tempos antigos. O entendimento era de que os ambientes palustres eram constituídos pela presença de peçonhas produzidas por animais microscópicos ou plantas, dispersos pelo ar com os vapores d'água e absorvidos pelos pulmões, causando doenças. Hoje se sabe que vapores d'água e semioquímicos dos reservatórios são fatores pré-determinantes para a escolha do local de oviposição pela fêmea grávida (Okal et al., 2013; Bentley & Day, 1989). Este conceito de miasma foi aceito até Charles Louis Alphonse Laveran identificar elementos pigmentados exclusivamente no sangue de pacientes maláricos, em 1880. Laveran concluiu então serem estes parasitos em três fases distintas de desenvolvimento e envolvidos diretamente na causa da febre palustre (Laveran, 1880; Laveran, 1881, p. 103).

Em 1897, o médico britânico Ronald Ross estuda oito “mosquitos marrons” cujos ovos “têm o formato de barcos antigos com popa e proa levantadas, e linhas que irradiam da borda côncava como fileiras de remos” e que haviam feito repasto sanguíneo em pacientes maláricos. Inicialmente, quatro mosquitos foram dissecados para a identificação dos parasitos observados anteriormente por Laveran. A fim de acompanhar seu possível desenvolvimento no organismo do mosquito, analisa uma única fêmea deste inseto no segundo dia, duas no quarto dia e uma última após cinco dias do repasto. Assim, descreve o desenvolvimento desde o processo de exflagelação até a formação do oocisto, definindo o papel dos vetores na transmissão de *Plasmodium* spp. (Ross, 1897). Por seus trabalhos, Charles Laveran e Ronald Ross receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1907 e 1902, respectivamente (The Nobel Prize, 2021).

Mesmo hoje, mais de um século após a descoberta de sua origem, a malária ainda é um problema de escala mundial que acomete milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente nos trópicos, sendo a doença parasitária que mais mata crianças no mundo. O Relatório Mundial da Malária de 2020 (WHO, 2020), apresenta uma série histórica dos casos estimados no mundo, com intervalo de confiança acima de 95% (Figura 2). A comparação entre as regiões da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que a África segue liderando em número de óbitos (Figura 3). Nas Américas, se estima que em torno de 128 milhões de pessoas vivem em áreas de risco para a doença, com uma estimativa de mais de 500 óbitos em 2019, apesar da

incidência ter caído no mundo todo (WHO, 2020; OPAS, 2019).

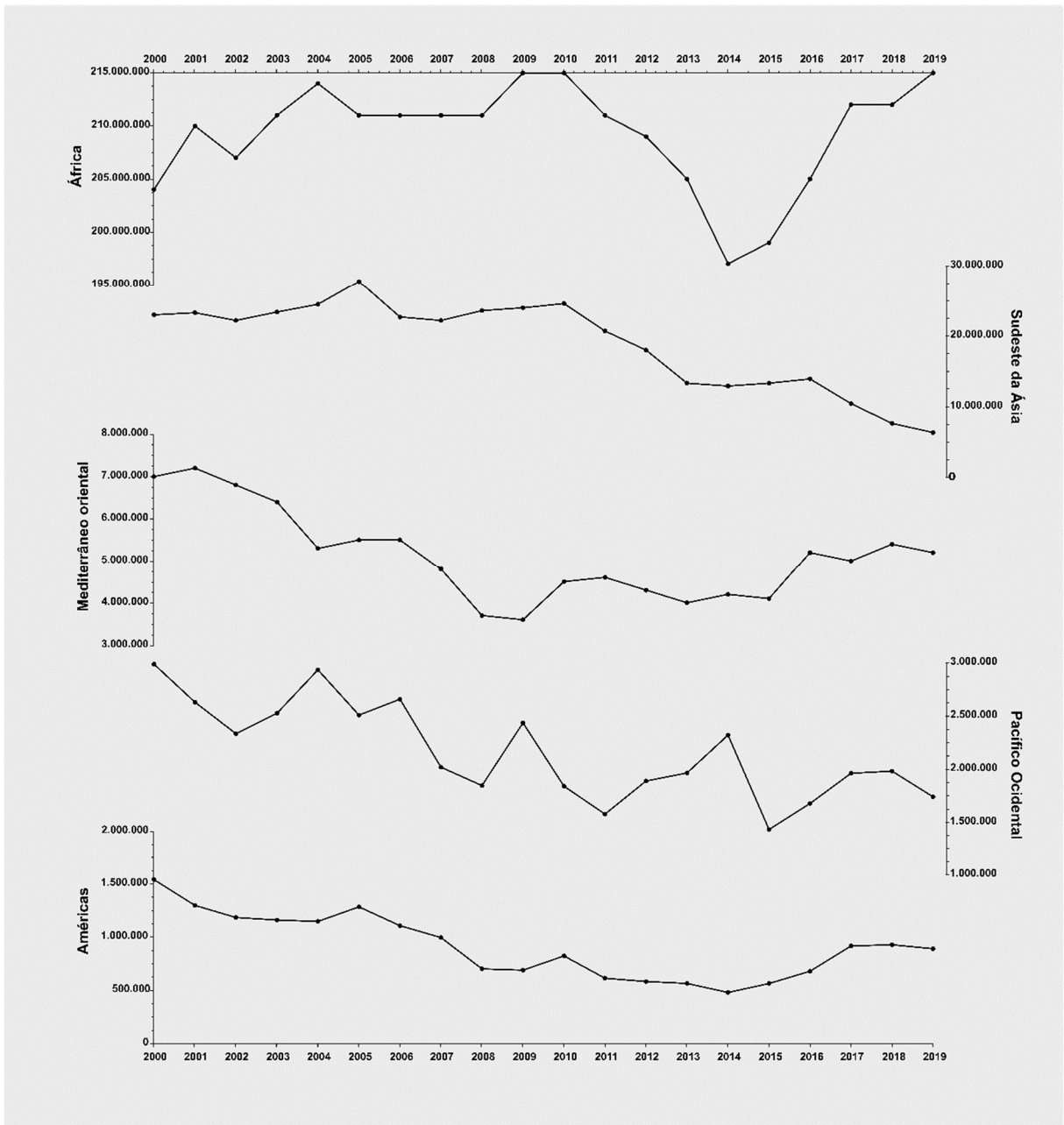


Figura 2 – Estimativa de casos de malária no mundo, nos últimos vinte anos (intervalo de confiança: 95%).

Adaptado de: WHO, 2020

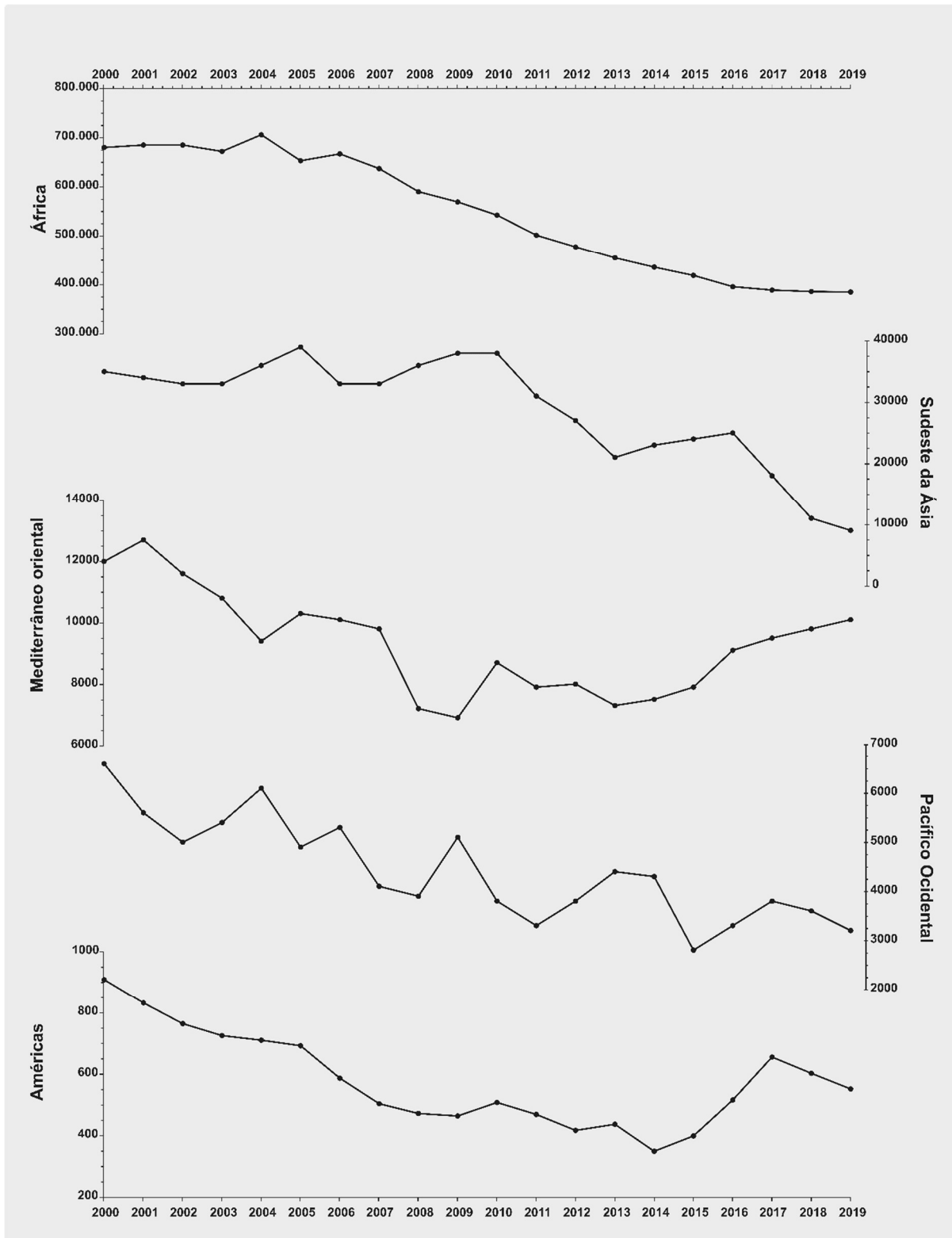


Figura 3 – Estimativa de mortos por malária nas diferentes regiões da Organização Mundial de Saúde, entre 2000 e 2019 (intervalo de confiança: 95%).

Adaptado de: WHO, 2020

3.3.2 Malária no Brasil

A malária também é conhecida como paludismo, impaludismo, febre palustre, febre intermitente, febre terçã benigna ou maligna, entre outros. É uma doença infecciosa febril aguda causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, cujos sintomas incluem febre alta, calafrios, tremores, sudorese intensa e cefaleia, ocorrendo ciclicamente de acordo com a espécie do parasito infectante (Brasil/MS, 2010b).

Protozoários do gênero *Plasmodium* possuem ciclo heterogenético, ou seja, existe uma alternância de gerações entre ciclos assexuados (vertebrados) e sexuados (mosquitos) (Rey, 2008). A transmissão ocorre pela picada de fêmeas infectadas da subfamília Anophelinae durante seu repasto sanguíneo. Ao injetarem os patógenos juntamente com a saliva no hospedeiro, iniciam o ciclo da malária (Brasil/MS, 2019). Por este motivo, mosquitos com hábitos hematofágicos possuem enorme importância epidemiológica (Lozovei, 2005; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1998).

Plasmodium pode infectar diferentes espécies de mamíferos, no entanto a infecção é espécie-específica, ou seja, cada espécie de *Plasmodium* tem uma “preferência” por determinadas espécies de hospedeiros. Quatro espécies são consideradas exclusivamente humanas: *Plasmodium vivax* Grassi, 1890, *P. malariae* Laveran, 1881 e *P. falciparum* Welch, 1897 (todas com distribuição nos trópicos e subtropicais), e *P. ovale* Stephens, 1922, que só ocorre no continente africano (Neves, 2016; Forattini, 2002; Brasil/MS, 2010b). Também existem algumas espécies zoonóticas que circulam entre humanos e primatas não-humanos, como *Plasmodium simium*, *P. brasilianum* e *P. knowlesi* (Brasil et al., 2017).

Quanto ao perfil epidemiológico, o Brasil é dividido em duas regiões distintas: a região Amazônica, composta pelos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão, considerada endêmica; e a região extra-Amazônica, composta pelos demais estados brasileiros e que apresenta baixos níveis de transmissão, portanto considerada não endêmica (Brasil/MS, 2021; Pina-Costa et al., 2014).

O Brasil tem apresentado uma diminuição da incidência de casos

autóctones, apesar de ter sido registrado um aumento nos últimos anos (Brasil/MS, 2021). Dados do Ministério da Saúde mostram que em 2017 no Brasil houve um aumento de 50,4% no número de casos quando comparado ao ano anterior, totalizando 194.426 notificações (193.917 na região Amazônica e 509 na extra-Amazônica). Já o ano de 2019 apresentou queda de 19% com relação a 2018.

Observando as regiões de forma isolada, em 2019 a região Amazônica registrou 156.918 casos, sendo 4.351 (2,8%) relacionados ao *P. falciparum* + malária mista; e em 2020 foram 141.848, dos quais 5.975 (4,2%) estavam relacionados ao *P. falciparum* + malária mista. Da mesma forma, em 2019 a região extra-Amazônica registrou 536 casos, sendo 384 (71,6%) causados por *Plasmodium* não *falciparum*. Em 2020, este número cai para 299, sendo 233 não *falciparum* (77,9%) e em 2021, até o mês de março, já havia 89 notificações, sendo 71 (79,8%) enquadrados na mesma situação (Figura 4). Os dados mostram que a maioria das ocorrências no Brasil estão relacionadas ao *Plasmodium* não *falciparum*. A importância da relação com o parasito se dá pela gravidade da doença, uma vez que *P. falciparum* é mais agressivo e desenvolve uma forma mais grave de malária, elevando o risco de óbito.

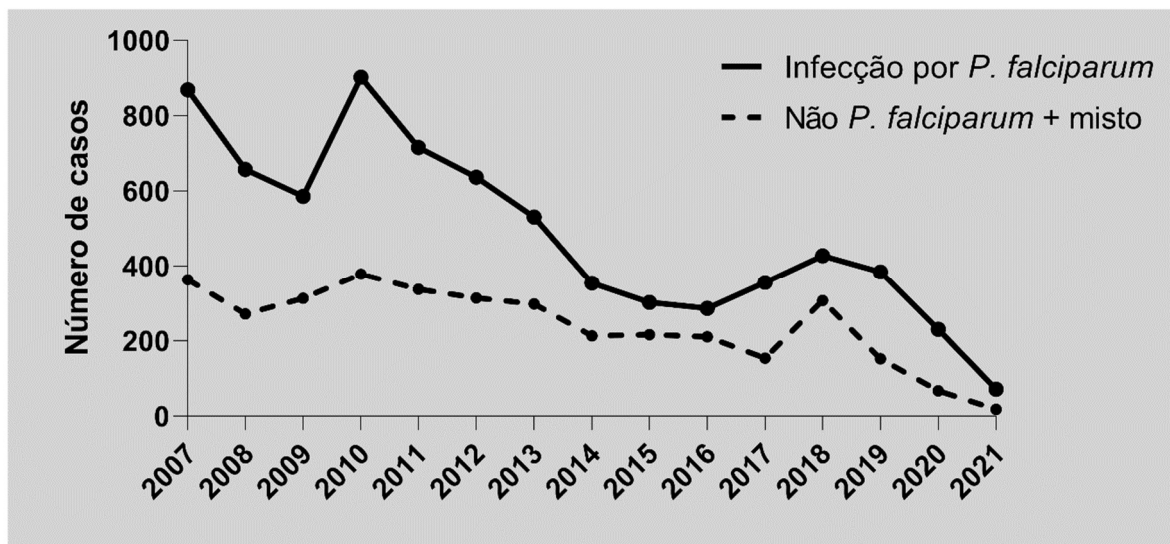


Figura 4 – Casos confirmados de malária notificados na região extra-amazônica, por espécie parasitária, no período de 2007 a março/2021. No gráfico estão excluídas Lâminas de Verificação de Cura (LVC).

A malária humana foi considerada endêmica no Estado do Rio Grande do Sul no período entre 1920 até final de 1960 (Rio Grande do Sul/SES, 2019). Após este período registrou-se circulação de *P. simium* e *P. brasilianum* em bugios da espécie *Alouatta guariba clamitans* (bugio-ruivo) no Estado (Brasil et al. 2017; Deane & Neto, 1969). Décadas depois, a reemergência da malária humana foi registrada no município de Três Forquilhas (Lemos et al., 2021).

Como estratégia de Vigilância em Saúde, a Portaria nº 1.932, de 09 de outubro de 2003, implantou no país o Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária - PNCM, cujos objetivos são:

- reduzir a incidência da malária;
- reduzir a mortalidade por malária;
- reduzir as formas graves da doença;
- eliminar a transmissão da malária em áreas urbanas nas capitais;
- manter a ausência da transmissão da doença nos locais onde ela tiver sido interrompida.

Este importante instrumento fortalece as ações de descentralização das ações de controle e combate desta endemia, assim como estimula o fortalecimento da vigilância na região extra-Amazônica (Brasil, 2003).

3.3.3 Malária zoonótica

Como mencionado anteriormente, o gênero *Plasmodium* tem certa especificidade quanto ao hospedeiro, de modo que *P. falciparum* e *P. vivax* são exclusivamente humanos, enquanto *P. relictum* e *P. gallinaceum* infectam aves (Valkiunas et al., 2018; Williams, 2005). Algumas espécies podem infectar mais de uma espécie de hospedeiro, sendo assim denominadas malárias zoonóticas.

Mesmo sendo menos comuns, malárias zoonóticas estão ganhando força no campo da investigação epidemiológica em todo o mundo. *Plasmodium knowlesi* Sinton and Mulligan, 1933 foi considerada espécie zoonótica após Chin et al. (1965) registrarem pela primeira vez sua circulação entre humanos e primatas na Malásia. Posteriormente, registros semelhantes foram feitos nas Filipinas (Luchavez et al.,

2008), Singapura (Ng Ot et al., 2008), Tailândia (Putaporntip et al., 2009), Vietnã (Eede et al., 2009), Indonésia (Figtree et al., 2010), Camboja (Khim et al., 2011) e Laos (Iwagami et al., 2018), tornando o sudeste asiático uma região importante para esta zoonose. Singh et al. (2004) confirmaram sua circulação natural na Malásia, utilizando técnicas moleculares de PCR, uma vez que *Plasmodium knowlesi* poderia ser confundido com *P. malariae* por suas semelhanças microscópicas. Ainda não foi encontrado registro dessa espécie circulando no Brasil.

A partir de casos de malária ocorridos no estado do Rio de Janeiro entre 2015 e 2016, Brasil et al. (2017) utilizaram análises parasitológicas, PCR convencional e qPCR para identificar os plasmódios presentes no sangue de pacientes da região, com objetivo de investigar a presença de espécies zoonóticas. Como resultado, foi registrada a presença de *P. simium*, um parasito de primatas-não-humanos, infectando humanos. Essas ocorrências levantaram um alerta para a ocorrência de malária zoonótica no Brasil.

No Rio Grande do Sul, Deane & Neto (1969) examinaram um total de 55 bugios (*Alouata fusca clamitans*) provenientes dos municípios de Bom Jesus, São Francisco de Paula, Viamão e Guaíba. Apenas Guaíba apresentou animais infectados entre os 14 analisados do município, sendo três positivos para *P. simium*, um para *P. brasilianum*, e três apresentaram ambas as espécies. Além disso, uma amostra foi identificada apenas como *Plasmodium* sp., que somados representaram 57,1% de positividade.

Wink et al. (2017) relataram inclusões sanguíneas compatíveis com *Plasmodium* sp. em uma fêmea de *Alouatta guariba clamitans* que havia sido encaminhado ao Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres (PRESERVAS¹), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O animal era

¹ Criado em 2004 com o nome de CECLIVET, o PRESERVAS se trata de um projeto de extensão, formado por docentes, pós-graduandos e graduandos do curso de Medicina Veterinária da UFRGS, tendo sua base no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade. Recebem as mais variadas espécies de animais, provenientes de apreensões policiais, órgãos ambientais e de saúde, zoológicos, ONG's, populares, entre outros. Realizam procedimentos de diagnóstico e tratamento de animais silvestres.

proveniente de criadouro conservacionista situado em Morro Reuter-RS e não apresentava sinais clínicos de malária.

Pouco se sabe sobre a circulação e a manutenção de *Plasmodium* sp. no Rio Grande do Sul, principalmente após o Estado ser considerado não endêmico para malária.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em três etapas. A primeira foi documental e levou em consideração os aspectos históricos da malária no Rio Grande do Sul, desde os primeiros registros documentais encontrados até o caso autóctone ocorrido no ano de 2014. A segunda etapa se relaciona a este caso especificamente, sendo realizada a análise criteriosa dos eventos para definir a malária como reemergente no Estado. Finalmente, a terceira foi experimental, visando a coleta de mosquitos nas áreas de Mata Atlântica, intensamente afetadas pela moléstia no século passado.

4.1 Registros históricos documentais

Foi aplicado um método de pesquisa histórica utilizando fontes primárias: artigos científicos, livros e documentos oficiais referentes ao assunto. As notícias publicadas em jornais ao longo do tempo também se tornaram importantes fontes para o entendimento do contexto da doença nos diferentes momentos históricos. O local de pesquisa mais relevante foi a Biblioteca Nacional Digital do Brasil (HDB, 2021), com filtro 1 para “Local” e filtro 2 para “Rio Grande do Sul”, onde foram analisadas 3.223 ocorrências de jornais gaúchos, utilizando os seguintes descritores: malária (2.379 ocorrências), impaludismo (737), Fundação Rockefeller (46), miasma (36) e febre palustre (25).

Além das consultas online, foram investigados documentos no Arquivo Histórico do Estado, pertencente à Secretaria da Cultura, Arquivo Público do Estado do Rio Grande do Sul – APERS, Biblioteca Pública do Estado e Museu de História da Medicina do Rio Grande do Sul – MUHM.

Para coleta dos dados epidemiológicos de 1999 a 2006 foi utilizada a base de dados das Tabulações da Vigilância Epidemiológica – CEVS/SES/RS, Tabnet

(Figura 5), utilizando a caixa do Sinan Windows para buscar as notificações de malária. Para os dados a partir de 2007, a base de dados do DATASUS do portal do Ministério da Saúde (Figura 6).

TABULAÇÕES DA VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA – CEVS/SES/RS	
PACTO PELA SAÚDE, RS. Base DATASUS Clique aqui	SÍNDROME RESPIRATORIA AGUDA GRAVE Casos notificados, RS, 2009 a 2020 (atualizado em 16/11/2020) Clique aqui
SINAN - VIOÊNCIA DOMÉSTICA, SEXUAL E/OU OUTRAS, RS, 2009-2020 (atualizado em 15/10/2020) Clique aqui	PROGRAMA DE IMUNIZAÇÕES – DADOS DE VACINAÇÃO DE ROTINA E CAMPANHAS, RS, 1994-2015 Fonte: DATASUS Clique aqui
SINAN NET E DENGUE ONLINE (atualizado em 15/10/2020) Casos Confirmados, residentes no RS, 2007 a 2020 escolha Tuberculose e Hanseníase, Casos Confirmados, residentes no RS, 2001 a 2020 escolha Casos notificados (confirmados e descartados), residentes no RS, 2007 a 2020 Clique Aqui	SINAN WINDOWS Casos Confirmados, residentes no RS, 1999 a 2006 Malária Casos notificados (confirmados e descartados), residentes no RS, 1999 a 2006 Clique Aqui
NOTIFICAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS (NEP) Casos notificados (confirmados e descartados), residentes no RS, 1984 a 1998 Clique Aqui	
SIM - RS, 2000-2018 Fonte: NIS/DGTI	SINASC - RS, 2000-2018 Fonte: NIS/DGTI

Figura 5 – Tela do Tabnet para obtenção de dados epidemiológicos da malária no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2006.

Fonte: Brasil/MS/Datasus, 2020a

Ministério da Saúde		
INFORMAÇÕES DE SAÚDE		DATASUS Tecnologia da Informação a Serviço do SUS
AJUDA		
DATASUS		
> MALÁRIA - CASOS CONFIRMADOS NOTIFICADOS NO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO - RIO GRANDE DO SUL		
Linha Ano 1º Sintoma(s) Mês 1º Sintoma(s) Município de notificação Região de Saúde (CIR) de notif	Coluna Autoctone Mun Res UF E Infecção Escolaridade Raça	Conteúdo Casos confirmados
> PERÍODOS DISPONÍVEIS		
2020 2019 2018 2017 2016 ...		
> SELEÇÕES DISPONÍVEIS		

Figura 6 – Tela do Datasus para obtenção de dados epidemiológicos da malária no Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2019.

Fonte: Brasil/MS/Datasus, 2020b

4.2 Locais de coleta de amostras biológicas

Quatro municípios do Rio Grande do Sul foram amostrados: Eldorado do Sul, Morro Reuter, Três Cachoeiras e Três Forquilhas. O critério de escolha dos municípios se baseou na ocorrência histórica de circulação de *Plasmodium* spp.

O município de Eldorado do Sul se localiza na região metropolitana de Porto Alegre, a aproximadamente 12km do centro da capital, fazendo limite com os municípios de Guaíba, Arroio dos Ratos, Charqueadas e Porto Alegre. Possui área territorial de 509Km² e apresenta características florísticas de transição entre os biomas Mata Atlântica e Pampa, sendo a plantação de arroz uma atividade importante na região e, portanto, ocupando grandes áreas de vegetação (Eldorado do Sul, 2019; FEPAM, 2019). Sua escolha se deu por ter se emancipado do município de Guaíba em 1988, abrangendo a possível área onde foi identificado *Plasmodium simium* (Deane, 1969). Foram amostrados 4 pontos distintos nos arredores da localidade desta ocorrência.

Morro Reuter se localiza a aproximadamente 63Km da capital do Estado, tendo como municípios limítrofes: Santa Maria do Herval, Sapiranga, Dois Irmãos, Ivoti, Presidente Lucena e Picada Café (Morro Reuter, 2019a). Sua área de pouco mais de 89Km² pertence ao Bioma de Mata Atlântica, com vegetação marcada por cerca de 20% a 50% de queda foliar das espécies. Além disso, é uma região que apresenta florestas bem desenvolvidas, com vegetação alcançando 30 a 35m de altura, mas com número de espécies menor do que em outras Florestas Ombrófilas do Rio Grande do Sul (Morro Reuter, 2019b). A escolha do município se deu pela ocorrência de PNH positivo em 2017 (Wink, 2017) e foram amostrados 2 pontos distintos próximos ao local desta ocorrência.

O município de Três Cachoeiras se localiza na região litorânea do Estado, a cerca de 175 Km da capital do Estado. Faz limite ao Sul com o município de Terra de Areia e Três Forquilhas; ao Norte com Dom Pedro de Alcântara; ao Leste com Arroio do Sal e a Oeste com Morrinhos do Sul. Sua área territorial total de 251 Km² está completamente inserida junto à Mata Atlântica, tendo a plantação de banana grande valor econômico e, portanto, sendo uma vegetação bem comum na região (Três Cachoeiras, 2019). Devido à sua proximidade geográfica, semelhança de

paisagem com Três Forquilhas e devido à oportunidade de instalação das equipes de coleta, este município foi escolhido para ser monitorado mensalmente sempre no mesmo ponto.

Da mesma forma, o município de Três Forquilhas se localiza na região do litoral norte do Estado, a 154 km de Porto Alegre, possuindo território de 217 Km². Faz limite com os municípios de Itati, Terra de Areia, Três Cachoeiras, São Francisco de Paula e Praia Grande (SC). Assim como seu município vizinho, está inserido na Mata Atlântica apresentando paisagem de mata primária e secundária, ficando entre os 10 municípios com floresta mais preservada, segundo “O Atlas dos Remanescentes Florestais e Ecossistemas Associados do Bioma Mata Atlântica”, desenvolvido pela Fundação SOS Mata Atlântica e o INPE, órgão vinculado ao Ministério da Ciência e Tecnologia, divulgado em 2015 (SOSMA, 2019). A escolha se deu por ser município sede de um caso humano autóctone (Lemos et al., 2021) e foi amostrado apenas um ponto próximo a este.

4.3 Procedimentos de campo

As capturas foram realizadas durante duas noites consecutivas. No município de Três Cachoeiras houve frequência mensal, durante um período de 12 meses que se iniciou em março/2019. Demais municípios (Morro Reuter e Eldorado do Sul) foram amostrados trimestralmente no mês subsequente à mudança de estação climática, sendo abril/2019 (outono), julho/2019 (inverno), outubro/2019 (primavera) e janeiro/2020 (verão). O município de Morro Reuter teve um esforço amostral extra nos meses de março e maio de 2019. Três Forquilhas foi amostrado de forma esporádica em junho e agosto de 2019 (Figura 7). Os resultados dessas coletas esporádicas foram considerados junto com as análises metodológicas, exceto quando comparados meses específicos (estações do ano).

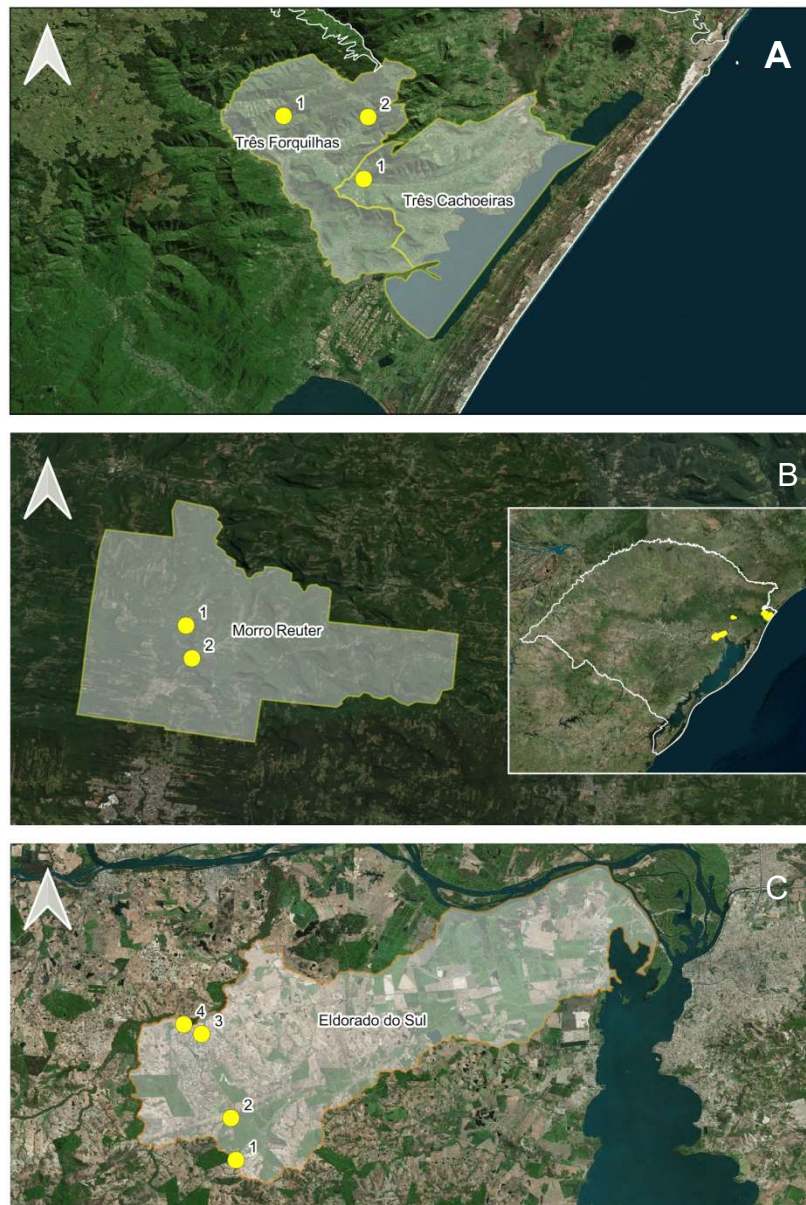


Figura 7 – Imagem representando os pontos amostrados nos quatro municípios. A: Três Forquilhas e Três Cachoeiras; B: Morro Reuter à esquerda e à direita um mapa do Rio Grande do Sul com as localidades amostradas; C: Eldorado do Sul.

Foram aplicadas duas técnicas de armadilhas luminosas para coletar os vetores: a primeira foi a Barraca de Shannon com auxílio de um sugador manual tipo frasco, onde o coletor suga o mosquito em pouso nas paredes da barraca. A segunda é do tipo CDC, que consiste em uma armadilha automática cujo motor é conectado a uma hélice, possuindo fonte luminosa e CO₂ (gelo seco) como atrativo. Os mosquitos

então são sugados para um copo coletor de onde são posteriormente recolhidos. Eram instaladas 3 armadilhas do tipo CDC, em ambiente de mata, distribuídas distantes entre si por pelo menos 50m para que não houvesse interferência nas coletas (Hiwat et al., 2011).

Uma barraca de Shannon era instalada no interior da mata e, da mesma forma que as armadilhas CDC, preferencialmente em locais que sabidamente havia circulação de primatas ou teria histórico de circulação de *Plasmodium* spp. O período de coleta na Barraca de Shannon foi das 18h às 22h e as armadilhas CDC eram acionadas as 18h e desligadas às 6h (Figura 8).



Figura 8 – Armadilhas utilizadas para as capturas. A: Barraca de Shannon (observa-se ao fundo à esquerda uma CDC instalada); B: CDC com isca de CO₂.

Também foi utilizado um aspirador/capturador dentro e fora da barraca para coleta aleatória de mosquitos em momentos oportunos no período noturno. Em todos os métodos o material foi triado em campo, armazenado em tubos Falcon contendo sílica e etiquetados conforme técnica de coleta, com data e local (Figura 9).

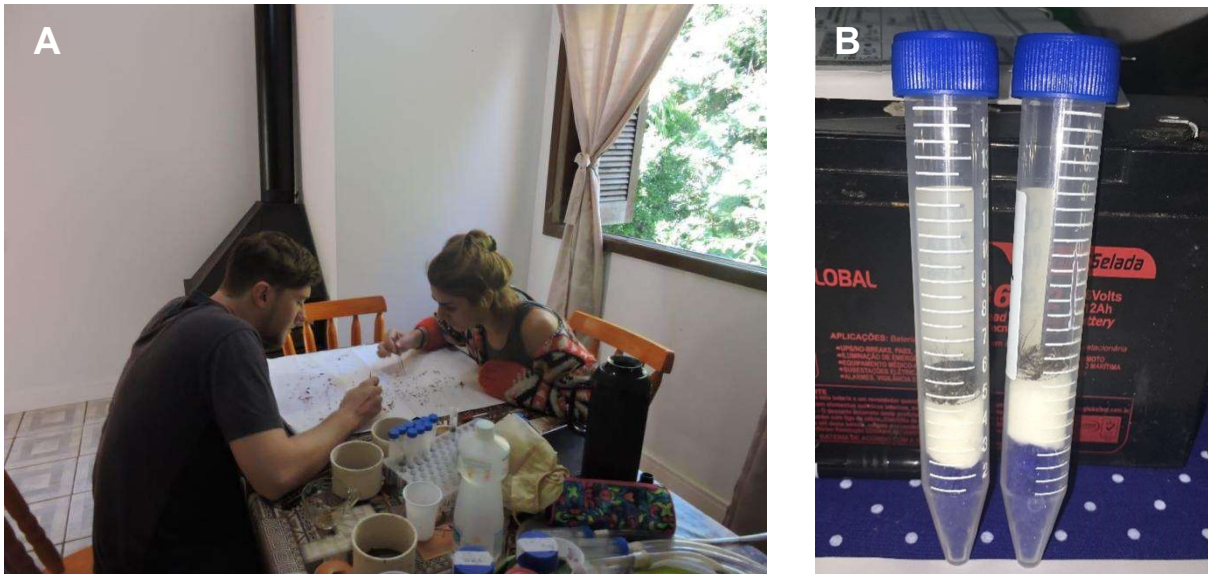


Figura 9 – Procedimentos de campo após as coletas. A: triagem; B: acondicionamento de amostras.

As expedições de campo contaram com o apoio de técnicos da Divisão de Vigilância Ambiental em Saúde (DVAS) do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS).

No total foram percorridos 8.028 Km e utilizados 112 kg de CO₂.

4.4 Procedimentos de laboratório

A identificação dos anofelinos foi realizada utilizando-se, principalmente, as chaves dicotômicas de Forattini (2002) e Consoli & Oliveira (1994). As identificações foram realizadas no Laboratório de Taxonomia e Vigilância Entomológica de Mosquitos da Divisão de Vigilância Ambiental em Saúde (DVAS) do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS).

4.5 Dados meteorológicos e estações do ano

Os dados meteorológicos foram extraídos das “Tabelas de Dados” do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) no período de 01/03/2019 a 01/03/2020 (INMET, 2020). As estações escolhidas como referência para as áreas amostradas

foram: Estação Convencional Caxias do Sul, referenciando Morro Reuter; Estação Convencional Torres, referenciando Três Cachoeiras e Três Forquilhas; e Estação Convencional Porto Alegre, referenciando Eldorado do Sul. A escolha foi baseada na proximidade com os municípios.

Os dados abióticos analisados foram umidade média, temperatura média e precipitação. Foi calculada a média de cada parâmetro nos quinze dias que antecederam a primeira amostra, a fim de analisar a influência de cada fator na abundância dos mosquitos.

Para comparar as estações do ano, consideramos os meses de janeiro, fevereiro e março para verão; abril, maio e junho para outono; julho, agosto e setembro para inverno; e outubro, novembro e dezembro para a primavera.

4.6 Geoprocessamento e NDVI

Para fazer a associação com a qualidade da vegetação foram calculados os Índices de Vegetação por Diferença Normalizada (do inglês Normalized Difference Vegetation Index – NDVI) das áreas amostradas. Um dos objetivos dos índices de vegetação é ressaltar a resposta do espectro da vegetação em relação aos mais variados alvos da superfície terrestre, como solo, água, etc, devido ao antagonismo da reflectância da vegetação nos espectros do infravermelho próximo e do vermelho visível (Chaves et al., 2013). Basicamente, uma planta saudável absorve através de sua clorofila a maior parte da luz vermelha visível, enquanto a estrutura celular reflete a maior parte do vermelho próximo. Isso se traduz que uma atividade fotossintética alta (vegetação densa e saudável) irá refletir maior banda de infravermelho próximo e absorver (menor reflectância) maior banda de vermelho.

A análise de NDVI possui um espectro de -1 a 1, onde -1 representam objetos inanimados ou plantas mortas e 1 é considerada uma mata totalmente saudável. Neste trabalho adotaremos a seguinte classificação: Corpos d'água, Estruturas Artificiais, Rochas e ou Nuvens: -1 a 0,00; Solo Exposto ou Solo Nu: de 0,0 a 0,15; Vegetação Esparsa ou Rala: de 0,15 a 0,23; Grama: de 0,23 a 0,38; Pastagem Densa: de 0,38 e 0,51; Vegetação Provavelmente Densa: de 0,52 a 0,66 e Vegetação Provavelmente Muito Densa: de 0,66 a 1,0 (Souza Junior & Lacruz, 2015).

O resultado é apresentado em formato de mapa, com cores que variam do

vermelho para níveis de -1 a verde escuro, para níveis de 1. Foram utilizadas imagens captadas pelo satélite Landsat-8, correspondente à órbita 221 ponto 81, datada de 24 de março de 2019 para Eldorado do Sul e Morro Reuter e órbita 220 ponto 80, datada de 02 de abril de 2019 para Três Cachoeiras. As imagens foram obtidas no site USGS (USGS, 2021). Para o cálculo do NDVI foram utilizadas as Bandas 4 (RED - vermelho) e Banda 5 (NIR - infravermelho próximo), aplicando-se no software de gerenciamento de Sistemas de Informações Geográficas Quantum GIS² a fórmula: $(NIR-RED)/(NIR+RED)$ (Souza Junior & Lacruz, 2015).

Em seguida, foi utilizada a ferramenta de processamento de análise raster do QGIS para calcular a média do NDVI de cada município para representar o valor médio de pixels de cada intervalo de cores.

4.7 Análise estatística

A fim de testar a influência da estação do ano nas diferentes amostragens, assim como a diferença de amostragem entre as localidades, foram aplicados os testes de Análise de Variância (ANOVA) one-way e two-way. Estes testes avaliam basicamente se existe diferença significativa entre as médias e se os tratamentos possuem influência na variável dependente (quantidade de mosquitos). No caso, comparamos a soma das coletas de mosquitos para cada estação do ano (soma de janeiro, fevereiro e março para verão, e assim por diante) e aplicamos ANOVA one-way para identificar diferença significativa. No outro caso, consideramos apenas os meses comparáveis (janeiro, abril, julho e outubro) e comparamos com a quantidade de mosquitos coletados para cada município aplicando o teste ANOVA two-way.

Para verificar os padrões de distribuição espacial da coleta de mosquitos e sua resposta a variáveis, foi realizado um escalonamento de ordenação multidimensional, para identificar quais variáveis explanatórias poderiam afetar a variâncias entre locais e abundância de mosquitos (James & McCulloch, 1990). Para tanto, foi utilizado a Análise de Correspondência Canônica (CCA, escala dupla), com uma matriz explanatória (fatores abióticos) com médias gerais pelas seguintes condições: temperatura, umidade e pluviosidade. A abundância dos mosquitos foi

² QGIS versão 3.20.1 (QGIS Development Team, 2022. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>).

testada e inferida pela possível preferência ecológica com as variáveis explanatórias, levando em consideração os diferentes pontos de coleta como variáveis independentes, gerando assim, um plano para cada.

Assim, uma CCA de triplotagem foi realizada para uma melhor observação de como as variáveis explanatórias (linhas vetorizadas) influenciam a distribuição de amostras e locais, representados nos eixos. O parâmetro de escalonamento tipo 2 foi utilizado para observar a posição dos valores máximos das variáveis com as explanatórias pela média da distância ortogonal entre amostras e linhas vetorizadas. Todos os procedimentos supracitados foram conduzidos no software PAST 4.03 (Hammer, Harper & Ryan, 2001).

Outra análise realizada foi para entender a associação entre o NDVI e a diversidade (quantidade de espécies) encontrada em cada ponto amostrado. Para tanto, foi aplicada uma Análise de Regressão Linear Simples, no programa PAST 4.03 (Azevedo et al., 2020) para correlacionar essas duas variáveis.

A amostragem universal de mosquitos pelos diferentes métodos de coleta e nos diferentes pontos de coleta foram analisados pela frequência de abundância absoluta, através de histogramas comparativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados em três capítulos, onde o primeiro traz a construção histórica da transmissão de *Plasmodium* spp. em ambientes malarígenos no Rio Grande do Sul, a partir dos primeiros registros documentais e publicitários encontrados. O período foi limitado até 2019, quando a malária segue sendo monitorada através de casos importados. Este capítulo é a transcrição exata do livro “A História da malária no Rio Grande do Sul”.

O segundo capítulo será apresentado na forma de artigo já publicado, representando a reemergência da malária no Rio Grande do Sul a partir de um caso ocorrido em 2014 no município de Três Forquilhas.

O terceiro será a apresentação de aspectos ecológicos relacionadas às amostras de campo, finalizando os objetivos deste trabalho.

5.2 CAPÍTULO II – A REEMERGÊNCIA DA MALÁRIA NO RIO GRANDE DO SUL

SHORT COMMUNICATION

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 116: e210064, 2021 1 | 5

Reemergence of human malaria in Atlantic Forest of Rio Grande do Sul, Brazil

Alessandra Bittencourt de Lemos^{1,†}, Onilda Santos da Silva¹, Sandra Cristina Deboni², Valdir Schalleberger³, Edmilson dos Santos⁴, Marco Antônio Barreto de Almeida⁴, Anne Andrea Dockhorn Marth⁵, Sidnei Silva⁶, Aline Rosa de Lavigne Mello⁷, Teresa Fernandes Silva-do-Nascimento⁸, Maria de Fátima Ferreira-da-Cruz⁷, Ricardo Lourenço-de-Oliveira⁹, Jáder da Cruz Cardoso^{1,†}

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Porto Alegre, RS, Brasil

²Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Divisão de Vigilância Epidemiológica, Porto Alegre, RS, Brasil

³Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Laboratório Central de Saúde Pública, Porto Alegre, RS, Brasil

⁴Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Divisão de Vigilância Ambiental em Saúde, Porto Alegre, RS, Brasil

⁵Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, 18ª Coordenadoria Regional de Saúde, Osório, RS, Brasil

⁶Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de Parasitologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁷Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisas em Malária, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁸Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Unforeseen *Plasmodium* infections in the Atlantic Forest of Brazilian Extra-Amazonian region could jeopardise malaria elimination. A human malaria case was registered in Três Forquilhas, in the Atlantic Forest biome of Rio Grande do Sul, after a 45 years' time-lapsed without any malaria autochthonous notification in this southern Brazilian state. This finding represents the expansion of the malaria distribution areas in Brazil and the southernmost human malaria case record in South America in this decade. The coexistence of the bromeliad-breeding vector *Anopheles (Kertessia) cruzii* and non-human primates in the Atlantic Forest regularly visited by the patient claimed for the zoonotic origin of this infection. The reemergence of Atlantic Forest human malaria in Rio Grande do Sul was also discussed.

Key words: *Anopheles* - *Plasmodium vivax* - *Plasmodium simium* - malaria - *Kertessia*

Malaria is an acute febrile infectious disease caused by *Plasmodium* parasites transmitted by infecting bites of anopheline female mosquitoes. Malaria affects thousands of people worldwide and, therefore, represents a serious public health problem, especially in populations of tropical and subtropical regions of Africa, Asia and Central and South Americas.⁽¹⁾ In 2019, about 89% of malaria cases registered in Brazil were caused by *Plasmodium vivax*, while *P. falciparum* accounted for just over 10% of cases, and *P. malariae* was rarely diagnosed.⁽²⁾ In Brazil, there are two main epidemiological and transmission profiles: (i) the Amazon basin rainforest malaria, which accounts for more than 99% of the reported malaria cases and (ii) Atlantic Forest malaria that, despite accounting for only 0.08% of cases, complicates control measures and represents an important

public health problem because of the case-fatality rate, due to the increased time elapsed for the diagnosis.^(2,3) Differently from the Amazonian Region, where *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* is responsible for the bulk of the endemic and epidemic transmission, *Anopheles (Kertessia) cruzii* has been considered the main vector in the Atlantic Forest, a biome rich in bromeliads, the larval habitat of *Kertessia* mosquitoes.⁽⁴⁾ Coincidentally, *An. cruzii* is also the main vector of simian malaria in Atlantic Forest areas.^(4,5) In certain circumstances, the bites of *An. cruzii* may be numerous both at the tree canopies and on ground level, and a high prevalence of both human and simian malaria would be expected.^(4,6,7)

Rio Grande do Sul is the southernmost Brazilian State. The first records of malaria in this state date back to 1900 in a port city named Rio Grande, located in the southern state coast.⁽⁸⁾ In 1918, the disease was recorded at the northern coast, in the municipality of Torres, bordering the State of Santa Catarina.^(9,10) Thereafter, the northern coastal zone between the municipalities of Torres and Osório, essentially from latitude 29°30' to 29°59', was considered the hot spot malaria transmission area until the end of the 1960s. After several control actions, autochthonous human malaria was no longer recorded in Rio Grande do Sul.^(11,12,13,14) Then, after more than four decades, an unexpected malaria case was detected in April 2014, in a 58-year-old white male, diabetic insulin

doi: 10.1590/0074-02760210064

† Corresponding authors: aleltemos2@gmail.com / jader-cardoso@saude.rs.gov.br

© https://orcid.org/0000-0001-6554-2861

© https://orcid.org/0000-0002-1214-1084

Received 01 March 2021

Accepted 11 June 2021



online | memoriais.fiocruz.br

dependent, living in the anopheline-free urban area of Terra de Areia (29°35'13"S 50°03'59"W), a municipality at the northern coastal zone distant 45 km from Torres and 122 km from Porto Alegre, the capital of Rio Grande do Sul (Fig. 1). Even though the patient lives in an urban area, he often spent the weekends and holidays in his vacation home at the rural area of the Três Forquilhas municipality (site 1 - 29°22'56.1"S 50°10'03.6"W) and hunting in the vicinity woods of his employee's lands (site 2 - 29°23'59.43"S 50°07'54.46"W) (Fig. 1). Both 1 and 2 sites are located in the Atlantic Forest biome (Fig. 2). At the onset of the symptoms, the patient reported cough, runny nose and body aches on April 24th. After seven days, symptoms progressed to fever, sweating, chills, dyspnea and intense tremors. On May 11, and after 10 days of treatment for a suspected leptospirosis, the patient was admitted to the Intensive Care Unit of São Lucas Hospital in Porto Alegre, where his clinical features progressed to renal failure, thrombocytopenia and disorientation. Promptly, the blood film examination detected the presence of *Plasmodium* and the protocol treatment for severe and complicated malaria, recommended by the Brazilian Ministry of Health, was started.⁽²⁷⁾ The next day, after notification to the Epidemiological Surveillance of Porto Alegre municipality, thin blood smears were forwarded to the Parasitology Laboratory of the Central Laboratory of the State Department of Health of Rio Grande do Sul - LACEN/SES-RS, where *P. vivax* malaria infection was diagnosed with a parasitaemia of 5,000 parasites/ μ L. The patient recovered and left the hospital on May 20th.

Concomitantly, according to the recommendations of the Brazilian Ministry of Health, a patient blood sample taken during hospitalisation was sent to the Extra-Amazon Reference Centre for Malaria Diagnosis, at Fundação Oswaldo Cruz, for confirmation of malaria diagnosis by parasitological and molecular methodologies and to rule out the possibility of co-infection by polymerase chain reaction (PCR). For this end, the genomic DNA was extracted from 1 mL whole blood using QIAamp

mid columns, as described by the manufacturer (Qiagen®). *P. simium/P. vivax* was diagnosed by conventional⁽²⁸⁾ and real-time⁽²⁹⁾ PCRs, and no *P. falciparum* or *P. malariae* infection was detected;^(20,21) the same was true for microscopic examination.

To identify vectors possibly involved in the transmission, in November 17 and 19, 2014, a team from the Environmental Health Surveillance (CEVS) collected mosquitoes in site 2, (Fig. 3) using Shannon trap between 6:30 - 9:30PM. Mosquitoes were sent to the Laboratory of Mosquitoes and Hematozoa Transmitters (LATHEMA) of Fundação Oswaldo Cruz and 268 specimens of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* were identified. Aiming to identify *Plasmodium* infection in these samples, entire bodies of mosquitoes were pooled (≤ 5 individuals each) and homogenised in 50 μ L of DNA-free sterile distilled water by using the Precellys 24[®] tissue homogeniser in bead tubes. DNAzol (150 μ L) was added to the homogenates, following centrifugation (9600 x g, 10 min). DNA was extracted from 160 μ L of supernatant after precipitation with 100 μ L of 100% ethanol, following centrifugation (9600 x g, 10 min). The pellet was resuspended with 160 μ L of 70% ethanol and subsequently centrifuged as above. After evaporation at room temperature, the pellet was finally resuspended in 40 μ L of DNA-free sterile distilled water and incubated at 4°C overnight. Then, PCR was performed employing the same protocols used for detection of the human malaria infection. All mosquitoes tested negative for *P. falciparum*, *P. vivax* and *P. malariae* infections.

The epidemiological investigation did not detect any introduced or imported malaria case either in the municipality where the patient lives (Terra de Areia, an urban area) or in the municipality regularly visited by the patient (Três Forquilhas). In addition, the patient did not report any travel to Brazilian or foreign malaria endemic areas and did not receive a blood transfusion. All these data, plus the capture of *An. cruzii* in Três Forquilhas, as well as the presence of howler monkeys, the main reservoir of malaria parasites-infecting humans^(7,12,22) in Atlantic Forest sites visited by the patient, strongly points to Três Forquilhas as the infection site and raised the hypothesis of a zoonotic malaria. Indeed, simian parasites originating tertian malaria human outbreaks have been reported in Atlantic Forest of Southeast Brazil⁽²²⁾ and, in the same way, the vast majority of malaria cases consisted of people living in urban areas who went to Atlantic Forest for leisure. It is well known that two simian *Plasmodium* species infecting-humans occur in South America: *P. simium* and *P. brasilianum*. *P. brasilianum* and *P. malariae* are considered the same species⁽²⁴⁾ and the parasite is conventionally called *P. brasilianum* when detected in monkeys and *P. malariae* when diagnosed in humans. *P. simium* has a high degree of morphological, genetic, and immunologic similarities with *P. vivax*^(25,26) and, therefore, it is possible to detect this parasite using in house *P. vivax* PCRs, as used in this work. While *P. brasilianum* is spread in the South America continent and has been found infecting several non-human primate species, *P. simium* has only been found in southern and southeastern Brazilian Atlantic Forest biome and infect-



Fig. 1. Rio Grande do Sul State, highlighting the Três Forquilhas and Terra de Areia municipalities, in the Atlantic Forest Biome.

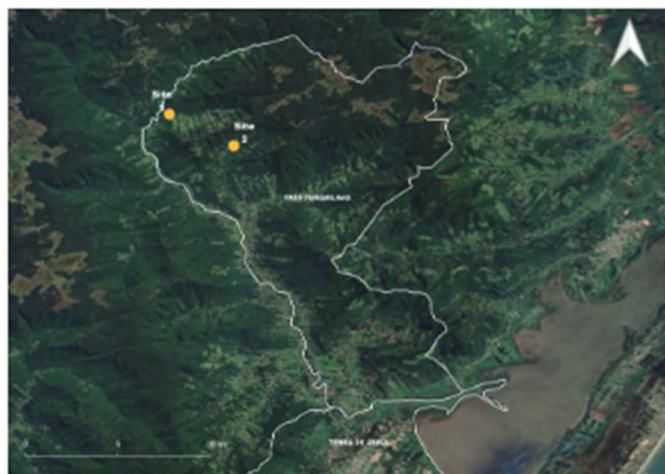


Fig. 2: location of the areas visited by the malaria patient in forest environments of the municipality of Três Forquilhas. Site 1) Patient vacation home; Site 2) Patient's employee lands.

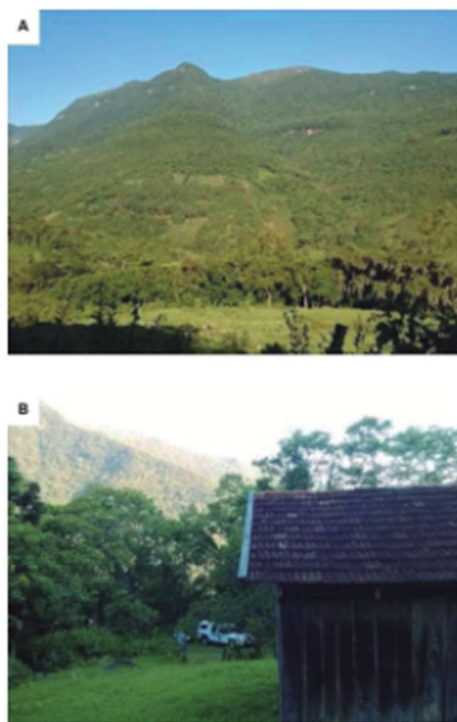


Fig. 3: probable infection site, in the municipality of Três Forquilhas. (A) Landscape profile of the region; (B) Patient employee's lands.

ing few non-human primate species.^(1,22,23,24,25) In fact, in 1969, when Rio Grande do Sul was already considered a human malaria-free area, *P. simium* was detected in *Alouatta guariba clamitans* (red-howler monkey) from the metropolitan region of Porto Alegre.⁽²²⁾ More recently, *P. simium* has also been recorded in the same non-human primate species from two other Rio Grande do Sul municipalities: in 2003, in a blood sample of a free-living ill animal at the State Park of Itapuã, in the municipality of Viamão⁽²³⁾ and in 2017, in captive animals, from the municipality of Morro Reuter,⁽²⁴⁾ respectively, 135 to 90 km away from Três Forquilhas where the malaria case here reported occurred. Interesting, the only anopheline species found in the sites visited by the patient was *An. cruzii*, a neotropical, exophilic and opportunistic blood feed species that may bite non-human primate at the canopy of trees, and humans at the ground level in the forest and surroundings capable to transmit, therefore, zoonotic malaria of simian origin.^(4,6,22) This mosquito vector breeds in water hold in bromeliads and thus, the malaria it disseminates is called "bromeliad malaria" and is usually transmitted outdoors to people working or living in close contact or visiting this ambient for leisure activities,^(7,22) as happened with the Rio Grande do Sul malaria case here reported.

Because of the lack of detection of human malaria throughout Rio Grande do Sul for more than four decades, the malaria case here reported was much probably detected only due its severity requiring hospitalisation. Since no *P. falciparum* co-infection was disclosed, this unusual severity clinical manifestation could be related to pre-existing comorbidity (diabetes) associated with the delay of the diagnosis, since the signs and symptoms of human malaria infections originating from non-human primates in the Atlantic Forest are usually mild to moderate.⁽²⁴⁾

The malaria case here reported showed the reemergence of human malaria in the southernmost Brazil as well as in South America as a whole, since countries with territories of similar or lower latitudes (Uruguay, Chile and Argentina) have been considered malaria free areas for two decades now.⁽²²⁾

In Rio Grande do Sul, as in other Brazilian areas of extra-Amazonia, the large-time gap with no malaria case detection certainly contribute to rule out the possibility of malaria infection in febrile patients. Therefore, health units of the Rio Grande do Sul municipalities surrounding Atlantic Forest biome should include malaria as a differential diagnosis, and surveillance network of these regions must be attentive to febrile patients seeking care at health centers, aiming to improve the diagnosis and timely treatment cases. Finally, studies on the natural infection of *Plasmodium* species in non-human primates and *Anopheles (Kerteszia)* mosquitoes as well as serological surveys should be performed as eco-epidemiological surveillance strategies for identification of Atlantic Forest biome malaria transmission sites in Southern Brazil.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the technicians of Epidemiological Surveillance of Porto Alegre municipality and Hospital São Lucas de PUCRS, who contributed to the detection and timely treatment of the patient. To Paulo Renato da Silva Abbad (DVAS/CEVS) for elaborate the maps, and Roberto Peres (LATH-EMA) for technical support.

AUTHORS' CONTRIBUTION

ABL and JCC conceived and designed the study; SD, AM, ES, MABA and JCC conducted the eco-epidemiological investigations in the municipalities of Terra de Areia and Três Forquilhas; VS identified and SS confirmed the parasitological diagnosis in the patient blood films; MFPC and ARLM extracted human DNA and performed human and mosquito molecular diagnosis; RLO and TFSN performed mosquitoes' taxonomic identification and extracted mosquitoes DNA for molecular diagnosis; ABL, OSS, RLO, MFPC and JCC wrote the manuscript. All authors read, made suggestions and approved the final version of the manuscript.

REFERENCES

- Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, Van Huijsduijn R, Van Voorhis WC, Wells TN, et al. Malaria. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3(17050).
- MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde. Malaria 2020. Boletim Epidemiológico. Número especial. Brasília: MS/SVS; 2020. 118 pp.
- de Pina-Costa A, Brasil P, Di Santi SM, de Araujo MP, Suarez-Mutis MC, Santelli ACF, et al. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014; 109(5): 615-34.
- Deane LM. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1966; 61(Suppl. 2): 5-14.
- Deane LM, Ferreira Neto JA, Deane MP, Silveira IP. *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, a natural vector of the monkey malaria parasites, *Plasmodium simium* and *Plasmodium brasilianum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1970; 64(4): 647.
- Medeiros-Sousa AR, de Oliveira Christie R, Duarte AMRC, Mucci LF, Ceretti-Junior W, Marrelli MT. Effects of anthropogenic landscape changes on the abundance and acroendophily of *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, the main vector of malaria parasites in the Atlantic Forest in Brazil. *Malar J*. 2019; 18: 110.
- Deane LM. Malaria studies and control in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1968; 38(2): 223-30.
- Multini LC, Marrelli MT, Beier JC, Wilke ABB. Increasing complexity threatens the elimination of extra-Amazonian Malaria in Brazil. *Trends Parasitol*. 2019; 35: 383-7.
- Dourado A. O impaludismo no Rio Grande do Sul. Rio Grande: Typographia da Livraria Rio-Grandense, 1900. 55 pp.
- Machado LS. A malaria no Rio Grande do Sul. In Faillace JM, editor. *Arquivos do Departamento Estadual de Saúde - Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: 1943. p. 83-5.
- Machado LS. O paludismo do Rio Grande do Sul. In Franco A, Ramos SM, editors. *Pantão médico riograndense: síntese cultural e histórica: progresso e evolução da medicina no Estado do Rio Grande do Sul*. São Paulo: Ramos, Franco Ed; 1943. p. 169-70.
- di Primio R. O impaludismo autóctone do Rio Grande do Sul. *Arquivos Rio Grandenses de Medicina*. 1931; 10(4): 1-6.
- di Primio R. A espécie dominante do Plasmodio, na zona endemo-epidêmica de malaria no Rio Grande do Sul. *Arquivos Rio Grandenses de Medicina*. 1933; 12(4): 197-8.
- di Primio R. Impaludismo e anofelinas do Rio Grande do Sul. *Arquivos Rio Grandenses de Medicina*. 1938; 6: 271-99.
- Barata JMS. Estado atual da bromélio-malaria no Brasil [monografia] [internet]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 1973 [cited in 22 Feb 2021]. Available from: teses.usp.br/teses/dispositivos/6/6132/tde-17102016-161321/publico/MTR_152_Barata_1973.pdf.
- Moreira DL, Cardoso JC, Deboni SC, Falci DR. Malaria in Southern Brazil: a potential threat for a non-endemic region. *Braz J Infect Dis*. 2017; 21(6): 675-9.
- MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Guia prático de tratamento da malaria no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. 36 pp.
- Torres KL, Figueiredo DV, Zalis MG, Daniel-Ribeiro CT, Alecrim W, Ferreira-da-Cruz MF. Standardization of a very specific and sensitive single PCR for detection of *Plasmodium vivax* in low parasitized individuals and its usefulness for screening blood donors. *Parasitol Res*. 2006; 98(6): 519-24.
- Almeida-de-Oliveira NK, Moreira OC, de Lavigne AR, Mendonça-Lima L, Werneck GL, Daniel-Ribeiro CT, et al. Analytical validation of real-time quantitative PCR assays for optimum diagnosis of vivax malaria. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2019; 114: e180350.
- Zalis MG, Ferreira-da-Cruz MF, Balhazar-Guedes HC, Banic DM, Alecrim W, Souza JM, et al. Malaria diagnosis: standardization of a polymerase chain reaction for the detection of *Plasmodium falciparum* parasites in individuals with low-grade parasitemia. *Parasitol Res*. 1996; 82(7): 612-6.
- Snounou G, Singh B. Nested PCR analysis of *Plasmodium* parasites. *Methods Mol Med*. 2002; 72: 189-203.
- de Abreu FVS, dos Santos E, Mello ARL, Gomes LR, de Alvaranga DAM, Gomes MQ, et al. Howler monkeys are the reservoir of malarial parasites causing zoonotic infections in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019; 13(12): e0007906.

23. Brasil P, Zalis MG, Pina-Costa A, Siqueira AM, Bianco Jr C, Silva S, et al. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. *Lancet Glob Health*. 2017; 5: e1038-46.
24. Alvarenga DAM, Pina-Costa A, Bianco Jr C, Moreira SB, Brasil P, Pissinatti A, et al. New potential *Plasmodium brasilianum* hosts: tamarins and marmoset monkeys (family Callitrichidae). *Malar J*. 2017; 16(71): 1-7.
25. Lim CS, Tazi L, Ayala FJ. *Plasmodium vivax*: recent world expansion and genetic identity to *Plasmodium simium*. *Proc Natl Acad Sci*. 2005; 102: 15523-8.
26. Mourier T, de Alvarenga DAM, Kaushik A, Pina-Costa A, Guzman-Vega FJ, Douvropoulou O, et al. The genome of the zoonotic malaria parasite *Plasmodium simium* reveals adaptations to host-switching. *BioRxiv* 841171 [Preprint]. 2019. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/841171v2.full.pdf>. Accessed 19 January 2021.
27. Lourenço-de-Oliveira RL, Deane LM. Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon. I - The infection rates of *Plasmodium brasilianum* in non-human primates. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1995; 90(3): 331-9.
28. Duarte AMRC, Malafronte RS, Cerutti Jr C, Curado I, de Paiva BR, Maeda AY, et al. Natural *Plasmodium* infections in Brazilian wild monkeys: reservoirs for human infections? *Acta Trop*. 2008; 107: 179-85.
29. de Alvarenga DAM, de Pina-Costa A, de Sousa TN, Pissinatti A, Zalis MG, Suarez-Mutis MC, et al. Simian malaria in the Brazilian Atlantic Forest: first description of natural infection of capuchin monkeys (Cebinae subfamily) by *Plasmodium simium*. *Malar J*. 2015; 14(S1): 1-9.
30. Deane LM, Ferreira Neto JA. Malaria em macacos do estado do Rio Grande do Sul. Observações preliminares. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1969; 11(5): 299-305.
31. Duarte AMRC, Maeda AY, Torres MAN, dos Santos E, Fonseca DF, de Almeida MAB, et al. Infecção malarica em Bugio do Parque Estadual de Itapuã, Viçosa, Rio Grande do Sul. *Rev Patol Trop*. 2005; 34.
32. Wink FF, Nunes NJS, Zafalon-silva B, Costa PM, Alieri MM, Valle SF, et al. Ocorrência de *Plasmodium* spp. em Bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*): relato de caso. *Anais do II Encontro Brasileiro de Protozoologia Veterinária (EBPV)* [internet]. 2017 [cited in 12 aug 2020]. Available from: <http://www.usp.br/eventos/ebpv/pages/arquivos/anais-%20P%C3%B4ster%20VEOU-%20SITE.pdf>.
33. Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1994. 226 pp.
34. Buery JC, de Alencar FEC, Duarte AMRC, Lora AC, Vicente CR, Ferreira LC, et al. Atlantic Forest malaria: a review of more than 20 years of epidemiological investigation. *Microorganisms*. 2021; 9(1): 132.
35. WHO - World Health Organization. World Malaria Report 2019 [internet]. 2019 [cited in 01 feb 2021]. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/world-malaria-report-2019>.

5.3 CAPÍTULO III – ASPECTOS ECOLÓGICOS A PARTIR DE AMOSTRAS DE CAMPO

5.3.1 Diversidade, abundância e distribuição de mosquitos

No total, foram realizadas 142 amostragens, sendo 33 em barraca de Shannon, 108 armadilhas CDC e 1 aspirador manual. Juntas, coletaram 265 indivíduos de *Anopheles* e 2.773 indivíduos de outros grupos taxonômicos, totalizando 3.038 mosquitos.

Quanto aos grupos taxonômicos, foram identificadas 44 espécies distribuídas em 11 gêneros. As armadilhas do tipo CDC foram capazes de capturar 10 gêneros distintos de mosquitos (91%), enquanto a Shannon proporcionou a coleta de 09 (82%) e o aspirador, capturando mosquitos de forma aleatória, amostrou apenas 03 (27%) (Quadro 8).

Quadro 8 – Quantidade de espécies coletadas por gênero e ocorrência em armadilhas.

Gênero	Nº de espécies	Tipo de armadilha		
		Shannon	CDC	Sugador
<i>Aedeomyia</i>	1	X	X	
<i>Aedes</i>	6	X	X	
<i>Anopheles</i>	14	X	X	X
<i>Coquillettidia</i>	4	X	X	
<i>Culex</i>	6	X	X	X
<i>Limatus</i>	1	X	X	X
<i>Mansonia</i>	5	X	X	
<i>Psorophora</i>	2	X		
<i>Sabethes</i>	1		X	
<i>Uranotaenia</i>	3		X	
<i>Wyeomyia</i>	1	X	X	

O gênero *Anopheles* foi o mais representado, com 14 classificações taxonômicas, incluindo as identificações que ficaram apenas no nível de gênero ou subgênero. Assim, foi possível classificar os 265 indivíduos em 10 espécies, das quais 05 representaram o subgênero *Nyssorhynchus* (50%), 03 *Kerteszia* (30%) e 02 *Anopheles* (20%), desconsiderando indivíduos que não proporcionaram o nível de especificação.

Dentro de *Anopheles*, a espécie mais abundante foi *An. (Kerteszia) cruzii* com 153 indivíduos (57,7%), seguida por 47 *Anopheles (Nyssorhynchus) evansae* (17,7%), 18 *Anopheles* sp. (6,8%), 16 *Anopheles (Nys.) albitarsis* (6,0%), 07 *Anopheles (Nys.)* sp. (2,6%), 06 *Anopheles (Nys.) strodei* (2,3%), 05 *Anopheles (Anopheles) fluminensis* (1,9%), 03 *Anopheles (Ker.) homunculus* (1,1%), 03 *Anopheles (Nys.) triannulatus* (1,1%), 02 *Anopheles (Ano.) maculipes* (0,8%), 02 *Anopheles (Ker.)* sp. (0,8%), 01 *Anopheles (Ano.)* sp. (0,4%), 01 *Anopheles (Nys.) antunesi* (0,4%) e 01 *Anopheles (Ker.) bellator* (0,4%).

Dentro de *Kerteszia*, cujos representantes são de importância vetorial para malária extra-amazônica, foram identificadas três espécies: *Anopheles (Ker.) bellator*, *An. (Ker.) cruzii* e *Anopheles (Ker.) homunculus*, todas no município de Três Cachoeiras.

5.3.2 Diversidade pelas localidades

No município de Três Cachoeiras, as coletas foram conduzidas mensalmente durante 12 meses. Neste período foi possível coletar 1.756 exemplares de mosquitos, sendo 170 pertencentes ao gênero *Anopheles* e 1.586 a outros grupos taxonômicos. Os demais municípios foram amostrados durante os meses subsequentes à troca de estação, exceto Morro Reuter que também teve amostragens esporádicas extras (março e maio) e Três Forquilhas que foi amostrado apenas em duas ocasiões e, portanto, apresentou uma quantidade inferior de mosquitos (Quadro 9).

Quadro 9 - Diversidade e quantidade de espécimes de mosquitos coletados nos diferentes municípios durante o período de março/2019 a fevereiro/2020.

Espécies / municípios	Três Cachoeiras	Morro Reuter	Eldorado do Sul	Três Forquilhas
<i>Aedeomyia squamipennis</i>	0	0	9	0
<i>Aedes (Ochlerotatus) sp.</i>	1	171	64	0
<i>Aedes (Och.) scapularis</i>	38	2	0	0
<i>Aedes (Och.) serratus</i>	3	177	1	0
<i>Aedes terreus</i>	1	0	0	0
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	1	0	2	0
<i>Aedes fluviatilis</i>	0	2	0	0
<i>Anopheles sp.</i>	5	7	6	0
<i>Anopheles (Ano.) sp.</i>	1	0	0	0
<i>Anopheles (Ano.) fluminensis</i>	0	0	5	0
<i>Anopheles (Ano.) maculipes</i>	0	0	2	0
<i>Anopheles (Ker.) sp.</i>	2	0	0	0
<i>Anopheles (Ker.) cruzi</i>	153	0	0	0
<i>Anopheles (Ker.) bellator</i>	1	0	0	0
<i>Anopheles (Ker.) homunculus</i>	3	0	0	0
<i>Anopheles (Nys.) sp.</i>	2	0	5	0
<i>Anopheles (Nys.) albitarsis</i>	0	0	16	0
<i>Anopheles (Nys.) antunesi</i>	1	0	0	0
<i>Anopheles (Nys.) evansae</i>	0	0	47	0
<i>Anopheles (Nys.) strodei</i>	1	2	3	0
<i>Anopheles (Nys.) triannulatus</i>	0	0	3	0
<i>Coquillettidia sp.</i>	31	2	3	0
<i>Coquillettidia albicosta</i>	7	0	2	0
<i>Coquillettidia shannoni</i>	1	0	0	0
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	30	0	8	0
<i>Culex (Culex) sp.</i>	1409	23	577	14
<i>Culex (Cux.) bidens</i>	0	0	5	0
<i>Culex (Cux.) chidesteri</i>	18	1	5	1
<i>Culex (Cux.) lygrus</i>	1	0	0	0
<i>Culex (Microculex) sp.</i>	5	0	0	0
<i>Culex (Melanoconion) sp.</i>	7	0	78	0
<i>Limatus sp.</i>	7	4	0	0
<i>Mansonia sp.</i>	4	1	11	0
<i>Mansonia iguassuensis</i>	8	0	0	0
<i>Mansonia pseudotitilans</i>	2	0	6	0
<i>Mansonia titilans</i>	0	0	9	0

<i>Mansonia wilsoni</i>	4	1	1	0
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i>	0	0	2	0
<i>Psorophora (Psorophora) cilipes</i>	0	0	2	0
<i>Sabethes intermedius</i>	0	0	1	0
<i>Uranotaenia calosomata</i>	2	0	0	0
<i>Uranotaenia mathesoni</i>	0	0	1	0
<i>Uranotaenia</i> sp.	3	0	1	0
<i>Wyeomyia</i> sp.	3	0	0	0
TOTAL	1.755	393	875	15

Algumas espécies foram exclusivas de um determinado município, enquanto outras foram comuns a todos. Eldorado do Sul foi o município que apresentou maior diversidade de espécies exclusivas (12): *Aedeomyia squamipennis*, *Anopheles (Ano.) fluminensis*, *Anopheles (Ano.) maculipes*, *Anopheles (Nys.) albitarsis*, *Anopheles (Nys.) triannulatus*, *Culex (Cux.) bidens*, *Mansonia titilans*, *Psorophora (Jan.) fero*, *Psorophora (Pso.) cilipes*, *Sabethes intermedius* e *Uranotaenia mathesoni*. Em seguida, Três Cachoeiras registra 11 espécies exclusivas, sendo elas: *Aedes terreus*, *Anopheles (Ker.)* sp., *Anopheles (Ker.) bellator*, *Anopheles (Ker.) homunclus*, *Anopheles (Nys.) antunesi*, *Coquillettidia shannoni*, *Culex (Cux.) lygrus*, *Culex (Mic.)* sp., *Mansonia iguassuensis*, *Uranotaenia calosomata* e *Wyeomyia* sp. Em Morro Reuter registrou-se apenas *Aedes fluviatilis* não ocorrente nos demais municípios.

Apenas o gênero *Culex* foi comum a todos os municípios, sendo representado por *Culex (Cux.)* sp. e *Culex (Cux.) chidesteri*.

Em todas as localidades, as armadilhas do tipo CDC foram mais eficientes na coleta total de mosquitos, uma vez que ficavam mais tempo expostas no ambiente (Gráfico 1). Entretanto, ao analisar apenas as coletas de *Anopheles*, a armadilha do tipo Shannon foi mais seletiva, provavelmente pela ação do coletador que precisa agir ativamente na captura de indivíduos. A técnica do sugador para coletas aleatórias e oportunas mostrou-se complementar, visto que não foi realizada amostragem sistemática.

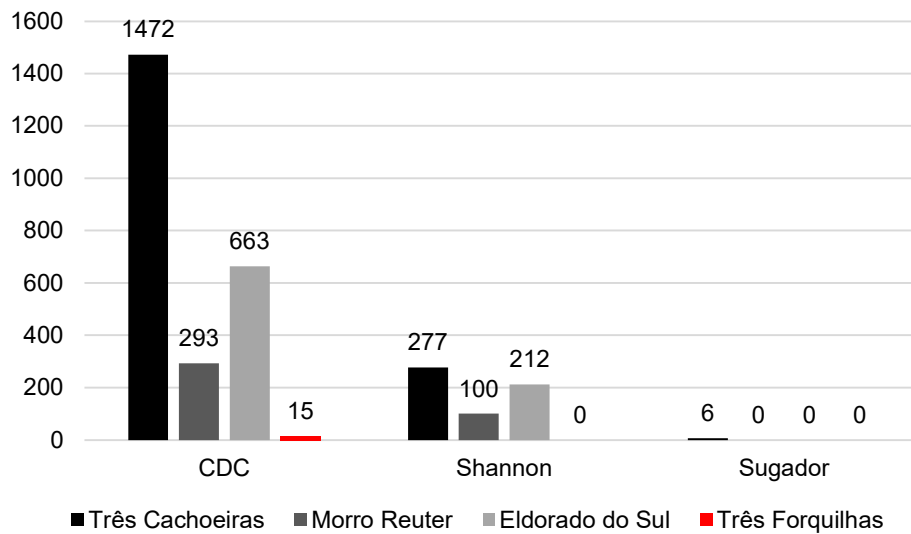


Gráfico 1 - Total de mosquitos coletados de acordo com o município e tipo de armadilha.

5.3.3 Amostras totais e elementos abióticos

Considerando a variação climática de acordo com as estações do ano, foi analisada a abundância de mosquitos ao longo dos meses e sua relação com os fatores abióticos, como umidade, temperatura e precipitação. Como resultado, observou-se que o pico de coletas totais de mosquitos se deu no mês de março, decrescendo gradualmente e apresentando um novo pico no mês de outubro (Gráfico 2).

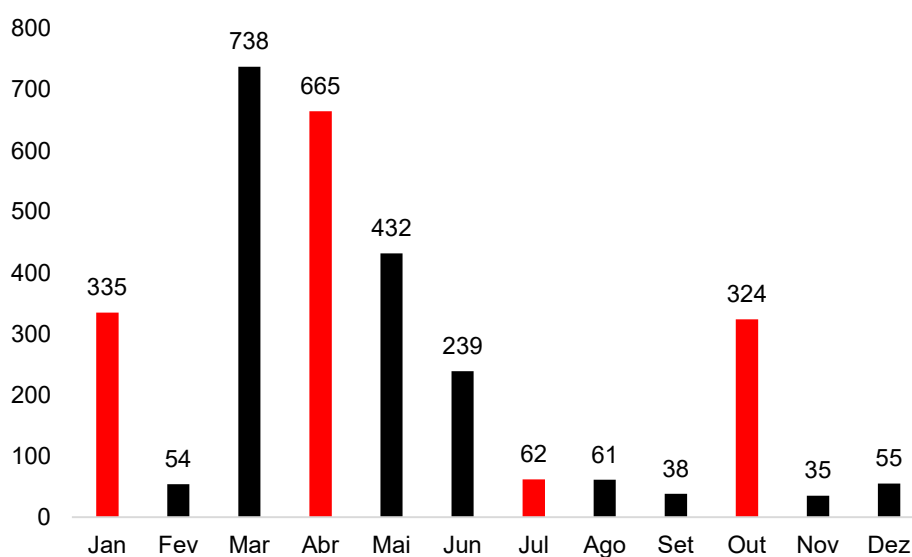


Gráfico 2 - Total de mosquitos coletados de acordo com o mês, com destaque nos meses de maior esforço amostral.

Apenas o município de Três Cachoeiras foi amostrado mensalmente, portanto se espera que os meses de janeiro, abril, julho e outubro apresentem maior quantidade de mosquitos devido ao esforço amostral maior nesses meses. Os meses de março, maio e agosto também tiveram contribuições de amostras esporádicas.

Considerando todas as amostras de mosquitos ($n=3.038$) distribuídas por meses, desconsiderando as diferenças no esforço amostral, foi aplicado o teste one-way ANOVA, não se observando diferença significativa entre as estações do ano ($p=0,1644$) ou entre as localidades ($p=0,0970$).

Para equalizar o esforço amostral, comparamos apenas os meses de janeiro (verão), abril (outono), julho (inverno) e outubro (primavera) dos municípios de Morro Reuter, Eldorado do Sul e Três Cachoeiras. Para tanto, consideramos os dados expressos no Quadro 10.

Quadro 10 – Quantidade total de mosquitos amostrados pela estação do ano com meses comparáveis, de acordo com o município.

	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Três Cachoeiras	107	6	234	39
Morro Reuter	4	4	56	1
Eldorado do Sul	213	265	375	22
TOTAIS	324	275	665	62

Quando comparada a quantidade total de mosquitos amostrada pelas estações do ano, considerando apenas os meses comparáveis, o teste two-way ANOVA mostrou que não houve diferença significativa entre as estações do ano ($p=0,0892$). Já as localidades foram comparadas pelo mesmo teste, mostrando diferença significativa ($p=0,0268$). O teste de Tukey demonstrou que os municípios de Morro Reuter e Eldorado do Sul foram os que representaram esta diferença ($p=0,0230$). Entre Três Cachoeiras X Morro Reuter e Três Cachoeiras X Eldorado do Sul não houve diferença significativa ($p=0,3662$ e $p=0,1412$, respectivamente) (Gráfico 3).

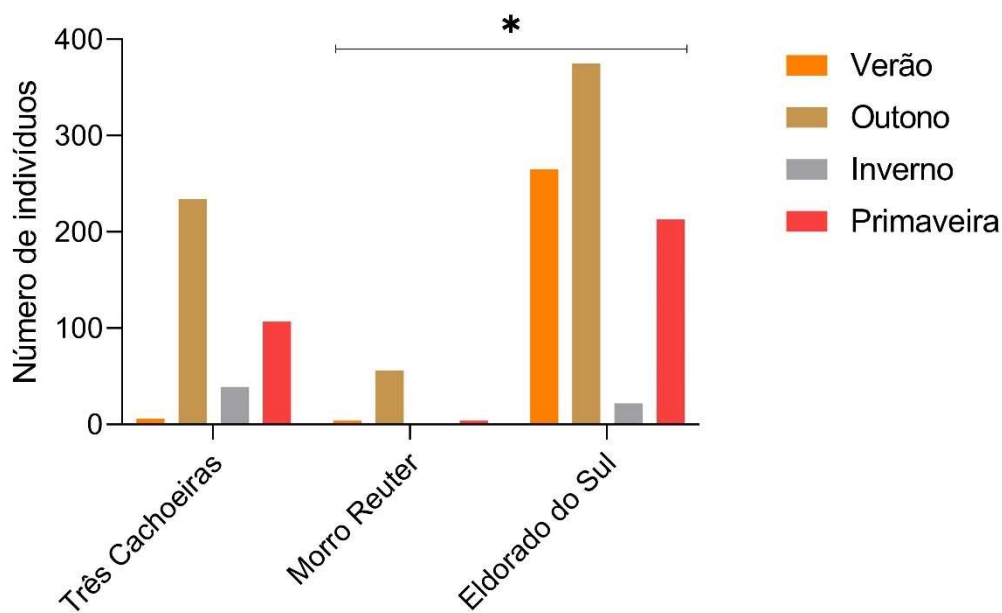


Gráfico 3 – Teste two-way ANOVA aplicado para comparar as estações do ano e as localidades para o total de mosquitos coletados. O asterisco indica onde houve diferença significativa.

5.3.4 Amostras totais e elementos bióticos - vegetação

A partir do cálculo do NDVI de cada ponto amostrado, foi possível traçar um perfil genérico da situação vegetal dos municípios.

Dessa forma, obtivemos os seguintes resultados:

TRÊS FORQUILHAS

O índice médio deste município foi calculado em 0,40, colocando-o num patamar de “Pastagem densa” (entre 0,38 e 0,51). Entretanto, os pontos de coletas foram em meio à vegetação natural típica de Mata Atlântica levemente impactada por construção urbana de imóvel residencial e estradas. O primeiro ponto amostrado, denominado “Ponto 1” teve um NDVI de 0,38 e o segundo ponto, denominado “Ponto 2” teve um NDVI de 0,45, ficando de acordo com o índice médio do município (Figura 29). Quanto à diversidade, o Ponto 1 apresentou 2 espécies, enquanto o Ponto 2 não registrou nenhuma espécie de mosquito.

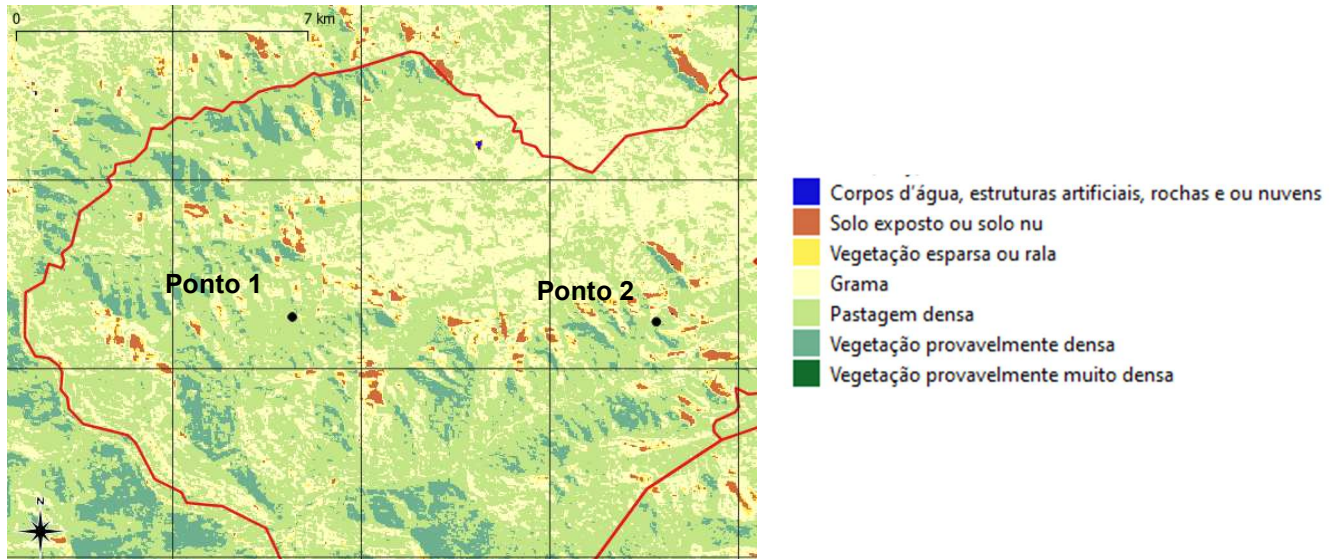


Figura 29 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Três Forquilhas.

Nesta localidade foram identificados 15 indivíduos, divididos em dois grupos taxonômicos.

TRÊS CACHOEIRAS

O índice médio deste município ficou em 0,24, representando uma prevalência do nível de “Grama” (entre 0,23 e 0,38). Cabe ressaltar que existe uma lagoa em grande parte de seu território. O ponto de coleta foi em meio à construção periurbana, cercada de mata nativa com grande incidência de bromélias, o que não fica representado pelo valo médio de NDVI. Analisando a Figura 30, observa-se que o ponto de coleta (Ponto 1) foi em área com prevalência de “Pastagem densa” e “Vegetação provavelmente densa”, ficando o NDVI do ponto de coleta em 0,44 (Pastagem densa).

Nesta localidade foram identificados 1.755 espécimes de mosquitos, distribuídos em 31 espécies, todas concentradas no Ponto 1.

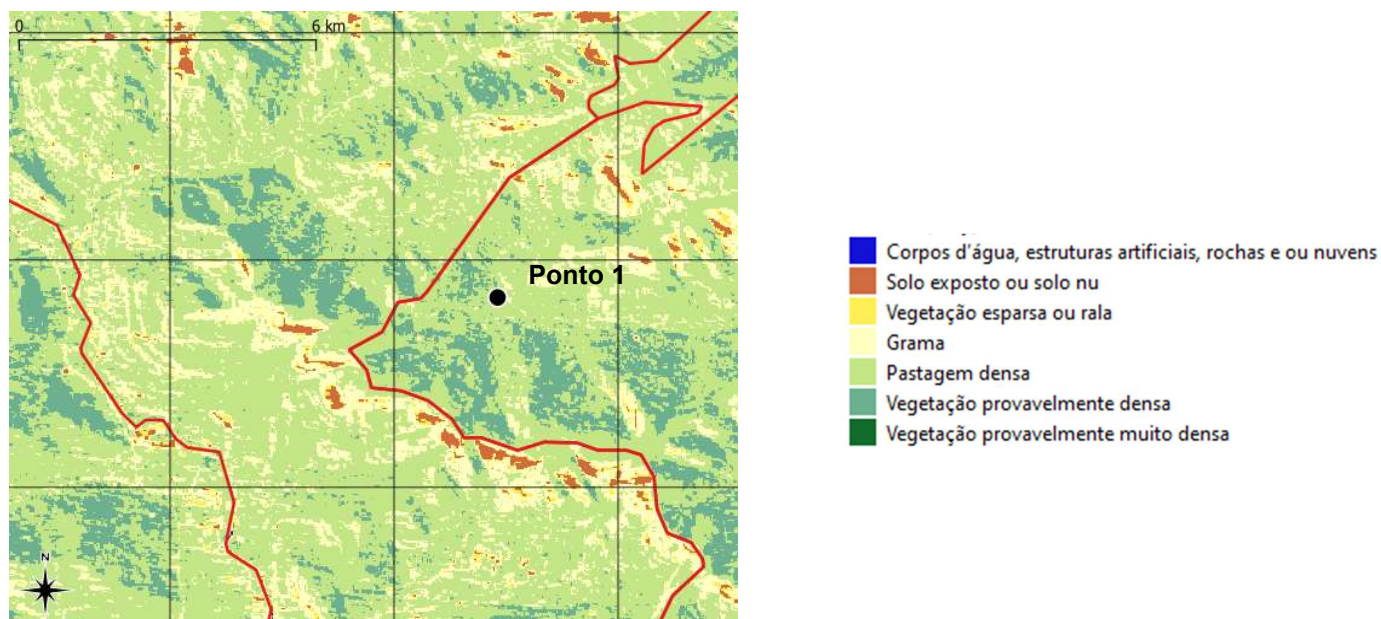


Figura 30 – Imagem NDVI do ponto amostrado em Três Cachoeiras.

ELDORADO DO SUL

O índice médio deste município ficou em 0,36, representando uma prevalência do nível de “Grama” (entre 0,23 e 0,38). Os pontos amostrados foram em meio a matas nativas que sofrem impacto dos centros urbanos, com prevalência de mata ciliar ou fazendas. O Ponto 1 apresentou um NDVI de 0,48, enquanto no Ponto 2 foi de 0,42, no Ponto 3 foi de 0,40 e no Ponto 4 de 0,43. Todos no patamar de “Pastagem densa” (Figura 31).

Foram coletados 875 indivíduos de mosquitos distribuídos em 28 grupos taxonômicos. O Ponto 1 apresentou 10 espécies, enquanto o Ponto 2 apresentou 20, o Ponto 3 apresentou 17 e finalmente o Ponto 4 com o registro de 12 espécies.

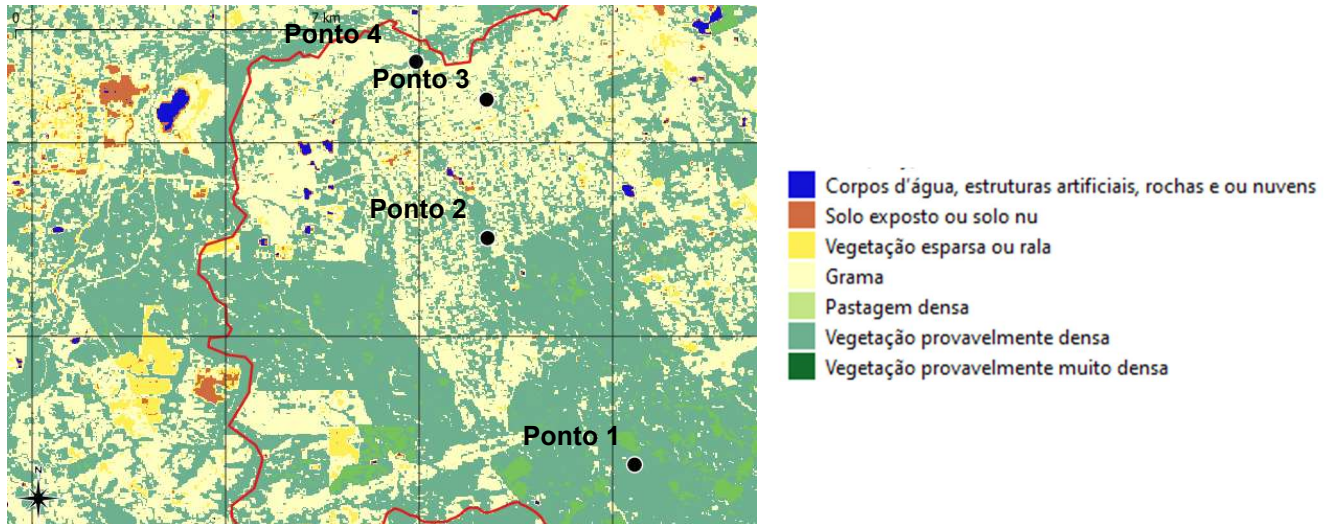


Figura 31 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Eldorado do Sul.

MORRO REUTER

O índice médio do NDVI deste município ficou em 0,42, representando uma prevalência do nível de “Pastagem densa” (entre 0,38 e 0,51). Os pontos de coleta foram realizados em meio à mata nativa, impactados por fazendas e construções periurbanas. O NDVI do Ponto 1 ficou em 0,44 e do Ponto 2 em 0,47, deixando todos na classificação de “Pastagem densa”, de acordo com a média municipal (Figura 32).

Nesta localidade foram identificados 393 espécimes de mosquitos, distribuídos em 12 espécies. O Ponto 1 apresentou 3 espécies enquanto o Ponto 2 apresentou 10.

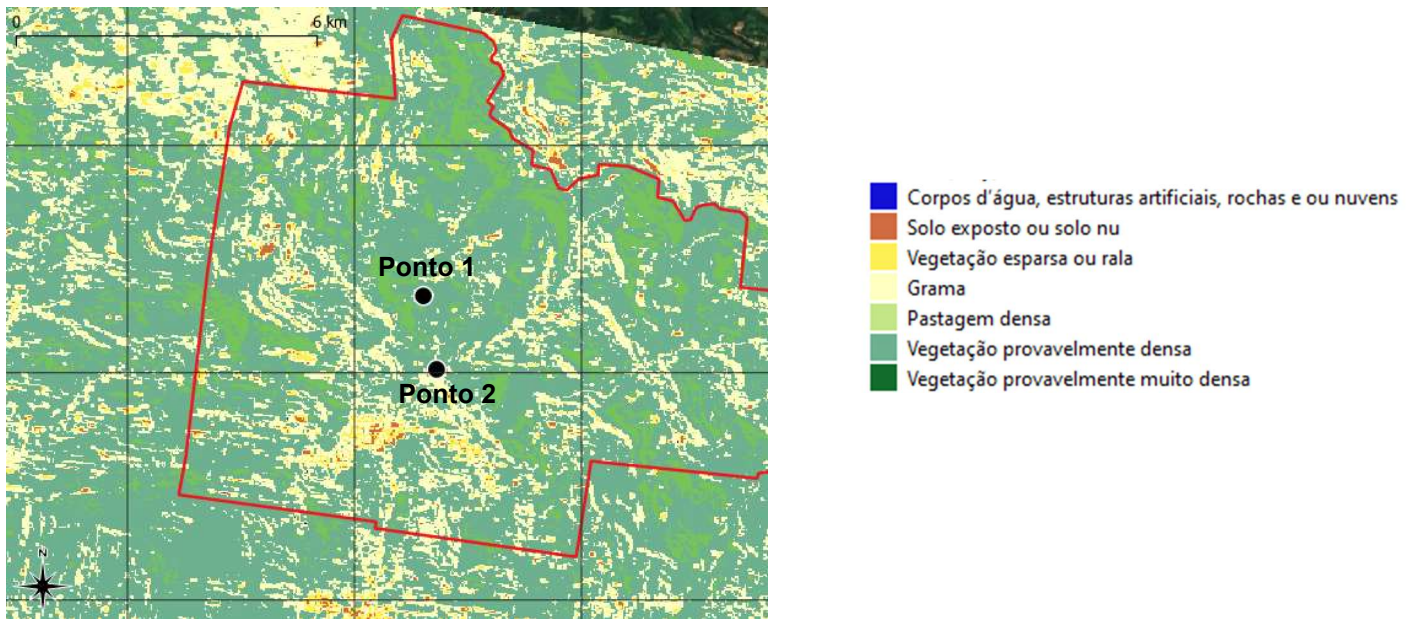


Figura 32 – Imagem NDVI dos pontos amostrados em Morro Reuter.

Aplicando-se a Análise de Regressão Linear Simples para associar o NDVI com a diversidade (quantidade de espécies coletadas) em cada ponto amostrado, observa-se que não há relação que explique por si só esta associação ($r^2=0,00021$) (Gráfico 4).

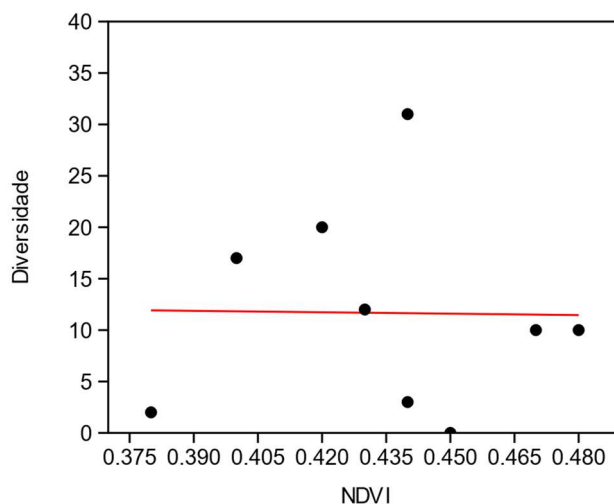


Gráfico 4 – Análise de Regressão Linear Simples para associação entre NDVI e diversidade nos pontos amostrados. Slope: -4,5706. $p=0,97018$.

As diferenças no esforço amostral e na delimitação de apenas um ano podem ter sido fatores que influenciaram nas análises. Roiz et al. (2015) fizeram

análises anuais e mensais para NDVI e outros fatores. Como resultado, obtiveram que o índice teve uma relação positiva com duas espécies de *Culex* e uma de *Anopheles*, mas com relação negativa para outras três espécies, incluindo mais uma de *Culex*. Estes resultados mostram a importância da obtenção de dados sistemáticos mensais e por período maior, ao longo dos anos.

5.3.5 *Anopheles* e elementos abióticos

Acompanhando as amostras totais de mosquitos, o pico de coletas de *Anopheles* spp. ocorreu nos meses de janeiro e março com pequenos novos picos nos meses de outubro e dezembro. Diferentemente do que aconteceu para as amostras totais, não houve um decréscimo gradual de amostragens (Gráfico 5).

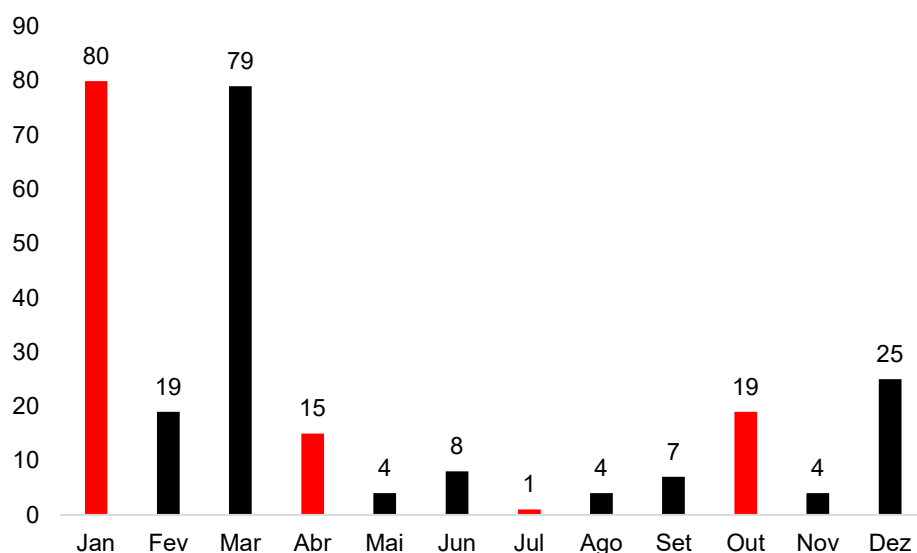


Gráfico 5 – *Anopheles* spp. coletados de acordo com o mês, com destaque aos meses de maior esforço amostral.

Repetindo os testes ANOVA apenas para *Anopheles*, também não foi encontrada diferença significativa para as estações do ano ou entre as localidades ($p=0,1023$ e $p=0,4447$, respectivamente).

A fim de avaliar a influência dos parâmetros abióticos na abundância de *Anopheles*, as localidades foram analisadas de forma independente, uma vez que a frequência de amostragem não foi a mesma.

TRÊS FORQUILHAS

Não foi coletado nenhuma anofelino no município de Três Forquilhas.

TRÊS CACHOEIRAS

Nesta localidade foram coletados 169 anofelinos, sendo a única a ter amostras do subgênero *Kerteszia* (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição mensal das espécies de *Anopheles* coletadas nos municípios de Três Cachoeiras.

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Sp. 8	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sp. 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Sp. 12	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Sp. 13	2	19	66	13	4	8	1	4	4	5	4	23
Sp. 14	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sp. 15	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
Sp. 16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Sp. 18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sp. 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
TOTAL	2	19	72	15	4	8	1	4	7	8	4	25

Legenda: Sp. 8 - *Anopheles* sp.; Sp. 9 - *Anopheles* (*Ano.*) sp.; Sp. 12 - *Anopheles* (*Ker.*) sp.; Sp. 13 - *Anopheles* (*Ker.*) *cruzii*; Sp. 14 - *Anopheles* (*Ker.*) *bellator*; Sp. 15 - *Anopheles* (*Ker.*) *homunculus*; Sp. 16 - *Anopheles* (*Nys.*) sp.; Sp. 18 - *Anopheles* (*Nys.*) *antunesi*; Sp. 20 - *Anopheles* (*Nys.*) *strodei*.

É possível observar que março teve o maior número absoluto de *Anopheles* coletados, corroborando com Primio (1970; 1938) que afirmou que a maior abundância de anofelinos na região de Torres acompanhava o aumento da incidência de malária, definindo este período como sendo entre os meses de outubro e março.

Fatores climáticos pontuais podem ter influenciado nas amostragens, uma vez que as melhores condições de coleta são em noites sem chuva ou vento (PRIMIO, 1931). Entretanto, essas condições só foram possíveis em abril, agosto, setembro, outubro e novembro. Nos demais meses chovia ou ventava durante as coletas.

Aplicando o método de Análise de Correspondência Canônica (CCA) para avaliar a influência dos fatores abióticos sobre a abundância dessas espécies,

concluiu-se que *Anopheles (Ano.) sp.*, *Anopheles (Nys.) sp.* e *Anopheles (Nys.) strodei* (sp. 9, 16 e 20, respectivamente) estão diretamente relacionadas à precipitação, enquanto *Anopheles (Ker.) sp.*, *Anopheles (Ker.) homunculus* e *Anopheles (Nys.) antunesi* (sp. 12, 15 e 18, respectivamente) são mais influenciadas pela umidade. A temperatura impacta em *Anopheles sp.* (sp. 8) e *Anopheles (Ker.) bellator* (sp. 14). *Anopheles (Ker.) cruzii* (sp. 13) aparece ao centro no gráfico, ou seja, representa que todos os fatores contribuem para sua abundância de forma homogênea.

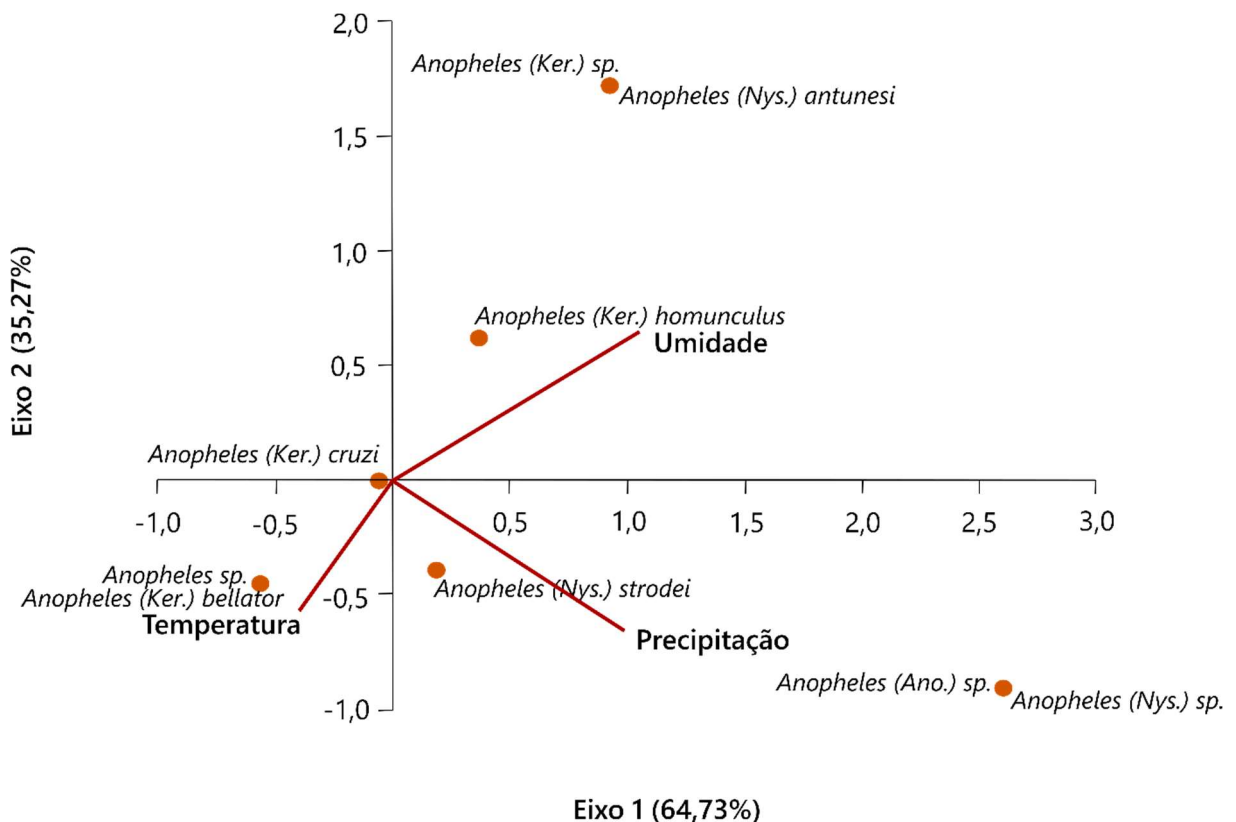


Gráfico 6 - Análise de Correspondência Canônica de *Anopheles* em Três Cachoeiras.

ELDORADO DO SUL

Neste município foram coletados 87 indivíduos do gênero *Anopheles*, nenhum do subgênero *Kerteszia* (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição mensal das espécies de *Anopheles* coletadas no município de Eldorado do Sul.

	Jan	Abr	Jul	Out
Sp. 8	6	0	0	0
Sp. 10	5	0	0	0
Sp. 11	1	0	0	1
Sp. 16	1	0	0	4
Sp. 17	14	0	0	2
Sp. 19	47	0	0	0
Sp. 20	2	0	0	1
Sp. 21	0	0	0	3
TOTAL	76	0	0	11

Legenda: Sp. 8 - *Anopheles* sp.; Sp. 10 - *Anopheles* (*Ano.*) *fluminensis*; Sp. 11 - *Anopheles* (*Ano.*) *maculipes*; Sp. 16 - *Anopheles* (*Nys.*) sp.; Sp. 17 - *Anopheles* (*Nys.*) *albitarsis*; Sp. 19 - *Anopheles* (*Nys.*) *evansae*; Sp. 20 - *Anopheles* (*Nys.*) *strodei*; Sp. 21 - *Anopheles* (*Nys.*) *triannulatus*.

Estas espécies se mostraram relacionadas com fatores abióticos de forma linear, ou seja, o fator temperatura foi inversamente proporcional aos fatores umidade e precipitação (Gráfico 7).

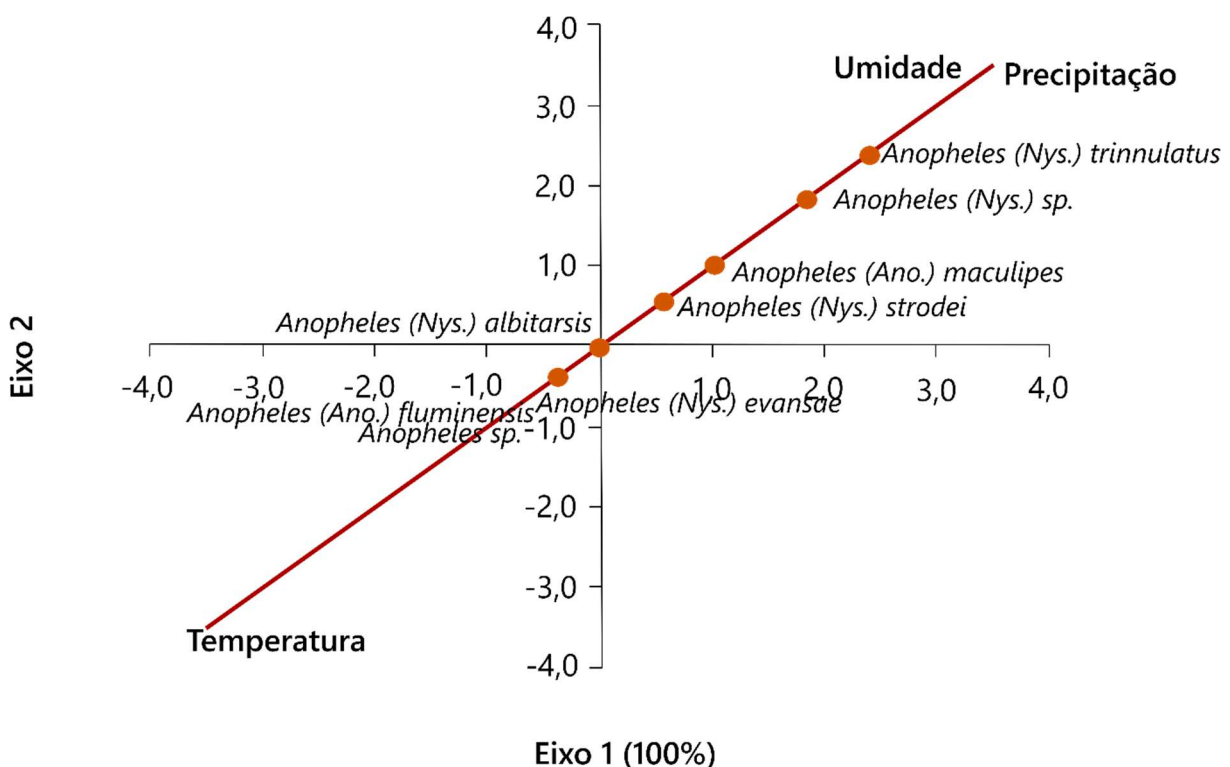


Gráfico 7 - Análise de Correspondência Canônica de *Anopheles* em Eldorado do Sul.

Anopheles (*Nys.*) sp e *Anopheles* (*Nys.*) *triannulatus* (sp. 16 e 21, respectivamente) foram as mais positivamente relacionadas à umidade e precipitação,

se distanciando do fator temperatura. As demais espécies são mais homogêneas quanto aos fatores abióticos, entretanto. *Anopheles (Ano.) maculipes* (sp. 11) e *Anopheles (Nys.) strodei* (sp. 20) parecem mais associadas à umidade e precipitação do que *Anopheles (Nys.) albitarsis* (sp. 17), que aparece no centro do gráfico influenciada pelos três fatores. Praticamente no mesmo ponto, estão as espécies *Anopheles* sp. (sp. 8), *Anopheles (Ano.)* sp. (sp. 9), *Anopheles (Ano.) fluminensis* (sp. 10) e *Anopheles (Nys.) evansae* (sp. 19) sendo influenciadas pela temperatura.

Algumas espécies comuns a Eldorado do Sul e Três Cachoeiras trazem diferenças de interpretação quanto aos impactos abióticos recebidos. Enquanto em Três Cachoeiras as espécies 09, 16 e 20 foram relacionadas à precipitação, em Eldorado do Sul as mesmas foram relacionadas à temperatura (sp. 9) e umidade (sp. 16 e 20). Esta diferença pode ser explicada pelo esforço amostral ter sido maior na primeira localidade, gerando maior volume de dados.

Salienta-se que os dias de coleta do mês de abril foram chuvosos, podendo ter afetado na abundância de mosquitos coletados.

MORRO REUTER

Em Morro Reuter, foram coletados apenas 09 *Anopheles*, sendo sete deles identificados apenas até o nível de gênero. Da mesma forma que ocorreu nas demais localidades, o mês de março foi o mais representativo (Tabela 6). Esta foi a mais afetada por eventos climáticos pontuais. Mesmo sendo amostrada com meses extras (março e maio), não foi possível realizar esforços em condições adequadas. Assim, apenas em julho as amostragens estavam favoráveis, ou seja, sem chuva ou vento no local das armadilhas.

Tabela 6 - Distribuição mensal das espécies de *Anopheles* coletadas no município de Morro Reuter.

	Jan	Mar
Sp. 8	0	7
Sp. 20	2	0
TOTAL	2	7

Legenda: Sp. 8 - *Anopheles* sp.; Sp. 20 - *Anopheles (Nys.) strodei*.

Ambas as espécies encontradas em Morro Reuter são comuns às outras duas localidades, entretanto devido às diferenças de esforço amostral mostraram-se diferentes quanto à sua associação com fatores abióticos. Enquanto a sp. 8 se mostrou influenciada pela temperatura em Três Cachoeiras e Eldorado do Sul, em Morro Reuter ficou associada à umidade. Da mesma forma, a sp. 20 teve influência da temperatura em Eldorado do Sul e esteve distante da umidade e precipitação em Três Cachoeiras, já em Morro Reuter ficou associada à temperatura e precipitação (Gráfico 8).

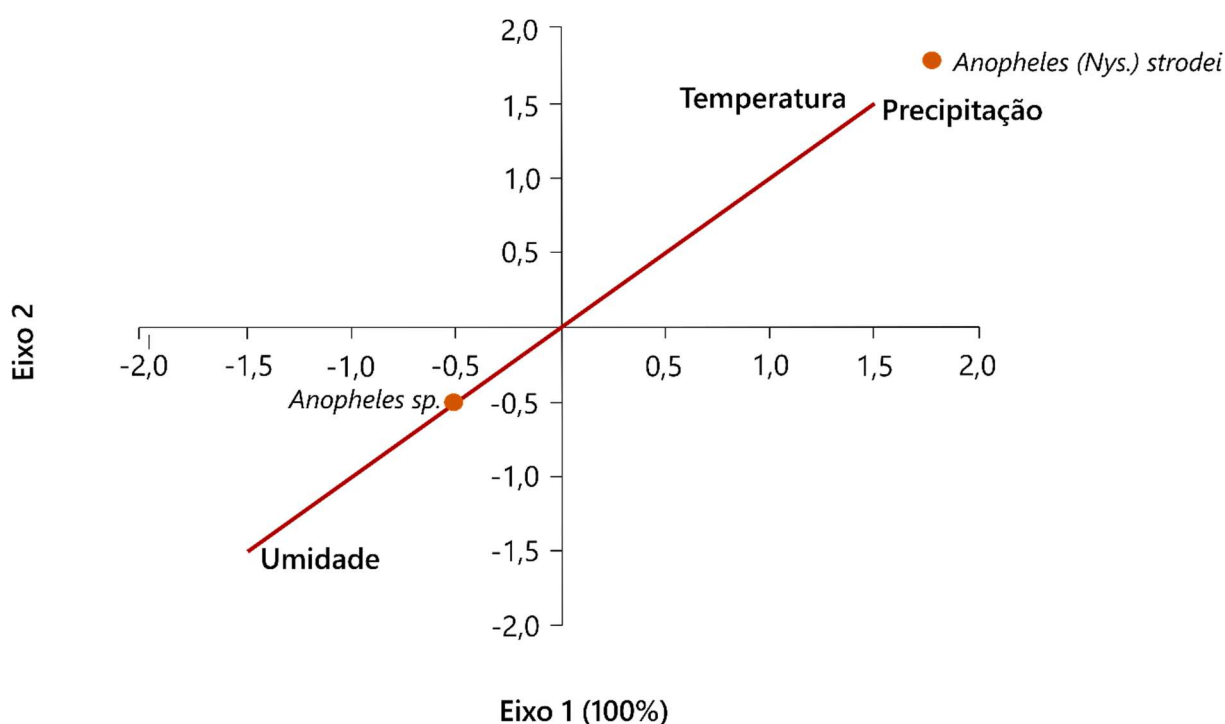


Gráfico 8 - Análise de Correspondência Canônica de *Anopheles* em Morro Reuter.

A relação de *An. (Ker.) homunculus* com a umidade é esperada, uma vez que é comumente encontrada em interior de mata onde este parâmetro é característico. Além disso, se reproduz facilmente em pequenas porções d'água encontradas em pequenas bromélias, o que diminui a dependência de chuva para encher os reservatórios, que podem ser abastecidos com a própria precipitação da umidade do ar (VELOSO, 1958).

Santos-Neto & Lozovei (2008) relataram que a maior frequência de *Anopheles (Ker.) cruzii* foi nos meses de março e abril, apresentando diferença

significativa dos demais meses. Também mostraram que a faixa de horário de maior atividade desta espécie foi entre 18h e 20h, horário contemplado na metodologia aqui aplicada.

Em São Paulo, Ueno, Forattini & Kakitani (2007) correlacionaram fatores sazonais à densidade de *Anopheles* em ambientes litorâneos. Como resultado obtiveram uma correlação positiva para o fator temperatura (amplitude térmica) na densidade de *An. (Ker.) bellator*, mas não para *An. (Ker.) cruzii*. Neste caso, o ambiente litorâneo avaliado não foi de Mata Atlântica, mas de restinga, o que pode explicar esta diferença com os resultados aqui apresentados.

No Maranhão, Xavier & Rebêlo (1999) avaliaram a flutuação sazonal de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus*, cujos reservatórios preferenciais são grandes porções d'água. Neste caso, a abundância foi diretamente relacionada aos períodos chuvosos, onde os reservatórios sofreram mudanças de tamanho, variedade e profundidade.

5.3.6 *Anopheles* e elementos bióticos – vegetação

Utilizando as informações do Quadro 11 e analisando a relação entre os valores de NDVI e a abundância de *Anopheles* spp., a Análise de Regressão Linear Simples mostra que também não há relação entre as duas variáveis ($r^2 = 0,00045$) (Gráfico 9).

Quadro 11 – Quantidade de *Anopheles* amostrados e sua relação com o NDVI de cada ponto de coleta.

	NDVI do ponto	Quantidade de <i>Anopheles</i> spp.
Três Cachoeiras – Ponto 1	0,44	169
Eldorado do Sul – Ponto 2	0,42	76
Eldorado do Sul – Ponto 3	0,40	11
Morro Reuter – Ponto 1	0,44	2
Morro Reuter – Ponto 2	0,47	7

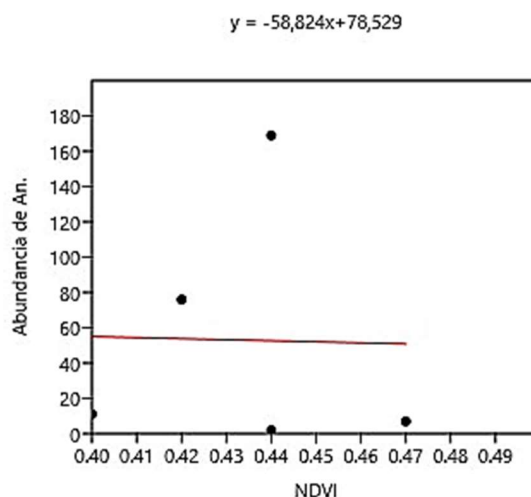


Gráfico 9 – Abundância de *Anopheles* spp. com relação ao NDVI. Slope:-58,824. $p=0,97036$.

O NDVI não tem relação com a abundância ou diversidade de *Anopheles* spp., com o esforço amostral apresentado. Entretanto, Azevedo et al. (2020) encontraram uma relação positiva ($r^2 = 0,99$) entre o NDVI alto e a ocorrência de *Anopheles (Ker.) cruzii*. Salientamos que o NDVI considerado alto foi de 0,8 a 0,9, mais alto do que aqui apresentado (0,4 em média). Este fator foi associado à Floresta Ombrófila Densa com presença de muitas bromélias, fato que aqui só foi observado no município de Três Cachoeiras. Ainda assim, o ponto de coleta apresentou índice de NDVI mais baixo do que os autores encontraram.

Observando os valores brutos da Tabela 11 (supracitada), podemos inferir que a composição florística pode ser fator importante para explicar a ocorrência de determinadas espécies de *Anopheles*, o que não fica evidenciado pela análise de NDVI.

Lourenço et al. (2011) encontraram uma forte relação entre a densidade de *Anopheles atroparvus* e o NDVI em áreas com ocorrência de malária em Portugal, apontando este índice para ser usado como um indicativo das condições do habitat do vetor. Apontaram a qualidade da vegetação como um indicativo indireto da presença de água, formando as condições ideais para a reprodução do vetor. Entretanto, neste trabalho não foi possível observar esta relação, ficando os atributos abióticos mais relacionados à ocorrência de *Anopheles*.

Dantur Juri et al. (2015) relacionaram valores de NDVI com a distribuição e abundância de *Anopheles* na Argentina, encontrando relação positiva deste índice em

apenas duas das três áreas testadas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a história da malária no Rio Grande do Sul construída, ficou evidente que a participação da Fundação Rockefeller nas campanhas de combate aos vetores foi importante no desenvolvimento dos programas de saúde no Brasil. A articulação política, científica e de práticas de campo, dominada inicialmente pela classe médica, abre precedentes para a discussão acerca do longo caminho percorrido até a estruturação do atual modelo de saúde, nos levando à busca por padrões e recorrências dentro dos variados contextos sócio-políticos.

Os eventos históricos narrados não ocorreram de forma isolada, estando cada um de acordo com o contexto em que se inseriam. Imigração, avanços tecnológicos e a ideia de controle ou erradicação de determinada doença devem ser temas discutidos com rigoroso critério, de forma que a malária, assunto aqui apresentado, serve como um exemplo de que o ciclo de doenças relacionadas ao ambiente está sujeito a fatores nem sempre bem esclarecidos: primatas podem estar envolvidos no ciclo do paludismo, uma espécie nova de mosquito pode assumir o papel de vetor ou ser importada de outro país ou continente. A complexidade da dinâmica ambiental está diretamente envolvida na dinâmica da incidência de doenças relacionadas, ou seja, os modelos de controle e combate não devem ser rígidos. Neste contexto, as relações interespecíficas sustentam a plausibilidade de uma suposta erradicação com sua reemergência.

Importante também observar as mudanças sociais que podem decorrer a partir de doenças infecciosas. Expandindo essa discussão a outras patologias, podemos imaginar que a pandemia de COVID-19 trouxe consciência sobre a forma de transmissão de um vírus respiratório, a importância de higienizar as mãos com frequência e a relevância do uso de equipamentos que dificultem sua transmissão, como as máscaras. Trazendo este olhar para as doenças relacionadas aos mosquitos, a dengue reflete a importância de evitar depósitos de água limpa e parada em casas e pátios, traduzindo uma mudança social de comportamento que interfere no ciclo reprodutivo do vetor. Já para Febre Amarela, resgata-se a importância de observar as relações naturais com primatas não-humanos, usando sua presença como sentinela e informando órgãos de saúde sobre sua mortalidade como possível indicativo da circulação viral. Estes exemplos evidenciam que a sociedade é capaz de se modificar

a partir de seu aprendizado com as doenças infecciosas, através da educação em saúde. A sociedade não deve mais se manter passiva à espera de medicamentos milagrosos, mas pode se enxergar como parte deste processo, como figuras ativas na cura individual e coletiva.

Dentro desta temática, o historiador Gabriel Lopes lançou em 2020 o livro “O Feroz Mosquito Africano no Brasil: O *Anopheles gambiae* entre o silêncio e sua erradicação (1930-1940)”, cujo protagonismo do agente modificador de políticas públicas e dos métodos de controle pertence ao próprio mosquito, e não aos pacientes ou médicos. Fazendo uma reflexão sobre este olhar e as ações de combate ao impaludismo no RS, observamos que o desmatamento, a desbromelização e a dispersão de inseticidas tóxicos foram intervenções importantes para seu controle na década de 40, sendo plausíveis naquela época, mas inaceitáveis diante dos conhecimentos atuais. O foco do controle foi posto em elementos naturais: as bromélias da Mata Atlântica gaúcha. Mas o que o Rio Grande do Sul aprendeu com sua endemia de malária e quais foram as modificações políticas e sociais decorrentes deste evento?

Ficou evidente que o Estado oferece plenas condições para o estabelecimento da malária autóctone. A presença de ambientes diversificados, ricos em sua fauna e flora, possibilita a interação entre os elementos envolvidos no ciclo da doença. Apesar da bromélia-malária ter sido o perfil de transmissão mais frequente, as espécies de *Anopheles* ocorrentes no Rio Grande do Sul mostram que o Estado pode sofrer com surtos epidêmicos de outro perfil, como foi demonstrado pelo ocorrido no Vale do Rio Uruguai na década de 1940. Em 1950 um surto nos municípios da mesma região, relacionado à região dos arrozeiros, reafirma esta possibilidade. Devemos considerar os dois perfis como ocorrentes no Rio Grande do Sul tendo ambos, portanto, potenciais epidêmicos.

A implantação de um sistema de informação (Sinan) propiciou o acesso à informação contemporânea de forma mais sistemática, possibilitando a reconstrução histórica moderna mais fidedigna, com uso exclusivo de dados oficiais, sem a necessidade de recorrer a fontes de comunicação. Além disso, os dados cronológicos estão disponíveis de modo a possibilitar seu cruzamento com outros parâmetros. Cabe salientar que os sistemas são alimentados por servidores que desempenham a função de notificar doenças compulsórias. Infelizmente, para períodos mais antigos,

houve maior dificuldade em encontrar as informações, pois esta busca fica restrita a acervos e museus que muitas vezes não possuem documentação completa.

O Rio Grande do Sul possui importantes vetores de malária em seu território, portanto era previsível sua reemergência. Fato que ficou registrado pelo caso autóctone ocorrido no Estado, representando também o registro da doença mais ao sul da América Latina. Considerando que os mosquitos foram amostrados em área de reemergência e onde historicamente já havia registros de malária autóctone, podemos inferir que onde há histórico e vetor é possível haver reemergência. A presença de *Anopheles* do subgênero *Kerteszia* em Três Cachoeiras serve de alerta para a região.

Da mesma forma, quando observamos o trabalho de Machado et al. (2003), em que os autores analisaram o perfil epidemiológico de malária no Estado de Santa Catarina através de dados disponibilizados pela Fundação Nacional de Saúde, os mesmos relatam diversos casos autóctones. Destes, descrevem Blumenau, São Francisco do Sul e Florianópolis com o maior número de casos autóctones, sendo o maior índice de infecção para *Plasmodium vivax*, seguido de *Plasmodium falciparum*. Nos últimos anos, a Diretoria de Vigilância Epidemiológica de Santa Catarina identificou mais três casos autóctones de malária de Mata Atlântica no Estado. Destes dois (2) casos em Joinville em 2016 e um (1) caso de malária em Rio do Oeste, em 2019.

Baseados nas informações de Santa Catarina, que é um estado vizinho ao nosso, podemos inferir que a malária extra-amazônica continua sendo responsável por casos autóctones em toda a região sul, uma vez que não existe fronteiras para a dispersão de mosquitos infectados. Provavelmente existem casos autóctones silenciosos em todo o Estado do Rio Grande do Sul. Contudo, há carência de pesquisas científicas relacionadas aos anofelinos vetores, taxa de infecção por plasmodios e a população exposta, principalmente aquelas que moram em zonas rurais ou próximos a matas em que ocorram a dispersão dos mosquitos.

As amostragens forneceram uma atualização no levantamento entomológico relacionado aos Culicídeos, o que pode auxiliar em futuros trabalhos relacionados a outras doenças, como, por exemplo, aquelas relacionadas ao *Aedes albopictus*.

A metodologia aplicada para as coletas de mosquitos gerou uma resposta

onde não foi possível identificar diferenças significativas entre os elementos abióticos e bióticos entre as localidades. De forma geral, apenas nos meses comparáveis houve diferença significativa entre Eldorado do Sul e Morro Reuter.

Resultado semelhante foi encontrado para as amostras de *Anopheles*, onde não foi identificada diferença significativa entre as estações do ano ou entre os municípios. As relações da ocorrência das espécies com temperatura, umidade e precipitação podem ter sido os fatores definidores das diferenças na diversidade e na abundância, mas seriam necessários maiores esforços amostrais para comprovar esta relação. Já para fatores bióticos, o NDVI não mostrou significância, de forma que a composição florística pode ser parâmetro importante para explicar a ocorrência de determinadas espécies de *Anopheles*, o que também necessita estudos mais aprofundados.

A presença de ambientes ricos em bromeliáceas, como as áreas de Mata Atlântica, indica a possibilidade das interações entre os elementos necessários para que o ciclo dos parasitos se efetive, envolvendo os vetores do subgênero *Kerteszia* com primatas-não-humanos, ou com a população humana que se estabelece.

Considerando a incidência de um caso humano autóctone na região onde o impaludismo já foi endêmico, e considerando a presença de vetores na área, é necessário que seja reavaliada a situação epidemiológica do Estado, pois pode-se inferir que o risco está estabelecido.

Este trabalho trouxe uma interessante perspectiva do tema para o Rio Grande do Sul, há muito considerado livre da malária. Sugerimos o estabelecimento de protocolos de investigação, seguindo os seguintes passos:

A partir de caso humano:

1 – Coleta de mosquitos, com CDC, por dois dias nas áreas adjacentes ao caso e em áreas de LPI;

2 – Triagem e identificação dos mosquitos;

3 – Realização de qPCR para identificação de *Plasmodium* spp. nos *Anopheles* sp.;

4 – Informação sistemática aos serviços de saúde da região e arredores para sensibilizar o sistema quanto à busca de novos casos e tratamento adequado dos pacientes;

5 – Orientação da população exposta para uso de repelente.

A partir de epizootias:

1 – Testagem de *Plasmodium* sp. em animais provenientes de epizootias em investigação para outras moléstias, como a febre amarela;

2 – Aplicação da técnica qPCR em vísceras, principalmente fígado, em busca de *Plasmodium* spp.

3 – Informação sistemática aos serviços de saúde da região e arredores para sensibilizar o sistema quanto à busca de novos casos e tratamento adequado dos pacientes;

4 – Orientação da população exposta para uso de repelente.

Este trabalho trouxe um impacto positivo para a ciência e para a saúde pública do Rio Grande do Sul, contribuindo para um maior conhecimento histórico da situação do impaludismo no Estado e levantando um alerta quanto aos riscos associados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Artigos:

Alvarenga DAM de, Culleton R, de Pina-Costa A, Rodrigues DF, Bianco C, Silva S, et al. 2018. An assay for the identification of *Plasmodium simium* infection for diagnosis of zoonotic malaria in the Brazilian Atlantic Forest. *Sci Rep.* 8:86.

Azevedo TS de, Lorenz C, Chiaravalloti-Neto F, Sallum MAM. 2020. *Kerteszia cruzii* and extra-Amazonian malaria in Brazil: Challenges due to climate change in the Atlantic Forest. *Infection, Genetics and Evolution.* 85:104456.

Benchimol JL. 2003. Adolpho Lutz: um esboço biográfico. *Hist. cienc. saude-Manguinhos.* 10 (1):13-83.

Bentley MD, Day JF. 1989. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Ann. Rev. Entomol.* 34:401-421.

Brasil, Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS, Ministério da Saúde- MS. 2020. Malária 2020. *Boletim Epidemiológico.* Numero especial:nov/2020.

Brasil P, Zalis MG, Pina-Cosa A, Siqueira AM, et al. 2017. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. *The Lancet.* 5(10):1038-46.

Britto N, Gadelha P, Nuñez R, Goldschmidt R. 1994. Leônidas Deane: aventuras na pesquisa. *Hist Cienc Saude-Manguinhos.* (1):153-171.

Cardoso JC, Corseuil E, Barata JMS. 2004. Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomol. Vect.* 11(1):159-177.

Cardoso JC, Bergo ES, Oliveira TMP, Sant'AnaDC, et al. 2012. New records of *Anopheles homunculus* in Central and Serra do Mar biodiversity corridors of the Atlantic Forest, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association.* 28(1):1-5.

Castro Santos, LA de. 1985. O pensamento sanitaria na Primeira República: uma ideologia de construção da nacionalidade. *Dados – Revista de Ciências Sociais.* 28(2):193-210.

Charlwood JD, Alecrim WA. 1989. Capture-recapture studies with the South American malaria vector *Anopheles darlingi*, Root. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology.* 83(6):569-576.

Chaumeau V, Andolina C, Fustec B, Tuikue Ndam N, et al. 2016. Comparation of the performances of five primers sets for the detection and quantification of *Plasmodium* in anopheline vectors by real-time PCR. *PLoS ONE.* 11(7):e0159160.

Chaves MED, Mataveli GAV, Guerrero JVR, Justino RC. 2013. Análise comparativa do NDVI estimado a partir de valores de níveis digitais originais e de reflectâncias aparente e de superfície. *Anais XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 13 a 18 de abril de 2013, INPE.* Disponível em: <<http://marte2.sid.inpe.br/col/dpi.inpe.br/marte2/2013/05.29.00.01.22/doc/p0823.pdf>>, acesso em 11 dez 2021.

- Chin W, Contacos PG, Coatney GR, Kimball HR. 1965. A naturally acquired quotidian-type malaria in man transferable to monkeys. *Science*. 149:865
- Costa DC, Cunha VP da, Assis GMP de, Junior JC de S, et al. 2014. *Plasmodium simium/Plasmodium vivax* infections in southern brown howler monkeys from the Atlantic forest. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 109(5):641–653.
- Cox FEG. 2010. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. *Parasites & Vectors*. 3(5):1-9.
- Dantur Juri MJ, Estallo E, Almirón W, Santana M, et al. 2015. Satellite-derived NDVI, LST, and climatic factors driving the distribution and abundance of *Anopheles* mosquitoes in a former malarious area in northwest Argentina. *Journal of Vector Ecology*. 40(1):36-45.
- Deane LM. 1992. Simian malaria in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 87(3):1-20.
- Deane LM, Deane MP, Ferreira Neto JA, Almeida FB de. 1971. On the transmission of simian malaria in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 13(5):311-319.
- Deane LM, Ferreira Neto JA. 1969. Malária em macacos do estado do Rio Grande do Sul. *Observações Preliminares. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 11(5):299-305.
- Downs WG & Pittendrigh CS. 1946. Bromeliad malaria in Trinidad, British West Indies. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 26(1):47-66.
- Duarte AMR de C, Maeda AY, Torres MAN, Santos E dos, et al. 2005. Infecção malárica em bugio do parque estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul. *Revista de Patologia Tropical* 34.
- Eede PVD, Van HN, Overmeir CV, Vythilingam I, et al. 2009. Human *Plasmodium knowlesi* infections in young children in central Vietnam. *Malaria Journal*. 8:249.
- Fernandes TM. 2012. Medicamentos no Brasil: Entre Naturais e Sintéticos (1920 a 2000). *Revista Fitos*. 7(2):119-124.
- Figtree M, Lee R, Bain L, Kennedy T, et al. 2010. *Plasmodium knowlesi* in human, Indonesian Borneo. *Emerg Infect Dis*. 16(4):672-674.
- Foster PG, de Oliveira TMP, Bergo ES, Conn JE, Sant'Ana DC, et al. 2017. Phylogeny of Anophelinae using mitochondrial protein coding genes. *R. Soc. open sci*. 4: 170758.
- França TCC, Santos MG dos, Figueroa-Villar JD. 2008. Malária: Aspectos Históricos e Quimioterapia. *Quim. Nova* 31(5):1271-1278.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4(1):1-9.
- Herrlein R Jr. 2004. A transição capitalista no Rio Grande do Sul, 1889-1930: uma nova interpretação. *Economia e Sociedade*. 13(1):175-207.
- Hiwat H, Andriessen R, Rijk M de, Koenraadt CJM, Takken W. Carbon dioxide baited trap catches do not correlate with human landing collections of *Anopheles aquasalis* in Suriname. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 106(3):360-364.
- Hochman G. 2005. Reformas, instituições e políticas de saúde no Brasil (1930-1945). *Educar. Curitiba*. (25):127-141.

- Hochman G., Mello MTB de, Santos PRE dos. 2002. A malária em foto: imagens de campanhas e ações no Brasil da primeira metade do século XX. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*. 9:233-273.
- Iwagami M, Nakatsu M, Khattignavong P, Soundala P, et al. 2018. First case of human infection with *Plasmodium knowlesi* in Laos. *PLoS Negl Trop Dis* 12(3):e0006244.
- James FC, McCulloch CE. 1990. Multivariate Analysis In Ecology And Systematics Panacea Or Pandora's Box? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21:129-166.
- Khim N, Siv S, Kim S, Mueller T, et al. 2011. *Plasmodium knowlesi* infection in humans, Cambodia, 2007-2010. *Emerg Infect Dis*. 17(10):1900-1902.
- Kropf SP. 2009. Carlos Chagas e os debates e controvérsias sobre a doença do Brasil (1909-1923)*. *História, Ciências, Saúde*. 16(1):205-227.
- Laguardia J, Domingues CMA, Carvalho C, Lauerman CR, et al. 2004. Sistema de informação de agravos de notificação em saúde (Sinan): desafios no desenvolvimento de um sistema de informação em saúde. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 13(3):135-146.
- Laporta GZ, Burattini MN, Levy D, Fukuya LA, Oliveira TMP, Maselli LMF, Conn JE, Massad E, Bydlowski SP, Sallum MAM. 2015. *Plasmodium falciparum* in the southeastern Atlantic forest: a challenge to the bromeliad-malaria paradigm? *Malaria J*. 14(1):181.
- Laveran A. 1880. Note sur un nouveau parasite trouvé dans le sang de plusieurs malades atteints de fièvre palustres. *Bull Acad Med*. 9:1235–6.
- Lemos AB de, Silva OS da, Deboni SC, et al. 2021. Reemergence of human malaria in Atlantic Forest of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 116:e210064.
- Lins RMMA, Oliveira SG, Souza NA, Queiroz RG de, et al. 2002. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. *Insect Molecular Biology*. 11(2):117–122.
- Lourenço PM, Souza CA, Seixas J, Lopes P, et al. 2011. *Anopheles atroparvus* density modeling using MODIS NDVI in a former malarious area in Portugal. *Journal of Vector Ecology*. 36(2):279-291.
- Luchavez J, Espino F, Curameng P, Espina R, et al. 2008. Human Infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. *Emerg Infect Dis*. 14(5):811-813.
- Machado RL, D' Almeida Couto AA, Cavasini CE, Calvosa VS. 2003. Malaria outside the Brazilian Amazonian region: the situation in Santa Catarina State. *Rev Soc Bras Med Trop*. 36(5):581-6.
- Mangold KA, Manson RU, Koay ESC, Stephens L, et al. 2005. Real-time PCR for detection and identification of *Plasmodium* spp. *J Clin Microbiol*. 43(5):2435-40.
- Marrelli MT, Malafronte RS, Sallum MAM, Natal D. 2007. *Kerteszia* subgenus of *Anopheles* associated with the Brazilian Atlantic rainforest: current knowledge and future challenges. *Malar J*. 6:127-34.
- Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK. 2002. The pathogenic basis of malaria. *Nature* 415[6872]:673-679.
- Moreira DL, Cardoso J da C, Deboni SC, et al. 2017. Malaria in Southern Brazil: a potential threat for a non-endemic region. *Braz j infect dis*. 21(6):678–679.

- Nascimento TFS, Lourenço-de-Oliveira R. 2002. *Anopheles halophylus*, a New Species of the Subgenus *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 97(6):801-811.
- Ng OT, Ooi EE, Lee CC, Lee PJ, et al. 2008. Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. Emerg Infect Dis. 14(5):814-816.
- Okal MN, Francis B, Herrera-Varela M, Fillinger U, Lindsay SW. 2013. Water vapour is a pre-oviposition attractant for the malaria vector *Anopheles gambiae sensu stricto*. Malaria Journal. 12(365):1-8.
- Oliveira ESA. 2011. O combate à malária em Florianópolis e suas implicações ambientais. Tempos Históricos. 15(2): 405 – 429.
- Oliveira RS. 2013. Os 120 anos da Guerra Civil de 1893. Historiæ. 4(2):137-147.
- Paiva CHA, Teixeira LA. 2014. Reforma sanitária e a criação do Sistema Único de Saúde: notas sobre contextos e autores. História, Ciências, Saúde – Manguinhos. 21(1):15-36.
- Pina-Costa A de, Brasil P, Di Santi SM, de Araujo MP, Suárez-Mutis MC, et al. 2014. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. Mem Inst Oswaldo Cruz. 109(5):618-634.
- Pinotti M, Rachou R., Ferreira MO. 1947. Alguns aspectos epidemiológicos da malária no litoral sul do Brasil, em zona de transmissão por anofelinos do sub-gênero *Kerteszia*. Trabalho apresentado à XII Conferência Sanitária Pan Americana reunida em janeiro de 1947 em Caracas, na Venezuela e publicado (tradução em hespanhol) em “Tijeretazos sobre Malária”. XI (1 e 2). In: Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais. 18 (4):605–671. 1966.
- Pishchany G, Skaar EP. 2012. Taste for Blood: Hemoglobin as a Nutrient Source for Pathogens. PLoS Pathog 8(3):e1002535. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002535>
- Primio R di. 1931. O impaludismo autoctone do Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 10(4):1-6.
- Primio R di. 1933. A espécie dominante do Plasmodio, na zona endemo-epidêmica de malária no Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 12(4):197-198.
- Primio R di. 1935. Alguns culicídeos do Rio Grande do Sul: considerações nosológicas a respeito. Arquivos rio-grandenses de medicina. 14(4):127-164.
- Primio R di. 1936a. Algumas epidemias e endemias do Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 15(3):111-134.
- Primio R di. 1936b. Sobre a presença do *Plasmodium falciparum* no Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 15(4):178-180.
- Primio R di. 1937. Em torno de alguns transmissores de doenças no Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 16(7):305-314.
- Primio R di. 1938. Impaludismo e anofelinas do Rio Grande do Sul. Arquivos rio-grandenses de medicina. 17(6):271-299.
- Primio R di. 1970. Nosologia e insetos transmissores de doenças no Rio Grande do Sul. Anais da Faculdade de Medicina de Pôrto Alegre. Trabalho apresentado no VI

- Congresso Brasileiro de Medicina Tropical, em Pôrto Alegre, de 22 a 25 fev. 1970.
- Prudêncio M, Rodriguez A, Mota MM. 2006. The silent path to thousands of merozoites: the *Plasmodium* liver stage. *Nature Reviews - Microbiology*. 4:849-856.
- Putaporntip C, Hongsrimuang T, Seethamchai S, Kobasa T, et al. 2009. Differential Prevalence of *Plasmodium* Infections and Cryptic *Plasmodium knowlesi* Malaria in Humans in Thailand. *The Journal of Infectious Diseases*. 199(8):1143–1150.
- Rachou RG. 1960. O Método Pinotti nas atuais campanhas de combate à malária. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*. 12(2):329-337.
- Rocha MS, Bartholomay P, Cavalcanti MV, Medeiros FC de, et al. 2020. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan): principais características da notificação e da análise de dados relacionada à tuberculose. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 29(1):1-13.
- Roiz D, Ruiz S, Soriguer R, Figuerola J. 2015. Landscape Effects on the Presence, Abundance and Diversity of Mosquitoes in Mediterranean Wetlands. *PLoS ONE* 10(6):e0128112.
- Rosa-Freitas MG, Lourenço-de-Oliveira R, de Carvalho-Pinto CJ, Flores-Mendoza C, Silva-do-Nascimento TF. 1998. Anopheline Species Complexes in Brazil. Current Knowledge of Those Related to Malaria Transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 93(5):651-655.
- Ross R. 1897. On some peculiar pigmented cells found in two mosquitoes fed on malarial blood. *BMJ*. 18:1786–1788.
- Santos, LA de C. 1985. O pensamento sanitário na Primeira República: Uma ideologia de construção da nacionalidade. *Revista de Ciências Sociais*. 28(2):193-210.
- Santos-Neto LG dos, Lozovei AL. 2008. Aspectos ecológicos de *Anopheles cruzii* e *Culex ribeirensis* (Diptera, Culicidae) da Mata Atlântica de Morretes, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*. 52(1):105-111.
- Silva R da, Hochman G. 2011. Um método chamado Pinotti: sal medicamentoso, malária e saúde internacional (1952-1960). *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro. 18(2):519-543.
- Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, Thomas A, Conway DJ. 2004. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet* 363:1017–1024.
- Smith RC, Vega-Rodríguez J, Jacobs-Lorena M. 2014. The *Plasmodium* bottleneck: malaria parasite losses in the mosquito vector. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 109(5):644-661.
- Souza CM de. 2015. Morte, saúde e ditadura na construção da Transamazônica. *Tempos Históricos*. 19:65-91.
- Souza M de. 2020. Transamazônica: integrar para não entregar. *Nova Revista Amazônica*. VIII(1):133-152.
- Tauil P, Deane L, Sabroza P, Ribeiro C. 1985. A malária no Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 1(1):71-111.
- Tilley L, Dixon MWA, Kirk K. 2011. The *Plasmodium falciparum*-infected red blood cell.

- The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 43:839–842.
- Ueno HM, Forattini OP, Kakitani I. 2007. Distribuição vertical e sazonal de *Anopheles* (*Kerteszia*) em Ilha Comprida, SP. Rev. Saúde Pública. 41(2):269-275.
- Valkiunas G, Ilgunas M, Bukauskaite D, Fragner K, Weissenböck H, Atkinson CT, Lezhova TA. 2018. Characterization of *Plasmodium relictum*, a cosmopolitan agent of avian malaria. Malar J. 17(184):1-21.
- Veloso HP. 1958. Considerações gerais sobre os biótopos e habitats dos Anofelíneos do sub-gênero *Kerteszia*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 56(1):163-179.
- Wells TNC, Burrows JN, Baird JK. 2010. Targeting the hypnozoite reservoir of *Plasmodium vivax*: the hidden obstacle to malaria elimination. Trends in Parasitology. 26(3):145-151.
- Williams RB. 2005. Avian Malaria: clinical and chemical pathology of *Plasmodium gallinaceum* in the domesticated fowl *Gallus gallus*. Avian Pathology. 34(1):29-47.
- Wink FF, Nunes NJS, Zafalon-Silva B, Costa PM, Alievi MM, Valle SF, Soares JF. 2017. Ocorrência de *Plasmodium* spp. em bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*): relato de caso. II Encontro Brasileiro de Protozoologia Veterinária. Anais do II EBPV. Poster 58. <<http://www.uel.br/eventos/ebpv/pages/arquivos/anais-%20P%C3%B4ster%20VEOU-%20SITE.pdf>>. Universidade Estadual de Londrina.
- Xavier MM dos SP & Rebêlo JMM. 1999. Espécies de *Anopheles* (Culicidae, Anophelinae) em área endêmica de malária, Maranhão, Brasil. Rev. Saúde Pública. 33(6):535-41.
- Zavortink TJ. 1973. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXIX. A Review of The Subgenus *Kerteszia* Of *Anopheles*. Contrib. Amer. Ent. Inst. 9(3).

Livros:

- Barata JMS. 1973. **Estado atual da bromélia-malária no Brasil**. Dissertação de mestrado. Faculdade Saúde Pública da Universidade de São Paulo -USP. São Paulo: 64p.
- Brasil, Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. 2002. **Vigilância Ambiental em Saúde**. Brasília: FUNASA. 42p.
- Brasil, Ministério da Saúde. 2010a. **Guia prático de tratamento da malária no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde. 36p.
- Brasil, Ministério da Saúde. 2010b. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: guia de bolso**. Brasília: Ministério da Saúde. 8 ed. 444p.
- Brum CE de. 2013. **O “INTERVENTOR DA SAÚDE”: Trajetória e pensamento médico de Bonifácio Costa e sua atuação no departamento Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul (1938-1943)**. Dissertação de mestrado. Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS. São Leopoldo: 269p.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. 1998. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 228p.

- Dourado A. 1900. **O Impaludismo no Rio Grande do Sul**. Rio Grande: Typographia da Livraria Rio-Grandense. 55p.
- Dourado A. 1977. **Voluntários do Martírio**. Porto Alegre: Martins Livreiro Editor. 432p.
- Flores M. 1996. **História do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Nova Dimensão. 6ª edição. 216p.
- Forattini OP. 1962. **Entomologia Médica**. São Paulo: Editora da USP. Vol. 1. 662p.
- Forattini OP. 2002. **Culicidologia Médica. Identificação, Biologia e Epidemiologia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. Vol 2. 860p.
- Franco A. Ramos SM. 1943. **Panteão Médico Riograndense: síntese cultural e histórica: progresso e evolução da medicina no Estado do Rio Grande do Sul**. São Paulo: Ramos, Franco Ed. 588p.
- Hochman G. 1998. **A era do saneamento: as bases da política de Saúde Pública no Brasil**. São Paulo: Editora Hucitec/Anpocs. 253p.
- Korndörfer AP. 2013. **“An international problem of serious proportions”: a cooperação entre a Fundação Rockefeller e o governo do estado do Rio Grande do Sul no combate à ancilostomíase e seus desdobramentos (1919-1929)**. Tese de doutorado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. 303p.
- Laveran A. 1881. **Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme: description d'un nouveau parasite trouvé dans le sang des malades atteints de fièvre palustre**. Paris: J.-B. Baillière. 104p.
- Lopes G. 2020. **O Feroz Mosquito Africano no Brasil: o *Anopheles gambiae* entre o silêncio e a sua erradicação (1930-1940)**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 227p.
- Lozovei AL. 2005. **Culicídeos (Mosquitos)**. In: Marcondes CB (Ed.). **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Atheneu.
- Machado, LS. 1943a. **A malária no Rio Grande do Sul**. P. 83-85. In: Faillace JM. 1943. **Arquivos do Departamento Estadual de Saúde – Rio Grande do Sul**. Vol. 4. Porto Alegre.
- Machado, LS. 1943b. **O Paludismo do Rio Grande do Sul**. P. 169-170. In: Franco A; Ramos SM. 1943. **Panteão Médico Riograndense: síntese cultural e histórica: progresso e evolução da medicina no Estado do Rio Grande do Sul**. São Paulo: Ramos, Franco Ed. 588 p.
- Matteelli A, Castelli F. **Life cycle of malaria parasites**. 1997. In: G Carosi, F Castelli (eds). **Handbook of Malaria Infection in the Tropics**, 1st edn. Associazione Italiana “Amici di R. Follereau”: Bologna, pp. 17 – 23. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Alberto_Matteelli/publication/265620999_Chapter_2_Life_cycle_of_malaria_parasites/links/54be1c0a0cf218d4a16a4d5a.pdf>. Acesso em 06 mai. 2019.
- Matos MR. 2000. **Malária em São Paulo: epidemiologia e história**. São Paulo, Hucitec. 109p.
- Neves DP. 2016. **Parasitologia Humana**. 13 ed. São Paulo: Atheneu.
- Reis JRF. 2010. **O coração do Brasil bate nas ruas: a luta pela redemocratização do país**. In: Ponte CF, Falleiros I (Org.). **Na corda bamba de sombrinha: a saúde no**

fio da história. Rio de Janeiro: FIOCRUZ.COC. p. 219-236.

Rey L. 2008. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 4ª ed. 883p.

Sampaio MARD. 1872. **Prophylaxia da infecção palustre**. Imprensa Portugueza: Porto. 122p.

Souza Junior M de A, Lacruz MSP. 2015. **Sensoriamento Remoto para seca/estiagem**. In: Sausen TM, Lacruz MSP (Org.). Sensoriamento remoto para desastres. São Paulo: Oficina de Textos. 66p.

Weber BT. 1999. **As artes de curar: medicina, religião, magia e positivismo na República Rio-Grandense-1889-1928**. Santa Maria: EDUSC. 250p.

REFERÊNCIAS VIRTUAIS

BBM - Biblioteca Borges de Medeiros. **Revolução Federalista**. 2019. Disponível em: <<http://www2.al.rs.gov.br/biblioteca/Publica%C3%A7%C3%B5esTem%C3%A1ticas/Revolu%C3%A7%C3%A3oFederalista/tabid/6477/Default.aspx>>. Acesso em: 22 dez. 2019.

Biblioteca Nacional Digital – Brasil. **Hemeroteca Digital Brasileira**. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/hdb/periodico.aspx>>, acesso em 2020 e 2021.

Brasil, Ministério da Saúde. **Situação Epidemiológica da Malária**. 2018.

Brasil, MS - Ministério da Saúde. **Site oficial do Ministério da Saúde**. 2019. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/>>, acesso em 15 ago. 2019.

Brasil, MS - Ministério da Saúde, Datasus. **Tabulações da Vigilância Epidemiológica – CEVS/SES/RS. TABNET. Período de 1999 a 2006**. 2020a. Disponível em: <<http://200.198.173.165/scripts/deftohtm.exe?swin/malarsw>>. Acesso em 21 nov 2020.

Brasil, MS - Ministério da Saúde, Datasus. **Doenças e Agravos de Notificação - 2007 em diante (SINAN). Malária**. 2020b. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/malars.def>>. Acesso em 21 nov 2020.

Brasil, MS - Ministério da Saúde, SINAN. **O SINAN**. 2020. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/>>, acesso em 28 nov 2020.

Brasil, MS - Ministério da Saúde. **Malária**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/m/malaria#:~:text=Situa%C3%A7%C3%A3o%20epidemiol%C3%B3gica%20da%20mal%C3%A1ria&text=De%20acordo%20com%20a%20Organiza%C3%A7%C3%A3o,405%20mil%20%C3%B3bitos%20por%20mal%C3%A1ria.>>, acesso em 01 jun 2021.

Brasiliiana Fotográfica Digital. **O sanitaria Belisário Penna (1868-1939), um dos protagonistas da história da saúde pública no Brasil**. 2019. Disponível em: <<http://brasilianafotografica.bn.br/?p=12777>>, acessado em 22 dez 2019.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Malaria**. 2019. Disponível em

<<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>>, acesso em 06 mai. 2019.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Public Health Image Library (PHIL)**. 2021. Disponível em: <<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=7862>>, acesso em 30 abr 2021.

Don Pedro de Alcântara. **Site Oficial da Prefeitura de Don Pedro de Alcântara. O Município. Histórico. Os alemães e a Cachaça**. 2019. Disponível em: <<https://www.dompedrodealcantara.rs.gov.br/index.php/o-municipio/2011-08-15-05-52-35/historico>>, acesso em 22 dez. 2019.

Eldorado do Sul. **Site Oficial da Prefeitura Municipal de Eldorado do Sul**. 2019. Disponível em: <<http://eldorado.rs.gov.br/>>. Acesso em 19 fev. 2019.

FEPAM. **Parque Estadual Delta do Jacuí**. 2019. <<https://www.sema.rs.gov.br/parque-estadual-delta-do-jacui>> Acesso em 19 fev. 2019.

Florianópolis. **Site Oficial da Prefeitura de Florianópolis**. Secretaria Municipal de Turismo, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico. História. 2020. Disponível em: <<http://www.pmf.sc.gov.br/entidades/turismo/index.php?cms=historia&menu=5>>, acesso em 06 jan 2020.

Frazão D. **E-biografia: Adolfo Lutz**. 2020. Atualizado em 20/10/2020. Disponível em: <https://www.ebiografia.com/adolfo_lutz/>, acesso em 28 jul 2021.

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. **Antecedentes Históricos da Funasa – SUCAM**. 2020. Disponível em: <<http://www.funasa.gov.br/web/guest/antecedentes-historicos-da-funasa?inheritRedirect=true>>, acesso em 28 nov 2020.

Harbach RE. **Mosquito Taxonomic Inventory**. 2019. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>>, acesso em 25 fev. 2019.

IBF – Instituto Brasileiro de Florestas. **Bioma Mata Atlântica**. 2020. Disponível em: <<https://www.ibflorestas.org.br/bioma-mata-atlantica>>, acesso em 27 jun 2020.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Site oficial**. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/>>, acesso em 08 set 2020.

Leite CRS da C. **“A Federação”, um jornal que fez história**. 2016. Site oficial “Observatório da Imprensa”. Disponível em: <<http://www.observatoriodaimprensa.com.br/memoria/federacao-um-jornal-que-fez-historia/>>, acesso em 10 jul 2021.

Matteelli A, Castelli F. **Life cycle of malaria parasites**. 1997. In: G Carosi, F Castelli (eds). Handbook of Malaria Infection in the Tropics, 1st edn. Associazione Italiana “Amici di R. Follereau”: Bologna, pp. 17 – 23. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Alberto_Matteelli/publication/265620999_Chapter_2_Life_cycle_of_malaria_parasites/links/54be1c0a0cf218d4a16a4d5a.pdf>. Acesso em 06 mai. 2019.

Morro Reuter. **Site Oficial da Prefeitura Municipal de Morro Reuter**. 2019a. Disponível em: <<https://www.morroreuter.rs.gov.br/web/dados-gerais>>, acesso em 12 abr. 2019.

Morro Reuter. **Plano Municipal de Saneamento Básico**. 2019b. Disponível em: <http://www.cespro.com.br/7676/7676_2013_L1401_01.pdf>, acesso em 12 abr.

2019.

ONU – Organização das Nações Unidas. **Site Oficial**. 2021. Disponível em: <<https://www.un.org/es/about-us/history-of-the-un>>, acesso em 14 jul 2021.

OPAS - Organização Pan-Americana de Saúde. **Malária**. 2019. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5287:mal-aria-2&Itemid=875>, acesso em 10 set. 2019.

Rio Grande do Sul, SES - Secretaria Estadual de Saúde. **Malária**. 2019. Disponível em <<https://saude.rs.gov.br/malaria>>, acesso em 28 set. 2019.

Rio Grande do Sul, SES - Secretaria Estadual de Saúde, CEVS - Centro Estadual de Vigilância em Saúde. **Distribuição das espécies de Anophelinae no Rio Grande do Sul**. 2021. Disponível em: <https://cevs.rs.gov.br/_service/previa/distribuicao-das-especies-de-anophelinae-no-rio-grande-do-sul?user=SES%2F1348523&signature=Doe%2BfGEnWvKx1JAyxutTM4dGK9orcKEVP4XOwsYOlg8l4FtFLMo6DivP9tWu%2FM0CzXQuGJgtdVUnWbfDuNMr2NUBGDUf01yh9Ay0dJ4HAVOaV%2BHH7csrfEhiLnX%2FM0VbAugISO3xOZZ0QwCewkeQ7MImObMiHqYmNcsbxvfSxE%2FEPQTohfNFTuNsBPB2QqVzfabUIH%2BwecXrkZYJcDTmn4BrQd0etgSTFQG4wryb2VMSEhoT3jjzGvDffdFqJq5HEliqeDuNK2lfc1rdWN%2BI75l6fmocXXyrenDOMD7hEYhlMy9Ocn7YtUmqT9QfpUyCMUNjDj2KMJLAN4GjZRSdQ%3D%3D>, acesso em 25 mai. 2021.

SOSMA - SOS Mata Atlântica. **Atlas da Mata Atlântica**. 2019. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/historico/>>. Acesso em 05 fev. 2019.

The Nobel Prize. **All Nobel Prizes in Physiology or Medicine**. 2021. Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-laureates-in-physiology-or-medicine>>, acesso em 31 mai 2021.

Três Cachoeiras. **Site Oficial da Prefeitura Municipal de Três Cachoeiras**. 2019. Disponível em: <<http://www.trescachoeiras.rs.gov.br/index.php/outros-servicos>>, acesso em 08 ago. 2019.

USGS. Site oficial da USGS – Science for a changing world. 2021. Disponível em: <<https://earthexplorer.usgs.gov/>>, acesso em 04 jul 2021.

WHO - World Health Organization. **World Malaria Report 2020**. 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>>, acesso em 10 ago 2020.

WHO - World Health Organization. **History of WHO**. 2021a. Disponível em: <<https://www.who.int/about/who-we-are/history>>, acesso em 14 jul 2021.

WHO - World Health Organization. **Former Director-General**. 2021b. Disponível em: <<https://www.who.int/director-general/who-headquarters-leadership-team/former-directors-general>>, acesso em 14 jul 2021.

REFERÊNCIAS LEGAIS

Leis:

Brasil. Lei nº 1.920, de 25 de julho de 1953. Cria o Ministério da Saúde e dá outras providências.

Brasil. Lei Nº 2.743, de 6 de março de 1956. Cria o Departamento Nacional de Endemias Rurais no Ministério da Saúde e dá outras providências.

Brasil. Lei nº 4.709, de 28 de junho de 1965. Altera a Lei nº 2.743, de 6 de março de 1956, e cria a Campanha de Erradicação da Malária.

Brasil. Lei nº 8.029, de 12 de abril de 1990. Dispõe sobre a extinção e dissolução de entidades da administração Pública Federal, e dá outras providências.

Brasil. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências.

Rio Grande do Sul. Lei Estadual nº 4.691, de 26 de dezembro de 1963. Cria o município de Mostardas.

Rio Grande do Sul. Lei Estadual nº 8.578, de 29 de abril de 1988. Cria o município de Três Cachoeiras.

Rio Grande do Sul. Lei Estadual nº 9.597, de 20 de março de 1992. Cria o município de Três Forquilhas.

Rio Grande do Sul. Lei Estadual nº 10.647, de 28 de dezembro de 1995. Cria o município de Don Pedro de Alcântara.

Decretos:

Brasil. Decreto nº 20.931, de 11 de janeiro de 1932. Regula e fiscaliza o exercício da medicina, da odontologia, da medicina veterinária e das profissões de farmacêutico, parteira e enfermeira, no Brasil, e estabelece penas.

Brasil. Decreto 21.712, de 27 de agosto de 1946. Aprova o Regimento do Serviço Nacional de Malária do Departamento Nacional de Saúde, do Ministério da Educação e Saúde.

Brasil. Decreto nº 43.174, de 04 de fevereiro de 1958. Institui Grupo de Trabalho do Departamento Nacional de Endemias Rurais, do Ministério da Saúde, para erradicação da malária no País.

Brasil. Decreto nº 64.061, de 4 de fevereiro de 1969. Dispõe, em caráter provisório, sobre a organização do Ministério da Saúde e dá outras providências.

Brasil. Decreto nº 66.580, de 15 de maio de 1970. Concede autonomia administrativa e financeira à Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, e dá outras providências.

Brasil. Decreto nº 66.623, de 22 de maio de 1970. Dispõe sobre a organização administrativa do Ministério da Saúde, e dá outras providências.

Brasil. Decreto nº 100, de 16 de abril de 1991. Institui a Fundação Nacional de Saúde e dá outras providências.

Brasil. Decreto nº 4.726, de 9 de junho de 2003. Aprova a Estrutura Regimental e o Quadro Demonstrativo dos Cargos em Comissão e das Funções Gratificadas do Ministério da Saúde, e dá outras providências.

Brasil. Decreto nº 7.530, de 21 de julho de 2011. Aprova a Estrutura Regimental e o Quadro Demonstrativo dos Cargos em Comissão e das Funções Gratificadas do Ministério da Saúde.

Brasil. Decreto nº 9.795, de 17 de maio de 2019. Aprova a Estrutura Regimental e o Quadro Demonstrativo dos Cargos em Comissão e das Funções de Confiança do Ministério da Saúde, remaneja cargos em comissão e funções de confiança, transforma funções de confiança e substitui cargos em comissão do Grupo-Direção e Assessoramento Superiores - DAS por Funções Comissionadas do Poder Executivo - FCPE.

Rio Grande do Sul. Decreto nº 7.481, de 17 de setembro de 1938. Reorganiza os serviços de Higiene e Saúde Pública do Estado.

Rio Grande do Sul. Decreto 7.558, de 11 de novembro de 1938. Aprova o Regulamento do Departamento Estadual de Saúde.

Decreto-Lei:

Brasil. Decreto-lei nº 3.171, de 2 de abril de 1941. Reorganiza o Departamento Nacional de Saúde, do Ministério da Educação e Saúde, e dá outras providências.

Portarias:

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.932, de 09 de outubro de 2003. Institui o Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária, o Comitê Técnico de Acompanhamento e Assessoramento do Programa e dá outras providências.

REFERÊNCIAS DOCUMENTAIS

Biblioteca Nacional Digital (BNDigital):

Imagens de jornais:

Jornal "A Federação". N. 170. Porto Alegre, 25 de julho de 1900. Propaganda do Elixir de Vanadato de Sódio. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pesq=&pagfis=11962>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "A Opinião Pública". N. 38. Pelotas, 14 de fevereiro de 1908. Propaganda do

Elixir Esthenol Granado. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=123340&pesq=&pagfis=8>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "A Federação". N. 146. Porto Alegre, 25 de junho de 1910. Propaganda do Licor Arnoux. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pesq=&pagfis=17071>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "A Federação". N. 162. Porto Alegre, 16 de julho de 1921. Propaganda do tônico Vitamonal. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=388653&pagfis=46607>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "Jornal do Dia". N. 999. Porto Alegre, 23 de maio de 1950. Matéria: Combate à malária, em São Borja. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&pagfis=8084>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "Jornal do Dia". N. 1004. Porto Alegre, 28 de maio de 1950. Matéria: Confirmada a existência de um surto epidêmico de malária em Saõ Borja. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&pagfis=8130>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "Diario de Noticias". N. 203. Porto Alegre, 28 de outubro de 1969. Matéria: Governo quer em 70 o Brasil sem malária. Disponível em: <http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=093726_04&pasta=ano%20196&pesq=&pagfis=59732>, acesso em 10 ago 2021.

Matérias em jornais:

Jornal "A Federação". N. 104. Porto Alegre, 08 de maio de 1900. Matéria: Directoria de Hygiene - Boletim de estatística demógrafa-sanitária da cidade de Porto Alegre, de 16 a 30 de abril de 1900. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pasta=ano%20190&pesq=&pagfis=11696>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "O Pioneiro". N. 174. Porto Alegre, 09 e 10 de julho de 1988. Matéria: sem título. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=885959&pagfis=114237>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "A Opinião Publica". N. 283. Pelotas, 14 de dezembro de 1910. Propaganda do Licor Arnoux. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=123340&pesq=&pagfis=1478>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal "Correio Rio-grandense". N. 027. Caxias do Sul, 14 de julho de 1965. Matéria: Erradicação Da Malária. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=882054&pesq=&pagfis=6658>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Diário do Nordeste”. N. 220. Caxias do Sul, 20 de fevereiro de 1952. Matéria: Estatísticas... Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=882313&pasta=ano%20195&pesq=paludismo&pagfis=1683>>, acesso em 20 jul 2021.

Jornal “A Federação”. N. 263. Porto Alegre, 17 de novembro de 1921. Matéria: Relatório apresentado ao Conselho Municipal pelo intendente Engenheiro José Montauray de Aguiar Leitão, na sessão ordinária de 1921. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pesq=&pagfis=47373>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “A Federação”. N. 264. Porto Alegre, 16 de novembro de 1922. Matéria: Relatório E Projecto de orçamento para o exercício de 1923 apresentado ao Conselho Municipal pelo intendente Engenheiro José Montauray de Aguiar Leitão, na sessão ordinária de 1922. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pesq=&pagfis=49832>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “A Federação”. N. 046. Porto Alegre, 23 de fevereiro de 1929. Matéria: O Emprego da malario-therapia na paralysya geral. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=388653&pesq=&pagfis=66009>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “A Federação”. N. 117. Porto Alegre, 21 de maio de 1932. Matéria: O Impaludismo no Rio Grande. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=388653&Pesq=impaludismo&pagfis=71228>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Staffetta Riograndense”. N. 06. Garibaldi, 08 de fevereiro de 1933. Matéria: Garibaldi. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=882038&pesq=&pagfis=3220>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Dia”. N. 1236(1). Porto Alegre, 09 de março de 1951. Matéria: serviço de profilaxia de doenças transmissíveis. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&Pesq=malaria&pagfis=10251>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Dia”. N. 1266. Porto Alegre, 14 de abril de 1951. Matéria: Doenças Transmissíveis – Casos confirmados no Estado do Rio Grande do Sul no mês de janeiro de 1951. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&Pesq=malaria&pagfis=10541>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Dia”. N. 322. Porto Alegre, 19 de fevereiro de 1948. Matéria: Doenças Transmissíveis. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&pagfis=2209>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Comercio”. N. 087 (1). Rio de Janeiro, 13 de janeiro de 1960. Matéria: O Ponto IV ajuda a campanha para erradicar malária – Assinatura de convênio, hoje, à tarde. Disponível em: <http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=364568_15&pesq=%22Mario%20Pinotti%22;%20%22erradicar%22&pasta=ano%20196&pagfis=201>, acesso em 10 ago 2021.

em 10 ago 2021.

Jornal “Diario de Noticias”. N. 001. Porto Alegre, 1º de março de 1958. Matéria: Extinção total da malária no Brasil dentro de quatro anos – Firmado convênio com o Ponto IV. Arquivo D.A Press Disponível em: <http://memoria.bn.br/DocReader/docreader.aspx?bib=093726_03&pasta=ano%20195&pesq=&pagfis=20288>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Dia”. N. 4536. Porto Alegre, 31 de março de 1962. Matéria: Lamaison: malária será erradicada. Disponível em: <<http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=098230&Pesq=malaria&pagfis=48142>>, acesso em 10 ago 2021.

Jornal “Jornal do Comercio”. N. 185. Rio de Janeiro, 14 de maio de 1964. Matéria: Malária erradicada até 1971, promete emb. L. Gordon. Disponível em: <http://memoria.bn.br/DocReader/DocReader.aspx?bib=364568_15&pesq=%22malaria%20erradicada%22&pasta=ano%20196&pagfis=28721>, acesso em 10 ago 2021.

Arquivo histórico da faculdade de medicina:

Registro de professores da Faculdade de Medicina de Porto Alegre - Pasta B1 – Basil Sefton

Documentos Gerais:

Bonow, Germano. **[Discurso]**. 2010 dez. 8. Discurso proferido em Plenário da Câmara dos Deputados na seção 216.4.53.O. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/internet/SitaqWeb/TextoHTML.asp?etapa=5&nuSessao=216.4.53.O&nuQuarto=7&nuOrador=2&nuInsercao=0&dtHorarioQuarto=14:12&sgFaseSessao=PE&Data=08/12/2010>>, acesso em 12 jul 2021.

Brasil. 1918. **Anais da Câmara dos deputados de 08 ago de 1918**. Projeto nº 172. P. 22 do arquivo, p. 329-330 do documento. Disponível em: <https://imagem.camara.leg.br/diarios.asp?selCodColecaoCsv=A>

Brasil, Ministério da Saúde. 1963. **Anais da III Conferência Nacional de Saúde**. Rio de Janeiro, Brasil.

Brasil, Ministério da Saúde. 1977. **Relatório final da VI Conferência Nacional de Saúde**. Brasília.

Brasil, Ministério da Saúde, SUCAM. 1981. **Relatório de atividades SUCAM 1981**. Brasília.

CPDOC/FGV - Centro de Pesquisa e Documentação de História Contemporânea do Brasil / Fundação Getúlio Vargas. 2019. Verbetes. Primeira República. **BATISTA, Álvaro**. Disponível em: < <<https://cpdoc.fgv.br/sites/default/files/verbetes/primeira-republica/BATISTA,%20%C3%81lvaro.pdf>>, acesso em: 22 dez. 2019.

CPDOC/FGV - Centro de Pesquisa e Documentação de História Contemporânea do

Brasil / Fundação Getúlio Vargas. 2020a. Verbetes. Primeira República. **PINOTTI, Mario**. Disponível em: <https://cpdoc.fgv.br/producao/dossies/AEraVargas2/biografias/Mario_Pinotti>, acesso em: 20 jan. 2020.

CPDOC/FGV - Centro de Pesquisa e Documentação de História Contemporânea do Brasil / Fundação Getúlio Vargas. 2020b. Verbetes. Primeira República. CMA mes d 1947.00.00. Relação das atividades dos diversos setores do Ministério da Educação e Saúde, no período de 1947-1950. p. 541–543. **Relatório de Atividades do Serviço Nacional de Malária no Estado do Rio Grande do Sul. 1949/1950**. Fls. 1 – 3. Disponível em: <<http://fgv.br/CPDOC/BUSCA/arquivo-pessoal/CMA/textual/relacao-das-atividades-dos-diversos-setores-do-ministerio-da-educacao-e-saude-no-periodo-de-1947-1950-dividida-em-educacao-setor-de-difusao-cultur>>, acesso em: 20 jan. 2020.

CPDOC/FGV - Centro de Pesquisa e Documentação de História Contemporânea do Brasil / Fundação Getúlio Vargas. 2021. Verbetes. Verbetes biográfico. **CAPANEMA, Gustavo**. Disponível em: <<http://www.fgv.br/cpdoc/acervo/dicionarios/verbetes-biografico/gustavo-capanema-filho>>, acesso em 28 jan 2021.

OMS/OPAS. 1954. **Anais da XIV Conferencia Sanitaria Panamericana e VI Reunión Comite Regional**. Tema 32: Erradicación de la Malaria em las Americas. Santiago, Chile. 37p.

Revista Archivos Rio-Grandenses de Medicina. Anno 1, num. 1. Porto Alegre, janeiro de 1920. **Noticiario**. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/riograndemed/article/view/21854/12668>.

Rio Grande do Sul. Departamento Estadual de Saúde. 1942. **Relatório apresentado ao Exmo. Snr. Gal. Osvaldo Cordeiro de Farias, Interventor Federal no Rio Grande do Sul, em fevereiro de 1942, pelo Dr. José Bonifácio Paranhos da Costa, Diretor Geral do Departamento Estadual de Saúde, compreendendo o período administrativo de 1939 a 1941**. Porto Alegre, Oficinas Gráficas da Imprensa Oficial, 1942. p. 12-15. [AHRS - SES-3.004].

Rocha, FJ da. 1886. **Relatório apresentado à Assembléia Legislativa Provincial de Santa Catharina**. Desterro: Typ. do Conservador. Disponível em: <<http://brazil.crl.edu/bsd/bsd/971/>>. Acesso em: 05 jan. 2020. p. 121.

WHO. 1956. **Sexto Informe do Comitê de Malária da OMS**. Atenas, Grécia. 95p.