

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Dinâmica espaço-temporal da febre amarela silvestre na Mata Atlântica

Amanda Francischetto Colodetti

Vitória, ES
Janeiro, 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Dinâmica espaço-temporal da febre amarela silvestre na Mata Atlântica

Amanda Francischetto Colodetti

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Lucena Mendes

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do
Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau
de Doutor em Biologia Animal

Vitória, ES
Janeiro, 2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

C718d Colodetti, Amanda Francischetto, 1988-
Dinâmica espaço-temporal da febre amarela silvestre na Mata
Atlântica / Amanda Francischetto Colodetti. - 2024.
95 f. : il.

Orientador: Sérgio Lucena Mendes.
Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Primatas. 2. Ecologia. 3. Zoonoses. 4. Epidemiologia. 5.
Biodiversidade - Conservação. I. Mendes, Sérgio Lucena. II.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57



Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas UNIVERSIDADE FEDERAL DO
ESPÍRITO SANTO

Amanda Francischetto Colodetti

**“Dinâmica espaço-temporal da febre amarela silvestre na
Mata Atlântica”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora em Biologia Animal.

Aprovada em 15 de janeiro de 2024.

Comissão Examinadora:

Prof. Sérgio Lucena Mendes (UFES)
Orientador e Presidente da Comissão

Profa. Dra. Ana Carolina Loss Rodrigues (UFES)
Examinadora Interna

Prof. Dr. Yuri Luiz Reis Leite (UFES)
Examinador Interno

Profa. Dra. Cibele Rodrigues Bonvicino (Fiocruz)
Examinadora Externa

Prof. Dr. Marco Antônio Barreto de Almeida (OPAS)
Examinador Externo



**Folha de Aprovação - Amanda Francischetto Colodetti**

Data e Hora de Criação: 17/01/2024 às 07:59:00

Documentos que originaram esse envelope:

- Folha de Aprovação - Amanda Francischetto Colodetti.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)

**Hashs únicas referente à esse envelope de documentos**

[SHA256]: bab26ffb7483528843d98caee6766b0a7a31af869f8bf1506bc923e857840a1e

[SHA512]: a1b05f9316273043525286ad4f5529ff9a90832fbf22916b19e30cc2c6c320f9b407650e8ebe89b587f5528e3865fe0d34980240969eb318d4c40330427dfed

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope**ASSINADO - Ana Carolina Loss Rodrigues (carol.loss@gmail.com)**

Data/Hora: 17/01/2024 - 10:30:37, IP: 200.137.65.103, Geolocalização: [-20.274864, -40.305019]

[SHA256]: 57f822cdefcb606f975434a3e73826caf7c22d95339a7847283df4d1f7d7f9c

**ASSINADO - Cibele Rodrigues Bonvicino (cibele.bonvicino@gmail.com)**

Data/Hora: 17/01/2024 - 10:12:12, IP: 157.86.136.214, Geolocalização: [-22.875813, -43.246353]

[SHA256]: 5627c6eb5b82ae2db65c9976bbbed45329fee16a430f534f17a9494c1879a873

**ASSINADO - Marco Antônio Barreto de Almeida (mabalmeida@gmail.com)**

Data/Hora: 17/01/2024 - 08:10:56, IP: 189.6.80.87, Geolocalização: [-15.774203, -47.889906]

[SHA256]: 8752d89a70c811f5f83e99dc98402639a017b56caaf0fc54ac55041c81b72a20

**ASSINADO - Sérgio Lucena Mendes (slmendes1@gmail.com)**

Data/Hora: 17/01/2024 - 09:51:49, IP: 200.137.88.3, Geolocalização: [-19.933746, -40.604008]

[SHA256]: e6cb6d0cf925e58747f2cfea9bd8cfd7010c2b242c4262d9ed29d65a86fdc7fc

**ASSINADO - Yuri Luiz Reis Leite (yuri_leite@yahoo.com)**

Data/Hora: 17/01/2024 - 12:10:18, IP: 200.137.65.103, Geolocalização: [-20.275016, -40.304954]

[SHA256]: 33bd97067356d6c5486fd34ecf2a3c91c859c7002b398b038895c7a6987de2fe

Histórico de eventos registrados neste envelope

17/01/2024 12:10:18 - Envelope finalizado por yuri_leite@yahoo.com, IP 200.137.65.103

17/01/2024 12:10:18 - Assinatura realizada por yuri_leite@yahoo.com, IP 200.137.65.103

17/01/2024 10:30:37 - Assinatura realizada por carol.loss@gmail.com, IP 200.137.65.103

17/01/2024 10:30:30 - Envelope visualizado por carol.loss@gmail.com, IP 200.137.65.103

17/01/2024 10:12:12 - Assinatura realizada por cibele.bonvicino@gmail.com, IP 157.86.136.214

17/01/2024 09:51:49 - Assinatura realizada por slmendes1@gmail.com, IP 200.137.88.3

17/01/2024 09:50:41 - Envelope visualizado por slmendes1@gmail.com, IP 200.137.88.3

17/01/2024 08:10:56 - Assinatura realizada por mabalmeida@gmail.com, IP 189.6.80.87

17/01/2024 08:10:35 - Envelope visualizado por mabalmeida@gmail.com, IP 189.6.80.87

17/01/2024 08:00:22 - Envelope registrado na Blockchain por tais.lorencon@ufes.br, IP 200.137.65.107

17/01/2024 08:00:21 - Envelope encaminhado para assinaturas por tais.lorencon@ufes.br, IP 200.137.65.107

17/01/2024 07:59:00 - Envelope criado por tais.lorencon@ufes.br, IP 200.137.65.107

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível porque muitas pessoas contribuíram para a realização dele. E aqui quero expressar, de forma limitada, mas como me é possível, meu profundo agradecimento.

Ao meu Bom Deus, Nosso Senhor Jesus Cristo, que com Amor infinito colocou todas essas pessoas no meu caminho e me permitiu concluir esta etapa da minha vida.

A minha família, que tudo fez e faz por mim, por tão grande amor: meu esposo Thiago, minha mãe Silnária, meu pai José Valentim e meu irmão Diego.

Ao meu orientador Sérgio que me concedeu a oportunidade de realizar o doutorado e viver essa experiência de formação e desenvolvimento pessoal, com o qual muito aprendi ao longo desses muitos anos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal – PPGBAN que contribuíram para minha formação ao longo de todo o curso. E também a todos os servidores e funcionários da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES.

A toda a equipe e colaboradores do projeto “Aspectos ecológicos do surto de febre amarela silvestre no Espírito Santo – Sentinelas da Mata”: professores da UFES e de outras instituições, bolsistas, alunos do Laboratório de Biologia da Conservação de Vertebrados – LBCV e de outros laboratórios, inúmeros voluntários, enfim, todos que contribuíram com a força tarefa que foi feita nesse projeto.

A todas as instituições que de alguma forma estiveram envolvidas nas muitas etapas desse processo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, através da concessão da bolsa de estudos durante o doutorado. Também recebeu o apoio das instituições que possibilitaram a implementação do projeto “Aspectos ecológicos do surto de febre amarela silvestre no Espírito Santo – Sentinelas da Mata”: o Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Espírito Santo – IEMA e a Secretaria Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Espírito Santo – SEAMA, pelo financiamento; e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES, pela implementação dos recursos. E das instituições que contribuíram para a execução do projeto: a Secretaria Estadual de Saúde do Espírito Santo – SESA-ES e as Vigilâncias Epidemiológicas Municipais, pela parceria através da qual foi possível obter os dados das epizootias de primatas não humanos de todo o estado; o Instituto Nacional da Mata Atlântica – INMA, que contribuiu com a logística na fase de

processamento dos animais coletados; e o Laboratório de Vírus da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, que contribuiu com a análise de detecção do vírus da febre amarela nas amostras biológicas coletadas pelo projeto.

Ao Gilton Luiz Almada, por me ceder os dados dos resultados dos exames para febre amarela das amostras biológicas dos animais coletados no estado do Espírito Santo pela SESA-ES.

A todos os servidores das Vigilâncias Epidemiológicas Municipais do estado do Espírito Santo que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho. Aqueles com os quais entrei em contato para solicitar dados ou pedir que recebessem nossa equipe nos municípios, os que auxiliaram o resgate de dados em campo, aqueles responsáveis por registrar as epizootias que eram notificadas pela população, os que coletaram as amostras biológicas dos animais para a análise viral, enfim, foram muitos e agradeço a todos.

Ao Maurício Vancine por disponibilizar no GitLab o código em linguagem R para o cálculo de métricas de paisagem, o qual tomei como base em parte de minhas análises.

Aos membros da banca examinadora que se dispuseram a avaliar o trabalho e contribuir com a melhoria do mesmo.

A todos o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
CAPÍTULO I – Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos da Mata Atlântica durante o surto de febre amarela no estado do Espírito Santo entre 2016 e 2018.....	14
RESUMO.....	15
I. INTRODUÇÃO.....	16
II. METODOLOGIA.....	18
2.1 Local do estudo.....	18
2.2 Dados.....	19
2.2.1 Coleta.....	19
(a) Epizootias de primatas não humanos.....	19
(b) Municípios com casos humanos de febre amarela.....	20
(c) Camadas de dados espaciais.....	20
2.2.2 Processamento de dados pós coleta.....	20
(a) Eliminação de epizootias duplicadas.....	20
(b) União de epizootias associadas.....	20
(c) Data das epizootias.....	21
(d) Epizootias de febre amarela e circulação viral.....	22
(e) Classificação das epizootias em área rural e urbana.....	22
(f) Confecção do banco de dados geral.....	22
2.3 Análises.....	23
2.3.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos.....	23
2.3.2 Primatas não humanos participantes do surto.....	23
(a) Persistência dos eventos epizooticos nos dois ciclos da doença.....	23
(b) Ocorrência das epizootias em área rural e urbana.....	24
(c) Proximidade entre os pontos de ocorrência de epizootias em área urbana com as áreas edificadas e de mata nativa.....	24
III. RESULTADOS.....	24
3.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos.....	24
3.1.1 Distribuição espacial.....	24
3.1.2 Distribuição temporal.....	26
3.1.3 Dispersão espaço-temporal.....	28
3.2 Primatas não humanos participantes do surto.....	31
3.2.1 Persistência dos eventos epizooticos nos dois ciclos da doença.....	31
3.2.2 Ocorrência das epizootias em área rural e urbana.....	33
3.2.3. Proximidade entre os pontos de ocorrência de epizootias em área urbana com as áreas edificadas e de mata nativa.....	33
IV. DISCUSSÃO.....	35
4.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos.....	35
4.2 Primatas não humanos participantes do surto.....	41
V. CONCLUSÃO.....	45
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

VII. APÊNDICES.....	55
Apêndice A.....	55
Apêndice B.....	57

CAPÍTULO II – Influência da estrutura da paisagem na dispersão das epizootias de *Alouatta guariba* durante o surto de febre amarela na Mata Atlântica.....59

RESUMO.....	60
I. INTRODUÇÃO.....	61
II. METODOLOGIA.....	62
2.1 Local do estudo.....	62
2.2 Dados.....	63
2.2.1 Variável resposta.....	63
2.2.1.1 Registros de epizootias.....	64
2.2.1.2 <i>Delimitação da variável resposta</i>	64
i. <i>Presença de epizootia</i>	64
ii. <i>Ausência de epizootia</i>	64
2.2.2 Variáveis explicativas.....	65
2.3 Escalas espaciais de análise – unidades amostrais.....	67
2.3.1 Critérios para definição do tamanho das unidades amostrais.....	67
2.3.2 Uso de diferentes formatos.....	68
2.3.3 Processo de confecção.....	68
2.3.3.1. Buffer circular.....	68
2.3.3.2 Malha de grade.....	69
2.4 Análise.....	70
2.4.1 Autocorrelação espacial.....	70
2.4.2 Correlação.....	70
2.4.3 Dados ausentes.....	71
2.4.4 Modelagem.....	71
2.4.4.1 Definição do modelo adequado.....	71
2.4.4.2 Processo de modelagem.....	72
III. RESULTADOS.....	73
3.1 Autocorrelação Espacial.....	73
3.2 Correlação.....	75
3.3 Modelagem.....	76
IV. DISCUSSÃO.....	78
V. CONCLUSÃO.....	83
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
VII. APÊNDICES.....	91
Apêndice A.....	91
Apêndice B.....	92

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Número de epizootias e indivíduos de primata não humano de acordo com a classificação da data dos registros e da presença da coordenada geográfica.....	25
Tabela 2: Espécies de primata não humanos afetadas durante o surto de febre amarela no Espírito Santo, entre os anos de 2016 e 2018.....	32
Tabela 3: Número de epizootias de PNH nas áreas rural e urbana e nos Ciclos 1 e 2 de acordo com o gênero.....	32

CAPÍTULO II

Tabela 1: Representação matemática do cálculo das variáveis explicativas.....	66
Tabela 2: Escalas espaciais de análise: descrição das unidades amostrais.....	68
Tabela 3: Modelos finais obtidos após a simplificação passo a passo do modelo saturado	76

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Classificação das epizootias quanto ao registros das datas.....	21
Figura 2: (A) Municípios do estado do Espírito Santo com epizootias de primatas não humanos durante o surto de febre amarela em 2016-2018. (B) Número de epizootias por município.....	25
Figura 3: Distribuição temporal das epizootias de primatas não humanos durante os dois ciclos do surto de febre amarela no estado do Espírito Santo entre os anos de 2016 e 2018.....	27
Figura 4: Avanço espacial das epizootias de primatas não humanos ao longo de todo o surto de febre amarela no Espírito Santo.....	29
Figura 5: Número de epizootias de PNH nas áreas rural e urbana e nos Ciclos 1 e 2 de acordo com o gênero.....	33
Figura 6: Gráfico de dispersão das epizootias em função da distância da área edificada (eixo x) e da mata nativa (eixo y) em área rural (ponto preto) e urbana (círculo vermelho) nos diferentes gêneros de primata não humano afetados durante o surto de febre amarela no ES entre 2016 e 2018.....	34
Figura 7: Gráfico de caixas representando a Distância de Área Edificada (DAE) e a Distância de Mata Nativa (DMN) das epizootias em área urbana dos gêneros de primatas não humanos.....	34

CAPÍTULO II

Figura 1: Mapa do local do estudo.....	63
Figura 2: Ilustração das unidades amostrais utilizadas no estudo.....	68
Figura 3: Índice de Moran.....	74
Figura 4: Matriz de correlação de Pearson dos dados das diferentes escalas de análise	75
Figura 5: Curvas de resposta parcial da variável presença/ausência de epizootias em função das variáveis explicativas significativas ($p > 0,05$) mantidas nos modelos finais de cada escala.....	77
Figura 6: Contribuição das variáveis na variância explicada pelo modelo final.....	78

RESUMO

A emergência da febre amarela no Sudeste do Brasil no final de 2016 deu início ao maior surto epidemiológico das últimas décadas. Apesar de já ter ocorrido no Espírito Santo (ES), há mais de meio século o estado não registrava casos. A febre amarela é uma virose que tem como hospedeiro os primatas e é transmitida por mosquitos. Tanto primatas humanos quanto primatas não humanos (PNH) são acometidos, em diferentes ciclos de transmissão. No Brasil considera-se que somente o ciclo silvestre ocorra atualmente, envolvendo os mosquitos silvestre dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e os PNH dos gêneros *Alouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Callicebus*, *Callithrix*, *Saimiri* e *Sapajus*. Nesse ciclo o homem é contaminado acidentalmente ao entrar na floresta. Neste trabalho analisamos a dinâmica das epizootias de PNH durante o surto de 2016-2018 na Mata Atlântica, numa região antes considerada livre da doença. No *Capítulo I* buscamos compreender o padrão da dispersão espaço-temporal e a participação dos PNH no surto, verificando a relação deles com a persistência do surto, a ocorrência de epizootias em área rural e urbana e a proximidade com as áreas edificadas. A dispersão inicial foi silenciosa e as epizootias foram detectadas quando já estavam distribuídas por grande parte do ES e tinham alcançado, inclusive, a região metropolitana na faixa litoral. Apesar do ciclo de transmissão ser considerado silvestre, as epizootias em área urbana representaram 36% do total e foram as principais responsáveis pela persistência do surto. *Alouatta guariba* foi a espécie mais afetada e suas epizootias ocorreram, principalmente, no primeiro período epidêmico (Ciclo 1) e na área rural, padrão também identificado para *Callicebus personatus* e *Sapajus nigratus*. O gênero *Callithrix*, entretanto, teve um terço das epizootias no Ciclo 2 e foi o principal responsável pela persistência do surto, e isso em áreas urbanas, muito próximas de edificações. No *Capítulo II* analisamos a influência da estrutura da paisagem na ocorrência das epizootias. Através de Modelos Aditivos Generalizados (GAM) verificamos a associação entre a presença de epizootias e métricas da paisagem. A dependência espacial entre as epizootias foi mais importante para os modelos do que as características da paisagem. Porém, mesmo com o uso de cinco escalas espaciais, os modelos obtidos não conseguiram explicar a variação dos dados, demonstrando que o padrão espacial da mata nativa não foi suficiente para explicar a distribuição das epizootias pela paisagem e a ocorrência delas não foi associada com paisagens fragmentadas.

Palavras-chave: ecologia; zoonose; epizootia; emergência de doença; fragmentação do habitat; paisagem; ciclo intermediário; biodiversidade; *Flaviviridae*

ABSTRACT

The emergence of yellow fever in Southeast Brazil at the end of 2016 began the largest epidemiological outbreak in recent decades. Despite having already occurred in Espírito Santo (ES), the state had not recorded any cases for more than half a century. Yellow fever is a virus that has primates as its host and is transmitted by mosquitoes. Both human primates and non-human primates (NHP) are affected, in different transmission cycles. In Brazil, only the wild cycle is currently considered to occur, involving the wild mosquitoes of the genera *Haemagogus* and *Sabethes* and the PNH of the genera *Alouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Callicebus*, *Callithrix*, *Saimiri* and *Sapajus*. In this cycle, man is accidentally infected when entering the forest. In this work we analyzed the dynamics of PNH epizootics during the 2016-2018 outbreak in the Atlantic Forest, in a region previously considered free of the disease. In *Chapter I* we seek to understand the pattern of spatio-temporal dispersion and the participation of PNH in the outbreak, verifying their relationship with the persistence of the outbreak, the occurrence of epizootics in rural and urban areas and the proximity to built-up areas. The initial spread was silent and the epizootics were detected when they were already distributed across a large part of the ES and had even reached the metropolitan region on the coast. Although the transmission cycle is considered wild, epizootics in urban areas represented 36% of the total and were mainly responsible for the persistence of the outbreak. *Alouatta guariba* was the most affected species and its epizootics occurred mainly in the first epidemic period (Cycle 1) and in rural areas, a pattern also identified for *Callicebus personatus* and *Sapajus nigritus*. The genus *Callithrix*, however, had a third of the epizootics in Cycle 2 and was mainly responsible for the persistence of the outbreak, and this in urban areas, very close to buildings. In *Chapter II* we analyze the influence of landscape structure on the occurrence of epizootics. Using Generalized Additive Models (GAM) we verified the association between the presence of epizootics and landscape metrics. The spatial dependence between epizootics was more important for the models than landscape characteristics. However, even with the use of five spatial scales, the models obtained were unable to explain the variation in the data, demonstrating that the spatial pattern of the native forest was not sufficient to explain the distribution of epizootics across the landscape and their occurrence was not associated with landscapes. fragmented.

Keywords: ecology; zoonosis; epizootic; disease emergency; habitat fragmentation; landscape; intermediate cycle; biodiversity; *Flaviviridae*

CAPÍTULO I

Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos
da Mata Atlântica durante o surto de febre amarela no estado
do Espírito Santo entre 2016 e 2018

RESUMO

A febre amarela é uma arbovirose que tem como hospedeiro os primatas e é transmitida por mosquitos. Apesar de apresentar três ciclos de transmissão, as características clínicas, patológicas e imunológicas da doença são as mesmas. O ciclo silvestre é o único reportado no Brasil atualmente, em que os mosquitos silvestres dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* são os responsáveis pela transmissão do vírus e os principais hospedeiros são os primatas não humanos (PNH) dos gêneros *Alouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Callicebus*, *Callithrix*, *Saimiri* e *Sapajus*. Nesse ciclo o ser humano é infectado apenas acidentalmente, quando entra na floresta. Essa zoonose é mantida de forma endêmica na região Amazônica e no Centro-Oeste do país, mas a área de atividade viral está em expansão desde 1990. O Espírito Santo, que era considerado livre da doença (indene), foi um dos estados atingidos pelo surto desencadeado no Sudeste do Brasil em 2016, o maior das últimas décadas. A fim de compreender o padrão de dispersão do surto de febre amarela ocorrido entre os PNH no estado do Espírito Santo de 2016 a 2018, avaliamos a dispersão espaço-temporal das epizootias de PNH e a participação das espécies de PNH no surto, verificando a relação delas com a persistência do surto, a ocorrência de epizootias em área rural e urbana e a proximidade com as áreas edificadas. Constatamos que a dispersão inicial das epizootias foi silenciosa e elas foram detectadas quando já estavam distribuídas por grande parte do estado e tinham alcançado, inclusive, a região metropolitana na faixa litoral. Apesar do ciclo de transmissão ser considerado silvestre, as epizootias em área urbana representaram 36% do total e foram as principais responsáveis pela persistência do surto. *Alouatta guariba* foi a espécie mais afetada e suas epizootias ocorreram, principalmente, no primeiro período epidêmico (Ciclo 1) e na área rural, padrão também identificado para *Callicebus personatus* e *Sapajus nigritus*. O gênero *Callithrix*, entretanto, teve um terço das epizootias no Ciclo 2 e foi o principal responsável pela persistência do surto, e isso em áreas urbanas, muito próximas de edificações.

Palavras-chave: ecologia; emergência de doença; ciclo intermediário; *Flaviviridae*

I. INTRODUÇÃO

A febre amarela é uma arbovirose, doença causada por vírus e transmitida por artrópodes aos hospedeiros. O vírus da febre amarela (VFA) é um vírus envelopado de RNA e pertence ao gênero *Orthoflavivirus*, família *Flaviviridae*, mesma família dos vírus da dengue, Zika, febre do Nilo Ocidental e encefalite Saint Louis (Monath, 2001; Vasconcelos, 2002; Wang *et al.*, 1995; Postler *et al.*, 2023). Cerca de 10% das pessoas infectadas evoluem para a forma grave da doença, cujos sintomas são febre, cefaleia, mialgias, náuseas, vômitos, icterícia e hemorragia, e a letalidade nessa parcela pode chegar à 50% (Vasconcelos, 2002).

O primeiro relato mais preciso da febre amarela é do ano 1635, feito pelo jesuíta Raymond Bréton, em que discorre sobre a epidemia ocorrida entre os imigrantes franceses na Ilha de Guadalupe, no Mar do Caribe (Franco, 1969). Antes disso, entretanto, uma doença com sintomas compatíveis já havia sido registrada, inclusive pela civilização maia, sendo posteriormente reconhecida como febre amarela (Pons y Codinach, 1868; Bérenger-Féraud, 1890; Bustamante, 1957; Franco, 1969). Esses registros foram realizados nas Américas. Mas ela também é endêmica na África, onde o primeiro registro foi feito em 1778, no Senegal (Carter, 1931; Brès, 1986; Franco, 1969).

No Brasil o registro mais antigo é de 1643, citando já naquele momento a ocorrência de repetidas epidemias (Pons y Codinach, 1868). Relatos do século XIX indicaram a ocorrência em vários locais do país, entre 1849-1852 a febre amarela foi registrada em 14 estados de quatro das cinco regiões do Brasil (Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Maranhão, Pará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe). E vários outros registros foram feitos no século XX, em todas as décadas (Franco, 1969; Câmara *et al.*, 2011).

No estado Espírito Santo a febre amarela foi registrada de meados do século XIX até meados do século XX, nos anos de 1849-1850, 1911, 1917-1918, 1930, 1932, 1939 e na década de 1940-1949 (Franco, 1969; Vasconcelos *et al.*, 1998). A partir de 1950 até o ano de 2016, entretanto, não houve mais confirmação da doença no estado. Durante esse intervalo de tempo o sistema de saúde foi acionado ao menos uma vez, entre os anos de 2007-2009, em que houve uma campanha de vacinação em 39 municípios considerados de risco potencial pela proximidade com estados que registraram casos da doença, além da notificação de duas epizootias suspeitas, mas a circulação do vírus não foi comprovada (SESA-ES, 2008; Araújo *et al.*, 2011).

Foi justamente no Espírito Santo, na região do Vale do Canaã do município de Santa Teresa, que na década de 1930 uma nova forma de transmissão da febre amarela foi descrita, sem a participação do mosquito vetor *Aedes aegypti*. Até aquele momento somente um ciclo de transmissão era conhecido, tanto no continente americano quanto no africano, em que o vírus da febre amarela é transmitido pelo mosquito doméstico *Aedes aegypti* aos seres humanos, e apenas entre eles. De modo geral este último ficou conhecido como ciclo urbano, enquanto o sem *Aedes aegypti* foi denominado ciclo silvestre. Mas apesar da diferença na forma de transmissão, as características clínicas, patológicas e imunológicas da doença são as mesmas (Soper, 1938; Franco, 1969).

No ciclo silvestre os mosquitos silvestres são os responsáveis pela transmissão do vírus e os hospedeiros principais são os primatas não humanos (PNH), o ser humano só é infectado acidentalmente, quando entra na floresta (Soper, 1937; Vasconcelos, 2002). Na África os mosquitos envolvidos nesse ciclo são vários do gênero *Aedes*, com destaque para *Aedes africanus*, e os PNH são os dos gêneros *Cercopithecus*, *Colobus*, *Erythrocebus* e *Papio*. Nas Américas os mosquitos do gênero *Haemagogus* são os principais vetores, mas também parece haver participação do gênero *Sabethes*, e dentre os PNH hospedeiros estão os dos gêneros *Alouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Callicebus*, *Callithrix*, *Saimiri* e *Sapajus* (Brès, 1986; Trapido & Galindo, 1956; Herve & Travassos da Rosa, 1983; Sacchetto *et al.*, 2020).

Há um terceiro ciclo de transmissão identificado somente na África, o ciclo intermediário, que é o mais frequente naquele continente, inclusive. Esse ciclo é considerado uma mistura dos outros dois, havendo a participação de PNH e de seres humanos como hospedeiros e os vetores são os mosquitos silvestres e também a forma doméstica *Aedes aegypti*. Ele ocorre na zona emergente adjacente às áreas florestais e epidemias esporádicas se desenvolvem quando as populações humanas e de vetores aumentam o suficiente para manter a transmissão (OMS, 1986).

No Brasil apenas os ciclos urbano e silvestre foram relatados. O ciclo urbano foi erradicado do país em 1942, após numerosos esforços para extermínio de seu vetor e com a produção e uso da vacina. Mesmo depois da reintrodução e ampla dispersão do *Aedes aegypti* em 1976, não houve mais indícios da ocorrência desse ciclo (Filippis *et al.*, 2002). A doença é considerada endêmica na região Amazônica e no Centro-Oeste e a atividade viral está em expansão desde a década de 1990, ocorrendo em regiões onde não havia relatos há mais de 100 anos (Vasconcelos *et al.*, 1997; Vasconcelos, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2004). Nos anos de 2001 e 2008, por exemplo, epidemias romperam

no sul do país, no estado do Rio Grande do Sul, área até então sem ocorrência da doença. No início de 2009 mais casos foram reportados nesse estado, fazendo com que a classificação dele quanto região livre da doença (índene) fosse alterada (Bicca-Marques, 2009).

O mesmo ocorreu no Espírito Santo, considerado um território livre da febre amarela até 2016, mas que a partir de janeiro de 2017 apresentou registros da doença, vinda do estado vizinho de Minas Gerais (MS, 2016; 2017a; Delatorre *et al.*, 2019). Esse surto epidêmico atingiu grandes proporções e em março de 2017 já havia alcançado todos os estados da região Sudeste (MS, 2017b), a mais populosa do país (IBGE, 2023), chegando, inclusive, às regiões metropolitanas dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (Delatorre *et al.*, 2019; Giovanetti *et al.*, 2019, Sacchetto *et al.*, 2020). A proximidade com cidades densamente povoadas trouxe a preocupação com o risco de reurbanização da febre amarela (Couto-Lima *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2019).

Neste trabalho buscamos compreender o padrão da dispersão espaço-temporal das epizootias de PNH durante o surto de febre amarela ocorrido entre 2016 e 2018 no Espírito Santo, com ênfase no tipo de área de ocorrência das epizootias (rural ou urbana). Além disso, analisamos a participação das espécies de PNH, verificando a relação delas com a persistência do surto, a ocorrência de epizootias em área rural e urbana e a proximidade com as áreas edificadas. A compreensão dos fatores associados à transmissão e dispersão de doenças pode contribuir com a prevenção e contenção de futuros surtos, servindo de base para a elaboração de estratégias de ação na área da saúde pública.

II. METODOLOGIA

2.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no estado do Espírito Santo, localizado na Região Sudeste do Brasil. Seu relevo é composto predominantemente pelas regiões Planaltos da Mantiqueira Setentrional (46%) e Piemontes Inumados (29%), além de Planícies Costeiras, Piemontes Orientais, Compartimentos Deprimidos e Planaltos Soerguidos (IJSN, 2012a). Está inserido do bioma Mata Atlântica e a principal vegetação que o cobre é a Floresta Ombrófila Densa (65%), seguida por Floresta Estacional Semidecidual (23%) (IBGE, 2004).

A elevação varia de -39 m a 2.892 m (IEMA, 2015a) e a precipitação média anual de 900 mm a 1.700 mm (Incaper, 2022a). Com relação à variação das médias anuais da temperatura no estado, a mínima está entre 9°C a 21°C, a média entre 10°C e 25°C e a máxima 16°C e 32°C (Incaper, 2022b; 2022c; 2022d).

2.2 Dados

2.2.1 Coleta

(a) Epizootias de primatas não humanos

O termo epizootia é empregado no campo de estudo das doenças animais, a epizootiologia, e pode ser definido de diferentes maneiras, como (1) surto de doença em que o número de casos é extraordinariamente grande (Onstad *et al.*, 2006); (2) doença ou fase de uma doença de alta morbidade que está apenas irregularmente presente na sua forma reconhecível (Onstad *et al.*, 2006); ou (3) ocorrência de determinado evento que afeta um número de animais ao mesmo tempo e no mesmo lugar, podendo levar à morte (SINAN, 2016). No contexto da febre amarela os animais acometidos são os PNH, que encontrados doentes ou mortos, mesmo que restando somente suas ossadas, são o objeto da notificação da epizootia pela vigilância epidemiológica (MS, 2017c). Neste estudo utilizamos como conceito de epizootia o evento associado ao surto de febre amarela que envolveu a morte de um ou mais indivíduos de uma mesma espécie de PNH na mesma localidade específica e no mesmo dia.

Os dados das epizootias foram obtidos a partir dos dados coletados pelo projeto “Aspectos ecológicos do surto de febre amarela silvestre no Espírito Santo – Sentinelas da Mata” (Resolução nº 166/2017 – FAPES/SEAMA – Termo de Outorga nº 006/2017), executado pelo Laboratório de Biologia da Conservação de Vertebrados da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES em parceria com a Secretaria Estadual de Saúde do Espírito Santo – SESA-ES, de maneira que todos os dados das epizootias registrados no estado por esta secretaria foram disponibilizados ao projeto.

A coleta de dados dentro do projeto se deu de diferentes maneiras, por meio de: (1) coleta em campo das carcaças dos PNH mortos; (2) notificações obtidas diretamente com as vigilâncias municipais; (3) informações da SESA-ES que reuniam as epizootias de todos os municípios; e (4) resgate de informações junto às vigilâncias municipais, a fim de complementar as informações associadas às notificações, como as coordenadas geográficas do local da morte.

Também foram obtidos, posteriormente, os dados dos exames laboratoriais associados às epizootias, para detecção do vírus da febre amarela. A maioria dos exames foi feita por intermédio da SESA-ES, em que as amostras coletadas pelas vigilâncias foram enviadas para laboratórios de referência do país, como Instituto Adolfo Lutz, Fiocruz e Instituto Evandro Chagas. E algumas amostras coletadas pela equipe do Projeto Sentinelas da Mata foram analisadas por meio da parceria do projeto com o Laboratório de Vírus da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

(b) Municípios com casos humanos de febre amarela

A fim de verificar os municípios com circulação do vírus da febre amarela e estabelecer o vínculo epidemiológico com as epizootias, utilizamos os dados de municípios com ocorrência de casos de febre amarela em humanos, obtidos a partir do Boletim Informativo nº 66/2017 sobre o surto de febre amarela publicado pela Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo (SESA-ES, 2017).

(c) Camadas de dados espaciais

Utilizamos dados espaciais em formato shapefile. Os limites políticos do estado do Espírito Santo nas escalas regional e municipal foram obtidos na base de dados do Instituto Jones dos Santos Neves (IJSN, 2012b; 2012c; 2018). O mapa de uso e cobertura do solo do Espírito Santo provém do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA, 2015b). Os dados das áreas urbanizadas do Brasil são do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022).

2.2.2 Processamento de dados pós coleta

(a) Eliminação de epizootias duplicadas

As informações de epizootias das diferentes fontes foram cruzadas a fim de identificar e remover as epizootias repetidas, em que a data, a localidade e a espécie de PNH eram iguais.

(b) União de epizootias associadas

Quando duas ou mais notificações estavam associadas ao mesmo evento epizoótico essas notificações foram unidas e o número de indivíduos foi somado. As notificações de uma mesma epizootia foram feitas em fichas separadas quando, por exemplo, mais de um animal estava envolvido na epizootia e carcaças e/ou amostras

foram coletadas, de forma que cada indivíduo foi vinculado a um número de identificação próprio e a uma ficha de notificação. Nesse caso as epizootias foram unidas.

(c) Data das epizootias

Uma característica intrínseca da coleta de dados de epizootias é que a data da notificação da epizootia pode variar em relação à data da morte do animal, a depender de quando o animal foi encontrado e a epizootia pôde ser registrada. Por exemplo, um animal que morreu no dia 20 de fevereiro mas só foi encontrado no dia 25 de fevereiro terá na ficha de notificação o dia 25. Por outro lado, um animal encontrado agonizando no dia 03 de março e que morreu em seguida terá a data exata da morte. A fim de utilizar as informações mais precisas acerca das epizootias, tomamos como prioritária a data da morte do animal, quando esta estava disponível, caso contrário a data da notificação foi assumida.

Quanto à precisão das datas das epizootias, alguns dados não possuíam o dia exato do evento. A fim de extrair o máximo de informações nas análises, classificamos as epizootias em três escalas temporais: *ciclo*, *mês* e *semana* (Figura 1).

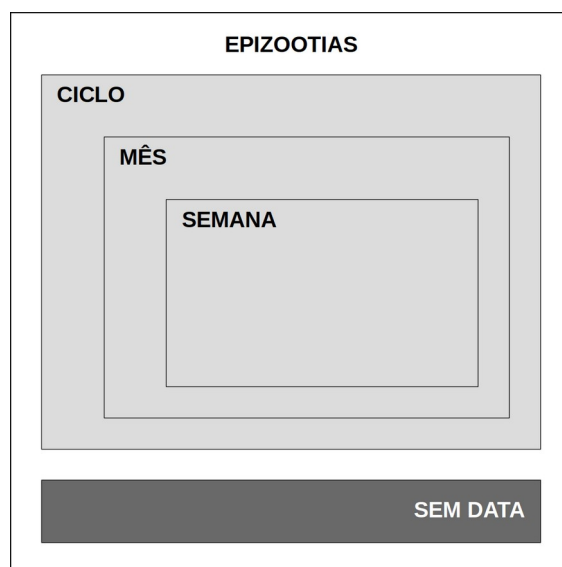


Figura 1: Classificação das epizootias quanto ao registros das datas.

O ciclo refere-se ao período epidêmico da febre amarela, que na região extra-amazônica do país apresenta um padrão temporal sazonal de julho até junho do ano seguinte, com a maioria dos casos ocorrendo de dezembro a maio (MS, 2017c; 2021). Desse modo, o presente estudo compreendeu dois ciclos: o Ciclo 1 de julho/2016 até junho/2017 e o Ciclo 2 de julho/2017 até junho/2018.

(d) Epizootias de febre amarela e circulação viral

Uma epizootia pode ser confirmada para febre amarela, por definição, através de dois critérios: (1) laboratorial, em que há resultado laboratorial conclusivo para o vírus da febre amarela em pelo menos um animal do local provável de infecção (LPI), ou (2) vínculo epidemiológico, em que ela é associada à detecção viral em vetores, outros PNH ou humanos no LPI (MS, 2014). O LPI foi o município e a circulação viral, por conseguinte, foi determinada na escala municipal, naqueles que tiveram ao menos uma epizootia com amostra positiva para o vírus da febre amarela ou casos humanos positivos para febre amarela. As epizootias nesses municípios foram consideradas epizootias de febre amarela e somente elas foram usadas nas análises.

(e) Classificação das epizootias em área rural e urbana

As epizootias com coordenadas geográficas foram classificadas quanto à área de ocorrência em rural ou urbana. A área urbana foi delimitada a partir da união de dados de duas fontes: (1) Áreas Urbanizadas do Brasil 2019 (IBGE, 2022) e (2) Mapa do Uso e Cobertura do Solo do Espírito Santo 2012-2015 – classe: “área edificada” (IEMA, 2015b). O shapefile das áreas urbanizadas do Brasil é mais abrangente que o das áreas edificadas do Espírito Santo, mas a adição desse último se fez necessária para incluir áreas que não foram contempladas nos dados de áreas urbanizadas do Brasil, havendo uma complementariedade entre essas fontes. Ao redor da área urbana foi acrescentado um buffer de 100 m para que as epizootias registradas nesse limite fossem corretamente classificadas como urbana, uma vez que estavam sob forte influência dessa área. A área rural, por sua vez, consistiu nas demais áreas. Esse processo foi realizado com o auxílio do programa QGIS versão 3.26.1 (QGIS, 2022).

(f) Confecção do banco de dados geral

O banco de dados gerado apresenta informações associadas aos eventos de epizootias de febre amarela: espécie de PNH afetada, número de indivíduos mortos, data (dia, semana, mês, ano e ciclo), localidade (município, localidade, localidade específica e coordenadas geográficas), tipo de área (rural ou urbana), amostras coletadas para exame de febre amarela e resultado dos exames.

Para a tabulação dos dados foi utilizado o programa LibreOffice Calc versão 7.3.7.2 (<https://pt-br.libreoffice.org/>).

2.3 Análises

A manipulação e análise de dados em ambiente SIG – Sistema de Informação Geográfica – foi realizada no programa QGIS, bem como a produção dos mapas. O Sistema de Referência de Coordenadas (SRC) utilizado foi SIRGAS 2000 / UTM zona 24S. Os dados foram tabulados no programa LibreOffice Calc (<https://pt-br.libreoffice.org/descubra/calc/>). Os gráficos foram elaborados nos programas LibreOffice Calc e RStudio versão 4.0.2 (RStudio Team, 2020). Os códigos usados no RStudio estão no Apêndice A.

2.3.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos

A distribuição espacial geral das epizootias pelo estado do Espírito Santo foi analisada no nível municipal, a fim de identificar a quantidade de epizootias e indivíduos de PNH mortos em cada município. Para isso foi gerada uma tabela de dados de acordo com os municípios e em seguida esses dados foram mapeados.

Para avaliar a distribuição das epizootias ao longo do surto foram gerados gráficos de barra nas escalas temporais ‘semana’ e ‘mês’, com o número de epizootias nas áreas rural e urbana.

Para avaliar a dispersão concomitante no espaço e no tempo foram consideradas somente as epizootias com coordenadas geográficas. Foram produzidos mapas com os pontos de ocorrência das epizootias na escala ‘mês’.

2.3.2 Primatas não humanos participantes do surto

Para avaliar o grau de participação das espécies de PNH no surto, tabulamos os dados das epizootias de acordo com o gênero e a espécie de PNH, reunindo o número de epizootias e de indivíduos associados.

(a) Persistência dos eventos epizoóticos nos dois ciclos da doença

Analisamos a relação do gênero de PNH na ocorrência das epizootias nos dois ciclos do surto por meio do teste de independência, com a confecção da tabela de contingência com os dados e, após, a execução do teste qui-quadrado no programa RStudio – função *chisq.test()*. O p-valor foi calculado por simulação Monte Carlo, baseado em 2.000 repetições.

(b) Ocorrência das epizootias em área rural e urbana

A relação do gênero de PNH na ocorrência de epizootias nas áreas rural e urbana foi analisada através do teste de independência, conforme metodologia descrita no item anterior.

(c) Proximidade entre os pontos de ocorrência de epizootias em área urbana com as áreas edificadas e de mata nativa

Calculamos a distância entre o ponto de ocorrência da epizootia em área urbana e as áreas edificadas (DAE) e de mata nativa (DMN) mais próximas, a partir das classes “área edificada” e “mata nativa”, respectivamente, do Mapa do Uso e Cobertura do Solo do Espírito Santo 2012-2015 (IEMA, 2015b). Esse processo foi realizado no programa QGIS, com auxílio da ferramenta “*linha mais curta entre feições*” e a distância foi medida em metros.

Para avaliar se a proximidade dessas áreas era diferente entre os gêneros de PNH, numa fase exploratória foi feito o teste de normalidade dos dados no RStudio com a função *shapiro.test()*. Como os dados não seguiam a distribuição normal, em seguida usamos o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis função *kruskal.test()* para amostras independentes. Esse teste analisa a distribuição dos dados comparando a mediana dos grupos analisados com base em seus postos (ranks), e não no valor numérico em si. No caso de existir diferença entre grupos o teste Dunn é realizado posteriormente para identificar quais são diferentes entre si – pacote ‘rstatix’ função *dunn_test()*.

III. RESULTADOS

3.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos

3.1.1 Distribuição espacial

Durante o surto foram registradas 999 epizootias envolvendo a morte de 1.479 PNH nos 43 municípios onde foi detectada a circulação do vírus da febre amarela, seja pela comprovação laboratorial das epizootias para o vírus da febre amarela ou pelo vínculo epidemiológico com os casos humanos de febre amarela (Tabela 1; Figura 2.A; Apêndice B). Domingos Martins foi o município que apresentou maior número de epizootias (124), seguido por Santa Maria de Jetibá (91), Serra (85), Afonso Cláudio (61), Santa Teresa (56) e Vitória (53) (Figura 2.B). Com relação ao número de animais envolvido nas epizootias nos municípios, Domingos Martins foi o que apresentou mais animais mortos

(230 – 15,5%), seguido por Afonso Cláudio (118 – 8%), Santa Maria de Jetibá (97 – 6,5%), Serra (87 – 5,8%), Itarana (69 – 4,6%) e Santa Leopoldina e Laranja da Terra (63 – 4,3%). Duas regiões do estado se destacaram por concentrarem juntas 80,5% (n=804) de todas as epizootias registradas: Serrana (n=533 – 53,3%) e Metropolitana (n=271 – 27,1%).

Tabela 1: Número de epizootias e indivíduos de primata não humano de acordo com a classificação da data dos registros e da presença da coordenada geográfica.

		EPIZOOTIAS	INDIVÍDUOS
COM DATA	CICLO		997
		coord. geográfica	1477
	MÊS		936
		coord. geográfica	1358
	SEMANA		871
		coord. geográfica	1295
SEM DATA	coord. geográfica		892
			1285
SEM DATA	coord. geográfica		832
			1223
SEM DATA	coord. geográfica	2	2
		2	2

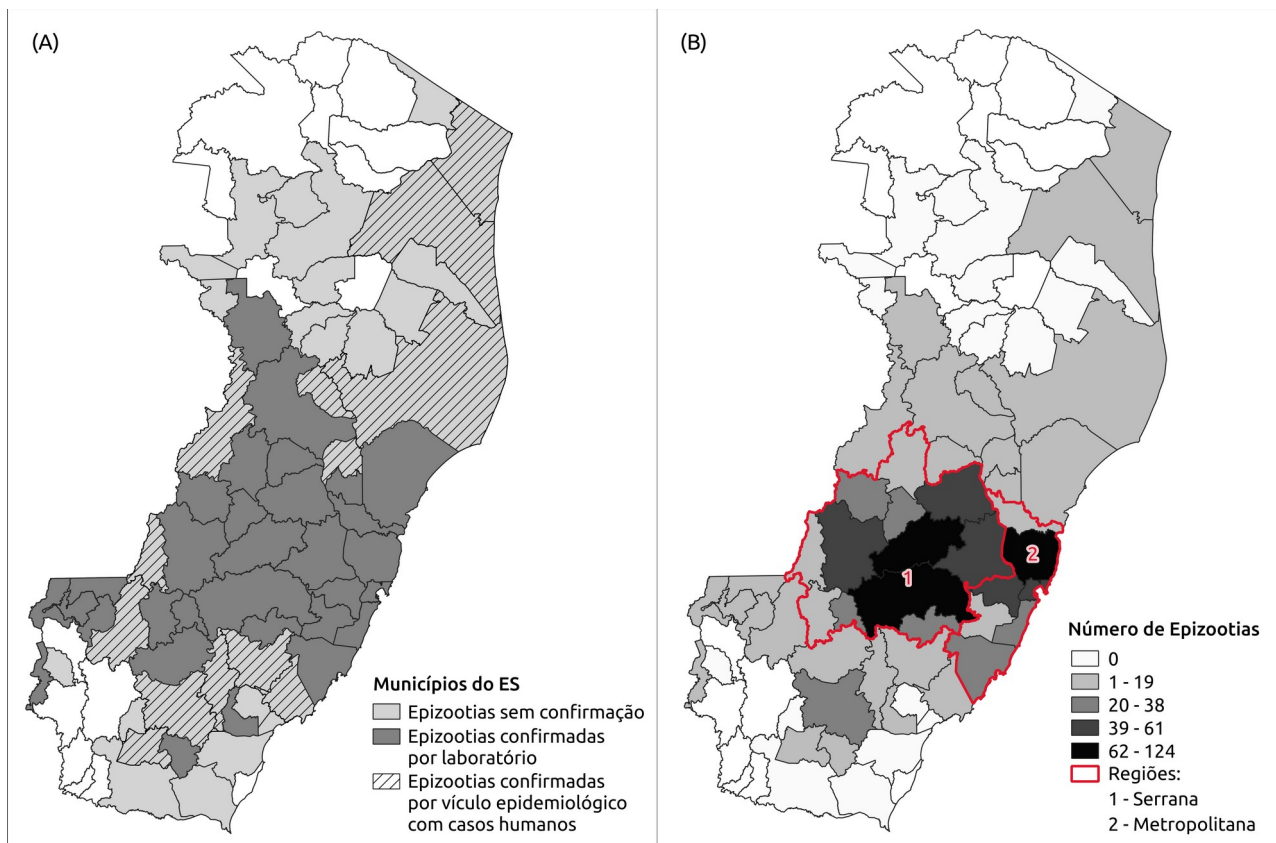


Figura 2: (A) Municípios do estado do Espírito Santo com epizootias de primatas não humanos durante o surto de febre amarela em 2016-2018. (B) Número de epizootias por município. Em destaque as regiões Serrana e Metropolitana, onde houve o maior número de registros do estado.

3.1.2 Distribuição temporal

A primeira epizootia registrada ocorreu em outubro de 2016, na semana epidemiológica 44 (SE 44/2016), e a última em junho de 2018 (SE 24/2018) (Figura 3). Em todos os meses dentro desse período ocorreram epizootias. Apesar do serviço de vigilância em saúde ter sido alertado sobre o surto e detectado as primeiras epizootias em janeiro de 2017, elas já vinham ocorrendo pelo menos desde outubro de 2016, fato este que foi possível ser identificado a partir do resgate de informações em campo. A maior parte das ocorrências foi entre janeiro e abril de 2017 (SE 01/2017 até SE 17/2017), somando 764 epizootias (81%) e 1.147 animais (85%). O pico de ocorrências foi na SE 03/2017, com 128 epizootias registradas (14%) e 228 animais mortos (18%).

No Ciclo 1 ocorreram 87% (n=869) das epizootias (90,5% dos animais mortos, n=1.337). Apesar do Ciclo 2 ter sido pouco expressivo, com 128 epizootias ao longo de um ano (140 animais), o vírus da febre amarela foi detectado durante sua ocorrência, em amostras coletadas nos municípios de Vila Velha (novembro – SE 45/2017 – sagui em área urbana), Rio Novo do Sul (dezembro – SE 49/2017 – sagui em área urbana) e Santa Leopoldina (janeiro – SE 01/2018 – barbado em área rural). Dos 43 municípios atingidos, em 17 os eventos epizooticos perduraram até o Ciclo 2 (Apêndice B). O pico de ocorrências do Ciclo 2 foi na SE 04/2018.

Com relação à distribuição das epizootias nas áreas rural e urbana, verificamos que desde o início do surto ocorreram registros nas duas áreas. As epizootias em área rural representaram o maior volume de dados até abril de 2017, mas após esse período houve uma queda drástica, com poucos registros no decorrer do Ciclo 2. As epizootias em área urbana foram registradas desde outubro de 2016, se mantendo em todos os meses de janeiro de 2017 até maio de 2018, inclusive com um ligeiro aumento em janeiro de 2018.

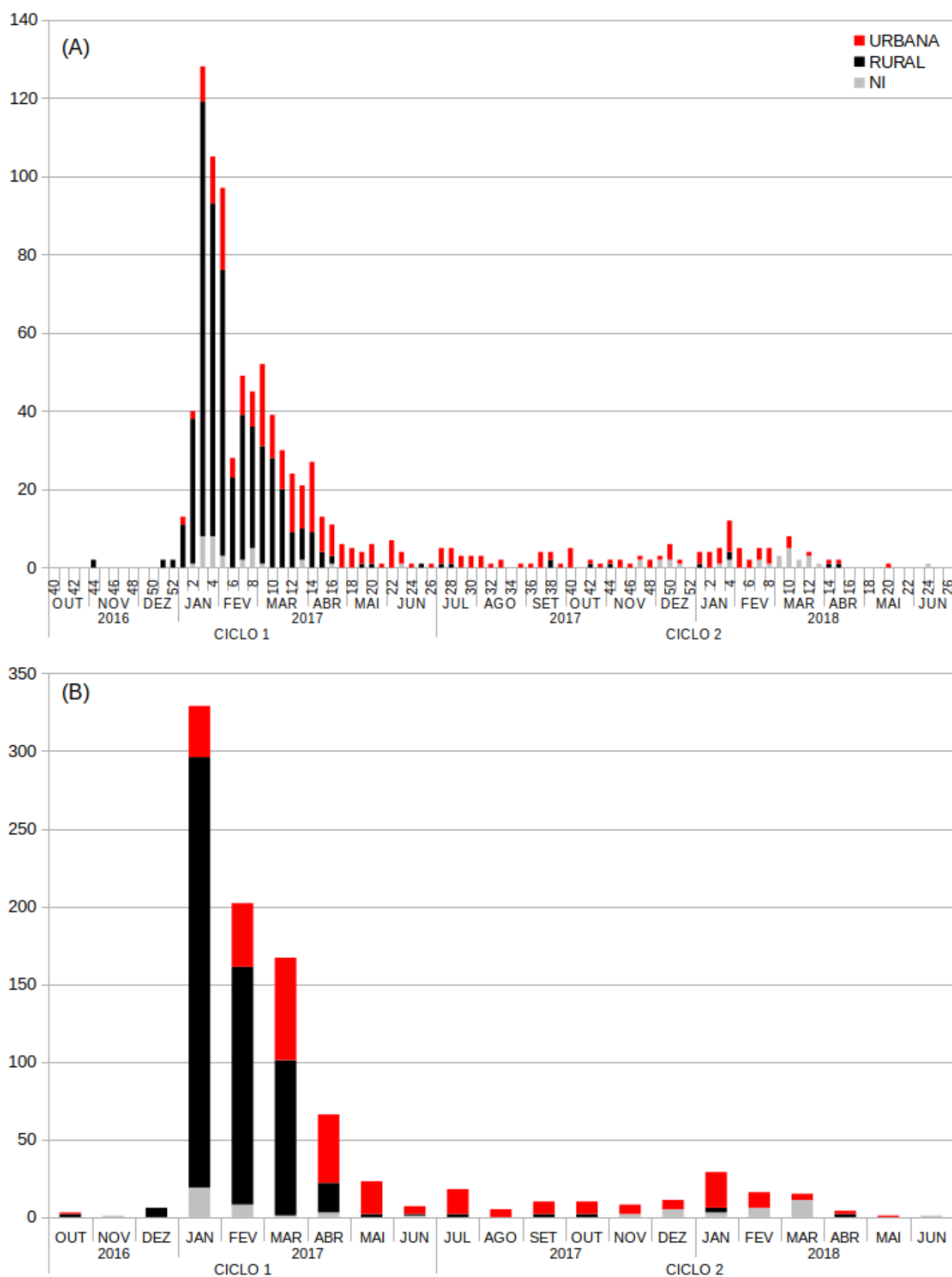


Figura 3: Distribuição temporal das epizootias de primatas não humanos durante os dois ciclos do surto de febre amarela no estado do Espírito Santo entre os anos de 2016 e 2018, nas escalas de (A) semana (n=892) e (B) mês (n=932).

3.1.3 Dispersão espaço-temporal

O avanço das epizootias no espaço e tempo está representado na Figura 4, na escala temporal 'mês'. As primeiras epizootias em outubro de 2016 foram em Domingos Martins, numa área urbana (condomínio residencial cercado por região de mata), e Itaguaçu, área rural. Nesse momento a doença já tinha avançado dois terços da faixa oeste-leste do estado. Em dezembro de 2016 já eram 6 os municípios com registro de PNH mortos.

Em janeiro de 2017 o número de municípios atingidos somava 34 e as epizootias já estavam espalhadas por toda a extensão das regiões Serrana e Metropolitana, até mesmo no litoral do estado (Serra, Vitória e Guarapari). As epizootias em área urbana (n=307) ocorreram em maior proporção na região Metropolitana do estado (n=206 – 67%), mas não se limitaram a essa região. Nos meses seguintes foi possível verificar uma suave expansão para o norte e para o sul e a ausência gradativa no oeste do estado. Após o período com maior número de casos (janeiro a abril de 2017) as epizootias ocorreram, em sua maioria, na faixa leste do estado e na área urbana, com poucas epizootias ocorrendo na área rural.

Em março todos os municípios afetados durante o surto já haviam registrado mortes de PNH (42), exceto Muqui, cuja única epizootia se deu no Ciclo 2 (1 sagui em fevereiro de 2018).

Prancha A.1

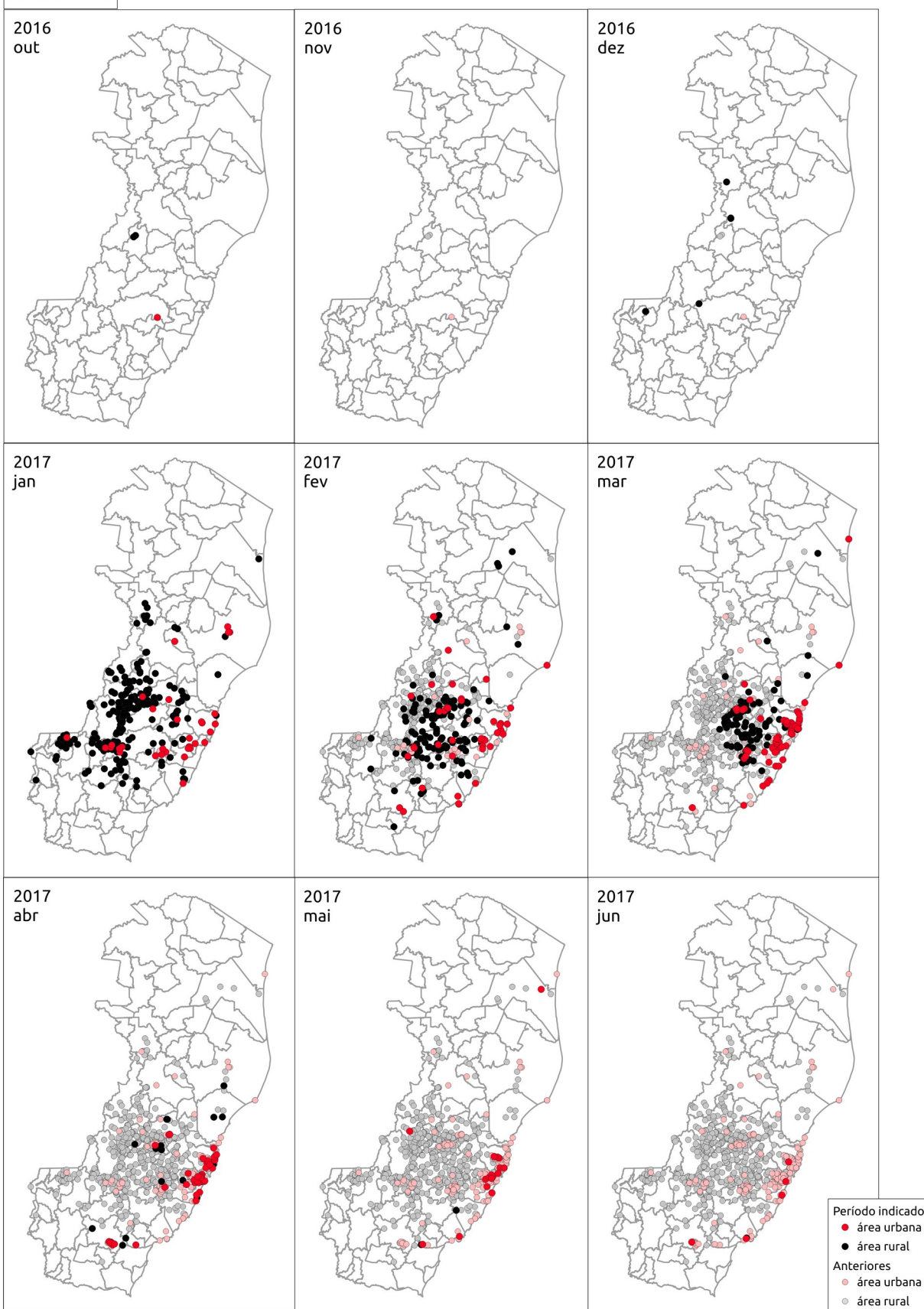


Figura 4: Avanço espacial das epizootias de primatas não humanos ao longo de todo o surto de febre amarela no Espírito Santo, na escala temporal MÊS. Prancha A.1: meses do Ciclo 1 (out/2016 até jun/2017). Pranchas A.2 e A.3: meses do Ciclo 2 (jul/2017 até jun/2018). [continua]

Prancha A.2

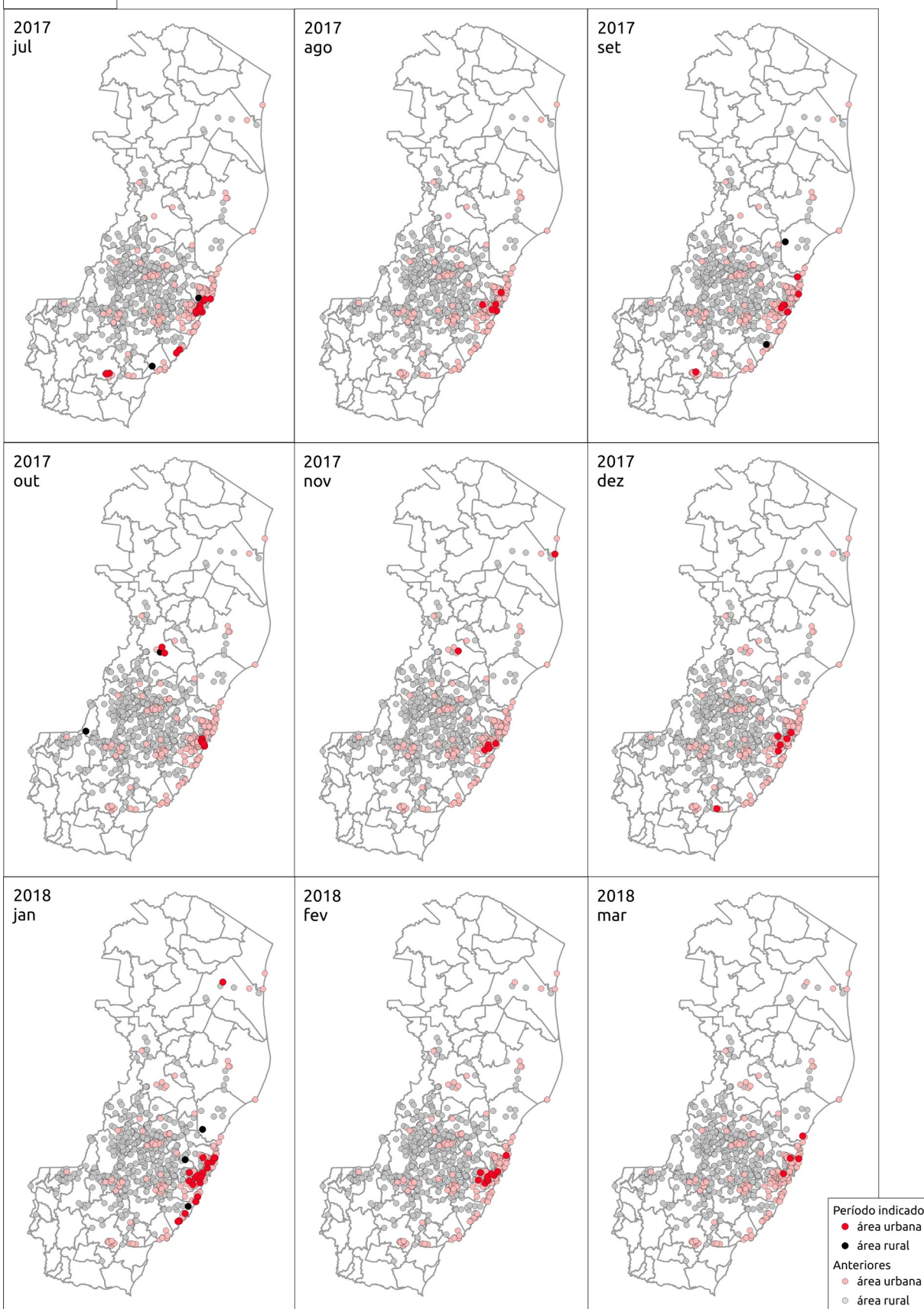


Figura 4: Continuação... Avanço espacial das epizootias de primatas não humanos ao longo de todo o surto de febre amarela no Espírito Santo, na escala temporal MÊS. Prancha A.1: meses do Ciclo 1 (out/2016 até jun/2017). Pranchas A.2 e A.3: meses do Ciclo 2 (jul/2017 até jun/2018). [continua]

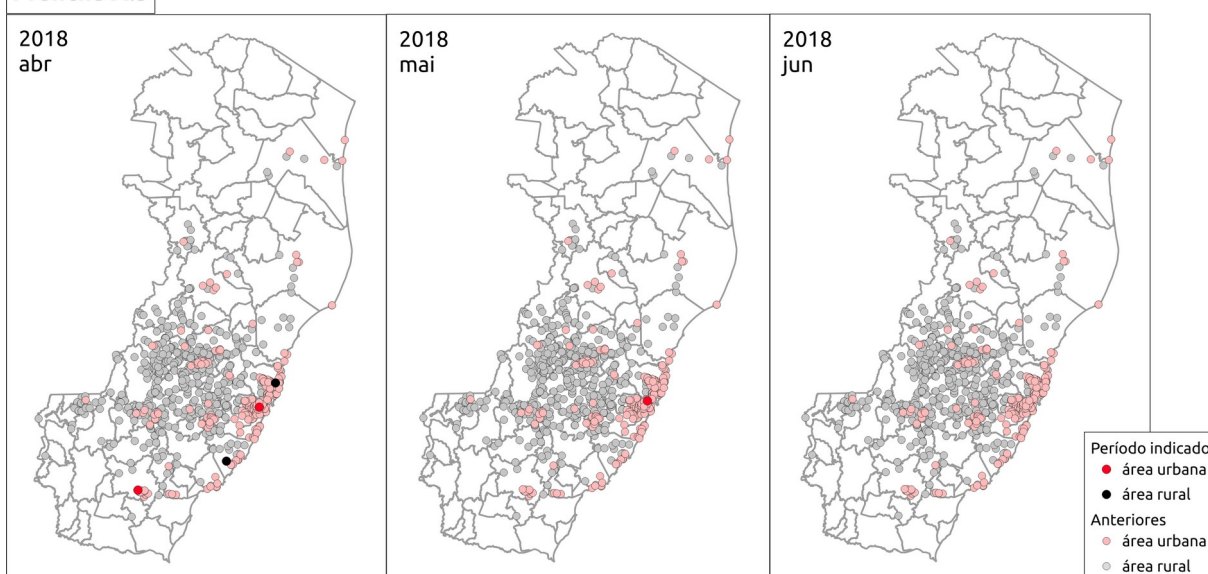
Prancha A.3

Figura 4: Continuação... Avanço espacial das epizootias de primatas não humanos ao longo de todo o surto de febre amarela no Espírito Santo, na escala temporal MÊS. Prancha A.1: meses do Ciclo 1 (out/2016 até jun/2017). Pranchas A.2 e A.3: meses do Ciclo 2 (jul/2017 até jun/2018).

3.2 Primatas não humanos participantes do surto

Os PNH registrados pertencem a cinco espécies de quatro gêneros distintos: barbado (*Alouatta guariba*), guigó (*Callicebus personatus*), sagui-da-serra (*Callithrix flaviceps*), sagui-da-cara-branca (*Callithrix geoffroyi*) e macaco-prego (*Sapajus nigritus*) (Tabela 2). O barbado foi o PNH com maior número de mortos, 926 indivíduos (62,6%). A segunda espécie com mais indivíduos mortos foi o sagui-da-cara-branca (276). O sagui-da-serra só foi registrado em uma epizootia no município de Afonso Cláudio. Outros espécimes do gênero *Callithrix* foram registrados, mas não foi possível chegar a identificação exata da espécie. Ao todo foram registrados 380 indivíduos do gênero *Callithrix* (25,7%). O guigó foi a terceira espécie em número de mortos, com 60 indivíduos. Já o macaco-prego teve apenas 7 indivíduos registrados.

3.2.1 Persistência dos eventos epizoóticos nos dois ciclos da doença

Ao analisarmos a distribuição das epizootias dos gêneros de PNH ao longo dos dois ciclos foi possível constatar que ela ocorreu de maneira diferente (Tabela 3; Figura 5), o que é confirmado pelo teste de independência $X^2 = 191,07$; p-valor = 0,0004998). Em todos os gêneros as epizootias ocorreram em maior quantidade no Ciclo 1. Mas em *Alouatta*, *Callicebus* e *Sapajus* podemos considerar que elas praticamente se restringiram ao Ciclo 1, enquanto que em *Callithrix* elas persistiram no Ciclo 2, representando 96% das

epizootias com espécie identificada nesse ciclo (n=109) e 32,34% das epizootias do gênero em todo o surto.

Tabela 2: Espécies de primata não humanos afetadas durante o surto de febre amarela no Espírito Santo, entre os anos de 2016 e 2018.

Gênero	Espécie	Indivíduos	Epizootias
<i>Alouatta</i>			
	<i>Alouatta guariba</i>	926	526
<i>Callicebus</i>			
	<i>Callicebus personatus</i>	60	47
<i>Callithrix</i>			
	<i>Callithrix flaviceps</i>	1	1
	<i>Callithrix geoffroyi</i>	276	244
	<i>Callithrix spp.</i>	103	92
	Total	380	337
<i>Sapajus</i>			
	<i>Sapajus nigritus</i>	7	7
Não Identificado – NI		106	82
Total		1479	999

Tabela 3: Número de epizootias de PNH nas áreas rural e urbana e nos Ciclos 1 e 2 de acordo com o gênero. NI: não identificado; C1: Ciclo 1; C2: Ciclo 2.

		Rural	Urbana	NI	TOTAL
<i>Alouatta</i>	C1	463	41	16	520
	C2	2	1	1	4
	NI	2	0	0	2
<i>Callicebus</i>	C1	37	8	1	46
	C2	0	0	1	1
	NI	0	0	0	0
<i>Callithrix</i>	C1	54	165	9	228
	C2	8	88	13	109
	NI	0	0	0	0
<i>Sapajus</i>	C1	6	0	0	6
	C2	1	0	0	1
	NI	0	0	0	0
NI	C1	58	4	7	69
	C2	0	0	13	13
	NI	0	0	0	0
TOTAL		631	307	61	999

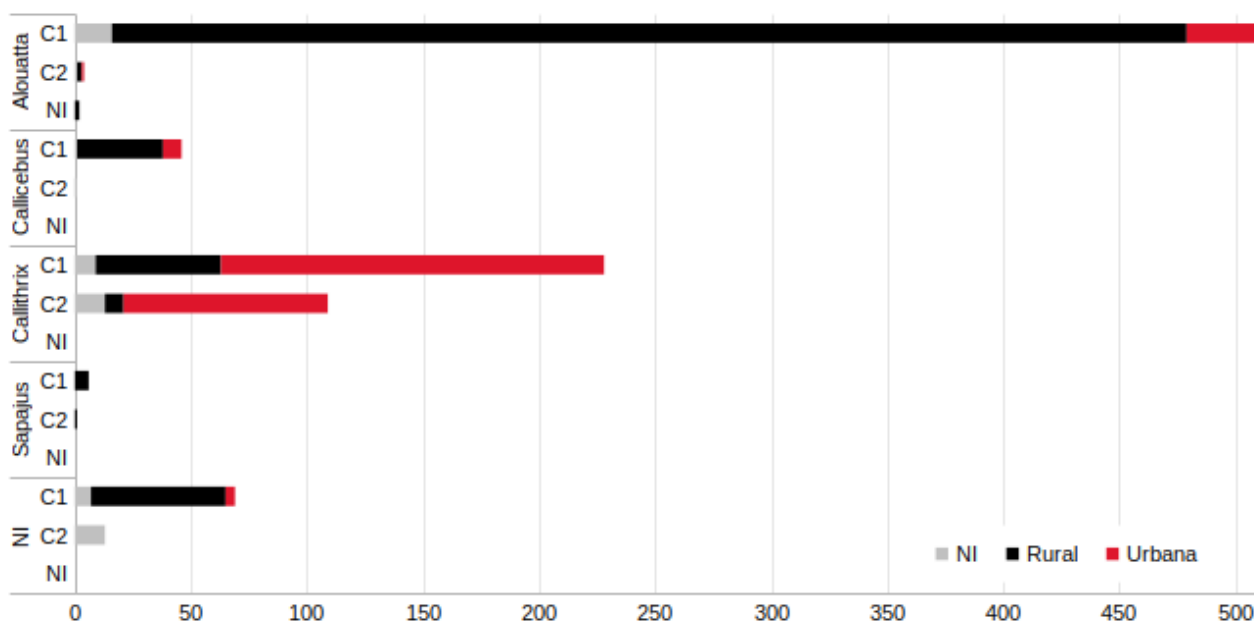


Figura 5: Número de epizootias de PNH nas áreas rural e urbana e nos Ciclos 1 e 2 de acordo com o gênero. NI: não identificado; C1: Ciclo 1; C2: Ciclo 2.

3.2.2 Ocorrência das epizootias em área rural e urbana

Das 999 epizootias totais, foi possível identificar o tipo de área de ocorrência em 938 delas, que possuíam o registro da coordenada geográfica. Dessas, 631 (67,3%) ocorreram em área rural e 307 (32,7%) em área urbana (Tabela 3; Figura 5). A distribuição das epizootias nessas áreas não foi uniforme entre os gêneros ($X^2 = 456,51$; p-valor = 0,0004998). As de *Alouatta*, *Callicebus* e *Sapajus* ocorreram majoritariamente em área rural e as de *Callithrix* em área urbana ($n=253 - 80,3\%$), mesmo no Ciclo 1. *Sapajus* foi o único gênero que só teve epizootias na área rural.

3.2.3. Proximidade entre os pontos de ocorrência de epizootias em área urbana com as áreas edificadas e de mata nativa

A distância entre o local de ocorrência das epizootias em área urbana e a área edificada mais próxima foi diferente entre os gêneros de PNH (Kruskal-Wallis $X^2_{(2)} = 75,87$; p-valor < 2.2e-16; Figura 6; Figura 7), o teste Dunn mostrou que as epizootias de *Callithrix* ($m = 0$; $ai = 11,4$)¹ foram mais próximas de edificações do que as de *Alouatta* ($m = 218$; $ai = 712$) e *Callicebus* ($m = 79,2$; $ai = 275$). A distância de mata nativa também foi diferente (Kruskal-Wallis $X^2_{(2)} = 89,19$; p-valor < 2,2e-16), as epizootias em área urbana de *Alouatta* ($m = 12,1$; $ai = 78,3$) e *Callicebus* ($m = 2,19$; $ai = 19,8$) foram mais próximas da mata nativa do que as de *Callithrix* ($m = 749$; $ai = 831$).

¹ m : mediana; ai : amplitude interquartil.

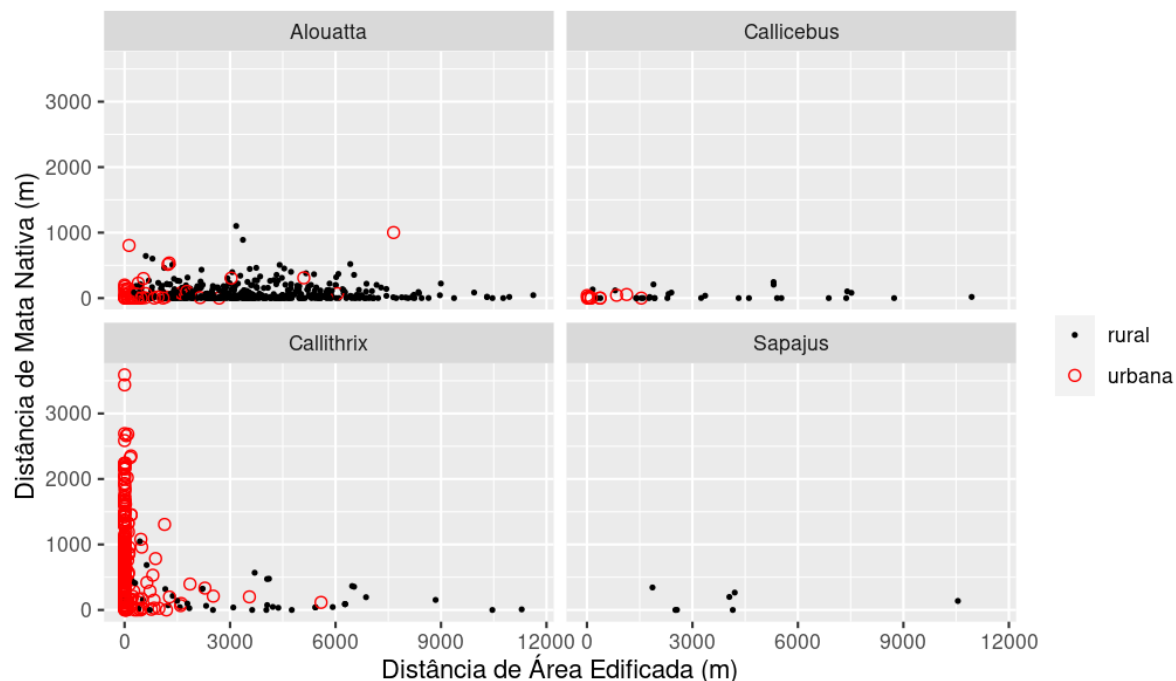


Figura 6: Gráfico de dispersão das epizootias em função da distância da área edificada (eixo x) e da mata nativa (eixo y) em área rural (ponto preto) e urbana (círculo vermelho) nos diferentes gêneros de primata não humano afetados durante o surto de febre amarela no ES entre 2016 e 2018.

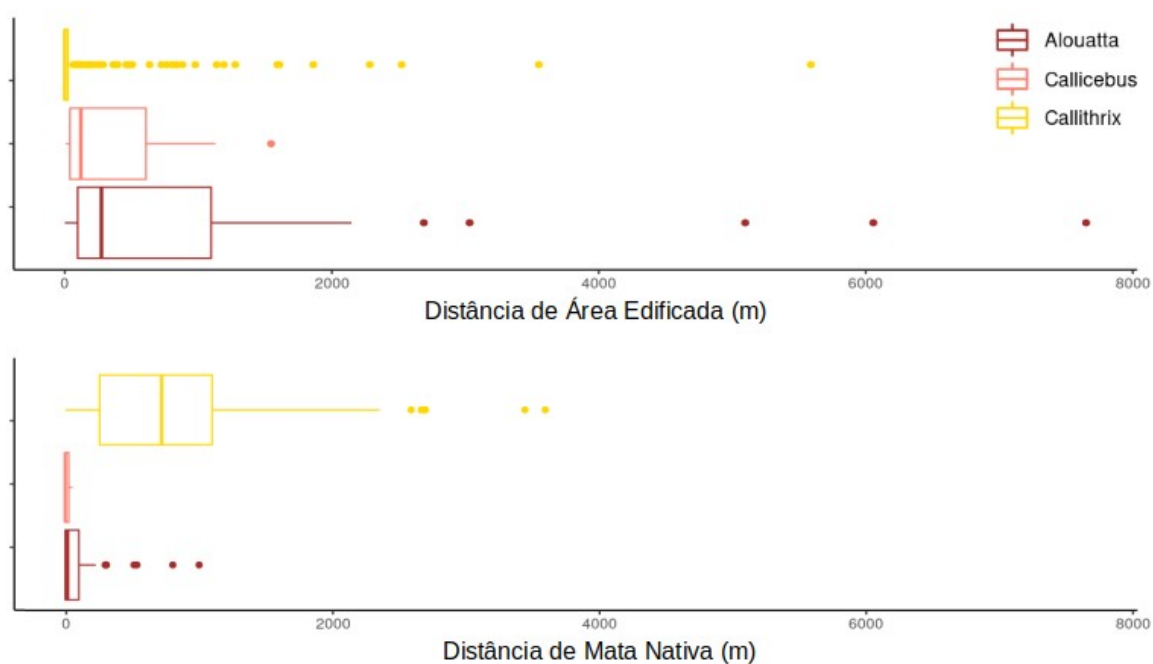


Figura 7: Gráfico de caixas representando a Distância de Área Edificada (DAE) e a Distância de Mata Nativa (DMN) das epizootias em área urbana dos gêneros de primatas não humanos.

IV. DISCUSSÃO

4.1 Dispersão espaço-temporal das epizootias de primatas não humanos

A dispersão inicial das epizootias de primatas não humanos (PNH) foi silenciosa, as mortes começaram a ocorrer, pelo menos, três meses antes de serem detectadas e registradas formalmente pelo sistema de vigilância em saúde. O alerta da ocorrência de um surto epidêmico se deu em janeiro de 2017. Até esse momento o estado do Espírito Santo era considerado totalmente livre da ocorrência de febre amarela (MS, 2016), mas a doença estava se manifestando no estado vizinho de Minas Gerais, onde morreram PNH e casos humanos ocorridos em dezembro de 2016 foram confirmados (SES-MG, 2017; MS, 2017c). O resgate de informações em campo revelou que epizootias já tinham ocorrido nos meses de outubro, novembro e dezembro de 2016. Epizootias nesses mesmos meses se repetiram no Ciclo 2 – outubro, novembro e dezembro de 2017 –, inclusive epizootias em que amostras de PNH foram coletadas e houve confirmação da presença do vírus da febre amarela. Assim, além da plausibilidade da ocorrência das epizootias nesse período específico do Ciclo 1 em 2016, a comprovação da circulação do vírus nesses meses no Ciclo 2 revela um provável padrão de dispersão da doença: epizootias silenciosas ocorrendo antes da manifestação evidente do surto, indicando que a interação entre os agentes do ciclo da doença – vírus, vetor e hospedeiro – já ocorre nesse período do ciclo e é a partir daí que a doença ganha força e progride para um surto, isto é, ocorre um aumento inesperado dos casos da doença, num espaço e tempo específicos e limitados. A presença de um dos vetores da febre amarela, o mosquito *Haemagogus leucocelaenus*, por exemplo, já foi confirmada durante todo o ano em um fragmento de mata na Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, inclusive na estação seca (Alencar *et al.*, 2021). Outro aspecto que nos leva a essa conclusão de dispersão silenciosa é que no primeiro mês da detecção pela vigilância as epizootias já estavam espalhadas por uma extensa área, ao final de janeiro 34 municípios já tinham sido atingidos, demonstrando que o vírus chegou ao estado do Espírito Santo e se dispersou eficiente e silenciosamente. A circulação silenciosa do vírus foi identificada em outros locais. No estado de São Paulo houve confirmação de casos humanos em março e julho de 2016, período anterior à detecção do surto que se espalhou na região Sudeste do Brasil a partir de Minas Gerais (MS, 2017d; Cunha *et al.*, 2019). Adicionalmente, Rezende e colaboradores (2018) também constataram que o vírus se manteve fora da bacia

Amazônica (área endêmica da doença) circulando silenciosamente antes de ser detectado no Sudeste do país.

No Brasil, o padrão temporal da incidência do maior número de casos da febre amarela silvestre é entre os meses de dezembro e maio (MS, 2017c; 2021). Nós encontramos a maior parte das epizootias entre janeiro e abril de 2017, sendo janeiro o mês com mais casos e os meses seguintes com uma quantidade progressivamente menor. Como em dezembro o ciclo de transmissão da doença normalmente já está em plena atividade, é provável que entre as epizootias registradas em janeiro estejam epizootias de animais que morreram antes, principalmente aqueles cujas carcaças foram encontradas em avançado estado de decomposição. E esse atraso na detecção das mortes de PNH pode estar relacionado com a pequena quantidade de casos no início dos eventos epizooticos e com o desconhecimento da situação, visto que a disseminação da doença ainda não tinha sido identificada, de maneira que os animais que porventura foram encontrados mortos não atraíram a atenção como depois do pronunciamento das autoridades sanitárias.

A partir da detecção (janeiro de 2017), quando toda a extensão oeste-leste do estado já havia sido alcançada, o número de epizootias diminuiu gradualmente e a área de ocorrência foi contraindo, perdendo área na extremidade oeste e permanecendo na leste. O movimento é compatível com a propagação de uma onda. Mas esse cenário nos mostra somente uma parte do modo de dispersão das epizootias, após a detecção do surto. Antes de janeiro de 2017 vemos somente umas poucas epizootias isoladas, em municípios distantes uns dos outros: em outubro de 2016 elas ocorreram nos municípios de Domingos Martins e Itaguaçu, em localidades distantes mais de 70 quilômetros, enquanto em dezembro de 2016 elas estavam espalhadas em mais quatro municípios – Afonso Cláudio, Colatina, Irupi e Pancas –, indicando uma provável dispersão do vírus já nesse momento, anterior à detecção.

O modo de dispersão do vírus pode ter sido como a propagação de uma onda, partindo do estado de Minas Gerais. Estudos filogenéticos das linhagens virais envolvidas no surto iniciado em 2016 na região Sudeste do país indicaram que o vírus entrou no Espírito Santo através de uma única transmissão bem sucedida a partir de Minas Gerais (Delatorre *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2023). Eles também estimaram que a introdução teria ocorrido em 2016, em média entre os meses de março e junho, ressaltando a circulação do vírus antes da detecção do surto.

Por outro lado, como nossos resultados mostram as epizootias já espalhadas pelo estado, não podemos considerar sem equívoco que a dispersão foi completamente gradual e descartar a possibilidade de que saltos de dispersão teriam ocorrido e facilitado a rápida disseminação. Moreira-Soto e colaboradores (2018) encontraram dois clados distintos do VFA circulando ao mesmo tempo no Espírito Santo entre janeiro e abril de 2017, um restrito ao interior, nos municípios de Brejetuba, Conceição do Castelo e Santa Maria de Jetibá, e outro costeiro, abrangendo os municípios de Alfredo Chaves, Cariacica, Domingos Martins, Marechal Floriano e Santa Leopoldina. E esse último clado agrupou também amostras do estado do Rio de Janeiro, dos municípios São Sebastião do Alto e Casimiro de Abreu, abrangendo assim amostras distantes mais de 200 quilômetros. O tráfego de variantes virais por grandes áreas geográficas já foi sugerido como consequência da dispersão realizada pelo ser humano, através da migração de pessoas infectadas, sendo um importante mecanismo de dispersão (Vasconcelos *et al.*, 2004). E mesmo que a introdução tenha sido única, não podemos descartar que o vírus possa ter sido transportado pelo homem numa certa medida, inclusive diante da constatação que a doença foi amplamente disseminada entre os seres humanos durante o surto e casos foram confirmados em mais de 40 municípios, até mesmo em municípios sem notificação de epizootias (SESA-ES, 2017; Moussallem *et al.*, 2019).

O surto de febre amarela não se restringiu ao ambiente rural, atingiu também a área urbana. A maioria da epizootias foi em área rural, como é o esperado para o ciclo silvestre, mas a quantidade de epizootias em área urbana foi relativamente alta, representando 36% do total. A ocorrência de epizootias em áreas urbanas foi relatada igualmente em outros estados atingidos pelo surto do Sudeste do país nesse período, mais precisamente nos estados de Minas Gerais e de São Paulo (Sacchetto *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2020; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023).

Temporalmente, as epizootias em área rural se concentraram no Ciclo 1, com poucos registros após abril de 2017. As em área urbana distribuíram-se pelos Ciclos 1 e 2 e foram as que mais contribuíram com a persistência do surto. E mesmo com poucas epizootias, no Ciclo 2 houve confirmação da presença do VFA, tanto em área urbana quanto rural.

Um fato interessante é que as epizootias ocorreram nos dois tipos de ambientes desde o início, já em outubro de 2016 foram encontrados animais mortos na área urbana, o que revela a capacidade da doença chegar até esses locais, isto é, do ambiente urbano possuir as características necessárias para o estabelecimento das interações entre os

organismos envolvidos no ciclo de transmissão (vírus, vetor e hospedeiro). Além disso, as epizootias em área urbana se deram em diferentes regiões do estado, demonstrando a facilidade da doença alcançar e se instalar nesses pontos. Isso nos faz pensar sobre a forma de transmissão da febre amarela no Espírito Santo, se ela seguiu estritamente o que temos conceituado como ciclo silvestre.

No continente Americano, e, conseqüentemente, no Brasil, foram descritos dois ciclos de transmissão da doença, um silvestre e outro urbano. No ciclo silvestre os PNH são os hospedeiros e a transmissão do vírus é feita pelos mosquitos silvestres dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*. Nele os seres humanos são infectados apenas acidentalmente, quando entram nas regiões de mata. O ciclo urbano se dá pela transmissão do vírus aos seres humanos, e somente entre eles, através do mosquito doméstico *Aedes aegypti* (Vasconcelos, 2002; 2003). No Brasil o ciclo urbano foi erradicado desde 1942 (Franco, 1969; Vasconcelos, 2002).

No continente africano o ciclo silvestre é mantido entre os PNH de maneira enzoótica, com a transmissão em baixo nível, sendo o vírus transmitido pelo mosquito *Aedes africanus* e as infecções humanas esporádicas e raras, quando o homem adentra a floresta. O ciclo urbano, assim como nas Américas, ocorre com a transmissão do vírus pelo mosquito *Aedes aegypti*, num ciclo que envolve somente mosquito e homem, sem participação de PNH (OMS, 1986).

Na África, entretanto, há um terceiro tipo de ciclo de transmissão, denominado ciclo intermediário. A existência desse ciclo parece ter sido proposta em 1986 pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1986). Uma publicação anterior da mesma instituição, o Terceiro Relatório do Comitê de Especialista em Febre Amarela de 1971, relata somente os ciclos silvestre e urbano para a África (OMS, 1971). A introdução do conceito desse ciclo se fez necessária em decorrência da insuficiência dos termos “silvestre” e “urbano” para descrever os surtos de febre amarela no âmbito da saúde pública, visto o conhecimento acumulado até aquele momento sobre os ciclos de transmissão na África. O ciclo intermediário ocorre na chamada zona emergente, adjacente à zona florestal onde o ciclo silvestre se desenvolve. Nele há participação de PNH e de seres humanos como hospedeiros e os vetores são os mosquitos silvestres e também a forma doméstica *Aedes aegypti*. Nesse ciclo podem ocorrer epidemias se as populações humanas e de vetores forem suficientemente grandes e a transmissão aumentar o bastante, e a transmissão pelos mosquitos silvestres pode se dar tanto de

PNH para humano quanto somente entre humanos. Além disso, epizootias cíclicas podem ocorrer e reaparecer em dois ou três anos consecutivos (OMS, 1986).

A expansão além da área enzoótica da ocorrência da febre amarela no Brasil a partir do ano 2000, nos estados da Bahia (2000 – Vasconcelos *et al.*, 2001 | 2017-2018 – Mares-Guia *et al.*, 2020), de Minas Gerais (2000 – Vasconcelos *et al.*, 2001 | 2017-2018 – Sacchetto *et al.*, 2020; Mares-Guia *et al.*, 2020), do Espírito Santo (2017-2018 – Mares-Guia *et al.*, 2020), do Rio de Janeiro (2017-2018 – Mares-Guia *et al.*, 2020), de São Paulo (2008-2009 – Moreno *et al.*, 2011; 2013 | 2016-2018 – Cunha *et al.*, 2019; 2020; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021; Prist *et al.*, 2022), do Paraná (2020-2021 – MS, 2021), de Santa Catarina (2020-2021 – MS, 2021) e do Rio Grande do Sul (2001 – Vasconcelos *et al.*, 2003 | 2008-2009 – Cardoso *et al.*, 2010; Almeida *et al.*, 2012 | 2020-2021 – CEVS-RS, 2021), com um aumento no número de casos humanos e uma maior proximidade com o ambiente urbano, pode ser indício do transbordamento da doença para uma nova região com características distintas, uma zona emergente.

Essa expansão trouxe, inclusive, a preocupação com a reurbanização da doença. Os surtos nas novas áreas incluem regiões populosas do país – como regiões metropolitanas dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (Delatorre *et al.*, 2019; Giovanetti *et al.*, 2019, Sacchetto *et al.*, 2020) –, onde o vetor urbano *Aedes aegypti* está amplamente disseminado, apesar de não ter sido encontrado contaminado com o vírus da febre amarela até então (Abreu *et al.*, 2019a; 2020; Cunha *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2023). E aqui entra a indagação de qual vetor estaria participando do ciclo de transmissão. Outra espécie do mesmo gênero, *Aedes albopictus*, tem chamado atenção, pois teria a capacidade de ser a ponte entre o ambiente silvestre e urbano e efetivar a instalação do ciclo urbano (Vasconcelos, 2002; Couto-Lima *et al.*, 2017; Gómez *et al.*, 2018; Cunha *et al.*, 2019). De origem asiática, *Aedes albopictus* foi identificado no Brasil pela primeira vez em 1986 (Forattini, 1986). Sua competência como vetor eficiente da febre amarela ainda não pôde ser comprovada. Estudos laboratoriais demonstraram que ele é capaz de se infectar com o vírus da febre amarela e em 2017 ele foi encontrado contaminado na natureza pela primeira vez, no estado de Minas Gerais. Com relação à transmissão do vírus, experimentos indicaram essa possibilidade, porém com uma baixa taxa de sucesso. Assim, não foi demonstrada a conformidade da espécie com todos os critérios para classificá-la como um vetor da febre amarela (Couto-Lima *et al.*, 2017; Possas *et al.*, 2018; Pereira dos Santos *et al.*, 2018; Cruz *et al.*, 2023; Damasceno-Caldeira *et al.*, 2023).

Um fato que merece atenção e deve ser considerado nesse complexo quebra-cabeças é a plasticidade demonstrada por um dos vetores do ciclo silvestre da doença. Nesse ciclo o gênero *Haemagogus* é o principal transmissor e duas espécies se destacam: *Hg. janthinomys*, que foi considerado o vetor primário da febre amarela silvestre, sobretudo na região endêmica da doença – Amazônia e Centro-Oeste (Arnell, 1973; Hervé & Travassos da Rosa, 1983; Dégallier, 1992; Vasconcelos, 1997; Vasconcelos, 2002); e *Hg. leucocelaenus*, vetor secundário na ausência de *Hg. janthinomys* (Vasconcelos *et al.*, 2003), que nos surtos ocorridos no Brasil a partir de 2000, fora da zona endêmica, vem sendo encontrado com maior frequência e em maior quantidade quando comparado com as outras espécies epidemiologicamente relevantes, e tem ocupado o lugar de vetor principal da febre amarela nesses locais (Vasconcelos *et al.*, 2003; Cardoso *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2011; Couto-Lima *et al.*, 2017; Tátilla-Ferreira *et al.*, 2017; Abreu *et al.*, 2019a; Silva *et al.*, 2023).

Apesar de ser reconhecido como vetor do ciclo silvestre, diversos estudos revelam características de *Hg. leucocelaenus* que podem colocá-lo numa posição diferente. É uma espécie capaz de se utilizar de diferentes fontes alimentares (aves, roedores, cães e primatas não humanos e humanos – Gomes *et al.*, 2010; Possas *et al.*, 2018); ocupar diferentes níveis do extrato vertical, desde o solo até a copa de árvores (OMS, 1971; Pinheiro *et al.*, 1981; Silva & Lozonei, 1999, Gomes *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2011; Alencar *et al.*, 2016; Tátilla-Ferreira *et al.*, 2017; Stanzani *et al.*, 2023; Dias *et al.*, 2023); larvas já foram encontradas em ambiente urbano durante atividades de rotina de vigilância de *Aedes aegypti* (Tauil, 1985) e é comumente encontrada em residências habitadas, evidenciando uma tendência à domiciliação (OMS, 1971), sendo indicada como uma espécie generalista (Camargo-Neves *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2011; Alencar *et al.*, 2016). Esses fatores permitem que *Hg. leucocelaenus* transmita patógenos entre PNH e humanos, de modo que sua participação na transmissão da febre amarela pode ir além do ciclo silvestre, uma vez que a espécie possui características que a possibilitam transitar pelos ambientes florestal e urbano. No surto em questão ele foi encontrado contaminado com o vírus da febre amarela nos municípios de Cariacica, Domingos Martins, Santa Teresa e Venda Nova, sendo que nos dois últimos foi a única espécie contaminada dentre os mosquitos coletados (Gómez *et al.*, 2018; Abreu *et al.*, 2019a; Stanzani *et al.*, 2023). Essa constatação, aliada à ocorrência de epizootias em áreas urbanas, nos faz pensar que o ciclo de transmissão ocorrido pode ser uma transição entre o ciclo silvestre e urbano, como o ciclo intermediário que acontece no continente africano,

e que o mosquito *Hg. leucocelaenus* pode ser o vetor nesse ciclo. Na África o mosquito *Aedes simpsoni* tem essa capacidade de transitar entre as áreas de floresta tropical e as zonas de emergência adjacentes, alterando seu comportamento alimentar a depender do ambiente. Na porção Central e Oriental do continente, por exemplo, ele apresenta um comportamento altamente antropofílico, enquanto na parte Ocidental ele não pica o homem. Isso o coloca como participante do ciclo intermediário (OMS, 1986). O surto ocorrido em São Paulo entre 2017-2018 também apresentou um padrão epidemiológico diferente do silvestre, de maneira que outros autores concordam com a ideia de que a dicotomia entre ciclo silvestre e ciclo urbano é insuficiente para classificar o que ocorreu (Cunha *et al.*, 2020; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021).

4.2 Primatas não humanos participantes do surto

Dos quatro gêneros de PNH registrados durante o surto de febre amarela no estado do Espírito Santo *Alouatta* foi o que apresentou maior número de indivíduos mortos, representando 62% dos casos (n=926). Esse gênero é considerado o mais sensível à doença dentre os primatas neotropicais e quantidades mínimas do vírus já são suficientes para que uma infecção fatal se desenvolva, razão pela qual ele desempenha o papel de sentinela da circulação viral, dando o alerta da possível ocorrência de um surto quando os primeiros indivíduos são encontrados mortos (Vasconcelos, 2003; Almeida *et al.*, 2012; Cunha *et al.*, 2019; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021). Em segundo lugar está *Callithrix*, com 25,7% dos indivíduos (n=380). Dentre eles, somente um indivíduo da espécie *C. flaviceps* foi documentado. Os outros dois gêneros, *Callicebus* (n=60) e *Sapajus* (n=7), representaram menos de 5% dos animais registrados. Epizootias desses gêneros de PNH também foram reportadas em outros estados fora da região endêmica da doença: *Alouatta* no Rio Grande do Sul (2008-2009 – Almeida *et al.*, 2012); *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* em São Paulo (2008-2009 – Moreno *et al.*, 2011; 2013 / 2016-2017 – Cunha *et al.*, 2019), no Rio de Janeiro e na Bahia (2017-2018 – Mares-Guia *et al.*, 2020); e *Alouatta*, *Callithrix*, *Callicebus* e *Sapajus* em São Paulo (2016-2018 – Prist *et al.*, 2022 / 2017 – de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021) e em Minas Gerais (2017-2018 – Sacchetto *et al.*, 2020). Apesar de *Alouatta* estar envolvido em todos esses surtos relatados acima ele não foi o gênero mais afetado em alguns deles, sendo superado por *Callithrix* (Moreno *et al.*, 2011; Mares-Guia *et al.*, 2020; Sacchetto *et al.*, 2020; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021). Essa diferença pode estar relacionada ao tipo de dado e metodologia de coleta

usado nesses estudos: amostras biológicas de PNH coletadas pelas vigilâncias de saúde e encaminhadas para exame laboratorial.

Inicialmente cabe considerar o objetivo da vigilância epidemiológica da febre amarela, que é detectar a circulação viral e delimitar as áreas de transmissão (MS, 2017c), de maneira que todas as áreas suspeitas precisam ser amostradas e não há necessidade de amostrar exaustivamente uma área onde a presença do vírus já tenha sido comprovada. Além disso, para que sejam coletadas amostras de um animal é necessário que sua carcaça esteja em boas condições de conservação e que os tecidos não tenham sido degradados pelo processo de decomposição, ou seja, que o animal tenha sido encontrado próximo do momento de sua morte, em até seis horas (MS, 2005), o que é uma limitação quanto à amostragem de animais em avançado estado de decomposição. Diante disso é importante destacar que o uso de dados provenientes somente de amostras dos PNH não reflete, necessariamente, os gêneros mais afetados e nem o montante de animais atingidos no surto.

Tomemos por exemplo o resultado obtido por Mares-Guia e colaboradores (2020) a partir de dados de amostras de PNH do Espírito Santo de 2017-2018 – ou seja, praticamente o mesmo período analisado no presente estudo – em que o percentual de epizootias de *Callithrix* foi 68% e de *Alouatta* apenas 5%, enquanto em nosso trabalho o percentual de *Callithrix* foi 25,7% e de *Alouatta* 62%, demonstrando a diferença capturada de acordo com o tipo de dado e método de coleta. Outro caso é o trabalho de Prist e colaboradores (2022), em que foi empregada a coleta sistemática e intensiva de dados, com a vigilância ativa das epizootias de PNH, além da tradicional vigilância passiva, e o número de amostras de PNH positivas para febre amarela foi maior em *Alouatta* do que nos demais gêneros.

A influência da biodiversidade local e das características do ambiente devem ser consideradas quando pensamos nos gêneros de PNH e número de indivíduos afetados pela doença, mas não podemos ignorar que diferentes métodos e dados revelam realidades distintas. Outra menção necessária é que mesmo o esforço de coleta de todas as epizootias registradas de um surto ainda não consegue contemplar todas as epizootias que de fato ocorreram, visto ser impraticável a detecção de todos os animais mortos, de maneira que o número apresentado neste estudo ainda é subestimado.

Todos os gêneros de PNH tiveram epizootias nos dois ciclos, mas a maioria delas foi no Ciclo 1, ou seja, até junho de 2017. Em *Alouatta*, por exemplo, elas representaram 99% (n=520) do total. Isso demonstra que o vírus se dispersou rapidamente e alcançou a

maioria dos animais disponíveis já nesse ciclo. Os PNH, de modo geral, atuam como amplificadores da transmissão viral, e um animal virêmico pode servir de fonte para a infecção de dezenas ou centenas de mosquitos vetores (Vasconcelos, 2010). Esses vetores contaminados, por sua vez, infectam novos PNH e no desenvolvimento do ciclo de transmissão o vírus é dispersado. No município de Domingos Martins, por exemplo, que teve o maior número de epizootias e PNH mortos do estado, observamos que as epizootias se restringiram ao Ciclo 1. Isso é um indicativo de que a dispersão do vírus pelas populações foi rápida e efetiva, e os indivíduos que não morreram ficaram imunes, senão todos ao menos uma proporção suficiente para que a doença não conseguisse se estabelecer novamente. O papel da imunidade das populações no desaparecimento da doença foi sugerido em uma pesquisa sorológica realizada com PNH da África, em que foi constatado um elevado nível de imunidade na população de macacos, pelo menos 75% dos indivíduos (Germain *et al.*, 1982).

A ocorrência de epizootias no Ciclo 2 indica a presença desses animais que não entraram em contato com o vírus na primeira parte do surto. E mesmo que poucas epizootias tenham sido registradas elas não devem ser ignoradas, como evidencia os dados de *Alouatta* no Ciclo 2 (n=4), em que uma epizootia teve comprovação laboratorial do vírus da febre amarela, num ambiente rural da região Serrana, município de Santa Leopoldina. *Callithrix*, entretanto, se destacou por apresentar um padrão diferente de distribuição das epizootias nos dois ciclos, pois uma quantidade considerável de mortes ocorreu no Ciclo 2 (32%) e foi responsável por 96% de todas as epizootias com identificação do PNH envolvido nesse ciclo. Também houve comprovação da presença do vírus nesse gênero em duas epizootias na área urbana das regiões Metropolitana (Vila Velha) e Sul (Rio Novo do Sul), confirmando que a persistência das epizootias estava ligada à doença e o vírus ainda estava presente nessas regiões do estado.

Por ter sido o gênero com maior número de registros no Ciclo 2, consideramos que *Callithrix* foi o principal envolvido na persistência do surto, o que também foi observado no surto no Rio de Janeiro e em Minas Gerais (Abreu *et al.*, 2019b; Silva *et al.*, 2023). Os animais desse gênero têm sido considerados mais resistentes ao vírus, por apresentarem menor carga viral que os dos outros gêneros (Cunha *et al.*, 2019; Mares-Guia *et al.*, 2020; Sacchetto, *et al.*, 2020; de Azevedo Fernandes *et al.*, 2021). Inclusive temos conhecimento de dois indivíduos de *C. geoffroyi* capturados vivos em Vitória – campus Goiabeiras da Universidade Federal do Espírito Santo – no início de março de 2017 que o vírus estava presente no sangue mas eles não apresentavam debilidade física,

aparentando estar saudáveis (dados não publicados, Projeto Sentinelas da Mata). O possível papel desse gênero como reservatório do vírus entre estações de transmissão deve ser considerado, conforme já foi levantado por de Azevedo Fernandes e colaboradores (2021). Dentro do gênero, entretanto, parece haver uma susceptibilidade diferencial entre as espécies, e isso pode ser concluído diante (1) da drástica redução populacional de *Callithrix flaviceps* após a ocorrência do surto em Caratinga, Minas Gerais (Possamai *et al.*, 2022), e (2) da variação encontrada no desenvolvimento de lesões hepáticas em indivíduos infectados, em que uns desenvolveram as lesões e outros não (Cunha *et al.*, 2019).

O menor número de casos no Ciclo 2, como mencionado acima, deve-se à redução das populações de PNH e consequente disponibilidade de hospedeiros susceptíveis no ambiente. Após o surto de febre amarela iniciado em 2016, um declínio de 86% nas populações de *Alouatta guariba* e de 80% nas de *Callithrix flaviceps* foi verificado em Caratinga, Minas Gerais (Possamai *et al.*, 2022), e uma redução de 80% foi observada em *Callicebus nigrifrons* no Santuário do Caraça, Minas Gerais (Berthet *et al.*, 2021). Vemos com isso que a reestruturação das populações de hospedeiros, com indivíduos susceptíveis, é um limitante para a ocorrência e periodicidade dos surtos (OMS, 1971; Monath, 1994; Vasconcelos *et al.*, 1997), e mesmo que haja vetores contaminados e consideremos a possibilidade de transmissão transovariana entre as gerações desses mosquitos vetores os surtos não se desenvolvem, sendo necessário os hospedeiros amplificadores do vírus (Vasconcelos, 2010).

Quando analisamos o tipo de área de ocorrência das epizootias, vemos um padrão diferente do gênero *Callithrix*, cuja maioria das mortes foi registrada em área urbana (80%), mesmo no Ciclo 1. Nos outros gêneros elas estavam mais associadas à área rural (*Alouatta* – 92%; *Callicebus* – 82%; *Sapajus* – 100%). Esse predomínio de epizootias de *Callithrix* em área urbana foi observado em Minas Gerais (Sacchetto *et al.*, 2020) e São Paulo (Cunha *et al.*, 2020).

Epizootias de *Alouatta* e *Callicebus* também foram registradas em área urbana, mas estavam muito próximas de áreas de mata nativa, enquanto as de *Callithrix* ocorreram perto de áreas edificadas. A plasticidade ecológica de *Callithrix* permite que os animais desse gênero ocupem paisagens modificadas pelo homem (Passamani & Rylands, 2000a; Duarte & Young, 2011; Nicolaevsky & Mendes, 2011; Vilela & Del-Claro, 2011; Bovo *et al.*, 2018) e, inclusive, eles parecem se beneficiar dessa proximidade, uma vez que estudos têm demonstrado que eles ocupam preferencialmente a borda dos

fragmentos de mata. Esses locais possuem maior oferta de recursos alimentares para o gênero, cuja dieta é generalista e inclui goma, flores, invertebrados e pequenos vertebrados (Passamani & Rylands, 2000b; Nicolaevsky & Mendes, 2011; Secco *et al.*, 2018). Essa proximidade de *Callithrix* com a população humana acabar por elevar o risco de transmissão de doenças entre PNH e humanos.

V. CONCLUSÃO

A dispersão do vírus da febre amarela no estado do Espírito Santo foi silenciosa. Quando o surto foi detectado as epizootias já estavam ocorrendo na maioria dos municípios que viriam a ser atingidos e havia chegado, inclusive, na região metropolitana, no litoral do estado. Em consequência disso não foi possível capturar o padrão inicial da dispersão das epizootias, mas observamos a retração gradual da área de ocorrência na faixa oeste do estado, com a persistência na faixa leste no decorrer do Ciclo 2.

Apesar do surto de febre amarela ser classificado como um ciclo silvestre, as epizootias não foram limitadas à área rural, elas ocorreram na área urbana e corresponderam a um terço dos registros. Além disso, as epizootias em área urbana foram as principais responsáveis pela persistência do surto no Ciclo 2.

Alouatta guariba foi o PNH com maior número de epizootias e indivíduos mortos, e as epizootias foram mais associadas ao Ciclo 1 e ao ambiente rural, padrão também identificado para *Callicebus personatus* e *Sapajus nigritus*. O gênero *Callithrix*, entretanto, teve um terço das epizootias no Ciclo 2 e foi o principal responsável pela persistência do surto, e isso em áreas urbanas, muito próximas de edificações.

Essa proximidade com a área urbana não é compatível com as características típicas do ciclo de transmissão silvestre, de maneira que a divisão comumente utilizada no Brasil entre ciclo silvestre e urbano não consegue descrever o que ocorreu no Espírito Santo, que mais se assemelha ao ciclo intermediário descrito para a zona de emergência adjacente às florestas da África. Nesse cenário o mosquito *Haemagogus leucocelaenus* possui as características compatíveis de um vetor do ciclo intermediário, uma vez que tem a capacidade de ocupar tanto os ambientes silvestres quanto os peri-urbanos e urbanos, como residências habitadas.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A *et al.* 2019a. **Haemagogus leucocelaenus and Haemagogus janthinomys are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018.** Emerging Microbes & Infections, v.8, p. 218-231. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1568180>
- Abreu FVS, Delatorre E, Santos AAC *et al.* 2019b. **Combination of surveillance tools reveals that Yellow Fever virus can remain in the same Atlantic Forest area at least for three transmission seasons.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 114, e190076. doi:10.1590/0074-02760190076.
- Abreu FVS, Ferreira-de-Brito A, Azevedo AS *et al.* 2020. Survey on Non-Human Primates and Mosquitoes Does not Provide Evidences of Spillover-Spillback between the Urban and Sylvatic Cycles of Yellow Fever and Zika Viruses Following Severe Outbreaks in Southeast Brazil. Viruses, v. 12, n. 364, doi:10.3390/v12040364.
- Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR *et al.* 2016. **Vertical Oviposition Activity of Mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with Emphasis on the Sylvan Vector, Haemagogus leucocelaenus (Diptera: Culicidae).** Journal of Vector Ecology, v. 41, n. 1, p. 18-26.
- Almeida MAB, Santos E, Cardoso JC *et al.* 2012. **Yellow Fever Outbreak Affecting Alouatta Populations in Southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008–2009.** American Journal of Primatology, v. 74, p. 68–76.
- Araújo FAA, Ramos DG, Santos AL *et al.* 2011. **Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009.** Epidemiol. Serv. Saúde, v. 20, n. 4, p. 527-536. doi: 10.5123/S1679-49742011000400012
- Arnell JH. 1973. **Mosquito studies (Diptera, Culicidae): a revision of the genus Haemagogus.** Contrib. Amer. Ent. Inst., v. 10, n. 2.
- Bérenger-Féraud LJB. 1890. **Traité théorique & clinique de la fièvre jaune.** Paris, Octave Doin. Disponível em: <https://cdm16694.contentdm.oclc.org/digital/collection/p16694coll108/id/10554>>. Acesso em: dez 2022.
- Berthet M, Mesbahi G, Duvot G *et al.* 2021. **Dramatic decline in a titi monkey population after the 2016–2018 sylvatic yellow fever outbreak in Brazil.** Am J Primatol, v. 83, e23335. <https://doi.org/10.1002/ajp.23335>
- Bicca-Marques JC. 2009. **Outbreak of yellow fever affects howler monkeys in southern Brazil.** Oryx, v. 43, n. 2, p. 169-175.
- Bovo AAA, Magioli M, Percequillo AR *et al.* 2018. **Human-modified landscape acts as refuge for mammals in Atlantic Forest.** Biota Neotropica, v. 18, n. 2. e20170395.
- Brès PLJ. 1986. **A century of progress in combating yellow fever.** Bulletin of the World Health Organization, v. 64, n. 6, p. 775-786.
- Bustamante ME. 1957. **La fiebre amarilla en México y origen en América.** Gaceta Médica de México, v. 87, n. 5, p. 357-376.

- Câmara FP, Gomes ALBB, Carvalho LMF, Castello LGV. 2011. **Dynamic behavior of sylvatic yellow fever in Brazil (1954-2008)**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 44, n. 3, p. 297-299.
- Camargo-Neves VLF, Poletto DW, Rodas LAC *et al.* 2005. **Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo state, Brazil**. Cad. Saúde Pública, v. 21, n. 4, p. 1278-1286.
- Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E *et al.* 2010. **Yellow Fever Virus in Haemagogus leucocelaenus and Aedes serratus Mosquitoes, Southern Brazil, 2008**. Emerging Infectious Diseases, v. 16, n. 12, doi:10.3201/eid1612.100608.
- Carter HR. 1931. **Yellow fever: an epidemiological and historical study of its place of origin**. Eds. Carter LA & Frost WH. Baltimore, Williams & Wilkins. v. 1. 308 p.
- CEVS-RS – Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul. 2021. **Informativo Epidemiológico de Arboviroses**. Disponível em: <<https://admin.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202110/13161910-informativo-epidemiologico-dengue-chik-zika-e-fa-se-40-2021-retificada.pdf>>. Acesso em: out 2023.
- Consoli R, Oliveira RL. 1994. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 228 p. Disponível em: <<https://static.scielo.org/scielobooks/th/pdf/consoli-9788575412909.pdf>>. Acesso em: jul 2023.
- Couto-Lima D, Madec Y, Bersot MI *et al.* 2017. **Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent Aedes populations**. Scientific RepoRts, v. 7, doi:10.1038/s41598-017-05186-3
- Cruz ACR, Hernández LHA, Aragão CF *et al.* 2023. **The Importance of Entomovirological Investigation of Yellow Fever Virus to Strengthen Surveillance in Brazil**. Trop. Med. Infect. Dis. v. 8, n. 329. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8060329>
- Cunha MS, da Costa AC, de Azevedo Fernandes NCC, Guerra JM, dos Santos FCP, Nogueira JS *et al.* 2019. **Epizootics due to yellow fever virus in São Paulo state, Brazil: viral dissemination to new areas (2016–2017)**. Sci Rep, v. 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41950-3>
- Cunha MS, Tubaki MR, Menezes RMT *et al.* 2020. **Possible non-sylvatic transmission of yellow fever between non-human primates in São Paulo city, Brazil, 2017–2018**. Scientific Reports, v. 10, 15751, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72794-x>
- Damasceno-Caldeira R, Nunes-Neto JP, Aragão CF *et al.* 2023. **Vector Competence of Aedes albopictus for Yellow Fever Virus: Risk of Reemergence of Urban Yellow Fever in Brazil**. Viruses, v. 15, 1019. <https://doi.org/10.3390/v15041019>
- de Azevedo Fernandes NCC, Guerra JM, Díaz-Delgado J *et al.* 2021. **Differential Yellow Fever Susceptibility in New World Nonhuman Primates, Comparison with Humans, and Implications for Surveillance**. Emerging Infectious Diseases, v. 27, n. 1, doi:<https://doi.org/10.3201/eid2701.191220>
- Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC *et al.* 1992. **New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil**. Ciência e Cultura, v. 44, n. 2/3.

- Delatorre E, Abreu FVS, Ribeiro IP *et al.* 2019. **Distinct YFV Lineages Co-circulated in the Central-Western and Southeastern Brazilian Regions From 2015 to 2018.** *Frontiers in Microbiology*, v. 10, n. 1079, doi:10.3389/fmicb.2019.01079
- Dias R, Mello CF, Santos GS *et al.* 2023. **Vertical Distribution of Oviposition and Temporal Segregation of Arbovirus Vector Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a Fragment of the Atlantic Forest, State of Rio de Janeiro, Brazil.** *Trop. Med. Infect. Dis.*, v. 8, n. 256. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8050256>
- Duarte M, Young RJ. 2011. **Sleeping Site Selection by Urban Marmosets (*Callithrix penicillata*) Under Conditions of Exceptionally High Predator Density.** *Int J Primatol*, v. 32, p. 329-334, doi:10.1007/s10764-010-9468-5
- Forattini OP. 1986. **Identificação de *Aedes (Stegomyia) Albopictus* (Skuse) no Brasil.** *Rev. Saúde Pública*, v. 20, n. 3, p. 244. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101986000300009>
- Franco O. 1969. **História da febre amarela no Brasil.** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde.
- Germain M, Cornet M, Mouchet J *et al.* 1982. **Recent advances in research regarding sylvatic yellow fever in West and Central Africa.** *Bulletin de L'Institut Pasteur*, v. 80, p. 315-330.
- Giovanetti M, Mendonça MCL, Fonseca V *et al.* **Yellow Fever Virus Reemergence and Spread in Southeast Brazil, 2016–2019.** *Journal of Virology*, v. 94, n. 1, e01623-19.
- Gomes AC, Bitencourt MD, Natal D *et al.* 1999. ***Aedes albopictus* em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre.** *Revista de Saúde Pública Journal of Public Health*, v. 33, n. 1, p. 95-97.
- Gomes AC, Torres MAN, de Paula MB, Fernandes A *et al.* 2010. **Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil.** *Epidemiol Serv Saude*, v. 19, n. 2, p. 101-113.
- Gómez MM, Abreu FVS, Santos AAC *et al.* 2018. **Genomic and structural features of the yellow fever virus from the 2016–2017 Brazilian outbreak.** *Journal of General Virology*, v. 99, p. 536–548, doi:10.1099/jgv.0.001033
- Hervé JP, Travassos da Rosa APA. 1983. **Ecologia da febre amarela no Brasil.** *R. Fundação SESP*, v. 28, n. 1, p. 11-19.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. **Vegetação Brasileira 1:5.000.000.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/vegetacao/10872-vegetacao.html?=&t=downloads>>. Acesso em: jul 2023.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021. **Malha de Setores Censitários.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/26565-malhas-de-setores-censitarios-divisoes-intramunicipais.html>>. Acesso em: mai 2023.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. **Áreas Urbanizadas do Brasil 2019.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/cobertura-e-uso-da-terra/15789-areas-urbanizadas.html?=&t=downloads>>. Acesso em: mai 2023.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2023. **Censo demográfico 2022: população e domicílios**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv102011.pdf>>. Acesso em: jan 2024.
- IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. 2015a. **Mapeamento ES 2012-2015 – Altimetria**. Disponível em: <<https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>>. Acesso em: set 2022.
- IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. 2015b. **Mapeamento ES 2012-2015 – Uso e Cobertura do Solo**. Disponível em: <<https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>>. Acesso em: nov 2018.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2012a. **Arquivo shapefile Mapeamento Geomorfológico do ES**. Disponível em: <<http://www.ijsn.es.gov.br/mapas/>>. Acesso em: nov 2022.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2012b. **Arquivo shapefile Limite Macrorregiões do ES**. Disponível em: <<http://mapas.ijsn.es.gov.br/>>. Acesso em: abr 2019.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2012c. **Arquivo shapefile Limite Microrregiões do ES**. Disponível em: <<http://mapas.ijsn.es.gov.br/>>. Acesso em: abr 2019.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2018. **Arquivo shapefile Limite Municipal do ES**. Disponível em: <<http://mapas.ijsn.es.gov.br/>>. Acesso em: abr 2019.
- Incapar – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022a. **Mapas de Chuva – Média anual de precipitação (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incapar.es.gov.br/mapas-de-chuva-normal-climatologica-album>>. Acesso em: set 2022.
- Incapar – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022b. **Mapas de Temperatura – Média anual de temperatura mínima (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incapar.es.gov.br/mapas-de-temperatura-minima>>. Acesso em: jul 2023.
- Incapar – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022c. **Mapas de Temperatura – Média anual de temperatura média (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incapar.es.gov.br/mapas-de-temperatura-media>>. Acesso em: jul 2023.
- Incapar – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022d. **Mapas de Temperatura – Média anual de temperatura máxima (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incapar.es.gov.br/temperatura-de-temperatura-maxima>>. Acesso em: jul 2023.
- Mares-Guia MAMM, Horta MA, Romano A *et al.* 2020. **Yellow fever epizootics in non-human primates, Southeast and Northeast Brazil (2017 and 2018)**. Parasites Vectors, v. 13, n. 90. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3966-x>
- Mascheretti M, Tenganl CH, Sato HK *et al.* 2013. **Febre amarela silvestre: reemergência de transmissão no estado de São Paulo, Brasil, 2009**. Rev Saúde Pública, v. 47, n. 5, p. 881-889, doi:10.1590/S0034-8910.2013047004341

- Monath TP. 1994. **Yellow fever and dengue – the interactions of virus, vector and host in the re-emergence of epidemic disease**. *Seminars in Virology*, v. 5, n. 2, p. 133-145.
- Monath TP. 2001. **Yellow fever: an update**. *Lancet Infectious Diseases*, v. 1, p. 11-20.
- Moreira-Soto A, Torres MC, Lima de Mendonça MC *et al.* 2018. **Evidence for multiple sylvatic transmission cycles during the 2016 e 2017 yellow fever virus outbreak, Brazil**. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 24, 1019.e1 e 1019.e4.
- Moreno ES, Rocco IM, Bergo ES *et al.* 2011. **Reemergence of yellow fever: detection of transmission in the State of São Paulo, Brazil, 2008**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 3, p. 290-296, doi:10.1590/S0037-86822011005000041.
- Moreno ES, Spinola R, Tengan CH *et al.* 2013. **Yellow fever epizootics in non-human primates, São paulo state, Brasil, 2008-2009**. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, v. 55, n. 1, p. 45-50, doi:10.1590/S0036-46652013000100008.
- Moussallem TM, Gava C, Ardisson KS *et al.* 2019. **Yellow fever outbreak in a ruralurban mixed community of Brazil: epidemiological aspects**. *Rev Panam Salud Publica*, v. 43. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.29>
- MS – Ministério da Saúde. 2005. **Manual de vigilância de epizootias em primatas não-humanos**. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vig_epizootias.pdf. Acesso em: jul 2023.
- MS – Ministério da Saúde. 2011. **Portaria nº 104, de 25 de janeiro de 2011**. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html. Acesso em: dez. 2020.
- MS – Ministério da Saúde. 2014. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela**. 2ª ed. Brasília – DF. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epizootias_primatas_e_entomologia.pdf. Acesso em: mar 2023.
- MS – Ministério da Saúde. 2016. **Plano de Contingência para Resposta às Emergências em Saúde Pública: Febre Amarela**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_contingencia_emergencias_febre_amarela.pdf. Acesso em: jun 2023.
- MS – Ministério da Saúde. 2017a. **COES Febre Amarela: Informe nº 01/2017**. Disponível em: <https://jornalismosocioambiental.files.wordpress.com/2017/01/informe-1.pdf>. Acesso em: out 2023.
- MS – Ministério da Saúde. 2017b. **COES Febre Amarela: Informe nº 32/2017**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/619-secretaria-svs/l1-svs/27300-febre-amarela-informacao-e-orientacao>. Acesso em: abr 2017.
- MS – Ministério da Saúde. 2017c. **Febre amarela: guia para profissionais da saúde**. Brasília – DF. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre_amarela_guia_profissionais_saude.pdf. Acesso em: mar 2023.

- MS – Ministério da Saúde. 2017d. **Nota informativa nº 02/2017: orientação para profissionais de saúde sobre febre amarela silvestre**. Brasília – DF.
- MS – Ministério da Saúde. 2021. **Boletim Epidemiológico nº 04**. Secretaria de Vigilância em Saúde, v. 52, n. 4. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2021/boletim_epidemiologico_svs_4.pdf>. Acesso em: out 2023.
- Nicolaevsky B, Mendes SL. 2011. Comportamento alimentar do sagüi-da-cara-branca, *Callithrix geoffroyi* (É. Geoffroy in Humboldt, 1812) (Primates, Callitrichidae), em ambiente urbano. In: Miranda JMD & Hirano ZMB (Eds.). **A Primatologia no Brasil**. 12 ed. Curitiba: UFPR/SBPr, 2011, p. 52-61. ISBN: 978-85-61048-01-3
- OMS – Organização Mundial de Saúde. 1971. **Expert committee on yellow fever**, 3ª ed. Technical reports Series, n. 479. Genebra. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40924/WHO_TRS_479.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: out 2022.
- OMS – Organização Mundial de Saúde. 1986. **Prevention and control of yellow fever in Africa**. Genebra. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/39154>>. Acesso em: out 2022.
- Onstad DW, Fuxa JR, Humber RA *et al.* 2006. **An Abridged Glossary of Terms Used in Invertebrate Pathology**. 3ª ed. Society for Invertebrate Pathology. <http://www.sipweb.org/glossary>.
- Passamani M & Rylands AB. 2000a. **Feeding behavior of Geoffroy's marmoset (*Callithrix geoffroyi*) in an Atlantic Forest fragment of South-eastern Brazil**. Primates, v. 41, n. 1, p. 27–38.
- Passamani M & Rylands AB. 2000b. **Home range of a Geoffroy's marmoset group, *Callithrix geoffroyi* (Primates, Callitrichidae) in south-eastern Brazil**. Revista Brasileira de Biologia, v. 60, p. 275–281.
- Pereira dos Santos T, Roiz D, Abreu FVS *et al.* 2018. **Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for enzootic pathogens at the urban-forest interface in Brazil**. Emerging Microbes & Infections, v. 7, n. 191, doi:10.1038/s41426-018-0194-y.
- Pinheiro FP, Travassos da Rosa AP, Moraes MA. 1981. **An epidemic of yellow fever in Central Brazil, 1972-1973, II. Ecological Studies**. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 30, p. 204-211.
- Pons y Codinach A. 1868 **Tratado completo teorico-pratic del vómito ó fiebre amarilla**. Habana, Pego. Disponível em: <<https://collections.nlm.nih.gov/catalog/nlm:nlmuid-65030570R-bk>>. Acesso em: dez 2022.
- Possamai CB, Melo FR, Mendes SL, Strier KB. 2022. **Demographic changes in an Atlantic Forest primate community following a yellow fever outbreak**. Am J Primatol, v. 84, e23425. <https://doi.org/10.1002/ajp.23425>
- Possas C, Martins RM, Oliveira RL, Homma A. 2018. **Urgent call for action: avoiding spread and re-urbanisation of yellow fever in Brazil**. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 113, n. 1, p. 1-2.
- Postler TS, Beer M, Blitvich BJ *et al.* 2023. **Renaming of the genus *Flavivirus* to *Orthoflavivirus* and extension of binomial species names within the family *Flaviviridae***. Archives of Virology, 168:224. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05835-1>

- Prist PR, Tambosi LR, Mucci LF *et al.* 2022. **Roads and forest edges facilitate yellow fever virus dispersion**. J Appl Ecol., v. 59, p. 4-17, doi:10.1111/1365-2664.14031
- QGIS.org, 2022. **QGIS Geographic Information System**. QGIS Association.
http://www.qgis.org.
- Rezende IM, Sacchetto L, Mello EM *et al.* 2018. **Persistence of Yellow fever virus outside the Amazon Basin, causing epidemics in Southeast Brazil, from 2016 to 2018**. PLoS Negl Trop Dis, v. 12, n. 6, e0006538.
https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006538.
- Ribeiro IP, Delatorre E, Abreu FVS *et al.* 2023. **Ecological, Genetic, and Phylogenetic Aspects of YFV 2017–2019 Spread in Rio de Janeiro State**. Viruses, v. 15, n. 437.
https://doi.org/10.3390/v15020437
- RStudio Team. 2020. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Rylands AB, Ferrari SF, Mendes SL. 2008. ***Callithrix flaviceps***. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T3571A9951402. Disponível em:
<<https://www.iucnredlist.org/fr/species/3571/191700879>>. Acesso em: fev 2019.
- Sacchetto L, Silva NIO, Rezende IMD *et al.* 2020. **Neighbor danger: Yellow fever virus epizootics in urban and urban-rural transition areas of Minas Gerais state, during 2017-2018 yellow fever outbreaks in Brazil**. PLoS Negl Trop Dis, v. 14, n. 10, :e0008658. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008658>
- Secco H, Grilo C, Bager A. 2018. **Habitat selection by the black-tufted marmoset *Callithrix penicillata* in human-disturbed landscapes**. Journal of Tropical Ecology, v. 34, p. 135–144, doi:10.1017/S026646741800007X
- SESA-ES – Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo. 2008. **Visitantes e moradores de áreas de risco potencial devem se vacinar contra febre amarela**. Disponível em: <<https://saude.es.gov.br/visitantes-e-moradores-de-areas-de-risco-pote>>. Acesso em: mai 2020.
- SESA-ES – Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo. 2017. Surto de febre amarela no Espírito Santo. **Informe nº 66/2017** de 05 de setembro de 2017: boletim de encerramento do período epidêmico (janeiro a 31 de julho de 2017).
- SES-MG – Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. 2017. **SES-MG convoca coletiva para falar da situação da Febre Amarela no estado**. Disponível em: <<https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/8934-ses-mg-convoca-coletiva-para-falar-da-situacao-da-febre-amarela-no-estado>>. Acesso em: set 2023.
- Silva MAN, Lozovei AN. 1999. **Ocorrência de *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Dyar & Shannon) e *Toxorhynchites (Lynchiella) theobaldi* (Dyar & Knab) em ocos de árvore em capão de mata, Curitiba, Paraná, Brasil**. Revista Brasileira de Zoologia, v. 16, p. 257-267.
- Silva NIO, Albery GF, Arruda MS *et al.* 2023. **Ecological drivers of sustained enzootic yellow fever virus transmission in Brazil, 2017–2021**. PLoS Negl Trop Dis, v. 17, n. 6, e0011407. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011407>
- SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2016. **Epizootia**. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/epizootia>>. Acesso em: nov. 2020.
- Soper FL. 1937. **The Newer Epidemiology of Yellow Fever**. American Journal of Public Health and The Nation's Health, v. 37, n. 1, p. 1-14.

- Soper FL. 1938. **Yellow fever: the present situation (october, 1938) with special reference to South America**. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 32, n. 3, p. 297-322.
- Souza RP, Petrella S, Coimbra TLM *et al.* 2011. **Isolation of yellow fever virus (YFV) from naturally infected *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Diptera, Culicidae) in São Paulo state, Brazil, 2009**. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 53, n. 3, p. 133-139, doi:10.1590/S0036-46652011000300004.
- Stanzani LMA, Motta MA, Erbisti RS *et al.* 2023. **Back to where it was first described: vectors of sylvatic yellow fever transmission in the 2017 outbreak in Espírito Santo, Brazil**. Viruses, v. 14. <https://doi.org/10.3390/v14122805>
- Tátilla-Ferreira A, Maia DA, Abreu FVS *et al.* 2017. **Oviposition behavior of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: culicidae), a vector of wild yellow fever in Brazil**. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, v. 59. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201759060>
- Tauil PL. 1985. ***Haemagogus leucocelaenus* em ambiente urbano**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 18, p. 1-5.
- Trapido H & Galindo P. 1956. **The Epidemiology of Yellow Fever in Middle America**. Experimental Parasitology, v. 5, p. 285-323.
- Vasconcelos PF, Rodrigues SG, Degallier N *et al.* 1997. **An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhao State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings**. Am J Trop Med Hyg., v. 57, n. 2, p. 132-137, doi:10.4269/ajtmh.1997.57.132. PMID: 9288803.
- Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP *et al.* 1998. **Arboviruses Pathogenic for man in Brazil**. In: An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries. (Eds.) Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC & Travassos da Rosa JFS. Belem, Instituto Evandro Chagas, p. 72-99.
- Vasconcelos PFC, Costa ZG, Travassos da Rosa APA *et al.* 2001. **Epidemic of Jungle Yellow Fever in Brazil, 2000: Implications of Climatic Alterations in Disease Spread**. Journal of Medical Virology, v. 65, p. 598–604.
- Vasconcelos PFC. 2002. **Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização**. Rev. Bras. Epidemiol, v. 5, n. 2, p. 244-258.
- Vasconcelos PFC. 2003. **Febre amarela**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 2, p. 275-293.
- Vasconcelos PFC, Sperb AF, Monteiro HAO *et al.* 2003. **Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 97, p. 60-62.
- Vasconcelos PFC, Bryant JE, Travassos da Rosa APA. 2004. **Genetic Divergence and Dispersal of Yellow Fever Virus, Brazil**. Emerging Infectious Diseases, v. 10, n. 9, p. 1578-1584.
- Vasconcelos PFC. 2010. **Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas**. Rev Saúde Pública, v. 44, n. 6. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010005000046>

- Vilela AA, Del-Claro K. 2011. **Feeding behavior of the black-tufted-ear marmoset (*Callithrix penicillata*) (Primate, Callitrichidae) in a tropical cerrado savanna.** Sociobiology, v. 58, n. 2.
- Wang E, Ryman KD, Jennings AD *et al.* 1995. **Comparison of the genomes of the wild-type French viscerotropic strain of yellow fever virus with its vaccine derivative French neurotropic vaccine.** Journal of General Virology, v. 76, p. 2749-2755.

VII. APÊNDICES

Apêndice A

Códigos utilizados no programa R

```
### código para execução do teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para avaliar se existe
diferença na distribuição das epizootias nos ciclos 1 e 2 de acordo com os
gêneros de PNH
c1=c(520,46,228,6)
c2=c(4,1,109,1)
dados_ciclo=cbind(c1,c2)
chisq.test(dados_ciclo,simulate.p.value = TRUE)
```

```
### código para execução do teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para avaliar se existe
diferença na distribuição das epizootias nas áreas rural e urbana de acordo com
os gêneros de PNH
rural=c(467,37,62,7)
urbano=c(42,8,253,0)
dados_area=cbind(rural,urbano)
chisq.test(dados_area,simulate.p.value = TRUE)
```

```
### código para confecção do gráfico de dispersão das epizootias em função da
DAE e da DMN (Figura 6)
```

```
# carregar os dados
dados = read.csv(file.choose(),header=T)
attach(dados)
dados = na.omit(dados)

# gerar o gráfico
dados%>%
  ggplot(aes(x = DAE, y = DMN, color = area, shape = area, size = area)) +
  geom_point() +
  scale_colour_manual(values = c("black", "red")) +
  scale_shape_manual(values=c(20,5)) +
  scale_size_manual(values=c(1,2)) +
  facet_wrap(~ genero) +
  xlab("Distância de Área Edificada (m)") +
  ylab("Distância de Mata Nativa (m)")
```

```
### código para confecção do gráfico boxplot das epizootias em área urbana em
função da DAE e da DMN (Figura 7)
```

```
# carregar os pacotes
library(ggplot2)
library(tidyverse)

# carregar os dados
dados = read.csv(file.choose(),header=T)
attach(dados)
dados = na.omit(dados)
```

```
# gerar o gráfico de Distância da Mata Nativa
dados%>%
  ggplot(aes(x = DMN, color = GENERO)) +
  geom_boxplot() +
  theme_classic() +
  scale_colour_manual(values = c("brown", "salmon", "gold"))
# gerar o gráfico de Distância de Área Edificada
dados%>%
  ggplot(aes(x = DAE, color = GENERO)) +
  geom_boxplot() +
  theme_classic() +
  scale_colour_manual(values = c("brown", "salmon", "gold"))
```

Apêndice B

Apêndice B: Municípios do estado do Espírito Santo com epizootias de febre amarela. Legenda: (1) presença; (0) ausência; (') Ciclo 1; (*) Ciclos 1 e 2. [continua]

	Município	Número de Epizootias	Número de Indivíduos	Ciclo(s)	Confirmação Laboratorial	Vínculo Epidemiológico	Número de Gênero	Alouatta	Callicebus	Calithrix	Sapajus
1	Afonso Cláudio	61	118	1 e 2	1'	1	3	1	1	1	0
2	Alfredo Chaves	6	6	1	0	1	3	1	1	1	0
3	Anchieta	13	15	1 e 2	0	1	1	0	0	1	0
4	Aracruz	10	10	1 e 2	1'	1	2	1	0	1	0
5	Atílio Vivacqua	4	6	1 e 2	1'	0	2	1	0	1	0
6	Baixo Guandu	10	20	1	0	1	1	1	0	0	0
7	Brejetuba	5	5	1	0	1	2	1	1	0	0
8	Cachoeiro de Itapemirim	27	28	1 e 2	0	1	2	1	0	1	0
9	Cariacica	48	57	1 e 2	1'	1	3	1	1	1	0
10	Castelo	11	13	1	1'	1	3	1	0	1	1
11	Colatina	13	24	1 e 2	1'	1	2	1	0	1	0
12	Conceição da Barra	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0
13	Conceição do Castelo	14	19	1	1'	1	2	1	1	0	0
14	Domingos Martins	124	230	1	1'	1	4	1	1	1	1
15	Dores do Rio Preto	2	2	1	1'	0	1	1	0	0	0
16	Fundão	5	8	1	1'	1	2	1	0	1	0
17	Guarapari	24	40	1 e 2	1'	1	2	1	0	1	0
18	Ibatiba	13	37	1	1'	1	1	1	0	0	0
19	Ibiraçu	4	5	1	1'	1	2	0	1	1	0
20	Irupi	7	28	1	1'	1	1	1	0	0	0
21	Itaguaçu	19	35	1	1'	1	3	1	0	1	1
22	Itarana	38	69	1	1'	1	1	1	0	0	0
23	Lúna	9	31	1	1'	1	2	1	0	1	0
24	João Neiva	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
25	Laranja da Terra	30	63	1	1'	1	2	1	1	0	0
26	Linhares	13	14	1 e 2	0	1	3	1	0	1	1
27	Marechal Floriano	23	38	1	1'	1	3	1	1	1	0
28	Marilândia	4	4	1 e 2	0	1	2	1	0	1	0
29	Muniz Freire	4	4	1 e 2	0	1	2	1	0	0	1
30	Muqui	1	1	2	0	1	1	0	0	1	0
31	Pancas	12	34	1	1'	1	1	1	0	0	0

Apêndice B: Continuação... Municípios do estado do Espírito Santo com epizootias de febre amarela. Legenda: (1) presença; (0) ausência; (') Ciclo 1; (*) Ciclos 1 e 2.

	Município	Número de Epizootias	Número de Indivíduos	Ciclo(s)	Confirmação Laboratorial	Vínculo Epidemiológico	Número de Gênero	Alouatta	Callicebus	Callithrix	Sapajus
32	Rio Novo do Sul	9	16	1 e 2	1*	0	2	1	0	1	0
33	Santa Leopoldina	41	63	1 e 2	1*	1	4	1	1	1	1
34	Santa Maria de Jetibá	91	97	1	1'	1	2	1	1	0	0
35	Santa Teresa	56	62	1	1'	1	3	1	1	1	0
36	São Mateus	8	8	1 e 2	0	1	3	1	1	1	0
37	São Roque do Canaã	2	3	1	1'	1	1	1	0	0	0
38	Serra	85	87	1 e 2	1'	1	2	1	0	1	0
39	Vargem Alta	9	12	1	0	1	3	1	1	1	0
40	Venda Nova do Imigrante	36	52	1	1'	1	2	1	1	0	0
41	Viana	18	23	1	1'	1	3	1	0	1	1
42	Vila Velha	35	36	1 e 2	1*	0	1	0	0	1	0
43	Vitória	53	54	1 e 2	1'	0	1	0	0	1	0

CAPÍTULO II

Influência da estrutura da paisagem na dispersão
das epizootias de *Alouatta guariba* durante o surto
de febre amarela na Mata Atlântica

RESUMO

A perda e a fragmentação do habitat tem por causas fenômenos naturais e ações antrópicas. Nesse processo ocorre a redução da quantidade de habitat e do tamanho das manchas de habitat, além do aumento do número de manchas e do isolamento delas. A fragmentação do habitat tem sido associada à propagação e emergência de doenças, conforme preconiza a hipótese do efeito de diluição em zoonoses, mas esse tema ainda gera debates na comunidade científica. O surto de febre amarela que ocorreu no Espírito Santo, antes considerado livre da doença, acometeu inúmeros primatas não humanos (PNH), tanto em regiões rurais quanto urbanas, reduzindo as populações a ponto da espécie mais susceptível à doença, *Alouatta guariba*, passar a ser considerada ameaçada de extinção. O estado está inserido na Mata Atlântica, bioma rico em biodiversidade e que perdeu mais de 80% de sua cobertura nativa, sendo formado, em sua maioria, por manchas menores de 50 ha e de florestas secundárias. Este capítulo teve como objetivo analisar a influência da estrutura da paisagem na ocorrência das epizootias. Através de Modelos Aditivos Generalizados (GAM) verificamos a associação entre a presença de epizootias e métricas da paisagem. A dependência espacial entre as epizootias foi mais importante para os modelos do que as características da paisagem. Porém, mesmo com o uso de cinco escalas espaciais, os modelos obtidos não conseguiram explicar a variação dos dados, demonstrando que o padrão espacial da mata nativa não foi suficiente para explicar a distribuição das epizootias pela paisagem e a ocorrência delas não foi associada com paisagens fragmentadas.

Palavras-chave: ecologia de paisagem; primatas; dispersão de doenças; fragmentação do habitat; biodiversidade

I. INTRODUÇÃO

A perda e a fragmentação do habitat são consequências de alterações causadas por fenômenos naturais (p.e. enchentes e queimadas) e/ou por modificações realizadas pelos seres humanos, seja para fins de assentamento da população ou para a extração e produção de recursos (August *et al.*, 2002). Nesse processo de transformação da paisagem ocorre a redução da quantidade de habitat e do tamanho das manchas de habitat e o aumento no número de manchas e no isolamento delas (Fahrig, 2003).

A fragmentação do habitat tem sido associada à propagação e emergência de doenças (Groppe *et al.*, 2001; Langlois *et al.*, 2001; Wu & Smithwick, 2016; Rulli *et al.*, 2017). A hipótese do efeito de diluição em zoonoses é um exemplo dessa associação entre a condição do habitat e a ocorrência de doenças, prevendo que ambientes mais conservados têm menor risco de ocorrência de doenças (Ostfeld & Keesing, 2000). Essa relação se baseia no princípio de que ambientes conservados possuem maior diversidade biológica, logo maior diversidade de hospedeiros. Nessa condição há uma alta proporção de hospedeiros com baixa capacidade de infectar os vetores que deles se alimentam (reservatórios incompetentes) e isso dilui a infecção em reservatórios altamente competentes (Schmidt & Ostfeld, 2001). Contrariamente, alterações no habitat podem elevar o risco de doenças, como observado para a doença de Lyme, em que a fragmentação florestal aumentou o risco de exposição à doença (Allan *et al.*, 2003). Esse efeito já foi observado para doença de Chagas, erlichiose granulocítica, hantavírus e malária (Travi *et al.*, 1994; Ogden *et al.*, 1998; Khalil *et al.*, 2016; Vittor *et al.*, 2009). Essa hipótese, entretanto, não conta com aprovação unânime da comunidade científica, havendo autores contrários a sua aceitação como um padrão explicativo geral (Randolph & Dobson, 2012; Salkeld *et al.*, 2013; Wood & Lafferty, 2013; Wood *et al.*, 2014).

O Espírito Santo foi considerado livre de febre amarela silvestre até 2016, quando se iniciou um surto em grande parte do estado (MS, 2016; 2017a). Essa zoonose acometeu inúmeros primatas não humanos (PNH), tanto em regiões rurais quanto urbanas. O estado está inserido no bioma Mata Atlântica, região de grande riqueza biológica e elevado grau de endemismo, sendo um dos hotspots de biodiversidade mundial (Myers *et al.*, 2000). De sua cobertura vegetal original estima-se que haja 15% (Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 2018) e que os remanescentes sejam, em sua maioria, manchas menores que 50 ha (Ribeiro *et al.*, 2009) formadas por florestas secundárias (Metzger, 2000).

As doenças influenciam a manutenção das populações e o efeito delas precisa ser considerado em estratégias de conservação da biodiversidade (Catão Dias, 2003). Após o surto de febre amarela desencadeado em 2016 no sudeste do Brasil foi constatada uma drástica redução das populações de PNH. No estado de Minas Gerais foi constatado um declínio de 86% nas populações de *Alouatta guariba*, 80% nas de *Callithrix flaviceps* e 80% em *Callicebus nigrifrons* (Berthet *et al.*, 2021; Possamai *et al.*, 2022). No Espírito Santo *Alouatta guariba* foi incluído na lista de espécies ameaçadas após surto, na categoria em perigo (Costa *et al.*, 2019). Antes essa espécie não era considerada ameaçada (Passamani & Mendes, 2007).

A compreensão dos fatores envolvidos na dispersão e ocorrência de doenças também pode contribuir com o desenvolvimento de medidas de prevenção mais eficientes, considerando que o transbordamento de zoonoses para as áreas urbanas eleva a exposição dos seres humanos, como foi visto para chikungunya, vírus do Nilo Ocidental e ebola (Weaver *et al.*, 2012; Arnold, 2012; Rulli *et al.*, 2017).

Neste trabalho investigamos a influência da estrutura da paisagem na ocorrência de epizootias de PNH durante o surto de febre amarela na Mata Atlântica.

II. METODOLOGIA

2.1 Local do estudo

O estudo foi realizado na região Serrana do estado do Espírito Santo, região esta que registrou o maior número de epizootias ao longo do Ciclo 1 do surto de febre amarela em 2016-2017 (Figura 1). Ela está sob a responsabilidade da Superintendência Regional Metropolitana – uma das três superintendências em que está dividida a Secretaria Estadual de Saúde do estado (SESA) – o que garante uma maior uniformidade nos processos de recepção das notificações e coleta de dados pelas vigilâncias dos municípios integrantes e, conseqüentemente, reduz possíveis vieses na amostragem.

A região selecionada corresponde às microrregiões Central Serrana e Sudoeste Serrana e é composta por 12 municípios: Afonso Cláudio, Brejetuba, Conceição do Castelo, Domingos Martins, Itaguaçu, Itarana, Laranja da Terra, Marechal Floriano, Santa Leopoldina, Santa Maria de Jetibá, Santa Teresa, Venda Nova do Imigrante. Possui uma área de 6.789 km², correspondendo à 14,7% da área do estado (IJSN, 2018).

O relevo é constituído predominantemente por Planaltos da Mantiqueira Setentrional, formação montanhosa com altitudes variadas (IJSN, 2012). A altitude varia

de 0 até 1.900 metros (IEMA, 2015a), a precipitação média anual varia de 900 a 1.500 mm e a temperatura média anual de 14 a 25 °C (Incaper, 2022a; 2022b).

A vegetação principal é a Floresta Ombrófila Densa (82%), mas compreende também Floresta Estacional Semidecidual (12%) e Floresta Ombrófila Aberta (6%) (IBGE, 2004). A mata nativa cobre 29% da área (IEMA, 2015b) e essas duas microrregiões apresentam os maiores níveis de cobertura de mata nativa e os menores índices populacionais dentre as 10 microrregiões que compõem o estado (IEMA, 2015b; IJSN, 2022a; 2022b, 2022c).

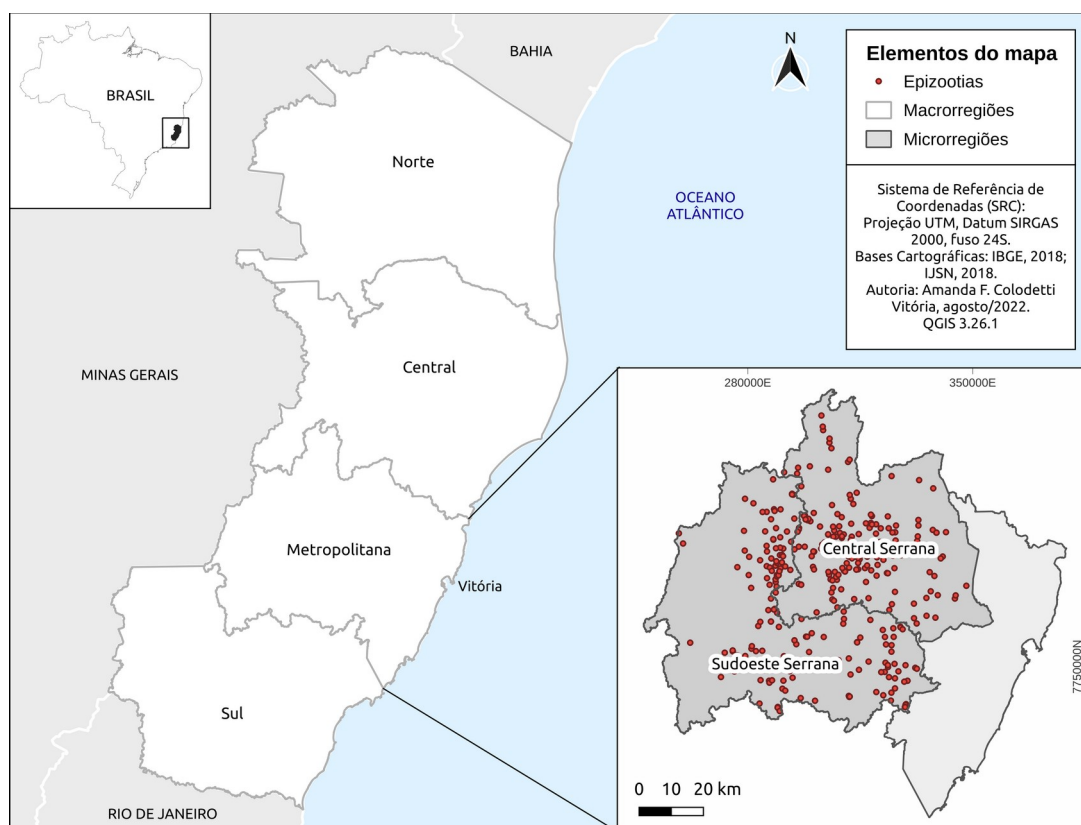


Figura 1: Mapa do local do estudo: microrregiões Central Serrana e Sudoeste Serrana do estado do Espírito Santo, Brasil. Os pontos representam as epizootias de *Alouatta guariba* registradas no primeiro ciclo do surto de febre amarela silvestre em 2016/2017.

2.2 Dados

2.2.1 Variável resposta

A variável resposta utilizada neste estudo foi a presença/ausência de epizootia de barbado (*Alouatta guariba*) nas unidades amostrais durante o primeiro ciclo de febre amarela (julho/2016 a junho/2017).

2.2.1.1 Registros de epizootias

As informações sobre as epizootias foram obtidas a partir dos dados coletados pelo projeto “Aspectos ecológicos do surto de febre amarela silvestre no Espírito Santo” (Resolução nº 166/2017 – FAPES/SEAMA – Termo de Outorga nº 006/2017), executado pelo Laboratório de Biologia da Conservação de Vertebrados da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Esse projeto de pesquisa contou com a parceria da Secretaria Estadual de Saúde do Espírito Santo – SESA, de maneira que todos os dados das epizootias registradas no estado por esta secretaria foram disponibilizados ao projeto. Além disso, pela notificação de febre amarela ser compulsória e os casos suspeitos deverem ser notificados imediatamente (MS, 2011), considera-se que todos os casos reportados às vigilâncias foram registrados.

Em toda a área do estudo foram registradas 360 epizootias, somando 597 indivíduos mortos. A primeira epizootia ocorreu em outubro de 2016 e a última em maio de 2017. Todos os municípios da região Serrana registraram mortes de PNH.

2.2.1.2 Delimitação da variável resposta

i. Presença de epizootia

A escolha das epizootias de barbado *Alouatta guariba* ocorreu com o intuito capturar mais fidedignamente a circulação do vírus da febre amarela. Dentre as espécies atingidas, essa é a mais susceptível à doença, sendo considerada a sentinela dos eventos epizoóticos, de maneira que as mortes dos primeiros indivíduos já dão o alerta da circulação viral (Vasconcelos, 2003; Almeida et al., 2012; Cunha et al., 2019; de Azevedo Fernandes et al., 2021), razão que a torna a espécie ideal para usarmos como modelo da presença da doença na paisagem.

No surto em questão o barbado foi de fato a espécie com maior número de epizootias e indivíduos mortos, representando 86% das epizootias com espécie identificada na área de estudo.

As epizootias sem coordenadas geográficas não foram consideradas.

ii. Ausência de epizootia

A ausência de epizootias nas unidades amostrais foi estimada por meio de sorteio aleatório de pseudo-ausências. A descrição detalhada está na seção 2.3.3 Processo de confecção.

2.2.2 Variáveis explicativas

As variáveis explicativas usadas nesse estudo são métricas de paisagem (Tabela 1). Foram selecionadas sete, a princípio: área total da classe – AC (*total class area – CA*), área da mancha – AM (*mean of patch area – AREA*), densidade de borda – DB (*edge density – ED*), densidade de mancha – DM (*patch density – PD*), índice de agregação – IA (*aggregation index – AI*), razão perímetro-área – PA (*perimeter-area ratio – PARA*) e distância do vizinho mais próximo – VMP (*euclidean nearest-neighbor distance – ENN*).

A seleção dessas métricas levou em consideração o grau de modificação da paisagem natural que elas são capazes de expressar. Além disso, Gestich e colaboradores (2019) indicam que DB e DM são métricas associadas ou importantes para a ocorrência de PNH, os hospedeiros da febre amarela, uma segunda razão para uma escolha possivelmente mais acertada de variáveis com maior relação com o ciclo da doença.

AC é uma métrica de área e borda e uma medida de composição. É a soma das áreas de todas as manchas pertencentes à classe *i*.

AM é uma métrica de área e borda que descreve a composição da paisagem. Resume cada classe como a média de todas as áreas das manchas pertencentes à classe *i*. Especialmente com a métrica AC, também pode dar uma ideia da estrutura da mancha (por exemplo, muitas manchas pequenas versus poucas manchas grandes).

DB é uma métrica de área e borda que descreve a configuração da paisagem. Seu cálculo é feito com o somatório do comprimento total de borda (m) dividido pela área total da paisagem (m²), multiplicado por 10.000. Cabe destacar que a variação da espessura da borda não altera o valor da métrica, visto que o comprimento que é considerado na análise. Seu valor aumenta conforme as paisagens se tornam mais fragmentadas.

DM é uma métrica de agregação e descreve a fragmentação da paisagem. Equivale ao número de manchas de um determinado tipo de classe dividido pela área total da paisagem (m²), multiplicado por 10.000 e 100. Seu valor aumenta conforme a paisagem fica mais irregular.

IA é uma métrica de agregação e descreve a porcentagem de agregação da classe na paisagem. Equivale ao número de adjacências semelhantes dividido pelo máximo número teórico possível de adjacências semelhantes para a classe. Quanto maior o valor mais agregada é a paisagem, e o máximo agregação é alcançado quando o tipo de

mancha consiste em uma única mancha, não sendo necessariamente uma mancha quadrada.

Tabela 1: Representação matemática do cálculo das variáveis explicativas.

Sigla	Índice	Fórmula	Descrição dos itens da fórmula
AC	Área total da classe (total class area) ^a	$AC = soma(a[m_{ij}])$	$a[m_{ij}]$ = área da mancha ij (ha).
AM	Média da área das manchas (mean of patch area) ^a	$AM_m = média(a[m_{ij}])$	$a[m_{ij}]$ = área da mancha ij (ha).
DM	Densidade de mancha (patch density) ^b	$DM = \frac{n_i}{A} (10.000) (100)$	n_i = número de manchas da classe i na paisagem. A = área total da paisagem (m ²).
DB	Densidade de borda (edge density) ^a	$DB = \frac{\sum_{k=1}^m e_{ik}}{A} (10.000)$	e_k = comprimento total da borda da classe i na paisagem. A = área total da paisagem (m ²).
IA	Índice de agregação (aggregation index) ^b	$IA = \left[\frac{g_{ii}}{\max \rightarrow g_{ii}} \right] (100)$	g_{ii} = número de adjacências semelhantes entre pixels do tipo de mancha (classe) i com base no método de contagem única. $\max \rightarrow g_{ii}$ = número máximo de adjacências semelhantes entre pixels do tipo de mancha (classe) i com base no método de contagem única.
PA	Média da razão perímetro-área (mean perimeter area ratio) ^a	$PA_m = média\left(\frac{p_{ij}}{a_{ij}}\right)$	p_{ij} = perímetro da mancha ij (m). a_{ij} = área da mancha ij (m ²).
VMP	Média da distância euclidiana do vizinho mais próximo (mean of euclidean nearest-neighbor distance) ^a	$VMP_m = média(VMP[m_{ij}])$	$VMP[m_{ij}]$ = distância euclidiana do vizinho mais próximo da mancha ij.

^aHesselbarth et al. (2019); ^bMcGarigal (2015).

PA é uma métrica de forma que descreve a complexidade das manchas da paisagem. Em nível de mancha é calculada como o perímetro da mancha ij (m) dividido pela área da mancha ij (m²). Aqui utilizamos a métrica à nível de classe, de maneira que seu cálculo foi baseado na média da razão perímetro-área das manchas dentro da paisagem (isto é, da unidade amostral). Seu valor aumenta a medida que a forma das manchas fica mais complexa.

VMP é uma métrica de agregação que mede a distância até o trecho vizinho mais próximo da mesma classe.

As métricas foram calculadas em nível de classe, utilizando a classe 'Mata Nativa' do Mapa de Uso e Cobertura do Solo do ES (IEMA, 2015b). Esse mapa foi elaborado utilizando dados espaciais provenientes dos arquivos Ortofotomosaico 2012/2015, produto cartográfico digital de escala 1:10.000 PEC A, de resolução espacial de 0,25 m, elaborado a partir de um Levantamento Aerofotogramétrico realizado entre 2012 e 2015, georreferenciado no Sistema de Projeção UTM, Datum SIRGAS2000, zona 24S (IEMA, 2015b). Esses dados, originalmente no formato *shapefile*, foram convertidos para o

formato *raster* no QGIS versão 3.26.1 (QGIS, 2022), com a ferramenta '*converter vetor para raster (rasterizar)*', numa resolução de 5 m. O cálculo das métricas foi realizado no programa RStudio versão 4.0.2 (RStudio Team, 2020) com o auxílio do pacote '*landscapemetrics*' (Hesselbarth *et al.*, 2019) (o código utilizado está disponível no Apêndice B). Para as métricas em que era necessário estipular o número de direções que as manchas devem ser conectadas, foi utilizado o valor 8 (caso da rainha), em que todos os pixels vizinhos são considerados.

O processo de cálculo das métricas foi repetido para cada uma das cinco escalas espaciais utilizadas neste estudo, de maneira que a resolução do pixel (5 m) foi a mesma em todas as escalas, sendo alterado somente o tamanho da paisagem analisada (unidade amostral).

2.3 Escalas espaciais de análise – unidades amostrais

Trabalhamos com múltiplas escalas espaciais de análise (Tabela 2). Isso se fez necessário devido ao complexo processo biológico que é o ciclo da febre amarela silvestre, de maneira que a definição errônea do tamanho da escala espacial poderia não capturar a relação entre as variáveis ou mesmo capturar um comportamento irreal.

2.3.1 Critérios para definição do tamanho das unidades amostrais

Para a definição da área da paisagem a ser analisada em cada escala espacial – tamanho da unidade amostral – levou-se em consideração aspectos biológicos das espécies envolvidas no ciclo: o PNH hospedeiro *Alouatta guariba* e os mosquitos vetores do gênero *Haemagogus* – principal transmissor silvestre da febre amarela (Hervé & Travassos da Rosa, 1983). Do hospedeiro consideramos sua área de vida, a fim de que a unidade amostral fosse maior e, com isso, a dependência entre as amostras fosse diminuída. A área de vida desse PNH varia de 5,5 ha a 33 ha (Mendes, 1989; Martins, 1997; Steinmetz, 2001; Aguiar *et al.*, 2003; Miranda, 2004; Martins *et al.*, 2011). Do vetor consideramos o raio de dispersão, que varia de 2 km a 6 km (Causey, 1950), o que garantiria que a partir de uma dada unidade amostral a doença pudesse ser dispersada para as unidades adjacentes. Assim, as unidades deveriam ter área (a) maior que a área de vida dos hospedeiros (isto é, $a > 33$ ha) e o raio (r) menor que a distância mínima de dispersão dos vetores (isto é, $r < 2.000$ m). Com isso ficou estabelecido os seguintes tamanhos para cada escala espacial: (1) $a = 78,49$ ha e $r = 500$ m; (2) $a = 176,57$ ha e $r = 750$ m; (3) $a = 313,96$ ha e $r = 1.000$ m; (4) $a = 500$ ha e $r = 1.378$ m; (5) $a = 1.000$ ha e $r = 1.961$ m (Tabela 2).

2.3.2 Uso de diferentes formatos

Utilizamos duas abordagens para a definição das unidades amostrais: buffers circulares e células de malha de grade hexagonal (Figura 2). Isso se fez necessário pois o uso da malha de grade no caso das escalas espaciais menores elevaria o número de unidades com ausência de epizootias, tornando a relação presença/ausência muito pequena, o que dificultaria ou mesmo inviabilizaria a análise de tão poucos dados. Assim, os buffers tornam-se mais adequados por excluir da análise as áreas da paisagem sem dados que poderiam enviesar as relações.

Tabela 2: Escalas espaciais de análise: descrição das unidades amostrais.

ID	Tipo	Área		Raio		Número de amostras (n)	Presença de epizootia	Ausência de epizootia
		km ²	ha	km	m			
1 B1	buffer circular	0,78	78,49	0,50	500	719	240	477
2 B2	buffer circular	1,76	176,57	0,75	750	607	216	389
3 B3	buffer circular	3,13	313,96	1,00	1000	366	164	202
4 G1	malha de grade hexagonal	5,00	500,00	1,38	1387	1215	255	958
5 G2	malha de grade hexagonal	10,00	1000,00	1,96	1961	589	198	389

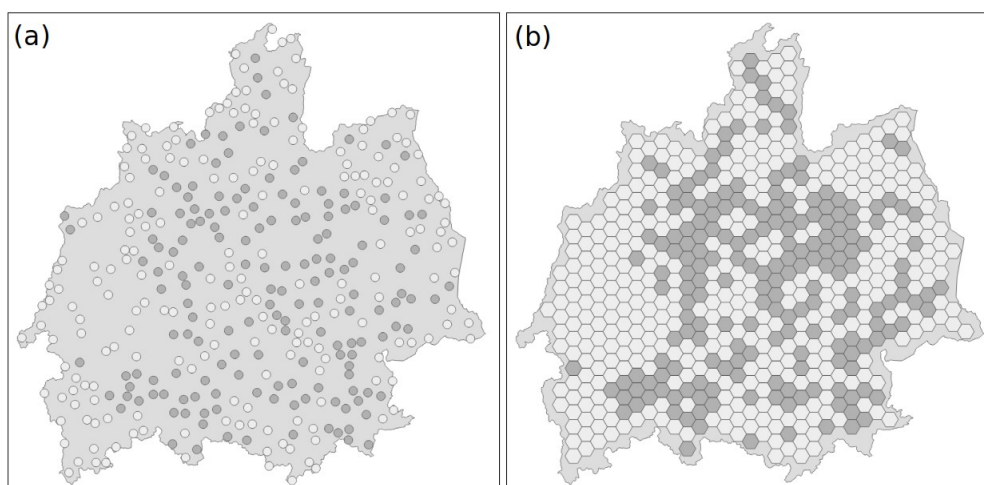


Figura 2: Ilustração das unidades amostrais utilizadas no estudo: (a) buffer circular – B3, e (b) malha de grade hexagonal – G2. As unidades em cinza claro são as com dados de ausência de epizootia e as em cinza escuro são de presença.

2.3.3 Processo de confecção

O processo de criação das unidades amostrais foi realizado no QGIS.

2.3.3.1. Buffer circular

Ao redor das epizootias foram construídos buffers circulares. Devido à proximidade entre algumas epizootias, alguns buffers ficaram sobrepostos. Nessa situação apenas um

foi selecionado, aleatoriamente, sendo o(s) outro(s) removido(s) para não inflar a representação de uma mesma área nas amostras. Esses buffers consistiam nas unidades amostrais com dados de presença.

Os dados de ausência foram estimados por meio do sorteio aleatório de pseudo-ausências. Antes de sortear os pontos de pseudo-ausência, para impedir que os buffers de ausência se sobrepusessem aos de presença, foi criada uma área de amortecimento em torno dos buffers de presença. Essa área foi estabelecida com uma distância equivalente ao dobro do valor do raio ($2R$) usado para a criação da unidade amostral. Dessa maneira, mesmo que um ponto de pseudo-ausência fosse sorteado próximo a um buffer de presença, o buffer gerado ao redor dessa pseudo-ausência estaria há, pelo menos, uma distância igual ao valor do raio (R).

Por exemplo, para a escala B1 com raio de 500 m a área de amortecimento tinha um raio de 1.000 m. Com esse valor, mesmo que uma pseudo-ausência esteja no limite dessa área, o buffer de ausência gerado posteriormente avançará somente 500 m nessa região, restando uma área que separará presença e ausência. O número de pontos de pseudo-ausência sorteado foi o dobro de epizootias, visto que seria reduzido após o processo de remoção de buffers sobrepostos, assim como para os buffers de epizootias.

A área na qual as pseudo-ausências foram sorteadas equivale à área total do estudo subtraídas as áreas dos buffers de presença (Graham *et al.*, 2004) e de amortecimento.

2.3.3.2 Malha de grade

As células de malha de grade hexagonal estão inseridas nos limites da área de estudo e todas as unidades estão completamente preenchidas pela paisagem, o que torna possível a comparação entre elas. O formato hexagonal foi escolhido por ser a forma mais próxima de um círculo em que é possível construir uma grade regular. Além disso, ele possui uma alta relação perímetro/área, sendo possível determinar de maneira inequívoca a vizinhança mais próxima (Birch *et al.*, 2007).

Também sorteamos aleatoriamente pontos de pseudo-ausência nas células sem epizootias (Graham *et al.*, 2004), numa quantidade de dez vezes o número de pontos de epizootias (Chefaqui & Lobo, 2008). Entretanto, os pontos ocuparam todas essas células.

A malha de grade hexagonal foi criada com auxílio do complemento MMQGIS.

2.4 Análise

2.4.1 Autocorrelação espacial

A autocorrelação espacial é um fenômeno em que os valores das variáveis amostradas em locais vizinhos são dependentes entre si (Tobler, 1970), fato que pode ocorrer devido a características intrínsecas de processos biológicos como a dispersão de doenças, dependentes de distância.

A avaliação da variável resposta foi feita por meio do Índice de Moran no programa GeoDa (Anselin *et al.*, 2006). Enquanto o Índice Global de Moran informa o nível de interdependência espacial entre todos os polígonos em estudo, o Índice Local de Moran avalia a covariância entre um determinado polígono e uma certa vizinhança definida em função de uma distância d .

Para isso utilizou-se os dados de presença/ausência de epizootias nas unidades amostrais e o peso W , somatório de todos os valores da matriz de adjacências W (0 – epizootia e não adjacente; 1 – adjacente). Para a confecção da matriz de adjacências foi usado como método de vizinhança o padrão queen (rainha), onde todas as células que tocam a célula focal são vizinhas, e contiguidade de primeira ordem, em que são vizinhos somente aqueles diretamente adjacentes à célula focal.

Foram feitas 999 permutações para avaliar a significância do teste.

No caso de haver autocorrelação, um indicador dessa relação deve ser adicionado à análise como possível variável explicativa.

2.4.2 Correlação

A análise de correlação tem como finalidade verificar se duas variáveis tendem a mudar juntas, ou seja, expressam a mesma tendência e são redundantes. Caso isso ocorra uma delas deve ser removida para não inflar a análise.

As variáveis explicativas selecionadas para este trabalho são contínuas e para esse cenário o teste de correlação de Pearson (Pearson, 1896) é o adequado. Para o cálculo da matriz de correlação utilizamos a função *cor()* do programa RStudio. Usamos como limiar para considerar a existência de correlação entre variáveis valores igual ou maior à 0,7. O critério aqui utilizado para a remoção de uma variável correlacionada foi o grau de sua relação com a variável resposta (presença/ausência de epizootias na unidade amostral), sendo removida(s) a(s) que apresentava(m) a relação mais fraca.

2.4.3 Dados ausentes

Foram removidas as amostras em que ao menos uma variável explicativa estava ausente (NA) (Apêndice A).

2.4.4 Modelagem

2.4.4.1 Definição do modelo adequado

A investigação da correlação entre uma variável resposta e uma ou mais variáveis explicativas pode ser realizada por meio de Modelos de Regressão Linear. Quando temos mais de uma variável explicativa a regressão é múltipla. Os pressupostos dessa análise incluem: (1) linearidade das variáveis; (2) distribuição normal dos resíduos (ou erros); (3) independência dos resíduos; e (4) homoscedasticidade dos resíduos, isto é, variação constante dos resíduos.

Os Modelos Lineares Generalizados (GLMs – Generalized Linear Models) fazem parte dessa categoria de modelos, mas possuem características intrínsecas que os permitem trabalhar com dados com distribuição de resíduos diferentes da normal e também com variáveis não lineares (Nelder & Wedderburn, 1972). Nesses modelos a dificuldade da linearidade é contornada pelo uso da função de ligação, que é aplicada na esperança da variável resposta. Essa função transforma apenas a esperança da variável, preservando a estrutura dos resíduos e modelando os resíduos na sua escala original. Com ela um preditor linear é gerado – um vetor com a média da variável – e é ele que apresenta a relação linear com as variáveis explicativas, e não a variável resposta. Assim, apesar de possibilitar o uso de variáveis não lineares, a relação final expressa pelo modelo é linear.

Os Modelos Aditivos Generalizados (GAMs – Generalized Additive Models) são uma extensão dos GLMs e trazem a vantagem de permitir a modelagem de relacionamento não lineares. Eles usam funções suaves (spline) que capturam melhor a relação entre as variáveis, são mais flexíveis, produzindo curvas suavizadas dessas relações. A função suave é aditiva, ela é formada pela soma de funções de base (k), onde cada k tem um coeficiente correspondente, de forma que não são estimados parâmetros únicos para cada variável como os coeficientes lineares (β) do GLM. Para cada variável é gerada uma curva suavizada, estimando a relação entre as médias das variáveis resposta e explicativa. Esses modelos se mostram mais adequados para capturar padrões ecológicos complexos.

Para dados com autocorrelação espacial faz-se necessário incorporar ao modelo um fator que represente essa correlação, de maneira que a ausência desse fator compromete ou mesmo invalida a inferência estatística obtida. Uma alternativa é adicionar um componente geográfico como uma variável na análise (Dormann *et al.*, 2007).

2.4.4.2 Processo de modelagem

O processo de modelagem foi executado no programa RStudio versão 4.0.2 (RStudio Team, 2020). Os dados foram padronizados para a confecção dos modelos, com a função *scale()*. Os modelos GAM foram construídos com o pacote '*mgcv*' 1.8-40, função *gam()* (Wood, 2022a). A família de distribuição de dados foi binomial. Utilizou-se o método REML para estimar os coeficientes do modelo e os parâmetros de suavização, uma vez que ele tem se mostrado melhor do que GCV e AIC (Krivobokova & Kauermann, 2007; Wood, 2011; Mosammam & Mateu, 2018).

A escolha do número de funções de base (k) dos modelos não é norteadas previamente por critérios teóricos, k deve ser suficientemente grande para representar a veracidade da relação e pequena o suficiente para permitir uma razoável eficiência computacional. A função *gam()* contempla internamente a definição arbitrária de um valor inicial para a confecção do modelo e é possível verificar a adequação desse valor através de um teste gerado pela função *gam.check()*, onde são calculados para cada variável os indicadores: k' , edf, k -index e p-valor. Quando k -index < 1 isso pode indicar que k é muito baixo, especialmente se edf (graus de liberdade efetivos) estiver próximo de k' . O ideal é que todas as variáveis possuam p-valor $> 0,05$, indicando que os resíduos são distribuídos aleatoriamente e a quantidade de funções de base é suficiente. Caso seja o p-valor seja $< 0,05$, devemos alterar k gradualmente até obter o desejável. Há um limite para o valor de k , que deve ser menor que $n/2$ (Wood, 2022b).

Inicialmente foi gerado um modelo saturado, que incluía todas as variáveis explicativas como termos suavizados. Nesse modelo verificamos a dimensão da base (k) para constatar se os resíduos estavam distribuídos aleatoriamente e o valor de k era adequado (i.e., p-valor $> 0,05$). Caso o p-valor fosse menor que 0,05 era feita a alteração do valor de k , aumentando até encontrarmos uma distribuição aleatória de resíduos.

As variáveis menos explicativas foram removidas do modelo, passo a passo, tomando como critério aquelas que possuíam p-valor maior. Um novo modelo era gerado sem a variável. Era feita a comparação entre os modelos com e sem a variável através

da função $AIC()$, de maneira que o modelo com menor AIC era selecionado, até a remoção da última variável possível. Ao término desse processo era obtido o modelo final.

A contribuição das variáveis retidas no modelo final foi estimada com base na Queda na Variância Explicada – QVE e na Variância Explicada Individual – VEI (modificado a partir de Leite, 2007). O cálculo da QVE de cada variável foi feito segundo a fórmula

$$QVE = VE_{mf} - VE_{mr} \quad (1)$$

onde,

VE_{mf} : Variância Explicada do modelo final;

VE_{mr} : Variância Explicada do modelo com remoção da variável de interesse.

Inicialmente a variável de interesse é removida do modelo final e o valor da variância explicada desse novo modelo é obtida; posteriormente ele é subtraído da variância explicada do modelo final, resultando na QVE da variável. Já o valor da VEI foi calculado com a inclusão unicamente da variável de interesse no modelo. Esse processo é realizado para cada variável.

Os códigos usados estão disponíveis no Apêndice B.

III. RESULTADOS

3.1 Autocorrelação Espacial

O índice de Moran demonstrou que existe autocorrelação espacial positiva nas cinco escalas de estudo (Figura 3), o que pode ser constatado pelos valores positivos do índice e pelos valores da estatística dos dados reais. O índice foi equivalente a 0,258; 0,304; 0,245; 0,198 e 0,213, respectivamente, para as escalas B1, B2, B3, G1 e G2. O teste de significância com 999 permutações gerou uma distribuição de referência da estatística (histograma) e o valor da estatística para os dados reais (linha verde) ficou deslocado para a direita, sem sobreposição com o histograma, sugerindo uma forte rejeição da hipótese nula de que os dados são distribuídos aleatoriamente. Diante disso, foi utilizado um termo indicativo da dependência espacial dos dados nos modelos produzidos, como uma das variáveis explicativas. Esse termo consistiu nas coordenadas geográficas do centroide das células amostrais.

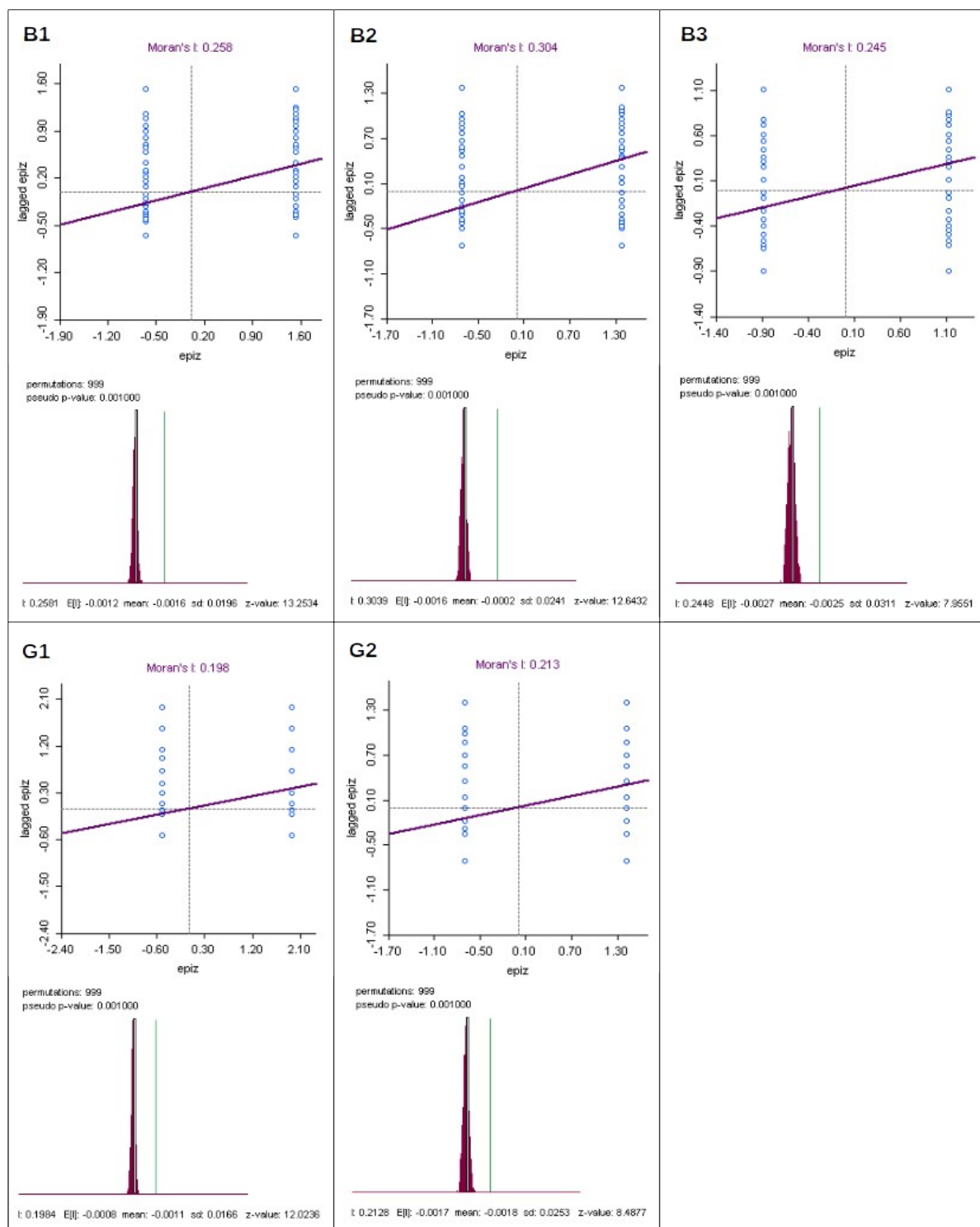


Figura 3: Índice de Moran. Em cima está representado o gráfico de dispersão de Moran, onde a inclinação da reta corresponde ao I de Moran. Embaixo está a avaliação estatística da significância do teste, a distribuição de referência, onde a linha verde indica o valor para os dados reais.

3.2 Correlação

As matrizes de correlação de Pearson estão representadas na Figura 4. Na escala B1 as variáveis AC e AM apresentam correlação, sendo AC removida por ter menor relação com a variável resposta presença/ausência de epizootia (epiz). Em B2, AC e AM estão correlacionadas (AM removida). Em B3 estão correlacionadas AC e AM (AM removida) e DM e IA (IA removida). Na escala G1 apresentaram correlação AC e AM (AM descartada) e DM e IA (DM removida). Em G2, AC e DM (DM removida) e AC e IA (IA removida). As variáveis selecionadas em cada escala após o teste de correlação de Pearson foram: B1 – AM, DB, DM, IA, PA e VMP; B2 – AC, DB, DM, IA, PA e VMP; B3 – AC, DB, DM, PA e VMP; G1 – AC, DB, IA, PA e VMP; G2 – AC, AM, DB, PA e VMP.

B1							
	AC	AM	DB	DM	IA	PA	VMP
AC		0,80	0,08	-0,44	0,37	-0,02	-0,53
AM			-0,02	-0,43	0,36	-0,15	-0,30
DB				-0,17	0,04	0,00	-0,14
DM					-0,29	0,15	0,21
IA						-0,21	-0,05
PA							-0,10
VMP							
epiz	-0,01	* -0,10	-0,08	0,00	-0,04	-0,04	-0,06

B2							
	AC	AM	DB	DM	IA	PA	VMP
AC		0,76	0,12	-0,53	0,66	0,12	-0,51
AM			0,01	-0,50	0,64	0,00	-0,23
DB				-0,22	0,00	0,01	-0,22
DM					-0,62	0,14	0,20
IA						-0,01	-0,19
PA							-0,11
VMP							
epiz	* 0,08	-0,03	-0,01	-0,06	-0,05	-0,05	-0,16

B3							
	AC	AM	DB	DM	IA	PA	VMP
AC		0,74	0,08	-0,63	0,67	0,17	-0,57
AM			-0,10	-0,59	0,66	-0,03	-0,22
DB				-0,18	-0,06	0,07	-0,18
DM					-0,77	0,04	0,29
IA						0,05	-0,19
PA							-0,20
VMP							
epiz	* 0,13	-0,07	0,07	* -0,07	0,01	0,11	-0,23

G1							
	AC	AM	DB	DM	IA	PA	VMP
AC		0,70	0,05	-0,68	0,69	0,19	-0,55
AM			-0,13	-0,53	0,60	0,09	-0,20
DB				-0,13	-0,09	0,01	-0,20
DM					-0,77	0,02	0,22
IA						0,08	-0,19
PA							-0,11
VMP							
epiz	* 0,05	-0,04	0,00	-0,01	* -0,04	-0,02	-0,09

G2							
	AC	AM	DB	DM	IA	PA	VMP
AC		0,67	0,06	-0,70	0,70	0,27	-0,53
AM			-0,15	-0,55	0,61	0,04	-0,19
DB				-0,11	-0,11	-0,05	-0,21
DM					-0,82	-0,10	0,15
IA						0,13	-0,17
PA							-0,23
VMP							
epiz	* 0,12	-0,06	0,00	* -0,04	-0,01	0,09	-0,16

Figura 4: Matriz de correlação de Pearson dos dados das diferentes escalas de análise (B1 – buffer 500 m, B2 – buffer 750 m, B3 – buffer 1000 m, G1 – grid 5 km², G2 – grid 10 km²). AC (área total da classe), AM (área das manchas), DB (densidade de borda), DM (densidade de mancha), IA (índice de agregação), PA (razão perímetro-área), VMP (distância do vizinho mais próximo), epiz (presença/ausência de epizootias).

3.3 Modelagem

Os modelos finais de cada escala espacial estão detalhados na Tabela 3. Os gráficos da curva de resposta parcial e da contribuição das variáveis estão representados na Figura 5 e na Figura 6, respectivamente.

Na menor escala espacial, com área de 0,78 km² (B1), das seis métricas de paisagem incluídas no modelo saturado apenas o índice de agregação (IA) foi retido no modelo final. O valor do índice edf foi igual a 2,44. Esse índice revela a complexidade da suavização do termo, de maneira que quando edf é igual a 1 a relação é retratada por uma reta (linear) e o aumento de seu valor descreve curvas mais sinuosas (relação não linear). A relação do IA com a ocorrência de epizootias foi uma curva quadrática, descrevendo uma relação positiva (ascendente) no início da curva e, após inversão, um relacionamento negativo (descendente). Cabe destacar que a região da curva onde está a maior parte das observações é a que apresenta a relação negativa. O indicador de autocorrelação espacial (XY) também foi retido no modelo final e apresentou um relacionamento altamente complexo (edf = 53,73), o que está de acordo com o fato dela representar a associação das coordenadas geográficas das células amostrais. O modelo selecionado foi capaz de explicar 30,1% da variação dos dados (Variância Explicada – VE) e a variável que mais contribuiu foi XY.

Tabela 3: Modelos finais obtidos após a simplificação passo a passo do modelo saturado. O valor expresso é o p-valor das variáveis. Entre parênteses está o valor de edf (graus de liberdade efetivos), que = 1 demonstra a relação linear entre as variáveis resposta e explicativa e >1 a relação não linear. O asterisco (*) indica as variáveis não significativas ($p > 0.05$) retidas no modelo final. 'cor' indica a variável correlacionada removida antes do processo de produção do modelo.

Variáveis	Escala espacial				
	B1	B2	B3	G1	G2
Área total da classe	cor				0.0014 (3.6)
Área das manchas		cor	cor	cor	0.0009 (1.0)
Densidade de mancha		0.0163 (1.0)		cor	cor
Densidade de borda		0.0620 (1.0)*			
Índice de agregação	0.0050 (2.4)	0.0045 (1.0)	cor	0.1810 (1.0)*	cor
Razão perímetro-área				0.1630 (1.0)*	
Vizinho mais próximo		0.0043 (1.0)	0.0524 (5.8)*		
Autocorrelação espacial	1.05e-05 (53.7)	4.53e-06 (49.4)	1.5e-05 (18.0)	<2e-16 (28.9)	0.0005 (25.2)
Variância explicada	30.1%	36.9%	26.9%	17.1%	23.1%
Número de amostras	719	607	366	1215	589

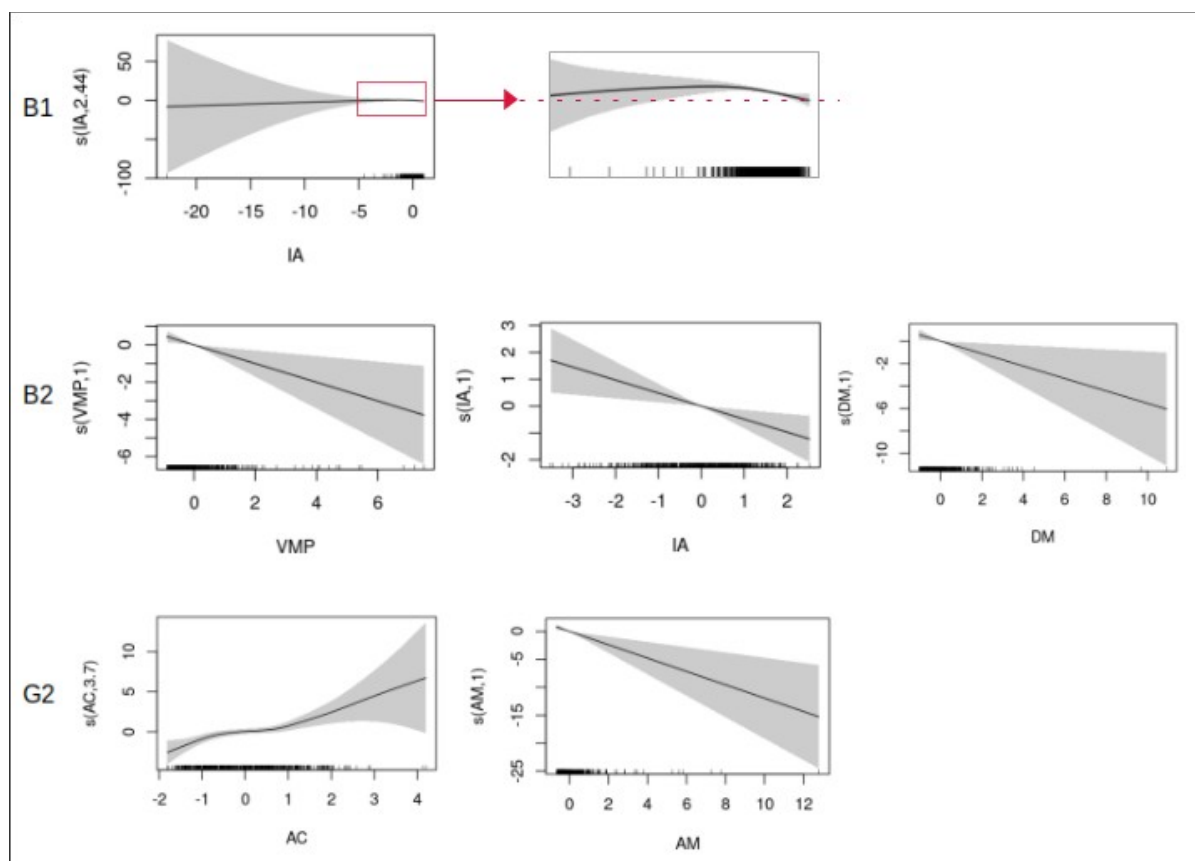


Figura 5: Curvas de resposta parcial da variável presença/ausência de epizootias em função das variáveis explicativas significativas ($p > 0,05$) mantidas nos modelos finais de cada escala. O eixo y é baseado nos resíduos parciais e indica a influência relativa na predição. A área cinza representa o intervalo de confiança. Cada barra vertical no eixo x representa uma observação. Em B1 a área destacada em vermelho foi ampliada para melhor visualização da curva.

Na escala de 1,76 km² (B2) o modelo saturado continha seis métricas de paisagem e dessas foram retidas três: vizinho mais próximo (VMP; edf = 1; linear), índice de agregação (IA; edf = 1; linear) e densidade de mancha (DM; edf = 1; linear). As relações entre a variável resposta e as variáveis VMP, IA e DM foram todas negativas. Além disso, o indicador de autocorrelação espacial também foi selecionado (XY; edf = 49,4; não linear) e, como na escala anterior, foi a variável que mais contribuiu com o modelo. A VE dele foi a maior entre todas as escalas, igual a 36,9%.

Os modelos das escalas intermediárias de 3,13 km² (B3) e 5 km² (G1) não retiveram nenhuma das cinco métricas de paisagem incluídas no modelo inicial, somente o termo indicador de autocorrelação espacial (XY) foi retido no modelo final, e a VE foi de 26,9% e 17,1%, respectivamente.

O modelo final da maior escala, 10 km² (G2), reteve duas das cinco métricas: área da mancha (AM; edf = 1; linear negativa) e área da classe (AC; edf = 3,61; não linear positiva). Além das métricas da paisagem, reteve o termo de autocorrelação espacial (XY;

edf = 25,21; não linear), que foi a variável que mais importante. O valor da VE foi de 23,1%.

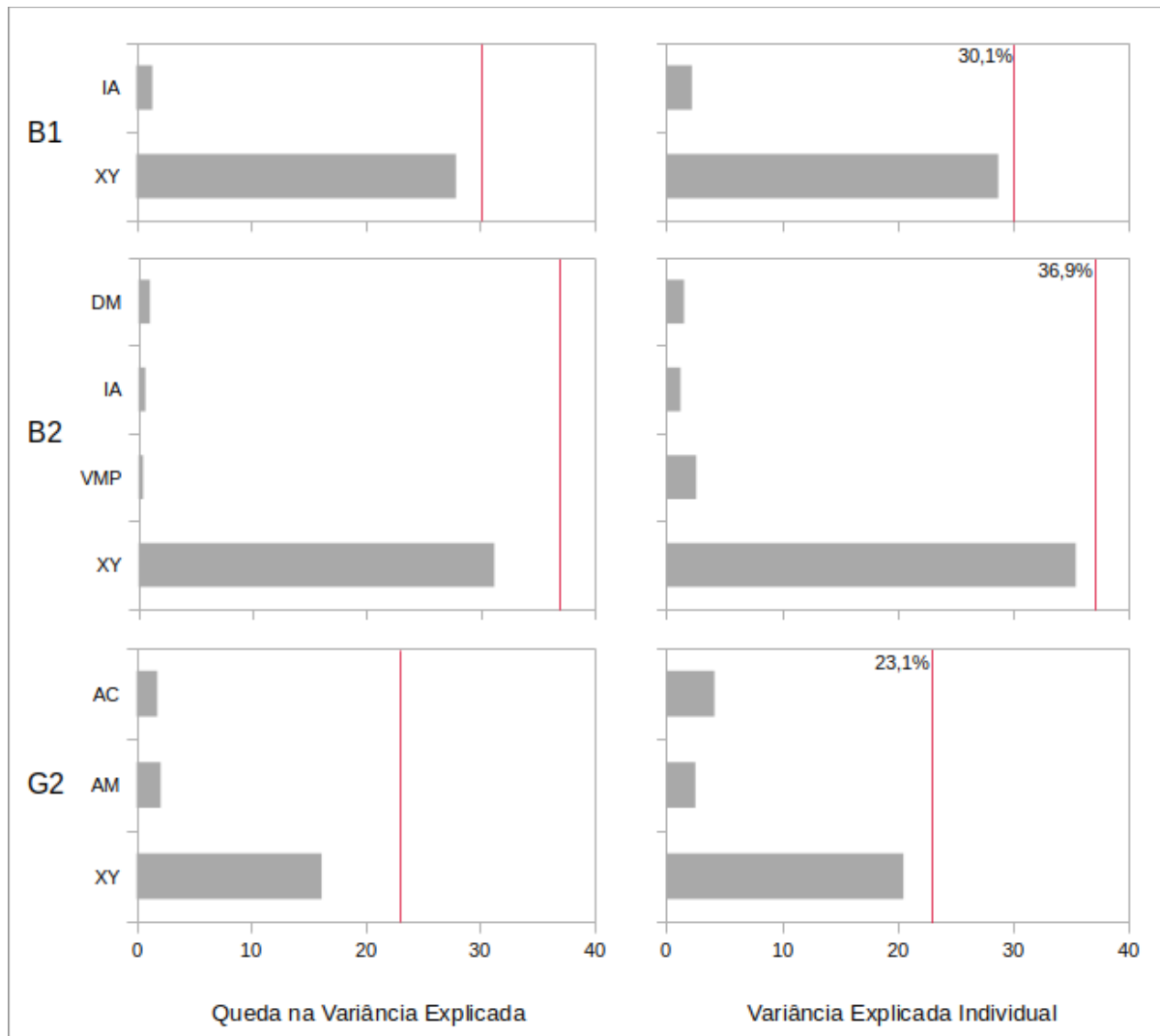


Figura 6: Contribuição das variáveis na variância explicada pelo modelo final, nas escalas espaciais com mais de uma variável significativa retida no modelo final: B1, B2 e G2. A linha vermelha indica o valor da Variância Explicada pelo modelo final.

IV. DISCUSSÃO

O uso das cinco escalas espaciais capturou três padrões explicativos distintos quanto às métricas da paisagem. Nas escalas menores (B1 e B2) a agregação foi a característica que se destacou para explicar a ocorrência das epizootias. Na escala maior (G2) a área foi o fator mais influente. Já nas escalas intermediárias (B3 e G1) nenhuma das métricas analisadas se mostrou importante.

Na menor escala, de 0,78 km² (B1), a variável *índice de agregação* (IA) demonstrou uma relação predominantemente negativa com a presença de epizootias, ou seja, a probabilidade de ocorrência de epizootias foi maior em paisagens onde a mata nativa

estava mais desagregada. Mas a relação de IA com a variável resposta foi uma curva quadrática ($edf = 2.44$ – Figura 5), revelando um duplo comportamento (positivo/ascendente e negativo/descendente), sendo o predomínio aqui destacado uma referência à região da curva que concentrou o maior número de observações. Essa foi a única métrica de paisagem selecionada no modelo final.

Na escala de 1,76 km² (B2) as métricas retidas no modelo final foram: *densidade de mancha* (DM), *vizinho mais próximo* (VMP) e *índice de agregação* (IA), e todas apresentaram relação negativa com a presença de epizootia. A métrica DM contabiliza apenas o número de manchas na paisagem, não considerando no cálculo a área delas. Seu valor aumenta conforme a paisagem fica mais fragmentada. A partir dela podemos concluir que a probabilidade de ocorrência de epizootias é maior em paisagem menos fragmentadas. A variável VMP mede a distância entre as manchas de mata nativa. Seu relacionamento negativo com a presença de epizootias revelou que estas últimas ocorrem em manchas de mata mais próximas. Já o IA apresentou o mesmo padrão da escala anterior, com epizootias ocorrendo em paisagem com mata mais desagregada. Assim, as métricas em conjunto associam a ocorrência de epizootias a paisagens com poucas manchas de mata próximas umas das outras, onde a mata nativa era mais desagregada. Os resultados de IA e DM geram um cenário aparentemente contraditório, paisagens com mata desagregada e ao mesmo tempo pouco fragmentadas. Mas aqui é importante esclarecer que a agregação da mata leva em consideração a disposição dos pixels de mata nativa dentro da paisagem, se eles estão completamente unidos (agregados) ou há espaços entre eles. Assim, mesmo que a paisagem tenha apenas uma mancha de mata (pouco fragmentada), essa mancha não precisa ser formada por um bloco compacto de mata (agregada), podendo apresentar um formato com lacunas e reentrâncias.

Pensando que a condição de uma mata desagregada a torna mais exposta pelo contato com os ambientes circundantes, a ocorrência de epizootias nessas paisagens é condizente pela maior probabilidade de dispersão da doença. A borda das matas foi um dos fatores associados à dispersão do vírus da febre amarela no estado de São Paulo entre 2016 e 2018 (Prist *et al.*, 2021). A densidade de borda na paisagem, entretanto, não foi importante para os modelos, assim como o formato das manchas.

O padrão encontrado na menor escala espacial está relacionado com o PNH hospedeiro envolvido nas epizootias. Um estudo *Alouatta pigra* revelou que a espécie respondeu às métricas em escalas espaciais menores, além de verificar que a abundância de indivíduos foi maior em paisagens onde as manchas de floresta estavam

mais próximas (Arroyo-Rodríguez *et al.*, 2013). Assim, a maior disponibilidade de hospedeiros no ambiente possibilitaria uma maior probabilidade de epizootias.

É importante notar que a quantidade de mata na paisagem e o tamanho das manchas não foram relevantes nas escalas B1 e B2, pois as métricas *área da classe* (AC) e *área de mancha* (AM), correlacionadas nos dois casos, não foram retidas no modelo final.

Na maior escala espacial, de 10 km² (G2), a presença de epizootias foi associada a paisagens com muitas manchas pequenas. A variável *área da classe* (AC) foi positivamente relacionada com as epizootias, de maneira que nas paisagens com mais mata a probabilidade de ocorrência de epizootias foi maior. Já a relação com a *área da mancha* (AM) foi negativa, indicando que quanto menor a mancha maior a probabilidade. Assim, a partir da análise em conjunto dessas duas métricas, podemos concluir que paisagens com maior quantidade de floresta e mais fragmentada foram as com maior probabilidade de ocorrência de epizootias.

Essas características são compatíveis com as dos ambientes ocupados por populações do gênero *Alouatta*. A ocorrência do gênero é dependente, positivamente, da quantidade de cobertura florestal que há na paisagem e a densidade populacional também está associada positivamente com o número de manchas (Anzures-Dadda & Manson, 2007; Arroyo-Rodríguez *et al.*, 2008; Calle-Rendón *et al.*, 2020), inclusive manchas pequenas (Grande *et al.*, 2020). Esses animais são altamente tolerantes à fragmentação do habitat, mas não somente, eles parecem se beneficiar desse processo. Eles podem viver em florestas perturbadas e em fragmentos pequenos, adaptando sua dieta de acordo com os recursos disponíveis e também sendo favorecidos pela ausência de predadores nesses locais (Chiarello, 1999, Bicca-Marquez, 2003).

Outro comportamento observado em *Alouatta* é que eles apresentam as maiores densidades populacionais na borda dos fragmentos, devido a maior disponibilidade de folhas jovens (Lenz *et al.*, 2014). Como mencionado anteriormente, a borda dos fragmentos facilitou a dispersão do vírus da febre amarela, juntamente com as rodovias adjacentes às matas (Prist *et al.*, 2021). Apesar da relação da borda da mata na densidade de hospedeiros e na dispersão do vírus, a quantidade de borda na paisagem não foi importante em nossa análise, visto que a variável *densidade de borda* (DB) foi incluída no modelo saturado, mas não foi retida no modelo final, demonstrando que não foi importante para explicar a ocorrência das epizootias.

A ocorrência de epizootias nas escalas intermediárias B3 (3,13 km²) e G1 (5 km²) não foi influenciada pelas métricas da paisagem, pois nenhuma delas foi retida nos modelos finais. Neles somente o termo de *autocorrelação espacial* (XY) foi incluído. Assim, podemos considerar que somente a dependência espacial entre as unidades amostrais foi responsável por explicar o fenômeno estudado nessas escalas, ou seja, a conexão entre os locais de ocorrência das epizootias.

Apesar do uso de métricas de paisagem na tentativa de explicar a ocorrência das epizootias, a variável que mais contribuiu para a explicação alcançada pelos modelos propostos foi o termo de *autocorrelação espacial* (XY), que também foi a única variável retida nos modelos finais de todas as escalas estudadas, demonstrando que as características analisadas da paisagem não foram os fatores limitantes para a ocorrência das epizootias.

É importante destacar que isso ocorreu mesmo com o uso de metodologias distintas de seleção de células amostrais. Os grids das escalas G1 e G2 preenchem toda a área amostral e todos foram usados na análise, enquanto os buffers de B1, B2 e B3 foram selecionados com o uso de rarefação, onde há a remoção aleatória de células sobrepostas. Isso pode ser um indicativo da real ligação espacial das epizootias, de que existe um fator em comum como causa. A morte de tão grande número de barbados em si não é um evento habitual, e sendo esses os PNH mais susceptíveis à febre amarela, essas epizootias, mesmo que não possuindo a comprovação laboratorial da presença do vírus da febre amarela, apresentam indícios bastante evidentes de que são causadas pela doença.

O sinal evidente da ocorrência da doença, aqui associado com a morte do hospedeiro, é resultado de um complexo processo coordenado, dependente de muitos fatores que envolvem patógeno, vetor e hospedeiro. Assim, devemos considerar que mesmo que haja na paisagem um habitat propício para a ocupação dos PNH hospedeiros, não é certo que eles ocupem esse local na realidade. Mas mesmo que haja hospedeiros no ambiente, ainda não é suficiente para que a doença ocorra, uma vez que os vetores também precisam existir no mesmo local. Além disso, como a doença não é endêmica no estado do Espírito Santo, ainda é preciso considerar a necessidade de dispersão do vírus da febre amarela até os locais com presença de hospedeiros e vetores. O destaque da dependência espacial entre as unidades amostrais está relacionado, provavelmente, com a dispersão da doença pela paisagem, que necessita

estar numa dada região para alcançar a adjacente. E no caso de uma região antes livre da doença, esse é o fator mais importante, de fato.

Apesar do cenário capturado pelos modelos, eles não foram eficientes para explicar a ocorrência de epizootias durante o surto de febre amarela em 2017, visto os baixos valores da variância explicada (VE), cujo maior valor obtido foi equivalente a 37%, na escala de 1,76 km² (B2). É importante considerar que a febre amarela silvestre já ocorreu no estado do Espírito Santo na década de 1930 (Soper, 1938), e os dados disponíveis de cobertura florestal no estado revelam a redução da área florestal desde então, com valores de 65%, 29% e 12%, respectivamente, para os anos de 1912, 1958 e 2017 (Campos, apud Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 1993, p. 20; IBAMA, apud Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 1993, p. 20; Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 2018). Com isso podemos considerar que a condição mais intacta e preservada da paisagem foi adequada para a dispersão e estabelecimento da doença naquele período.

A ocorrência dos principais vetores da febre amarela, os mosquitos do gênero *Haemagogus*, também não se mostrou associada à fragmentação. Na Mata Atlântica ela não foi influenciada pelo grau de conservação do habitat e pela presença de área antropizada (Wilk-da-Silva *et al.*, 2020) e na Amazônia espécimes foram encontrados em floresta contínua, em manchas de 1 ha, 10 ha e 100 ha e em florestas secundárias (Hutchings *et al.*, 2011).

A associação entre a fragmentação do habitat e risco de doenças ainda é um tema controverso. A hipótese do efeito de diluição de zoonoses em ambientes conservados, por exemplo, tem sido questionada (Randolph & Dobson, 2012). Tomando como base a doença de Lyme, que pode ser considerada o caso modelo na aplicação dessa hipótese, diferentes padrões foram capturados, inclusive de acordo com a escala de estudo. Numa escala local a relação entre o risco de doença e a biodiversidade foi ambígua, com associações positiva, neutra e negativa. E numa escala mais ampla foi verificada uma associação positiva, com incidência maior em locais com maior biodiversidade (Wood & Lafferty, 2013). Ou seja, na menor escala não houve relação com a fragmentação e na maior escala o risco aumentou em paisagens com maior diversidade. Nesse sentido podemos concluir que a fragmentação não influenciou no risco da doença. A premissa utilizada nos estudos que testaram essa hipótese, de que a fragmentação do habitat reduziria a diversidade de espécies (Allan *et al.*, 2003), não se mostrou verdadeira. O princípio de que uma única mancha ou poucas manchas grandes de habitat (SL – *single large*) conserva mais espécies do que várias pequenas manchas (SS – *several small*)

com mesma área total é falso e só ocorre em situações restritas (Fahrig, 2020; Fahrig *et al.*, 2019; 2022). Estudos empíricos sobre o efeito da fragmentação *per se* sobre a biodiversidade, sem levar em conta a quantidade do habitat na paisagem, indicaram a mesma probabilidade do efeito ser positivo ou negativo. De modo geral a conservação da biodiversidade é dependente da quantidade do habitat e não da fragmentação em si (Fahrig, 2003).

O risco de doenças é associado mais a um fenômeno local, dependente da composição específica de hospedeiros e vetores e de sua ecologia, do que de padrões de biodiversidade de espécies (Salkeld *et al.*, 2013). O reaparecimento da doença talvez tenha mais relação com os eventos concomitantes de reestruturação das populações de hospedeiros e de expansão da circulação viral desde a área endêmica (Amazônia e Centro-Oeste do país) do que com a estrutura da paisagem. A presença de hospedeiros susceptíveis é um limitante para a ocorrência e periodicidade dos surtos (OMS, 1971; Monath, 1994; Vasconcelos *et al.*, 1997), pois eles são os amplificadores do vírus (Vasconcelos, 2010). Somente a contaminação dos mosquitos vetores não é suficiente para desencadear um surto e dispersar o vírus, mesmo que haja transmissão do vírus entre as gerações de mosquitos na chamada transmissão transovariana (Vasconcelos, 2010). Muitos outros fatores podem interferir nesse complexo processo, por exemplo, a migração de pessoas infectadas que promove a dispersão do vírus (Vasconcelos *et al.*, 2004; Moreira-Soto *et al.*, 2018; Hill *et al.*, 2020) e a velocidade do vento que pode influenciar a dispersão dos vetores (Almeida *et al.*, 2019). As causas podem variar desde fatores possíveis de serem medidos até fatores aleatórios que não podem ser capturados e previstos. Diante da complexidade do fenômeno, nossa contribuição está em assinalar que a estrutura da paisagem da região Serrana do estado do Espírito Santo, nas cinco escalas espaciais utilizadas, não teve associação com a distribuição das epizootias de *Alouatta guariba* ocorridas durante o surto de febre amarela em 2017.

V. CONCLUSÃO

A dependência espacial entre as epizootias foi mais importante do que as características da paisagem em nossos modelos. Porém, mesmo com o uso de cinco escalas espaciais, os modelos obtidos não conseguiram explicar a distribuição das epizootias. Podemos concluir que o padrão espacial da mata nativa não foi suficiente para explicar a distribuição das epizootias pela paisagem e a ocorrência delas não foi associada às paisagens fragmentadas.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allan BF, Keesing F, Ostfeld RS. 2003. **Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk**. *Conservation Biology*, v. 17, n. 1, p. 267–272.
- Aguilar LM, Reis NR, Ludwig G, Rocha VJ. 2003. **Dieta, área de vida, vocalizações e estimativas populacionais de *Alouatta guariba* em um remanescente florestal no Norte do estado do Paraná**. *Neotropical Primates*, Washington, 11 (2): 78-86.
- Almeida MAB, Santos E, Cardoso JC et al. 2012. **Yellow Fever Outbreak Affecting *Alouatta* Populations in Southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008–2009**. *American Journal of Primatology*, v. 74, p. 68–76.
- Almeida MAB, Santos E, Cardoso JC et al. 2019. **Predicting Yellow Fever Through Species Distribution Modeling of Virus, Vector, and Monkeys**. *EcoHealth*, v. 16, p. 95–108. <https://doi.org/10.1007/s10393-018-1388-4>
- Anselin L, Syabri I, Kho Y. 2006. **GeoDa: An Introduction to Spatial Data Analysis**. *Geographical Analysis*, v. 38, n. 1, p. 5-22.
- Anzures-Dadda A, Manson RH. 2007. **Patch- and landscape-scale effects on howler monkey distribution and abundance in rainforest fragments**. *Animal Conservation*, v. 10, p. 69-76. doi:10.1111/j.1469-1795.2006.00074.x
- Arnold C. 2012. **West Nile virus bites back**. *Lancet Neurol*. v. 11, p. 1023–1024. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70278-8.
- Arroyo-Rodríguez V, González-Perez IM, Garmendia A et al. 2013. **The relative impact of forest patch and landscape attributes on black howler monkey populations in the fragmented Lacandona rainforest, Mexico**. *Landscape Ecology*, v. 28, p. 1717–1727. DOI 10.1007/s10980-013-9929-2
- Arroyo-Rodríguez V, Mandujano S, Benitez-Malvido J. 2008. **Landscape attributes affecting patch occupancy by howler monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) at Los Tuxtlas, Mexico**. *American Journal of Primatology*, v.70, p. 69–77.
- Berthet M, Mesbahi G, Duvot G et al. 2021. **Dramatic decline in a titi monkey population after the 2016–2018 sylvatic yellow fever outbreak in Brazil**. *Am J Primatol*, v. 83, e23335. <https://doi.org/10.1002/ajp.23335>
- Bicca-Marquez JC. 2003. How do Howler Monkeys Cope with Habitat Fragmentation? In: **Primates in Fragments**. (Ed.) Marsh LK. Kluwer Academic/Plenum Publishers. p. 283-303. ISBN: 978-1-4757-3772-1. DOI:10.1007/978-1-4757-3770-7_18
- Birch CPD, Oom SP, Beecham JA. 2007. **Rectangular and hexagonal grids used for observation, experiment and simulation in ecology**. *Ecological Modelling*, v. 206, p. 347–359.
- Calle-Rendón BR, Toledo JJ, Mustin K, Hilário RR. 2020. **Drivers of primate richness and occurrence in a naturally patchy landscape in the Brazilian Amazon**. *Biodiversity and Conservation*, v. 29, p. 3369–3391. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-02028-z>
- Catão-Dias JL. 2003. **Doenças e seus impactos sobre a Biodiversidade**. *Ciência e cultura: biodiversidades*, v.3, p. 32-34.
- Causey OR, Kumm HW, Laemmert Jr. HW. 1950. **Dispersion of forest mosquitoes in Brazil: further studies**. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, s1-30, 2, 301-312.

- Chefaoui RM, Lobo JM. 2008. **Assessing the effects of pseudo-absences on predictive distribution model performance**. *Ecological modelling*, v. 210, p. 478–486.
- Chiarello AG. 1999. **Effects of fragmentation of the Atlantic forest on mammal communities in south-eastern Brazil**. *Biological Conservation*, v. 89, p. 71–82.
- Costa LP, Bergallo HG, Junior VC *et al.* 2019. Mamíferos ameaçados de extinção no estado do Espírito Santo. p. 315-341 In: **Fauna e flora ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo**. (Org.) Fraga CN, Formigoni MH, Chaves FG. Santa Teresa, ES: Instituto Nacional da Mata Atlântica. 432 p. ISBN 978-65-81414-01-6
- Cunha MS, da Costa AC, de Azevedo Fernandes NCC, Guerra JM, dos Santos FCP, Nogueira JS *et al.* 2019. **Epizootics due to yellow fever virus in São Paulo state, Brazil: viral dissemination to new areas (2016–2017)**. *Sci Rep*, v. 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41950-3>
- de Azevedo Fernandes NCC, Guerra JM, Díaz-Delgado J *et al.* 2021. **Differential Yellow Fever Susceptibility in New World Nonhuman Primates, Comparison with Humans, and Implications for Surveillance**. *Emerging Infectious Diseases*, v. 27, n. 1, doi:<https://doi.org/10.3201/eid2701.191220>
- Dietz GM, Hankerson SJ, Alexandre BR *et al.* 2019. **Yellow fever in Brazil threatens successful recovery of endangered golden lion tamarins**. *Scientific reports*, v. 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49199-6>
- Dormann CF, McPherson JM, Araújo MB *et al.* 2007. **Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: a review**. *Ecography*, v. 30, p. 609-628.
- Fahrig L, Arroyo-Rodríguez V, Bennett JR *et al.* 2019. **Is habitat fragmentation bad for biodiversity?** *Biological Conservation*, v. 230, p. 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.12.026>
- Fahrig L, Watling JI, Arnillas CA *et al.* 2022. **Resolving the SLOSS dilemma for biodiversity conservation: a research agenda**. *Biol. Rev.*, v. 97, p. 99–114. doi: 10.1111/brv.12792
- Fahrig L. 2003. **Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity**. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, v. 34, p. 487-515. doi: 10.1146/132419
- Fahrig L. 2020. **Why do several small patches hold more species than few large patches?** *Global Ecol Biogeogr.*, v. 29, p. 615–628. doi: 10.1111/geb.13059
- Gestich CC *et al.* 2019. **Unraveling the scales of effect of landscape structure on primate species richness and density of titi monkeys (*Callicebus nigrifrons*)**. *Ecological Resesech*, v. 34, p. 150-159.
- Graham CH, Ferrier S, Huettman F, Moritz C, Peterson AT. 2004. **New developments in museum-based informatics and applications in biodiversity analysis**. *Trends in ecology and evolution*, v. 19, n. 9, p. 497–503.
- Groppe K, Steinger T, Schmid B *et al.* 2001. **Effects of Habitat Fragmentation on Choke Disease (*Epichloë bromicola*) in the Grass *Bromus erectus***. *Journal of Ecology*, v. 89, n. 2, p. 247-255.
- Herve JP, Travassos da Rosa APA. 1983. **Ecologia da febre amarela no Brasil**. *Revista da Fundação SESP*, v. 28, n. 1, p. 11-19.

- Hesselbarth, M.H.K. et al. 2019. **R topics documented: package 'landscapemetrics'**. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/landscapemetrics/landscapemetrics.pdf>>. Acesso em: out. 2020.
- Hill SC, de Souza R, Théze J et al. 2020. **Genomic Surveillance of Yellow Fever Virus Epizootic in São Paulo, Brazil, 2016–2018**. PLoS Pathog, v. 16, n. 8, e1008699. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008699>
- Hutchings RSG, Sallum MAM, Hutchings HW. 2011. **Mosquito (Diptera: Culicidae) diversity of a forest-fragment mosaic in the Amazon Rain Forest**. Journal of Medical Entomology, v. 48, n. 2, p. 173-187.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. **Vegetação Brasileira 1:5.000.000**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/vegetacao/10872-vegetacao.html?=&t=downloads>>. Acesso em: jul 2023.
- IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. 2015a. **Mapeamento ES 2012-2015 – Altimetria**. Disponível em: <<https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>>. Acesso em: set 2022.
- IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. 2015b. **Mapeamento ES 2012-2015 – Uso e Cobertura do Solo**. Disponível em: <<https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>>. Acesso em: nov 2018.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2012. **Arquivo shapefile Mapeamento Geomorfológico do ES**. Disponível em: <<http://www.ijsn.es.gov.br/mapas/>>. Acesso em: nov 2022.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2018. **Arquivo shapefile Limite Municipal do ES**. Disponível em: <<http://www.ijsn.es.gov.br/mapas/>>. Acesso em: abr 2019.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2022a. **Desenvolvimento Regional Sustentável – Diagnóstico Integrado**. Vitória, ES. Disponível em: <https://ijsn.es.gov.br/Media/IJSN/PublicacoesAnexos/cadernos/IJSN_DRS_Diagnostico_Integrado.pdf>. Acesso em: ago 2023.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2022b. **Plano de Ação da Microrregião Central Serrana – 2022**. Vitória, ES. Disponível em: <https://ijsn.es.gov.br/Media/IJSN/PublicacoesAnexos/cadernos/DRS-CENTRAL_SERRANA.pdf>. Acesso em: ago 2023.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2022c. **Plano de Ação da Microrregião Sudoeste Serrana – 2022**. Vitória, ES. Disponível em: <https://ijsn.es.gov.br/Media/IJSN/PublicacoesAnexos/cadernos/DRS-SUDOESTE_SERRANA.pdf>. Acesso em: ago 2023.
- IJSN – Instituto Jones dos Santos Neves. 2022c. **Plano de Ação da Microrregião Sudoeste Serrana – 2022**. Vitória, ES. Disponível em: <https://ijsn.es.gov.br/Media/IJSN/PublicacoesAnexos/cadernos/DRS-SUDOESTE_SERRANA.pdf>. Acesso em: ago 2023.
- Incaper – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022a. **Mapas de Chuva – Média anual de precipitação (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/mapas-de-chuva-normal-climatologica-album>>. Acesso em: set 2022.

- Incaper – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. 2022b. **Mapas de Temperatura – Média anual de temperatura média (1984 a 2014)**. Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/mapas-de-temperatura-media>>. Acesso em: set 2022.
- Khalil H, Ecke F, Evander M *et al.* 2016. **Declining ecosystem health and the dilution effect**. Scientific reports, v. 6. doi: 10.1038/srep31314
- Krivobokova T, Kauermann G. 2007. **A note on penalized spline smoothing with correlated errors**. J. Am. Stat. Assoc. v. 102, n. 480, p. 1328-1337.
- Langlois JP, Fahrig L, Merriam G, Artsob H. 2001. **Landscape structure influences continental distribution of hantavirus in deer mice**. Landscape Ecology, v. 16, p. 255–266.
- Leite GR. 2007. **Influência da paisagem na dispersão de triatomídeos silvestres para o ambiente antrópico na Floresta Atlântica**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.
- Lenz BB, Jack KM, Spironello WR. 2014. **Edge Effects in the Primate Community of the Biological Dynamics of Forest Fragments Project, Amazonas, Brazil**. American Journal of Physical Anthropology, v. 155, p. 436–446. DOI: 10.1002/ajpa.22590
- Martins CS. 1997. **Uso de habitat pelo bugio, *Alouatta fusca clamitans*, em um fragmento florestal em lençóis paulista – SP**. Dissertação de Mestrado, Universidade estadual de Campinas, Campinas.
- Martins JN *et al.* 2011. Área de vida e dinâmica do uso do espaço por um grupo de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940 (Primates, Atelidae), num fragmento de mata com espécies alóctones na Serra Gaúcha. **A primatologia no Brasil**, v. 12.
- Mendes SL. 1989. **Estudo ecológico de *Alouatta fusca* (Primates: Cebidae) na Estação Biológica de Caratinga, MG**. Revista Nordestina de Biologia, v. 6, n. 2, p. 71-104.
- Metzger JP. 2000. **Tree functional group richness and spatial structure in a tropical fragmented landscape (SE Brazil)**. Ecological Applications, v. 10, p. 1147-1161.
- Miranda JMD. 2004. **Ecologia e conservação de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940 em floresta ombrófila mista no estado do Paraná, Brasil**. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado.
- Monath TP. 1994. **Yellow fever and dengue – the interactions of virus, vector and host in the re-emergence of epidemic disease**. Seminars in Virology, v. 5, n. 2, p. 133-145.
- Moreira-Soto A, Torres MC, Lima de Mendonça MC *et al.* 2018. **Evidence for multiple sylvatic transmission cycles during the 2016 e 2017 yellow fever virus outbreak, Brazil**. Clinical Microbiology and Infection, v. 24, 1019.e1 e 1019.e4.
- Mosammam AM, Mateu J. 2018. **A penalized likelihood method for nonseparable space–time generalized additive models**. AStA Adv Stat Anal, v. 102, p. 333-357.
- MS – Ministério da Saúde. 2011. **Portaria nº 104, de 25 de janeiro de 2011**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html>. Acesso em: dez. 2020.

- MS – Ministério da Saúde. 2016. **Plano de Contingência para Resposta às Emergências em Saúde Pública: Febre Amarela**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_contingencia_emergencias_febre_amarela.pdf>. Acesso em: jun 2023.
- MS – Ministério da Saúde. 2017a. **COES Febre Amarela: Informe nº 01/2017**. Disponível em: <<https://jornalismosocioambiental.files.wordpress.com/2017/01/informe-1.pdf>>. Acesso em: out 2023.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG et al. 2000. **Biodiversity hotspots for conservation priorities**. *Nature*, v. 403, p. 853-858.
- Ogden NH, Woldehiwet Z, Hart CA. 1998. **Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease?** *J. Med. Microbiol.* v. 47, p. 475–482.
- Ostfeld RS, Keesing F. 2000. **Biodiversity and Disease Risk: the Case of Lyme Disease**. *Conservation Biology*, v. 14, n. 3, p. 722–728.
- Passamani M, Mendes SL. (Org.). 2007. **Espécies da fauna ameaçadas de extinção no Estado do Espírito Santo**. Vitória: IPEMA, p. 29-45.
- Pearson, K. 1896. **Mathematical contributions to the theory of evolution**. III. Regression, heredity, and panmixia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, containing papers of a mathematical or physical character*, v. 187, p. 253-318.
- Possamai CB, Melo FR, Mendes SL, Strier KB. 2022. **Demographic changes in an Atlantic Forest primate community following a yellow fever outbreak**. *Am J Primatol*, v. 84, e23425. <https://doi.org/10.1002/ajp.23425>
- Prist PR, Tambosi LR, Mucci LF et al. 2022. **Roads and forest edges facilitate yellow fever virus dispersion**. *J Appl Ecol.*, v. 59, p. 4-17, doi:10.1111/1365-2664.14031
- QGIS.org, 2022. **QGIS Geographic Information System**. QGIS Association. <http://www.qgis.org>.
- Randolph SE, Dobson ADM. 2012. **Pangloss revisited: A critique of the dilution effect and the biodiversity-buffers-disease paradigm**. *Parasitology*, v. 139, n. 7, p. 847–863.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC et al. 2009. **The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed?** Implications for conservation. *Biological Conservation*, v. 142, p.1141-1153.
- RStudio Team. 2020. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Rulli MC, Santini M, Hayman DTS, D’Odorico P. 2017. **The nexus between forest fragmentation in Africa and Ebola virus disease outbreaks**. *Scientific Reports*, v. 7:41613. doi:10.1038/srep41613
- Salkeld DJ, Padgett KA, Jones JH. 2013. **A meta-analysis suggesting that the relationship between biodiversity and risk of zoonotic pathogen transmission is idiosyncratic**. *Ecology Letters*, v. 16, p. 679–686. doi: 10.1111/ele.12101
- Schmidt KA, Ostfeld RS. 2001. **Biodiversity and the dilution effect in disease ecology**. *Ecology*, v. 82, p. 609-619.

- Soper FL. 1938. **Yellow fever: the present situation (october, 1938) with special reference to South America**. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 32, n. 3, p. 297-322.
- Fundação SOS Mata Atlântica, INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 1993. **Relatório Mata Atlântica: evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio Mata Atlântica no período 1985-1990**. INPE, São Paulo.
- Fundação SOS Mata Atlântica, INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2018. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica: período 2016-2017**. Disponível em: <<https://cms.sosma.org.br/wp-content/uploads/2019/06/Atlas-mata-atlanticaDIGITAL.pdf>>. Acesso em: jun 2020.
- Steinmetz, S. 2001. **Densidade e conservação de bugio (Alouatta fusca) no parque Estadual Intervales**. Neotropical Primates, v. 9, n. 2, p. 69-73. Disponível em: <<https://static1.1.sqspcdn.com/static/f/1200343/18197746/1337026102083/NP9.2.pdf?token=af%2BviVcU1GFEInSUOfy5YiFxmZMk%3D>>. Acesso em: abr 2023.
- Tobler, W.R. 1970. **Computer movie simulating urban growth in the Detroit region**. Economic Geography, v. 46, p. 234-240.
- Travi BL, Jaramillo C, Montoya J. 1994. **Didelphis marsupialis, an important reservoir of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi and Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia**. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 50, p. 557–565.
- Vasconcelos PF, Rodrigues SG, Degallier N et al. 1997. **An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhao State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings**. Am J Trop Med Hyg., v. 57, n. 2, p. 132-137, doi:10.4269/ajtmh.1997.57.132. PMID: 9288803.
- Vasconcelos PFC, Bryant JE, Travassos da Rosa APA. 2004. **Genetic Divergence and Dispersal of Yellow Fever Virus, Brazil**. Emerging Infectious Diseases, v. 10, n. 9, p. 1578-1584.
- Vasconcelos PFC. 2003. **Febre amarela**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 2, p. 275-293.
- Vasconcelos PFC. 2010. **Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas**. Rev Saúde Pública, v. 44, n. 6. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010005000046>
- Vittor AY, Pan W, Gilman RH et al. 2009. **Linking deforestation to malaria in the Amazon: characterization of the breeding habitat of the principal malaria vector, Anopheles darlingi**. Am J Trop Med Hyg., v. 81, n. 1, p. 5–12.
- Weaver SC, Osorio JE, Livengood JA. 2012. **Chikungunya virus and prospects for a vaccine**. Expert Rev Vaccines, v. 11, n. 9, p. 1087–1101. doi:10.1586/erv.12.84.
- OMS – Organização Mundial de Saúde. 1971. **Expert committee on yellow fever**, 3ª ed. Technical reports Series, n. 479. Genebra. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40924/WHO_TRS_479.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: out 2022.

- Wilk-da-Silva R, Mucci LF, Ceretti-Junior W et al. 2020. **Influence of landscape composition and configuration on the richness and abundance of potential sylvatic yellow fever vectors in a remnant of Atlantic Forest in the city of São Paulo, Brazil.** Acta Tropica, v. 204. 105385.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105385>
- Wood CL, Lafferty KD. 2013. **Biodiversity and disease: A synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission.** Trends Ecol Evol, v. 28, n. 4, p. 239–247.
- Wood CL, Lafferty KD, DeLeo G. 2014. **Does biodiversity protect humans against infectious disease?** Ecology, v. 95, n. 4, p. 817–832.
- Wood SN. 2011. **Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models.** J. R. Statist. Soc. B, v. 73, n. 1, p. 3-36.
- Wood SN. 2022a. **Manual de referência do pacote ‘mgcv’ – Mixed GAM Computation Vehicle with Automatic Smoothness Estimation.** Version 1.8-41. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/mgcv/index.html>>. Acesso em: jul. 2022.
- Wood SN. 2022b. **Basis dimension choice for smooths. R Documentation, choose.k (mgcv).** Disponível em: <<https://stat.ethz.ch/R-manual/R-patched/library/mgcv/html/choose.k.html>>. Acesso em: jul. 2022.
- Wu J, Smithwick EAH. 2016. **Landscape Fragmentation as a Risk Factor for Buruli Ulcer Disease in Ghana.** Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 95, n. 1, p. 63–69.
doi:10.4269/ajtmh.15-0647

VII. APÊNDICES

Apêndice A

Dados ausentes (NA)

B1: 1, 3, 9, 26, 33, 36, 38, 43, 49, 56, 72, 75, 83, 108, 109, 120, 126, 132, 167, 271, 273, 289, 290, 292, 296, 307, 310, 321, 322, 324, 326, 331, 344, 346, 358, 363, 372, 380, 382, 393, 394, 403, 405, 417, 418, 423, 425, 434, 446, 453, 455, 464, 465, 468, 474, 490, 491, 495, 497, 499, 505, 506, 507, 520, 521, 524, 528, 535, 536, 544, 559, 561, 569, 570, 572, 573, 582, 583, 585, 589, 593, 596, 599, 601, 605, 607, 613, 614, 615, 620, 630, 635, 644, 649, 656, 667, 676, 678, 679, 687, 692, 695, 705, 708, 719, 722, 725, 726, 728, 729, 734, 749, 755, 759, 762, 765, 766, 774, 776, 780, 789, 792, 793, 800, 801, 803, 809, 810, 816, 824, 829, 830, 831, 832, 834, 836, 841, 843, 845, 849 [n=140].

B2: 36, 203, 263, 268, 299, 302, 388, 407, 423, 432, 464, 467, 478, 480, 486, 499, 524, 534, 544, 579, 596, 602, 627 [n=23].

B3: 165, 328.

G1: 265, 313.

G2: 106.

Apêndice B

Códigos usados no programa R

1. Cálculo das métricas

Código baseado no disponibilizado por Maurício Vancine em:

<https://gitlab.com/geocastbrasil/landscapemetrics/-/blob/master/01_script/script_landscapemetrics.R>.

```
# Definir o diretório (ubuntu)
library(tcltk)
setwd(tk_choose.dir())

# Instalar os pacotes
install.packages(c("raster", "sf", "landscapemetrics", dependencies = TRUE))

# Carregar pacotes
library(raster)
library(sf)
library(landscapemetrics)

# Criar as pastas onde serão salvos os arquivos produzidos no processo
dir.create("tabelas_metricas")
dir.create("raster_paisagens")

# Carregar o arquivo raster do mapa de uso do solo
raster_mapa <- raster(file.choose()) # o arquivo selecionado deve ter a extensão
.tiff

# Carregar o arquivo shapefile das unidades amostrais
# o arquivo deve conter uma coluna com a numeração crescente das unidades
amostrais, a partir do número 1
ua <- sf::read_sf(file.choose())

# Criar lista dos raster da paisagem
raster_pai <- list()

# Cortar as paisagens do raster com a máscara de cada unidade amostral (ua)
for(i in 1:590){ # preencher com o número total de unidades amostrais

  # informacao
  print(paste0("Ajustando a paisagem ", i))

  # filter
  ua_pa <- ua %>%
  dplyr::filter(id_ua == i) # colocar a coluna que contém o intervalo com
  todos as unidades amostrais em sequência

  # crop e mask
  raster_pai[[i]] <- raster_mapa %>%
  raster::crop(ua_pa) %>%
  raster::mask(ua_pa)
}

# Nomear as paisagens
names(raster_pai) <- c(paste0("paisagem_", 1:589), "paisagem_590") # atenção aos
números, que são referentes ao número de unidades amostrais
```

```

# Exportar os raster das paisagens individuais
for(i in 1:590){

  # informacao
  print(paste0("Exportando a ", names(raster_pai)[i]))

  # exportar
  raster::writeRaster(x = raster_pai[[i]],
    filename = paste0("./raster_paisagens/", names(raster_pai)[i]),
    format = "GTiff",
    options = c("COMPRESS=DEFLATE" , "TFW=TRUE"),
    overwrite = TRUE)
}

# Checar os raster
landscapemetrics::check_landscape(raster_pai)

# Calcular as métricas e exportar as planilhas

# Mean of patch area (Area and edge metric)
area_mn_c <- landscapemetrics::lsm_c_area_mn(landscape = raster_pai,
  directions = 8)
readr::write_csv(area_mn_c, "./tabelas_metricas/area_mn_c.csv")

# Aggregation index (Aggregation metric)
ai_c <- landscapemetrics::lsm_c_ai(landscape = raster_pai)
readr::write_csv(ai_c, "./tabelas_metricas/ai_c.csv")

# Total (class) area (Area and edge metric)
ca_c <- landscapemetrics::lsm_c_ca(landscape = raster_pai, directions =
  8)
readr::write_csv(ca_c, "./tabelas_metricas/ca_c.csv")

# Mean of euclidean nearest-neighbor distance (Aggregation metric)
enn_mn_c <- landscapemetrics::lsm_c_enn_mn(landscape = raster_pai,
  directions = 8, verbose = TRUE)
readr::write_csv(enn_mn_c, "./tabelas_metricas/enn_mn_c.csv")

# Edge Density (Area and Edge metric)
ed_c <- landscapemetrics::lsm_c_ed(landscape = raster_pai, count_boundary
  = FALSE, directions = 8)
readr::write_csv(ed_c, "./tabelas_metricas/ed_c.csv")

# Mean perimeter-area ratio (Shape metric)
para_mn_c <- landscapemetrics::lsm_c_para_mn(landscape = raster_pai,
  directions = 8)
readr::write_csv(para_mn_c, "./tabelas_metricas/para_mn_c.csv")

# Patch density (Aggregation metric)
pd_c <- landscapemetrics::lsm_c_pd(landscape = raster_pai, directions =
  8)
readr::write_csv(pd_c, "./tabelas_metricas/pd_c.csv")

```

2. Correlação de Pearson

```

# Definir o diretório (ubuntu)
library(tcltk)
setwd(tk_choose.dir())

```

```
# Criar pasta onde será salvo o arquivo produzido no processo
dir.create("correlacao")

# Importar a planilha de dados no formato .csv
dados <- read.csv(file.choose(),header=T)

# Padronizar os dados
dados_na <- na.omit(dados)
dados_p <- scale(dados_na[, -c(1,2)]) #colocar os números das colunas que não se
quer na matriz, elas serão removidas

# Fazer o teste de correlação de Pearson
cor <- cor(dados_p)

# Exportar a matriz de correlação
write.csv(cor, file = "correlacao/2matriz_correlacao.csv")
```

3. Geração dos modelos GAM

Para cada escala foi realizado o mesmo processo, com a adequação das variáveis não correlacionadas e o valor de k.

```
# Definir o diretório (ubuntu)
library(tcltk)
setwd(tk_choose.dir())

# Instalar pacote
install.packages("mgcv")

# Carregar pacote
library(mgcv)

# GRID 10 km2
# VARIÁVEIS NÃO CORRELACIONADAS: AC, AM, DB, PA, VMP

# Carregar os dados
dados_g10km2 = read.csv(file.choose(),header=T)
attach(dados_g10km2)
dados_g10km2 = na.omit(dados_g10km2)

# Modelo saturado
m_g10km2 = gam(epiz ~ s(AC)+s(AM)+s(DB)+s(PA)+s(VMP)+s(X,Y,k=100),
family=binomial(link=logit), data=dados_g10km2, method = "REML")
summary(m_g10km2)
gam.check(m_g10km2)

# Simplificação do modelo saturado
m1_g10km2 = gam(epiz ~ s(AC)+s(AM)+s(DB)+s(VMP)+s(X,Y,k=100),
family=binomial(link=logit), data=dados_g10km2, method = "REML")
summary(m1_g10km2)
gam.check(m1_g10km2)
AIC(m_g10km2,m1_g10km2)

m2_g10km2 = gam(epiz ~ s(AC)+s(AM)+s(VMP)+s(X,Y,k=100),
family=binomial(link=logit), data=dados_g10km2, method = "REML")
summary(m2_g10km2)
gam.check(m2_g10km2)
AIC(m_g10km2,m1_g10km2,m2_g10km2)
```

```
m3_g10km2 = gam(epiz ~ s(AC)+s(AM)+s(X,Y,k=100), family=binomial(link=logit),
data=dados_g10km2, method = "REML")
summary(m3_g10km2)
gam.check(m3_g10km2)
AIC(m_g10km2,m1_g10km2,m2_g10km2,m3_g10km2)

# Geração dos gráficos
plot(m3_g10km2, scheme=2, page=1, se=T, shade=T, scale=0,
hcolors=heat.colors(999, rev =T), contour.col='transparent', rug=T)
```