



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA
INTERAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO (PPGBIO Interação)

REJANE LIMA LEDA

EFEITO DOS CENÁRIOS CLIMÁTICOS FUTUROS SOBRE O CICLO DE VIDA E
INFECTIVIDADE DO *Anopheles aquasalis* POR *Plasmodium vivax*

MANAUS – AM

2023



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA
INTERAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO (PPGBIO Interação)

REJANE LIMA LEDA

EFEITO DOS CENÁRIOS CLIMÁTICOS FUTUROS SOBRE O CICLO DE VIDA E
A INFECTIVIDADE DO *Anopheles aquasalis* POR *Plasmodium vivax*

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, com área de concentração em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro.

ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. DJANE BAÍA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. WUELTON MARCELO MONTEIRO

MANAUS – AM

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

L472e

Leda, Rejane Lima

Efeito dos cenários climáticos futuros sobre o ciclo de vida e a infectividade do *Anopheles aquasalis* por *Plasmodium vivax*. / Rejane Lima Leda. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2023.

89 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro) - Instituto Leônidas e Maria Deane, 2023.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Djane Clarys Baía da Silva.

Co-orientador: Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro.

1. Malária. 2. Doença malárica. 3. Mudanças climáticas. 4. Vetores I. Título

CDU 616.936:551.58(043.3)

CDD 616.936 22. ed.

Elaborado por Ycaro Verçosa dos Santos – Bibliotecário CRB-11 N° 287

REJANE LIMA LEDA

**EFEITO DOS CENÁRIOS CLIMÁTICOS FUTUROS SOBRE O CICLO DE VIDA E
A INFECTIVIDADE DO *Anopheles aquasalis* POR *Plasmodium vivax***

Aprovada em: 14/11/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. – Djane Clarys Baia da Silva
Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Prof^ª. Dr^ª. - Raquel Soares Maia Godoy
Instituto René Rachou (Fiocruz Minas) - IRR

Prof^º. Dr^ª. - Rosa Amélia Gonçalves Santana
Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado – FMT-HVD

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, porque acredito que sem Ele nada poderia ser feito.

Ao meu esposo Marcus Nascimento ao meu filho Levy Antony que estiveram ao meu lado em todos os momentos dando -me forças para seguir em frente nos momentos de desânimo.

Aos meus amados pais, ao senhor Gebeon Leda e dona Rosa Leda (*in memoriam*), que em vida me amaram e me ensinaram que a fé e perseverança fazem toda diferença.

As minhas irmãs Giane, Giberlene, Gibia e Apia Leda, que pelo exemplo sempre me ensinaram a nunca desistir dos sonhos apesar de todos os obstáculos.

A minha sobrinha Fabiana Leda Dias que esteve comigo nessa jornada, sempre disposta a me ajudar na manutenção das colônias que ficavam no INPA, e a Emília Beatriz pela ajuda nas horas de sufoco.

A todos os amigos conquistados ao longo da minha carreira acadêmica, nesta etapa em especial cito, Allan Dellon, Beatriz Leal, Gabriela Maciel, Dra. Glenda Ramos, Dra. Rosa Santana, Rogério Pereira (INPA), Julia Albuquerque e Arinéia Soares, que nas horas difíceis estavam prontos a me ajudar, a me orientar quando me sentia perdida.

A Dra. Djane Baía por aceitar ser minha orientadora nesta pesquisa, e pela disposição em me ajudar com recursos quando necessario no decorrer do caminho.

Ao Instituto Leônidas & Maria Deane – Fiocruz Amazônia, por todo suporte, pela concessão de bolsa nos primeiros meses e por me acolher como aluna desta renomada instituição.

A Dra. Priscila de Aquino coordenadora do programa PPGBIO que no momento crítico me deu todo suporte para seguir em frente.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa de Mestrado que muito me ajudou financeiramente.

Ao Laboratório de Evolução e Ecofisiologia Molecular do Instituto Nacional de Pesquisa na Amazônia (INPA) onde fui acolhida tão colorosamente.

*“Pois o Senhor é quem dá
sabedoria; de sua boca procedem
o conhecimento e o
discernimento.”*
Provérbios, 2: 6

RESUMO

As mudanças climáticas são fatores de riscos para o aumento no número de casos de doenças infecciosas causadas por mosquitos vetores, como a malária. Esta é uma doença potencialmente grave que pode levar a morte, e que ainda hoje é um grave problema de saúde pública. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos dos cenários climáticos futuros prospectados pelo Quinto Relatório (AR5) de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) sobre o ciclo de vida e a infectividade do *Anopheles aquasalis* por *Plasmodium vivax*. Para a avaliação do desenvolvimento e da sobrevivência, foram utilizadas 6 mil larvas desses vetores, as quais foram divididas em 4 grupos e alocadas nos ambientes que simulam os cenários climáticos futuros, onde foram acompanhadas até a terceira geração para avaliação das taxas de fecundidade, de desenvolvimento larval, pupar e a taxa de sobrevivência dos adultos. Para avaliar a intensidade e a taxa de infecção, foram utilizados mosquitos adultos alimentados com sangue infectado com *Plasmodium vivax*. Após a infecção, esses mosquitos foram alocados nos cenários climáticos e acompanhados por sete dias. Após esse tempo, os intestinos dos mosquitos sobreviventes foram dissecados para avaliação da taxa de prevalência e da intensidade da infecção. Na avaliação da taxa média de fecundidade ($p > 0,664$) e das taxas de desenvolvimento de larvas ($p > 0,122$), pupas ($p > 0,071$) e adultos ($p > 0,744$), não se observou diferença significativa entre os cenários. Na análise entre as gerações, houve diferenças significativas no desenvolvimento das larvas, das pupas e da sobrevivência dos adultos nos cenários 1 e 3. Quanto à taxa média de fecundidade, houve diferenças nos cenários 1 ($p < 0.0158$) e 3 ($p < 0.0236$). Na avaliação da infectividade, todos os grupos experimentais apresentaram mosquitos infectados, porém não houve diferenças estatísticas entre os cenários. Portanto, conclui-se que os cenários de mudanças climáticas previstas pelo IPCC não alteram as taxas de fecundidade, o desenvolvimento larval e pupar dos mosquitos, e a prevalência e a intensidade de infecção de *An. aquasalis* por *P. vivax*. No entanto, os cenários climáticos previstos apresentam um impacto significativo na sobrevivência dos adultos infectados, e isso interfere na capacidade vetorial de *A. aquasalis* para *P. vivax*.

Palavras chave: Mudanças Climáticas, IPCC, Malária, Vetores, Fitness, Infecção.

ABSTRACT

Climate change is a risk factor for the increase in the number of infectious diseases caused by vector mosquitoes, such as malaria. This is a potentially serious disease that can lead to death, and it is still a serious public health problem today. This work aimed to assess the effects of future climate scenarios prospected by the Fifth Panel on Climate Change (IPCC) Evaluation Report (AR5) on the life cycle and infectiousness of *Anopheles aquasalis* by *Plasmodium vivax*. For the evaluation of development and survival, 6,000 larvae of these vectors were used, [RM1] which were divided into 4 groups and allocated in environments that simulate future climate scenarios, where they were followed up to the third generation for assessment of fertility rates, larval development, pupar and adult survival rate. To assess the intensity and rate of infection, adult mosquitoes fed blood infected with *Plasmodium vivax* were used. After infection, these mosquitoes were allocated to the weather scenarios and followed for seven days. After this time, the intestines of the surviving mosquitoes were dissected to assess the rate of prevalence and the intensity of the infection. In the assessment of the average fertility rate ($p > 0.664$) and the growth rates of larvae ($p > 0.122$), pupas ($p < 0.071$), and adults ($p < 0.744$), no significant difference was observed between the scenarios. In the intergenerational analysis, there were significant differences in the development of larvae, pupas, and adult survival in scenarios 1 and 3. As for the average fertility rate, there were differences in scenarios 1 ($p < 0.0158$) and 3 ($p < 0.0236$). In the evaluation of infectivity, all experimental groups presented infected mosquitoes, but there were no statistical differences between the scenarios. Therefore, it is concluded that the IPCC forecasted climate change scenarios do not alter fertility rates, larval and pupar development of mosquitoes, and the prevalence and intensity of *An. aquasalis* infection by *P. vivax*. However, predicted climatic scenarios have a significant impact on the survival of infected adults, and this interferes with the vector capacity of *A. aquasalis* to *P. vivax*.

Key words: Climate Change, IPCC, Malária, Vectors, Fitness, Infection

LISTAS DE SIGLAS

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente.

OMM – Organização Meteorológica Mundial.

IPCC – Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC).

NOAA – Administração Nacional Oceânica e Atmosférica (em inglês: National Oceanic and Atmospheric Administration).

CO₂ – Dióxido de Carbono (CO₂).

CH₄ – Metano.

N₂O – Óxido nitroso.

RCP – Representative Concentration Pathway, trajetória representativa de concentrações.

AR-5 – 5º Relatório de Avaliação do IPCC.

AR-6 - 6º Relatório de Avaliação do IPCC.

GEE – Gases de efeito estufa.

PPM – Partes por milhão.

NOS – Óxido nítrico sintase.

FMT-HVD – Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado.

LEEM – Laboratório de Evolução e Eco fisiologia Molecular.

LISTAS DE FIGURAS

FIGURA 1 – História da mudança de temperatura global e suas causas.....	14
FIGURA 2 – Artigos publicados entre 1990 e 2012 que associam doenças infecciosas e mudanças climáticas.....	16
FIGURA 3 – Mapa dos países endêmicos para malária.....	17
FIGURA 4 – Mapa de risco de malária por regiões brasileiras em 2021.....	18
FIGURA 5 – Distribuição geográfica de espécies do gênero <i>Anopheles</i> no mundo.....	20
FIGURA 6 – Regiões de habitat natural do <i>Anopheles aquasalis</i>	21
FIGURA 7 – Ciclo de vida dos anofelinos.....	22
FIGURA 8 – Ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> spp.....	24
FIGURA 9 – Fluxograma de Atividades.....	29

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Alterações climáticas e IPCC.....	13
2.2	Quinto relatório (AR5) e sexto relatório (AR6) propostos pelo Painel Intergovernamental sobre mudanças climáticas.....	15
2.3	Relação entre as doenças infecciosas e as mudanças climáticas.....	16
2.4	Malária.....	17
2.4.1	Epidemiologia da malária	17
2.4.2	Anofelinos vetores de malária.....	19
2.4.3	<i>Anopheles aquasalis</i>	20
2.4.4	Ciclo de vida dos mosquitos do gênero <i>Anopheles</i>	22
2.4.5	Agentes etiológicos da malária.....	23
2.4.6	Ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> spp.....	24
2.5	Efeitos das alterações climáticas nos vetores e parasitas.....	26
3.	OBJETIVOS.....	27
3.1	Objetivo geral.....	27
3.2	Objetivos específicos.....	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Modelo de estudo.....	27

4.2	Aspectos éticos.....	27
4.3	Procedimentos.....	28
4.4	Aquisição e preparo das colônias de <i>Anopheles aquasalis</i>	28
4.5	Descrição experimental dos cenários climáticos previsto.....	29
4.6	Avaliação do fitness reprodutivo <i>An. aquasalis</i> nos diferentes cenários climáticos....	30
4.7	Infeção de mosquitos <i>Anopheles aquasalis</i> por <i>Plasmodium vivax</i> via ensaio de alimentação por membrana.....	30
4.8	Avaliação de <i>An. aquasalis</i> com <i>P. vivax</i> em diferentes cenários climáticos.....	30
4.9	Análise de dados.....	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
	ARTIGO 1. Efeito das alterações climáticas futuras simuladas na atividade reprodutiva e sobrevivência de <i>Anopheles aquasalis</i> (Diptera, Culicidae), um importante vetor de malária na América Latina.....	32
	ARTIGO 2. Experimental infection of <i>Anopheles aquasalis</i> with <i>Plasmodium vivax</i> in predicted climate changes.....	60
6.	CONCLUSÕES GERAIS.....	82
7.	REFERÊNCIAS GERAIS.....	82

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas sempre ocorreram de forma natural ou por atividades humanas ao longo do tempo. No entanto, a intensificação dessas atividades antropogênicas tem sido apontada como a principal causa das mudanças climáticas ocorridas nas últimas décadas. Isso gera preocupações em relação aos impactos ambientais e sociais que estas mudanças podem ocasionar. Um desses impactos seria o agravamento no quadro de saúde pública em decorrência do aumento número de casos de doenças causadas por mosquitos vetores (IPCC, 2021).

Em 1988, o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e a Organização Meteorológica Mundial (OMM) estabeleceram o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, do inglês “Intergovernmental Panel on Climate Change”), tendo como objetivo principal fornecer avaliações regulares da base científica das alterações climáticas, dos seus impactos e potenciais riscos futuros, bem como sugerir estratégias de adaptação e mitigação. Essa organização vem desempenhando um papel crucial na síntese e na divulgação do conhecimento científico no intuito de informar as decisões políticas climáticas globais para a população (Marengo; Soares, 2003).

O IPCC é composto por cientistas de todo o mundo que contribuem para o desenvolvimento dos relatórios publicados após a realização de avaliações abrangentes da literatura científica sobre as alterações climáticas. Essas avaliações documentam que a temperatura do planeta terra está aumentando, o que pode ser observado na ocorrência de fenômenos extremos, como inundações, ondas de calor, chuvas intensas, secas e ciclones tropicais (IPCC A, 2014).

Sabe-se que um incremento na temperatura pode contribuir para o surgimento ou agravamento de doenças já existentes. Considerando a expansão e a distribuição de doenças infecciosas, as mudanças no clima tendem a criar ambientes favoráveis para a sobrevivência e distribuição de vetores e patógenos (Epstein, 2001; Zezzo *et al.*, 2021). Dentre as doenças infecciosas que podem se agravar com as alterações climáticas, estão aquelas ligadas à água ou transmitidas por artrópodes-vetores, como é o caso da malária (Yi *et al.*, 2019).

A malária é uma doença infecciosa potencialmente grave, causada pelo parasita do gênero *Plasmodium*, transmitido aos seres humanos pela picada das fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* infectadas (Rosa-Gonçalves; Ribeiro-Gomes; Daniel-Ribeiro, 2022). Algumas espécies de anofelinos são propensas a se infectarem naturalmente com o parasita do

gênero *Plasmodium*. Entre estas espécies, encontra-se o *Anopheles aquasalis*, que é uma espécie de mosquito típica das regiões costeiras da América do Sul e Central. Esses mosquitos podem ter seu ciclo de vida alterado pelas mudanças climáticas, afetando a transmissibilidade da malária no mundo (Zezzo et al., 2021).

Em relação ao parasito, atualmente as diferentes espécies de *Plasmodium* descritas como causadores da malária no mundo são: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi*. Destas, as quatro primeiras circulam no Brasil (Miotto; Galhardi; Amarante, 2012). *Plasmodium falciparum* é a espécie que predomina na África Subsariana, enquanto o *Plasmodium vivax* é predominante em todo o globo (WHO 2019).

Sabe-se que as doenças transmitidas por vetores são limitadas por diversos fatores abióticos. Com as mudanças climáticas ocorrendo de forma rápida juntamente com a globalização, é importante conhecer quais os efeitos que as mudanças climáticas futuras poderão ter sobre as populações do *Anopheles*, uma vez que isto pode afetar na capacidade e competência vetorial deste inseto em transmitir malária (Mordecai et al., 2019). Neste contexto, este estudo buscou avaliar os efeitos dos cenários climáticos futuros prospectados pelo 5º Relatório do IPCC no ciclo de vida e na infectividade do *Anopheles aquasalis* por *Plasmodium vivax*, tendo em vista a importância do vetor para a transmissão da malária, principalmente em regiões subdesenvolvidas do globo e com alta densidade populacional (Howes et al., 2016).

2. REVISÃO DE LITERATURA

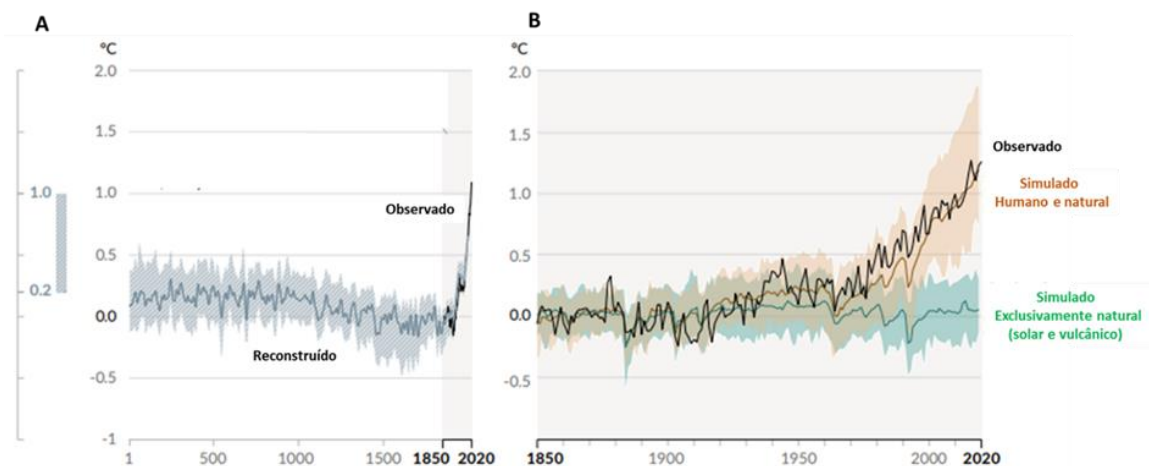
2.1 Alterações climáticas e IPCC

Alterações nos padrões climáticos da Terra ou mudanças climáticas estão ocorrendo de forma acelerada nas últimas décadas como resultado das ações antropogênicas (Fig. 1). Um dos principais fatores que tem contribuído significativamente para tal situação é o uso excessivo de combustíveis fósseis que liberam gases como metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), dióxido de carbono (CO₂) e aerossóis na atmosfera, os quais são descritos como causadores do efeito estufa (Nagy et al., 2005).

Um dos gases mais poluentes é o dióxido de carbono, que é emitido em larga escala pelas ações antrópicas (IPCC A, 2014). Vale ressaltar que o aumento das concentrações de

CO₂ na atmosfera foi um dos agravos do período pós revolução industrial, tendo em vista que, até 1950, as concentrações desse gás não ultrapassavam 300 ppm (partículas por milhões). Hoje, essa marca é de 421 ppm (Alves, 2022). Segundo o IPCC, nos últimos 30 anos, a temperatura nos ecossistemas terrestre aumentou cerca de 1,5%, o que tem sido evidenciado por anos cada vez mais quentes (IPCC, 2021).

Figura 1 – História da mudança de temperatura global e causas. (A) Mudanças de temperatura da superfície reconstruída de arquivos paleoclimáticos e observações diretas (B) Mudanças de temperaturas da superfície global nos últimos 170 anos.



Fonte: IPCC (2021)

O IPCC reúne uma rede internacional de cientistas para avaliar informações científicas, técnicas e socioeconômicas para entender os riscos associados às mudanças climáticas em todo o mundo (ONU, 2019). Esse Painel propõe cenários de mudanças climáticas futuras que podem ser usados em estudos científicos para avaliar possíveis impactos na economia, saúde, agricultura e outros setores. Além disso, o IPCC contribui para apoiar as tomadas de decisão relacionadas às políticas públicas sobre mudanças climáticas (Marengo, 2019).

Desde a sua criação, o IPCC já elaborou seis relatórios, começando em 1990 com o primeiro relatório, seguido pelo segundo em 1995, o terceiro em 2001, o quarto em 2007, o quinto em 2014 e o sexto em 2021. Esses relatórios são elaborados por três grupos de trabalho, sendo o Grupo 1 responsável pela base da ciência; o Grupo 2 pelo impacto, adaptação e vulnerabilidade; e o Grupo 3 pela mitigação da mudança climática. Adicionalmente, também são produzidos resumos para formuladores de políticas públicas com as principais conclusões desses três grupos de trabalho (Leite, 2015).

2.2 Quinto relatório (AR5) e sexto relatório (AR6) propostos pelo Painel Intergovernamental sobre mudanças climáticas

O Quinto relatório (AR-5) foi publicado em 2014 e indica que há uma projeção de aumento substancial de CO₂ na atmosfera, e um aumento de 5,4°C na temperatura média global até 2100, caso os níveis atuais de emissões de Gases do Efeito Estufa (GEE) continuem crescendo. Os cenários climáticos neste relatório são chamados de Representative Concentration Pathway (RCP), e vão de um cenário brando a um cenário extremo, onde nenhuma medida de política pública é tomada para diminuir as emissões de GEE (IPCC, 2014).

O cenário 1 é chamado de RCP 2.6, que é considerado otimista, pois representa uma diminuição nas emissões de GEE, com mais absorção e menos emissão de gases poluentes, atingindo o marco zero das emissões em 2070, e o aumento da temperatura esperado será de 1,7°C até 2100. O cenário 2 - RCP 4.5, representa um mundo em que as emissões de gases do efeito estufa se estabilizam antes de 2100, com aumento da temperatura global entre 1,1°C e 2°C, com o nível do mar entre 32cm e 63cm (Bolfe *et al.*, 2018).

O cenário 3- RCP 6.0 apresenta que as emissões de GEE seriam estabilizadas logo após 2100, e o aumento da temperatura seria entre 1,4 °C e 3,10 °C, e o nível do mar estaria entre 32cm e 63 cm. O cenário 4- RCP 8.5 representa emissões GEE sem estabilização, com maior concentração desses gases na atmosfera, e aumento da temperatura entre 3,2 °C e 5,4 °C, e o nível do mar será elevado a mais de 63 cm (Bolfe *et al.*, 2018).

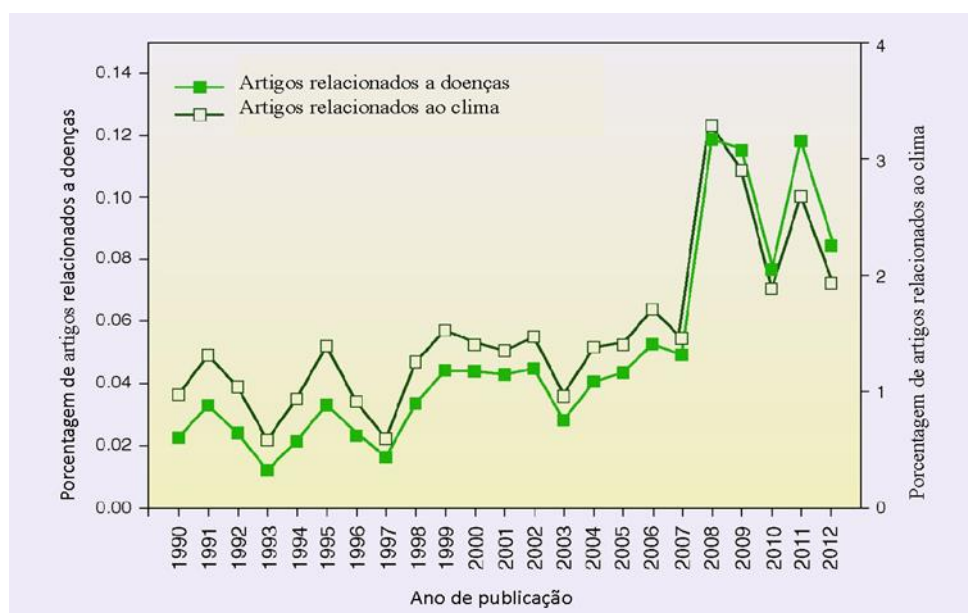
O Sexto Relatório (AR6) foi lançado em 2021 e apresenta novos cenários, que incluem temperaturas mais altas e maiores taxas de concentração de gases poluentes liberados na atmosfera. Esses novos cenários vão de cenários otimistas a cenários extremos, que são ameaçadores à vida na Terra. As projeções incluem cenários com emissões altas e muito altas de GEE (SSP3-7.0 e SSP 5-8.5), emissões de CO₂ que praticamente dobram em relação às concentrações atuais; cenários com emissões intermediárias de GEE (SSP2-4,5) e emissões de CO₂ remanescentes em torno dos níveis atuais; e cenários com emissões de GEE muito baixas e caindo para zero, seguidos por níveis variados de emissões líquidas negativas de CO₂ (SSP1-1.9 e SSP1-2.6) (IPCC, 2021).

2.3 Relação entre as doenças infecciosas e as mudanças climáticas

Muitas regiões do globo terrestre, especialmente os países em desenvolvimento, tendem a enfrentar sérios problemas de saúde pública devido às mudanças no clima (IPCC, 2014). Esse fenômeno pode contribuir para o agravamento da saúde humana de forma direta através das ocorrências de fenômenos extremos, e de forma indireta através das mudanças nos ecossistemas (IPCC, 2014). As perturbações nos ecossistemas são fatores de risco para o aumento da incidência de doenças infecciosas, especialmente as doenças transmitidas por mosquitos vetores, uma vez que fatores ambientais como, temperatura, umidade, pluviosidade estão ligados ao ciclo de vida desses insetos (Barcellos *et al.*, 2009). Além disso, as interações entre patógenos e hospedeiros podem ser afetadas pelas mudanças no clima, favorecendo ou não a criação de ambientes propícios à sobrevivência, reprodução e ciclo de vida de ambos (Uchoa; Lustosa; 2019)

Estudos descreveram o progresso das pesquisas relacionadas à interação entre o clima e as doenças, com enfoque na associação entre doenças infecciosas e mudanças climáticas. Um desses estudos avaliou os artigos publicados sobre a interrelação entre as alterações climáticas e as doenças infecciosas entre 1990 e 2012 e evidenciaram um aumento considerável de estudos sobre o tema nos últimos 20 anos, com uma variação de 5 a 117 publicações por ano (Fig. 2) (Altizer *et al.*, 2013).

Figura 2 – Publicações entre 1990 e 2012 que associam doenças infecciosas e mudanças climáticas



Fonte: Altizer *et al.* (2013)

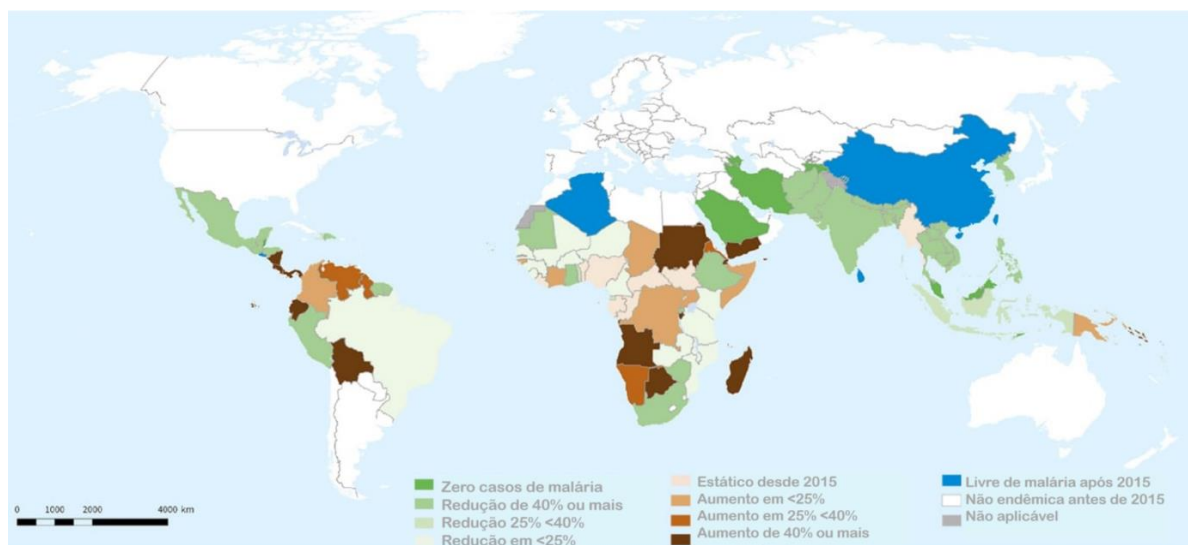
2.4 Malária

2.4.1 Epidemiologia da malária

A malária é uma infecção parasitária potencialmente grave, causada por parasitas do gênero *Plasmodium* que apesar de tratável ainda é uma doença infecciosa considerada um dos graves problemas de saúde pública (Brasil. Ministério Da Saúde, 2022). Sua transmissão requer a interação entre o hospedeiro, o vetor e o parasita do gênero *Plasmodium*, que é transmitido aos humanos por meio da picada da fêmea do mosquito *Anopheles* infectada (Dronamraju; Arese, 2006).

O cenário epidemiológico mundial da malária mostra que, em 2021, houve a notificação de 247 milhões de casos da doença no mundo, o que representa um aumento de 2 milhões de casos em relação a 2020. Porém, houve redução no número de óbitos, que passou de 625.000 em 2020 para 619.000 em 2021. Atualmente, 84 países são endêmicos para malária (Fig. 3). Nas Américas, também houve redução de 60% no numero de casos notificados e redução no numero de óbitos, que passou de 919.000 casos para 334.000 em 2021 (WHO, 2022).

Figura 3 – Mapa dos países endêmicos para malária

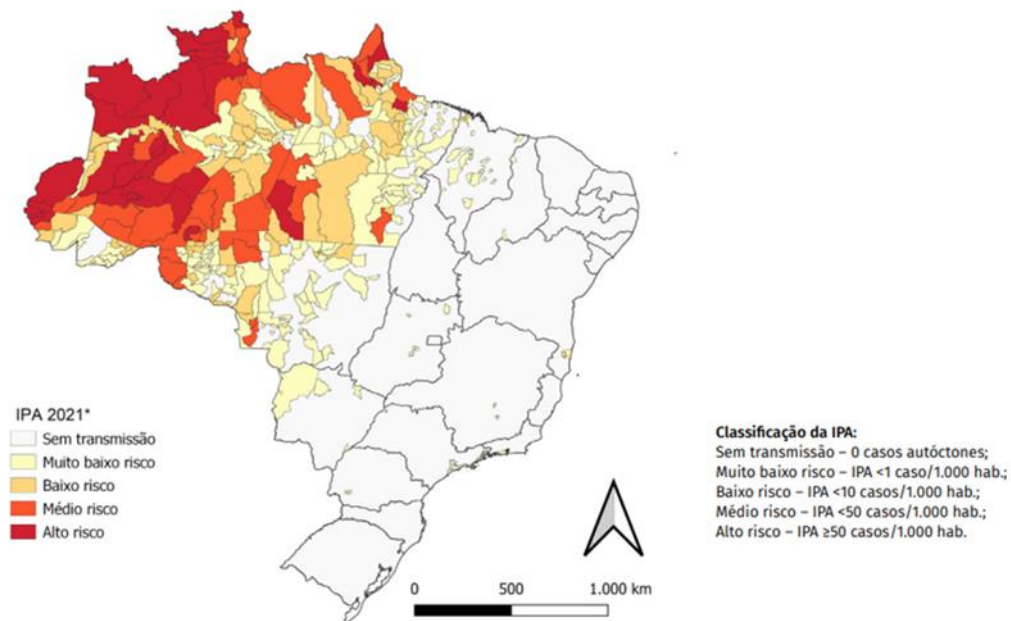


Fonte: WHO (2022)

O Brasil é o país que concentra o maior número de casos de malária no continente americano. No entanto, em 2020, houve uma redução de 7,8% no nº de casos em relação a

2019, com 145.188 casos notificados. Essa redução continuou em 2021, com 39.211 casos notificados. É importante ressaltar que 99,9% dos casos registrados no país estão restritos à região Amazônica, onde o *Plasmodium vivax* é o agente etiológico responsável por 83.0% dos casos registrados nesta região (Brasil. Ministério Da Saúde, 2022) A Figura 4 apresenta o mapa de riscos de malária no Brasil por regiões.

Figura 4 – Mapa de risco de malária por regiões brasileiras em 2021



Fonte: SIVEP-Malária e SINAN/SVS/MS (2021)

Neste mapa, observa-se que região Amazônica é uma área de risco importante para a transmissão da malária devido aos fatores ambientais que favorecem o desenvolvimento da fauna anofelina. Esses fatores incluem altas taxas de temperatura, umidade relativa acima de 80%, frequentes chuvas e a existência de uma densa vegetação em torno dos criadouros e habitações. As áreas endêmicas incluem os estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão, totalizando cerca de 808 municípios. Áreas extra-amazônicas apresentam baixo a médio risco de transmissão (Motta, 1992).

A epidemiologia da malária é complexa e multifocal. Evidências recentes sugerem que a incidência de malária está aumentando em regiões mais frias do mundo devido ao aquecimento global, porém os efeitos das alterações climáticas são potencialmente complexos e as implicações para o risco de malária em ambientes de transmissão ideais permanecem mal

definidas. O efeito das mudanças climáticas sobre a malária pode ser evidenciado através de seus impactos nos três componentes da doença: patógeno, hospedeiro e ambiente de transmissão (Pascual *et al.*, 2006; Paaijmans *et al.*, 2010).

As diferentes temperaturas observadas em regiões da África Oriental possuem efeito na epidemiologia da malária. Isso ocorre pois a transmissão desta afecção depende da abundância do vetor, taxa de picada do mosquito, sobrevivência do vetor e taxa de desenvolvimento esporogônico do parasita, os quais são fatores influenciados pela temperatura e, conseqüentemente, sensíveis às mudanças na temperatura ambiental (Omumbo *et al.*, 2005). Dessa forma, o clima não deve ser descartado como um potencial impulsionador dos aumentos observados de malária na região durante as últimas décadas, mas sua importância relativa, em comparação com outros fatores, precisa de maior elaboração.

Através de um modelo dinâmico que incorporou a dinâmica populacional do inseto vetor com a série temporal de temperatura, descobriu-se que um pequeno acréscimo na temperatura ambiental tem um efeito importante, mas não linear, sobre a transmissão da malária (Alonso; Bouma; Pascual, 2011). O desenvolvimento e a análise de modelos dinâmicos de transmissão baseados no clima são cruciais para entender a taxa na qual *P. falciparum* e *P. vivax* podem infectar, expandir ou desaparecer em populações à medida em que ocorre mudanças nas condições ambientais locais (Parham; Michael, 2010) .

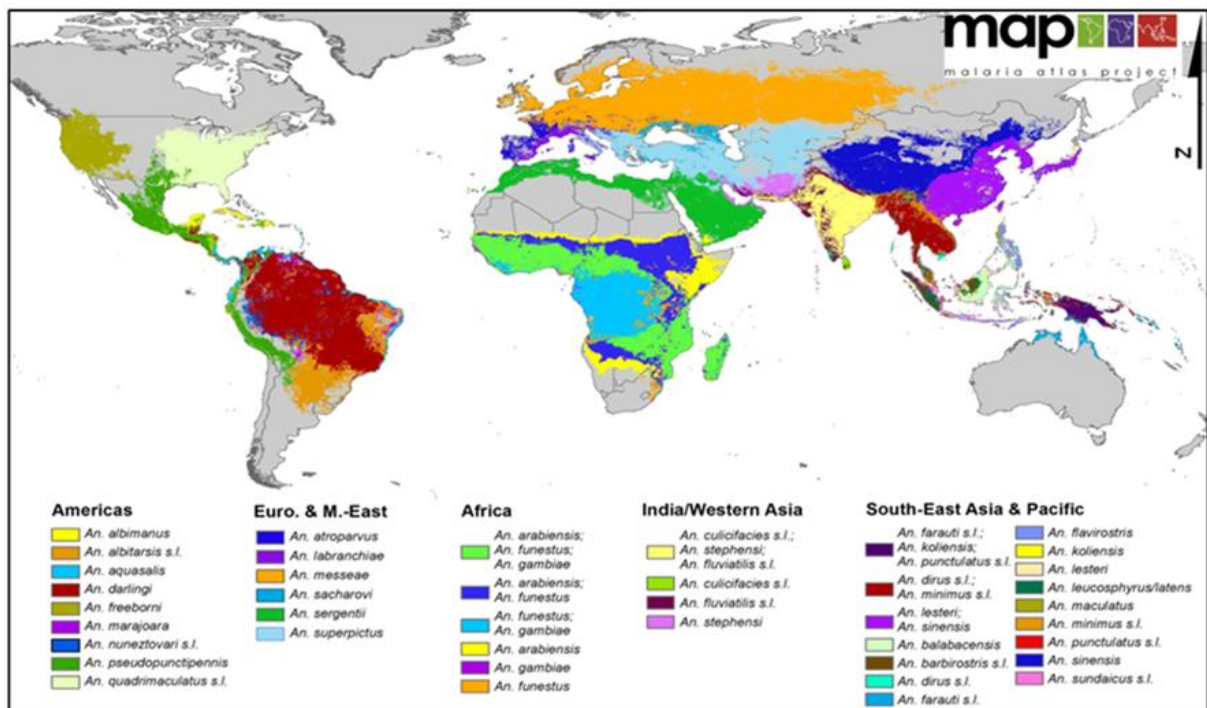
Estudos laboratoriais mostraram que a capacidade de *An. stephensi* e *An. gambiae* para transmitir *P. falciparum* foi comprometida com aumento na temperatura. Além disso, a intensidade e a taxa de infecção foi reduzida com este mesmo fenômeno, enquanto a mortalidade dos mosquitos aumentou e houve diminuição da capacidade vetorial de ambas as espécies (Murdock; Sternberg; Thomas, 2016).

2.4.2 Anofelinos vetores de malária

Os anofelinos são insetos que pertencem à ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Anophelinae e gênero *Anopheles*, e possuem grande importância na epidemiologia e transmissão da malária (Consoli; Oliveira, 1994). O gênero *Anopheles* inclui seis subgêneros: *Anopheles*, *Kerteszia* e *Nyssorhynchus*, *Cellia*, *Stethomya* e *Lophopodomyia* (Sinka *et al.*, 2012). Dentre estes, somente os três primeiros possuem importância médica, pois são insetos que possuem uma ampla distribuição geográfica, e são incriminados como transmissores de doenças infecciosas como a malária e a filariose (Consoli; Oliveira, 1994).

Existem cerca de 3.500 espécies de mosquitos, agrupadas em 41 gêneros. Dentre essas espécies, aproximadamente 430 pertencem ao gênero *Anopheles* e 70 são conhecidas por serem transmissoras naturais de malária em todo o mundo (Fig. 5) (Faye *et al.*, 2002; Collins; Jeffery, 2005; Hay *et al.*, 2010).

Figura 5 – Distribuição geográfica de espécies do gênero *Anopheles*



Fonte: Sinka *et al.* (2010)

Nas Américas, cerca de 9 espécies são responsáveis por causarem malária em humanos: *Anopheles albimanus*, *Anopheles albitalarsis*, *Anopheles aquasalis*, *Anopheles darlingi*, *Anopheles freeborni*, *Anopheles marajoara*, *Anopheles nuneztovari*, *Anopheles pseudopunctipennis* e *Anopheles quadrimaculatus* (Sinka *et al.*, 2010, 2012). No Brasil, *An. darlingi* (Root, 1926), *An. aquasalis* (Curry, 1932) e *An. albitalarsis* (Lynch-Arribálzaga, 1878) são as principais espécies transmissoras de malária. Na região Amazônica, o *An. darlingi* configura-se como vetor principal, embora outras espécies possam ser encontradas infectadas naturalmente com *Plasmodium* spp., mas sua participação na transmissão é considerada baixa e variável, conforme sua distribuição (Pimenta *et al.*, 2015).

2.4.3 *Anopheles aquasalis*

Pertencente ao subgênero *Nyssorhynchus*, o *Anopheles aquasalis* está distribuída desde o norte da Nicarágua até o sul do Brasil (Fig. 6) (Silva *et al.*, 2006). É encontrada em algumas localidades que distam cerca de 100 ou 200 km do litoral, que é rica em cloreto de sódio, a exemplo do que ocorre em algumas áreas do sertão nordestino, ou em regiões sujeitas à invasão das marés, como no município de Belém, no estado do Pará (Hay *et al.*, 2010).

Figura 6 – Regiões típicas do *Anopheles aquasalis*



Fonte: Malleret *et al.* (2015)

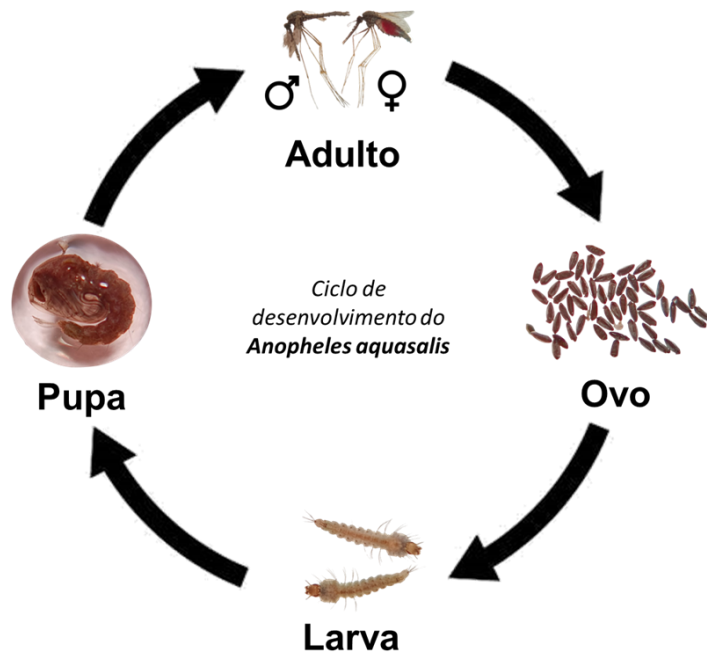
O desenvolvimento e a reprodução do *An. aquasalis* dá-se de forma natural em ambientes onde há incidência de raios solares, e com vegetação emergente. A espécie ocorre tanto em água salobra como em água doce, tem preferência por águas paradas e límpidas a exemplos: manguezais, lagos, riachos entre outros, embora já tenham sido encontrados em águas turvas e com fluxo lento (Sinka, *et al.*, 2010). A espécie se infecta naturalmente com *Plasmodium sp.* e geralmente apresenta hábitos zoofílicos, podendo ser antropofílicos em ambientes de clima equatorial e semi-árido (Deane, 1986; Silva, *et al.*, 2019). Estudos já

comprovaram a infecção natural de *An. aquasalis* no estado do Pará, Maranhão e em outras regiões brasileiras (Da Silva *et al.*, 2006; Hay *et al.*, 2010; Rodó *et al.*, 2013).

2.4.4 Ciclo de vida dos mosquitos do gênero *Anopheles*

Os anofelinos são holometábolos, ou seja, apresentam metamorfose completa em seu ciclo de desenvolvimento. Este é constituído por quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adultos (Fig. 7). Os três primeiros estágios ocorrem exclusivamente no ambiente aquático, e o último ocorre no ambiente terrestre (CDC, 2012; Viana, 2015).

Figura 7 – Ciclo de vida dos Anofelinos



Fonte: Arquivos pessoais

Somente as fêmeas são hematófagos e depositam seus ovos diretamente na água limpa, parada ou com pouca correnteza. Esses ovos flutuam devido à presença de expansões laterais (flutuadores) que contêm ar, possuem aspecto alongado e apresentam simetria lateral. Dependendo da temperatura e da umidade, o tempo de eclosão pode variar. Em geral, eles demoram de 2 a 3 dias para eclodir. As larvas possuem um aparelho espiracular dorsal, que as ajudam a assumir a posição horizontal ou paralela na superfície da água, onde se alimentam e respiram, até completar o tempo do desenvolvimento. Este, em geral, ocorre por cerca de sete

a dez dias, podendo variar de acordo com a espécie e com fatores bióticos e abióticos (Consoli; Lourenço-de-Oliveira, 1994).

A pupa é a forma imatura que ocorre após os estágios larvais. Nesta fase, elas não se alimentam e ficam na superfície da água, onde respiram. A depender da espécie, essa fase pode durar cerca de 24 horas a 72 horas. Ocorrendo a metamorfose para adultos, morfologicamente, já é possível identificar os machos das fêmeas. Em geral, os machos são menores e emergem mais cedo do que as fêmeas. O mosquito adulto completamente formado abandona a água e vai para um abrigo, onde ao pousar mantém o corpo e a probóscide em linha reta, característica que o difere dos demais culicídeos. Na natureza, se alimentam do néctar das flores, mas as fêmeas necessitam adicionalmente de alimentação sanguínea para promover a maturação dos seus ovos, dando assim continuidade ao ciclo de vida (Consoli; Lourenço-de-Oliveira, 1994).

2.4.5 Agentes etiológicos da malária

São descritas sete espécies de *Plasmodium* como responsáveis por causar a malária humana no mundo: *Plasmodium falciparum* (Welch, 1897), *Plasmodium vivax* (Grassi, 1890) *Plasmodium malariae* (Laveran, 1881), *Plasmodium ovale* (Stephens, 1922), *Plasmodium knowlesi* (Sinton; Mulligan, 1933), *Plasmodium cynomolgi* (Mayer, 1907), e *Plasmodium simium* (Fonseca, 1971). Estes dois últimos são parasitos de macacos, mas já foram descritos como causadores de infecções em humanos (Daily, 2006; Goh *et al.*, 2009; Ta *et al.*, 2014). Dentre as espécies de *Plasmodium*, *P.falciparum* e *P.vivax* se destacam como causadoras da malária humana. Contudo, diferenças biológicas de *P. vivax* e *P. falciparum* tornam suas epidemiologias distintas (Howes *et al.*, 2016).

O *Plasmodium falciparum* é responsável por acometer malária a quase 1 milhão de pessoas por ano em todo o mundo, sendo mais prevalente no continente Africano. Este parasito tem um ciclo tecidual curto, com uma produção elevada de merozoítos durante o processo de esquizogonia. Além disso, ele tem a capacidade de infectar eritrócitos de qualquer idade, sendo capaz de atingir altos níveis de parasitemia (maiores ou iguais a 5% de hemácias infectadas) (Trampuz *et al.*, 2003; Antinori *et al.*, 2012).

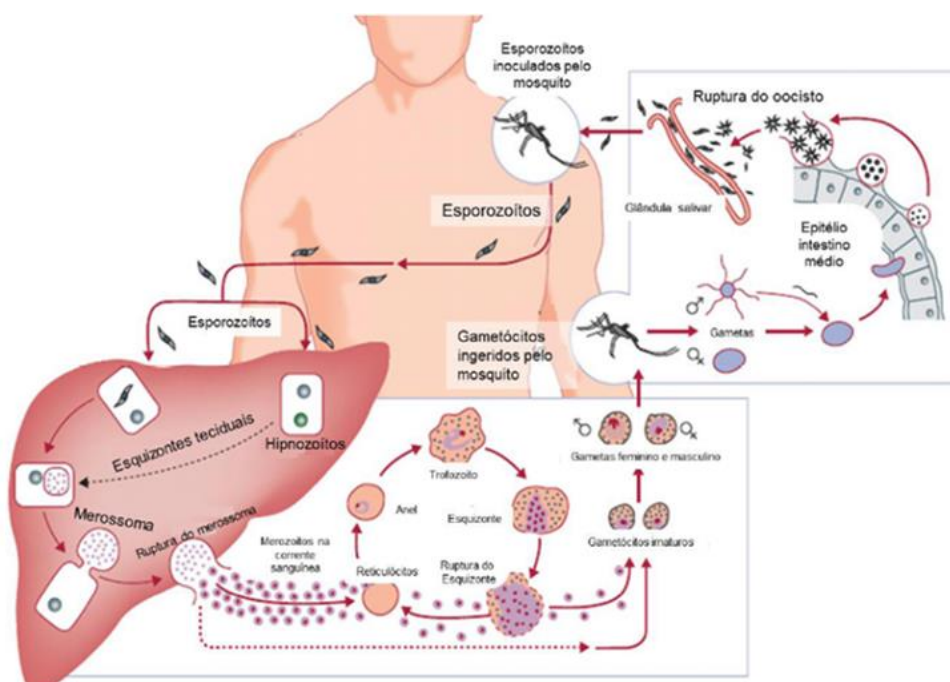
O *Plasmodium vivax* é responsável pela endemicidade da malária em muitas regiões do mundo com climas extremamente diversos, e predomina em regiões densamente povoadas e pobres do mundo, apesar dos baixos níveis de parasitas detectáveis pode resultar em formas

graves e até mesmo levar o indivíduo a morte. Somente no Brasil, em 2021, esta espécie foi responsável por 114.449 casos juntamente com outras espécies parasitárias (Brasil. Ministério Da Saúde, 2021). Este *Plasmodium* é peculiar pois apresenta são formas denominadas hipnozoíticas, as quais podem causar as recaídas da doença meses ou até anos após a infecção inicial, tornando-se um grande desafio para o controle da malária. Essas formas hipnozoíticas são responsáveis pela manutenção do ciclo de transmissão do parasito (Howes *et al.*, 2016).

2.4.6 Ciclo de vida do *Plasmodium* spp

O ciclo de vida do parasito da malária se completa em dois hospedeiros, vertebrado e invertebrado, sendo por isso denominado heteroxeno. O parasito alterna entre as formas invasivas e os estágios de replicação nos dois hospedeiros (Fig. 8) (Wirth DF, 2002).

Figura 8 – Ciclo de vida do *Plasmodium*



Fonte: Adaptado de Muller *et al.* (2009)

No hospedeiro vertebrado, o ciclo do *Plasmodium* inicia-se quando a fêmea infectada do *Anopheles* faz seu repasto sanguíneo. Ao se alimentar com o sangue do hospedeiro vertebrado não infectado, as fêmeas infectadas inoculam na corrente sanguínea deste hospedeiro as formas infectantes, chamadas de esporozoítos (Amino *et al.*, 2006). Estes migram pela corrente sanguínea até os hepatócitos, onde se diferenciam e, pelo processo de

esquizogonia, originam os esquizontes teciduais e, posteriormente, milhares de merozoítos (Tavares *et al.*, 2013). Estes, por sua vez, são liberados na corrente sanguínea em vesículas denominadas merossoma, completando assim a primeira fase do ciclo biológico (fase exoeritrocítica) (Sturm *et al.*, 2006). Nessa fase, ainda não há ocorrência das manifestações clínicas da doença.

O tempo de diferenciação nos hepatócitos pode variar dependendo da espécie. Para *P. falciparum*, o intervalo corresponde à uma semana, enquanto que para *P. vivax* e *P. malariae*, corresponde à cerca de duas semanas. Além disso, *P. vivax* e *P. ovale* tem a capacidade de formar estágios dormentes (hipnozóitos) no fígado do infectado, os quais podem se ativar meses ou anos após o início da infecção (Antinori *et al.*, 2012). A fase eritrocítica inicia-se com a invasão dos merozoítos nas hemácias. Dependendo da espécie de *Plasmodium*, essa invasão ocorre em diferentes fases evolutivas das hemácias. *P. malariae* tem preferência por hemácias maduras, enquanto *P. vivax* prefere as hemácias jovens. Diferentemente, *P. falciparum* invade hemácias de qualquer idade (Brasília, 2009).

No interior do eritrócito, os parasitos sofrem uma série de transformações morfológicas, diferenciando -se em trofozoítos jovens, depois maduros, até chegar na fase de esquizonte onde multiplicam-se por esquizogônia. Após a multiplicação, os parasitos formam novos merozoítos até o rompimento das hemácias e, conseqüentemente, ocorre a liberação dos merozoítos na corrente sanguínea, os quais poderão infectar outras hemácias em um processo contínuo. A destruição das hemácias parasitadas e seus metabolitos provocam o paroxismo malárico (Miller *et al.*, 2010). Alguns trofozoítos se diferenciam em gametócitos, que não se dividem no hospedeiro vertebrado. O ciclo esporogônico ocorre quando há ingestão de sangue infectado pela fêmea do mosquito *Anopheles* contendo os gametócitos masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos) (Smith; Vega-Rodríguez; Jacobs-Lorena, 2014).

No intestino médio do mosquito, ocorre a gametogênese, com os gametócitos se transformando em gametas masculino e feminino. O gametócito masculino dá origem a oito microgametas por exflagelação, e o gameta feminino transforma-se em macrogameta. Os microgametas penetram nos macrogametas, ocorrendo a fecundação (Smith; Vega-Rodríguez; Jacobs-Lorena, 2014). Deste processo, ocorrerá a formação do zigoto, que se modificará em oocineto. Posteriormente, essa forma se transformará em oocisto, no interior do oocisto, ocorrerá o processo de divisão esporogônica formando os esporozoítos. Nesse processo, ocorre a ruptura da parede do oocisto, ocasionando a liberação dos esporozoítos, os quais se

deslocam para as glândulas salivares do mosquito. A inoculação dos esporozoítos em um novo hospedeiro humano perpetua o ciclo de vida da malária (Pimenta *et al.*, 1994; Hillyer *et al.*, 2007; Orfano *et al.*, 2016).

2.5 Efeitos das alterações climáticas nos vetores e parasitas

O aquecimento global pode mudar a dinâmica de desenvolvimento dos artrópodes e também as taxas metabólicas, as baixas temperaturas tendem a causar retardos no desenvolvimento larval dos mosquitos e altas taxas de mortalidade (Koenraadt *et al.*, 2006). Os anofelinos em ambientes com efeitos do aquecimento climático tendem a ter maior taxa metabólica, o que interfere diretamente no desenvolvimento das larvas que levam um menor tempo de amadurecimento (Gillooly *et al.*, 2001; Munga *et al.*, 2007).

Aumentos de temperatura também promovem a rápida digestão da alimentação sanguínea que viabiliza acréscimo na fecundidade, melhor desenvolvimento na aptidão reprodutiva e maior capacidade de produzir descendentes (Afrane *et al.*, 2006). Ademais, um incremento na temperatura ambiental aumenta a frequência de alimentação nos hospedeiros vertebrados e promove uma redução do tempo de desenvolvimento esporogônico do *Plasmodium* de uma média de 14 dias para 12,6 dias (Afrane *et al.*, 2006).

Mudanças na temperatura afetaram o desenvolvimento esporogônico de *P. falciparum* em *Anopheles stephensi*, alterando a cinética de maturação do oocineto. Temperaturas entre 30 e 32°C também afetam significativamente as densidades parasitárias e as taxas de infecção, interferindo nos processos de desenvolvimento que ocorrem entre a fertilização do parasita e a formação do oocineto, especialmente durante a formação do zigoto e maturação precoce do oocineto (Noden *et al.*, 1995).

Um modelo experimental evidenciou que em *An. gambiae* infectado por *P. falciparum*, a prevalência de infecção por oocinetos diminuiu após aumento nas temperaturas. Além disso, as intensidades médias de oocistos para os mosquitos infectados aumentaram, e o sucesso das infecções reduziu-se em 30 e 32°C, resultado em maiores perdas durante períodos consecutivos do desenvolvimento do parasito inter-estágio (Okech *et al.*, 2004). Esses resultados mostram que o impacto mais significativo das altas temperaturas ocorre principalmente na transição entre os macrogametócitos e o oocinetos, enquanto a transição entre oocinetos e oocistos aparentemente não é afetada (Okech *et al.*, 2004).

O aumento da temperatura eleva a frequência do repasto sanguíneo de *An. gambiae* em humanos, gerando o potencial de transmissão da malária (Delgado-Petrocelli *et al.*, 2012). Porém, temperatura acima de 34°C geralmente tem um impacto negativo na sobrevivência de vetores e parasitas (Rueda *et al.*, 1990), mostrando que a dinâmica na epidemiologia da malária pode ser afetada por mudanças climáticas .

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito dos cenários climáticos futuros, previstos no 5^o Relatório (AR-5) do IPCC de 2014, sobre o ciclo de vida e infectividade do *Anopheles aquasalis* por *Plasmodium vivax*.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar os efeitos dos cenários climáticos futuros no “fitness” do *Anopheles aquasalis* considerando a taxa de fecundidade, desenvolvimento larval e pupar e sobrevivência dos adultos;
- Verificar os efeitos dos cenários climáticos futuros na infectividade de mosquitos *Anopheles aquasalis* por *P. vivax*.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Modelo de estudo

Trata-se de um estudo experimental

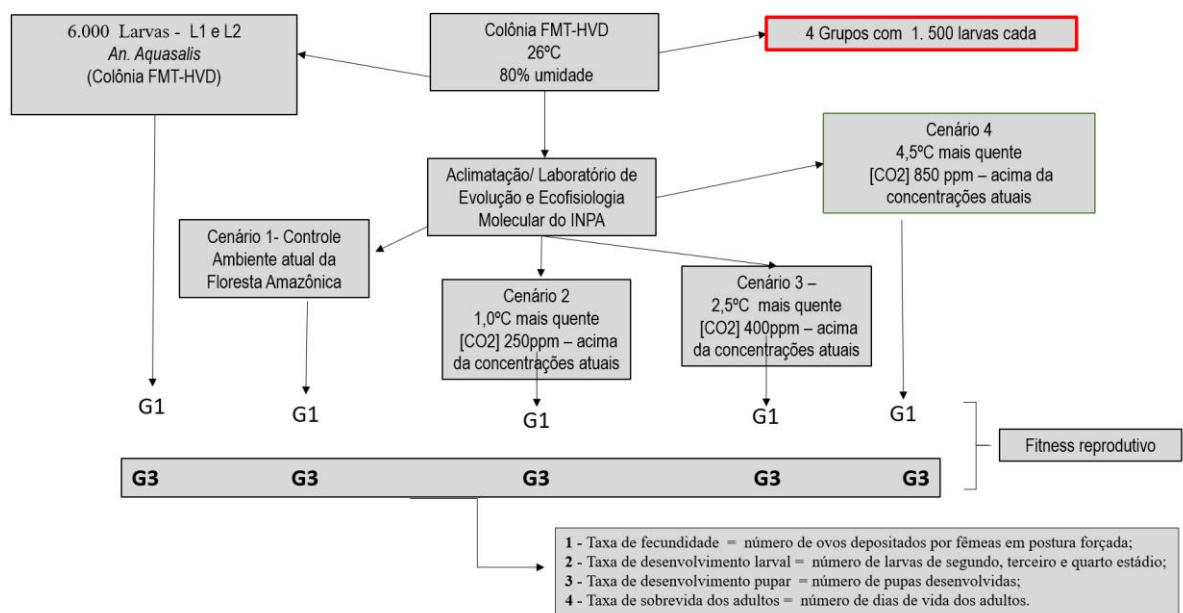
4.2 Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do FMT-HVD (CAAE: 13127819.9.0000.0005) e CEUA do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. (CAAE: 93004418.5.0000.0005).

4.3 Procedimentos

Os procedimentos realizados ao longo deste trabalho estão evidenciados na (Figura 9) no fluxograma das atividades. Ao longo do desenvolvimento, avaliou-se quais os efeitos dos cenários climáticos futuros sobre o ciclo de vida do *Anopheles aquasalis* e na infectividade por *P. vivax*. Este trabalho foi realizado no laboratório Evolução e Eco fisiologia Molecular (LEEM) do Instituto Nacional de Pesquisa na Amazônia (INPA).

Figura 9 – Fluxograma de Atividades.



Fonte: De própria autoria.

4.4 Aquisição e preparo das colônias de *Anopheles aquasalis*.

Larvas L1 /L2 do *Anopheles aquasalis* foram obtidas da colônia estabelecida no insetário da gerência de Entomologia Médica da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado - FMT-HVD, onde os insetos são mantidos a 26°C a 80% de umidade, em um ciclo de 12h claro-escuro. Para obtenção das larvas, as fêmeas adultas foram alimentadas com solução açucarada até 24 horas antes do repasto sanguíneo em camundongo previamente anestesiados. Após o repasto, continuaram a alimentação com solução açucarada a 10% por três dias, em seguidas colocadas para postura forçada por mais três dias.

As larvas obtidas das posturas foram contadas e alocadas nos cenários simulados do laboratório de Evolução e Eco fisiologia Molecular (LEEM). Essas larvas foram divididas em 4 grupos distintos, conforme as diferentes condições climáticas a serem testadas, e cada condição recebeu 1.500 mil larvas que continham 500 larvas em cada triplicata, somando um total de 6.000 mil larvas em todos os ambientes. As larvas foram alocadas em bacias contendo água não clorada com solução salina a 2%, e alimentadas com ração para peixes do tipo Tetrafish. As pupas emergidas eram colocadas em gaiolas (Recipientes de plástico) onde permaneciam até a fase adulta, dando assim continuidade as próximas gerações. Para remoção do excesso de alimentos e exúvia a água das bacias eram trocadas duas vezes ao longo da semana, seguindo o mesmo plano de trabalho já estabelecido no insetário da gerência de Entomologia Médica da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado - FMT-HVD.

4.5 Descrição dos cenários climáticos experimental

A instalação experimental consiste em salas climáticas (microcosmos) de 25 m³ com condições eletronicamente controladas, equipadas com sensores fixados em uma reserva florestal fixados a 40 metros atrás do LEEM na reserva florestal do INPA -3.097789, -59.986630, que medem os níveis de CO₂, temperatura, umidade e luminosidade no local. As informações coletadas pelos sensores são transmitidas para os computadores do laboratório, que ajustam as máquinas e reproduzem na Sala 1 também conhecida como sala controle, as mesmas condições climáticas em tempo real encontradas na floresta Amazônica. Logo, as condições climáticas experimentais sofrem variações, causando oscilações na temperatura, umidade e densidade de CO₂.

Conforme mencionada a Sala 1 representa as mesmas condições climáticas atuais da Floresta Amazônica. A sala 2 representa um cenário brando, simulando um clima baseado em uma concentração de 250 partes por milhão (ppm) de CO₂ acima das concentrações atuais e 1°C mais quente. O cenário 3 representa um cenário intermediário, onde a concentração é aumentada em 400 (ppm) de CO₂ em relação à concentração atual e 2,5°C mais quente. Já o cenário 4 representa uma condição extrema, com uma concentração de CO₂ aumentada em 850 (ppm) acima dos níveis atuais e temperatura 4,5°C mais quente. Todas as salas são iguais e tudo está de acordo previsto com previsto pelo IPCC.

4.6 Avaliação do Fitness reprodutivo *An. aquasalis* nos diferentes cenários climáticos

Um total de 20 fêmeas adultas provenientes de larvas desenvolvidas em cada cenário foram utilizadas para postura forçada, seguindo a metodologia de criação estabelecida na FMT-HVD, com variações exclusivamente do ambiente, com o objetivo de avaliar o fitness reprodutivo do *An. aquasalis*. Durante o desenvolvimento das gerações, todos os dias foi realizado a contagem de larvas, pupas e adultos e para seguimento das próximas gerações era realizada a contagem de ovos de cada geração. Foram avaliadas as taxas de fecundidade (número de ovos depositados por fêmea em postura forçada), desenvolvimento larval (número de larvas), desenvolvimento pupar (número de pupas desenvolvidas) e a taxa de sobrevivência dos adultos (dias de vida média dos adultos nos diferentes ambientes).

4.7 Infecção de mosquitos *Anopheles aquasalis* por *Plasmodium vivax* via ensaio de alimentação por membrana

Cerca de 2.500 mosquitos adultos com cerca de 3 a 5 dias oriundos da colônia estabelecida na FMT-HVD foram privados de alimentação com solução açucarada por 24 horas antes da infecção com *Plasmodium vivax*. Essas fêmeas foram divididas em 10 grupos, onde 5 grupos não receberam a alimentação sanguínea sendo, portanto, o grupo controle, e os outros 5 grupos receberam a alimentação sanguínea, este grupo continha cerca de 150 fêmeas. Após a alimentação as fêmeas totalmente ingurgitadas foram utilizadas no experimento.

Para a alimentação sanguínea, serviu-se de pacientes adultos infectadas com malária por *P. vivax* que consentiam em participar do estudo após preenchimento do formulário de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), esses pacientes doaram cerca de 3mL de sangue que foram coletados em tubo de heparina, essas amostras foram oferecidas aos 5 grupos experimentais, por cerca de 30 a 90 minutos através de alimentadores de membrana a 37°C. Após o tempo estipulado, um total de 250 fêmeas ingurgitadas foram divididas em 5 grupos com 50 fêmeas cada grupo e alocadas nos cinco cenários climáticos experimentais onde foram mantidas por 7 dias, essas fêmeas recebiam alimentação ad libitum com solução de açúcar a 10%.

4.8 Avaliação de *An. aquasalis* com *P. vivax* em diferentes cenários climáticos

Sete dias após o repasto infeccioso e aclimatação das fêmeas adultas nos diferentes cenários, o intestino médio das fêmeas de todos os grupos experimentais foi dissecado em

solução salina de fosfato (PBS), corado com solução comercial de mercurocromo 0,1% (Merbromin®) e observado sob um microscópio óptico para verificar a presença de oocistos. A intensidade da infecção *por P. vivax* foi determinada pelo número médio de oocistos encontrados por intestino dissecado, enquanto a taxa de infecção foi determinada pela razão entre o número de intestinos com oocistos e o número total de intestinos médios dissecados.

4.9 Análise de dados

Todos os dados foram tabulados em planilhas do Microsoft Excel 2016®. Foi utilizado um Teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade, ANOVA para a distribuição paramétrica (Mortes de Mosquitos adultos ao longo dos dias) e Friedman test para a não paramétrica (Morte de larvas ao longo dos dias), avaliando a possibilidade de diferenças entre as triplicatas. Considerando diferença estatística p -valor < 0.05. O número de indivíduos foram agrupados para análise de sobrevivência utilizando Kaplan Meier, e posteriormente usou-se uma regressão de Cox considerando o risco em relação ao cenário controle.

Para verificar a taxa de infecção e intensidade de infecção, os dados também foram tabulados em planilhas do Microsoft Excel 2016® e as análises estatísticas foram realizadas com os softwares GraphPad Prism® (Prism 5.01; GraphPad Software Inc.) e stata 17®. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade da distribuição. As comparações de amostras múltiplas foram analisadas usando ANOVA de uma via. Um teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas post-hoc de Dunn foi usado para análise de intensidade, e para a taxa de infecção com distribuição paramétrica a ANOVA ordinária de uma via com teste post-hoc de comparações múltiplas de Turkey. Além disso, a sobrevivência do mosquito nas diferentes condições foi analisada usando a curva de Kaplan-Meier. Em todos os testes, um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Correlações significativas com valores de $P \leq 0,05$ foram consideradas significativas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante os resultados obtidos neste estudo, foi gerado uma versão preliminar de um artigo científico onde a revista ainda será definida. E um segundo artigo, o qual foi submetido a revista BioMed Central (BMC) e aguarda o parecer. O primeiro artigo é intitulado:

Efeito das alterações climáticas futuras simuladas na atividade reprodutiva e sobrevivência de *Anopheles aquasalis* (Diptera, Culicidae), um importante vetor de malária na América Latina

Alterações climáticas e seus efeitos no fitness reprodutivo e sobrevivência de *Anopheles aquasalis*

Rejane Lima Leda (2,3), Arineia Soares Silva (1,2), Rosa Amélia Gonçalves Santana (2), Julia Melissa da Rocha Albuquerque (1,2), Allan Delon da Costa Bruce (1,2) Stefanie Costa Pinto Lopes (2,3), Alexandre Vilhena Silva-Neto (1,2), Maria de Nazaré Paula da Silva (5), Rogério Pereira (5), Marcus Lacerda (1,2,3), Filemon Paolucci Pimenta (1,4), Adalberto Luis Val (5), Wuelton Marcelo Monteiro (2,3) e Djane Clarys Baia-da-Silva (1,2,3,6,7).

1. Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
2. Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Amazonas, Brazil
3. Instituto Leônidas e Maria Deane, Fiocruz- Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
4. Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz-Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
5. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
6. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
7. Universidade Nilton Lins, Manaus, Amazonas, Brazil

RESUMO

As alterações climáticas estão crescendo em ritmo acelerado devido as ações antrópicas, tais condições podem resultar em sérios riscos à saúde humana, dentre esses riscos o aumento do número de casos de doenças causadas por mosquitos vetores, como a malária, isso tende a ocorrer porque os vetores são pecilotérmicos e podem ter o ciclo de vida alterado com as mudanças no clima. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos cenários climáticos futuros sobre o ciclo de vida do *Anopheles aquasalis* este que é um importante vetor da malária. Logo, foram utilizadas 6.000 mil larvas destes insetos oriundos da Unidade de Entomologia Nelson Ferreira Fé, estas foram divididas em 4 grupos e alocadas nos cenários climáticos simulados proposto pelo AR-5 do IPCC, localizadas no (LEEM-INPA) onde foram acompanhadas até a 3 geração, observando-se o desenvolvimento da prole destes mosquitos, considerando a taxa de fecundidade, taxa de desenvolvimento larval /pupar e sobrevivência dos adultos. Estatisticamente usando o teste de anova, os resultados mostraram que não há diferença significativa dos adultos entre as triplicatas técnicas, usando o teste paramétrico verificou-se que o mesmo ocorreu nas triplicas das larvas, além disso, não houve diferença significativa entre os cenários na taxa de fecundidade, larvas, pupas e sobrevivência dos adultos. Portanto, os cenários climáticos futuros prospectados no AR-5 do IPCC de 2014 não interferem no ciclo de vida do *Anopheles aquasalis* quando comparados por cenários.

Palavras chaves: Mudanças Climáticas, IPCC, Malária, Vetores, Fitness

Abstract

Climate change is growing at an accelerated pace due to anthropogenic actions, such conditions can result in serious risks to human health, among these risks the increase in the number of cases of diseases caused by mosquito vectors, such as malaria, this tends to occur because the vectors are poikilothermic and can have the life cycle altered with changes in climate. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of future climate scenarios on the life cycle of *Anopheles aquasalis*, which is an important vector of malaria. Therefore, 6,000 thousand larvae of these insects from the Nelson Ferreira Fé Entomology Unit were used, these were divided into 4 groups and allocated in the simulated climate scenarios proposed by the AR-5 of the IPCC, located in the (LEEM - INPA) where they were followed up to the 3rd generation, observing the development of the offspring of these mosquitoes, considering the fertility rate, larval /pupal development rate and adult survival. Statistically using the anova test, the results showed that there is no significant difference in adults between the triplicates techniques, using the parametric test it was found that the same occurred in the triplicates of the larvae, in addition, there was no significant difference between the scenarios in the fertility rate, larvae, pupae and survival of adults. Therefore, the future climate scenarios foreseen in the 2014 IPCC AR-5 do not interfere with the life cycle of *Anopheles aquasalis* when compared by scenarios.

Keywords: Climate Change, IPCC, Malária, Vetores, Fitness

INTRODUÇÃO

A intensificação das atividades antropogênicas é apontada como a principal causa do aquecimento global e das alterações climáticas (Estrada; Perron; Yamamoto, 2023; Sun *et al.*, 2022). As condições climáticas (CC) são alterações nos padrões climáticos da terra caracterizadas com bases nas tendências abrangentes de temperatura, precipitação, pressão de CO₂ e umidade à longo prazo (Nagy *et al.*, 2005) e são um desafio intergovernamental complexo com reflexo em todos os aspectos da vida (Pizzulli; Telesca; Covatariu, 2021), sendo considerados uma das maiores ameaças à saúde humana no século XXI. Os impactos das CC na saúde têm sido cada vez mais discutido (Patz *et al.*, 2000) e estudos tem mostrado estreita correlação entre as CC e as taxas globais de mortalidade, assim como na expansão de doenças infecciosas (Barcellos *et al.*, 2009; Patz *et al.*, 2000; Semenza; Rocklöv; Ebi, 2022). Além disto, é esperado que as mudanças prospectadas para o futuro influenciem a propagação de doenças transmitidas por vetores, a exemplo da malária, doença transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* e *Aedes* (Bueno-Marí; Jiménez-Peydró, 2013; Siraj *et al.*, 2014).

A malária ainda é um importante problema de saúde pública, mesmo com as medidas tomadas ao longo do tempo para o controle e eliminação da doença, que incluem o diagnóstico e tratamento precoce, além do controle vetorial (Hemingway *et al.*, 2016). Distintos trabalhos têm demonstrados a partir de modelagem matemática acréscimo na propagação e distribuição da doença em condições climáticas prospectadas (Craig; Le Sueur; Snow, 1999; Depinay *et al.*, 2004). É estimado que as regiões montanhosas tropicais, assim como áreas da África e do Mediterrâneo possam se tornar mais adequadas para transmissão da malária devido as condições climáticas futuras, contudo, é necessário considerar fatores socioeconômicos, mudanças no padrão de uso do solo, crescimento populacional, urbanização, mudanças na migração e o desenvolvimento econômico (Blanford *et al.*, 2013; Caminade *et al.*, 2014; Paaijmans; Cator; Thomas, 2013).

O potencial acréscimo na propagação do mosquito vetor da malária deve-se à melhor adequação das espécies as novas condições climáticas, o que facilita o aumento da distribuição geográfica dos vetores e da doença, estações de transmissão mais longas e expansão da doença principalmente em zonas temperadas, particularmente sob maior condição de emissão de gases do efeito estufa. É importante considerar, no contexto das CC e da epidemiologia da malária, que o desenvolvimento do parasito e transmissão é multifatorial

e complexo, e envolve vetores e parasitos com biologia e ecologia diferenciais (Paaijmans *et al.*, 2010; Pascual *et al.*, 2006).

Alterações climáticas influenciam a sobrevivência e a história de vida das espécies de *Anopheles* de diferentes maneiras (Hay *et al.*, 2010). As CC caracterizadas principalmente pelo aumento das temperaturas médias, podem reduzir a longevidade, voo, taxas de sobrevivência, tamanho dos adultos e eficácia dos inseticidas em anofelinos vetores e de forma contraditória aumentar as taxas de fecundidade, probabilidades de acasalamento, sangue ingerido no repasto, busca pelo hospedeiro e taxas de picada. Ademais, aumentos na temperatura são responsáveis por promover redução do tempo de desenvolvimento esporogônico do *Plasmodium* (Miller *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2006a; Patz *et al.*, 2000).

Conhecer como as CC impactam no ciclo de vida e ecologia de distintos vetores da malária é importante, já que pode fornecer evidências para intervenções futuras na epidemiologia e distribuição da malária (Lyons; Coetzee; Chown, 2013) e a magnitude da dependência da dinâmica populacional de vetores e CC permanecem incertos (Craig; Le Sueur; Snow, 1999; Lafferty D, 2009; Sutherst, 2004). Além disto, as informações obtidas principalmente em condições laboratoriais podem facilitar a construção de modelos baseados em processos de risco da malária e o desenvolvimento de sistemas de alerta precoce para epidemias (Bayoh; Lindsay, 2004; Christiansen-Jucht *et al.*, 2015). Até então, poucos trabalhos têm concentrados esforços para avaliar todas as condições de vida do mosquito (formas imaturas e maduras) de uma mesma espécie e das condições prospectadas pelo IPCC em condições simuladas. Além disto, a maior parte dos estudos realizados que avaliam o efeito de condições ambientais, em especial das temperaturas, são feitas para vetores Africanos. Neste trabalho avaliou-se como efeitos dos cenários climáticos futuros prospectados pelo 5º Relatório do IPCC (AR5) pode interferir no fitness reprodutivo e na sobrevivência de *Anopheles aquasalis*, um importante vetor da malária na América Latina.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes de *Anopheles aquasalis* entre o primeiro e o segundo estágio larvar foram obtidas da colônia bem estabelecida na Unidade de Pesquisa Nelson Ferreira Fé da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus-Amazonas. A colônia é a 24–26 ° C e umidade relativa de 70–80% em um ciclo claro-escuro de 12:12h. Fêmeas adultas, ingurgitadas após repasto sanguíneo em camundongo foram colocadas em

postura forçada entre 2 a 3 dias. As larvas obtidas após a eclosão dos ovos eram mantidas em temperatura ambiente em água contendo sal na concentração final de 2g/L, e alimentadas uma ração para peixes TetraMin® (Madison, Wisconsin, EUA) foi fornecida diariamente. As larvas foram deixadas em fase de pupa e se tornaram adultas em uma gaiola fechada coberta de malha com água fornecida e alimentadas ad libitum por sete dias, até novo repasto e nova postura forçada (Pimenta *et al.*, 2015).

Aclimação em cenários climáticos experimentais

Cerca de 6.000 mil larvas entre o primeiro e o segundo estágio larvar foram aclimatadas em 4 cenários (1500.000 larvas por cenário) simulados conforme definição do IPCC- 5 no laboratório de Evolução e Eco fisiologia Molecular (LEEM) do Instituto Nacional de Pesquisa na Amazônia (INPA). A instalação experimental consiste em salas climáticas (microcosmos) de 25 m³ com condições de temperatura, luminosidade, umidade e concentração de CO₂ eletronicamente controladas a partir de sensores fixados a 40 metros atrás do LEEM na reserva florestal do INPA -3.097789, -59.986630. As informações coletadas pelos sensores são transmitidas em tempo real para as 4 salas cujas condições ambientais são ajustadas conforme parâmetros definidos pelo IPCC-5 (ref) e apresentam as seguintes características (i) Cenário RCP 4.5 (brando, +1,0 °C e +250 ppm CO₂ no cenário atual); (ii) Cenário RCP 6.0 (intermediário, +2,5 °C e +400 ppm CO₂ acima do cenário atual) e (iii) Cenário RCP 8.5 (extremo, +4,5 °C e +850 ppm CO₂ acima do cenário atual) (63,67–69) e iv) sala de controle (cenário atual) que reproduz as condições de temperatura e concentração de CO₂ presentes na floresta onde estão instalados os sensores. Um sistema proporcional integral derivado monitorava e ajustava os parâmetros ambientais a cada dois minutos em cada microcosmo baseado na sala de controle. Um grupo controle com condições de colonização previamente estabelecida foi considerado.

Avaliação do Fitness reprodutivo *An. aquasalis* nos diferentes cenários climáticos

Três grupos experimentais de três gerações consecutivas foram formados utilizando fêmeas separadas aleatoriamente e individualmente em recipientes plásticos cercados por papel de filtro úmido contendo 2% de solução salina imediatamente após a refeição sanguínea. Foram utilizadas vinte fêmeas totalmente penetráveis por teste, sendo cada fêmea considerada uma réplica para cada cenário analisado. As fêmeas receberam solução de sacarose a 10% ad libitum. O número de ovos postos por fêmea (fecundidade), o número de

ovos que produzem larvas (eclosão dos ovos) e o número de pupas que se desenvolveram a partir de larvas foram contados no terceiro, quinto e sétimo dia após a refeição de sangue. Ovos, larvas e pupas foram transferidos para novos recipientes após cada contagem para aguardar o próximo desenvolvimento.

Comparação da sobrevivência de mosquitos em diferentes condições climáticas simuladas

Foram utilizados um total 1.500 mosquitos, cada cenário recebeu 300 mosquitos. Três réplicas experimentais foram realizadas com três distintas gerações de acordo com os cenários climáticos a serem avaliados. Após a eclosão os mosquitos foram mantidos em recipiente de 0,5 l para observação da mortalidade. Os insetos mortos foram removidos diariamente até a finalização dos mosquitos nas gaiolas e os dados foram registrados.

Análise de dados

Todos os dados foram tabulados em planilhas do Microsoft Excel 2016®. Os programas utilizados foram a linguagem R no ambiente de desenvolvimento integrado (IDE)Rstudio. Para verificação de normalidade usou-se um Teste de shapiro-wilk, ANOVA foi utilizada para a distribuição paramétrica (Mortes de Mosquitos adultos ao longo dos dias) e Friedman test para a não paramétrica (Morte de larvas ao longo dos dias), avaliando a possibilidade de diferenças entre as triplicatas. Considerando diferença estatística $p\text{-valor} < 0.05$. O número de indivíduos foram agrupados para análise de sobrevivência utilizando Kaplan Meier, e posteriormente usou-se uma regressão de Cox considerando o risco em relação ao cenário controle.

RESULTADOS

Para avaliação dos efeitos dos cenários climáticos futuros sobre o fitness reprodutivo do *Anopheles aquasalis* utilizou-se de três gerações em triplicata para os quatro cenários simulados utilizados no experimento, cada cenário continha triplicatas, e usando a Anova com medidas de repetição verificou-se que não há diferença significativa entre as triplicatas técnicas para os adultos, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Análise de Anova com medidas repetidas para avaliação da existência de diferença entre as triplicatas técnicas, adulto.

Cenário	Geração	DFn	DFd	ges	P- Valor
1	1	2	28	1.14e-32	1
	2	2	28	1.05e-32	1
	3	1.44	20.2	0	1
2	1	2	28	1.45e32	1
	2	2	28	0.000392	0.92
	3	2	28	3.48e-32	1
3	1	2	28	1.16e-32	1
	2	2	28	0	1
	3	2	28	6.92e32	1
4	1	1.25	17.4	1.12e32	1
	2	1.06	17.4	0	1
	3	2	28	0	1

Utilizando a curva de Kaplan-Meier verificou-se que não houve diferença significativa entre os cenários na taxa de sobrevivência dos adultos na geração 1, 2 e 3 ($P > 0,71$) ($P > 0,41$) ($P > 0,66$) respectivamente, mostrando que o tempo e morte de todos foram iguais, conforme a Figura 1, também foi realizado uma análise de regressão de Cox Tabela 2 usando o cenário controle como base, constatando -se que a temperatura e a umidade relativa tiveram relação com a taxa de sobrevivência da G1 no RCP 4.5 ($P < 0.001$). Na G2 verificou-se que a temperatura e a densidade de CO2 influenciaram na taxa de sobrevivência dos cenários RCP 4.5 ($P < 0.001$), RCP 6.0 ($P < 0.001$) e RCP 8.5 ($P < 0.001$) conforme Tabela 3. Já na G3 os parâmetros de temperatura, umidade e CO2 tiveram relação na taxa de sobrevivência desta geração nos três cenários Tabela 4. Observa-se que entre os cenários não houve diferença significativa, porém quando se compara os cenários com o cenário controle, os ajustes dos parâmetros ambientais apresentam diferenças estatísticas e fator de risco para sobrevivência dos adultos.

Figura 1 – Curva de sobrevivência dos adultos Geração 1

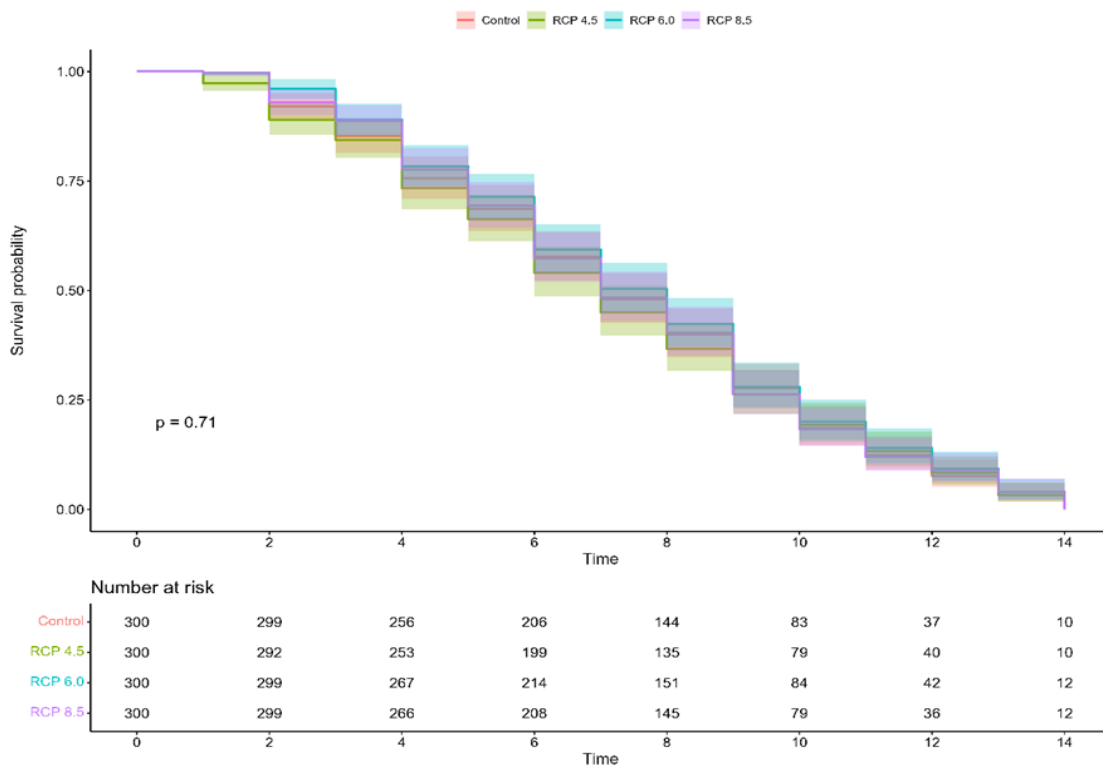


Tabela 2 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência adultos G1.

Surv (DIA, MORT_TOTAL)				
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	
Intercept	1.04	1.03 – 1.04	< 0.001	
RCP 4.5	1	1.00 – 1.00	0.001	
RCP 6.0	1	1.00 – 1.00	0.112	
RCP 8.5	1	1.00 – 1.00	0.116	
Temperatura	1	1.00 – 1.00	< 0.001	
Umidade	1	1.00 – 1.00	< 0.001	
CO2	1	1.00 – 1.00	0.244	
Observations	1200			

Figura 2 – Curva de sobrevivência dos adultos Geração 2

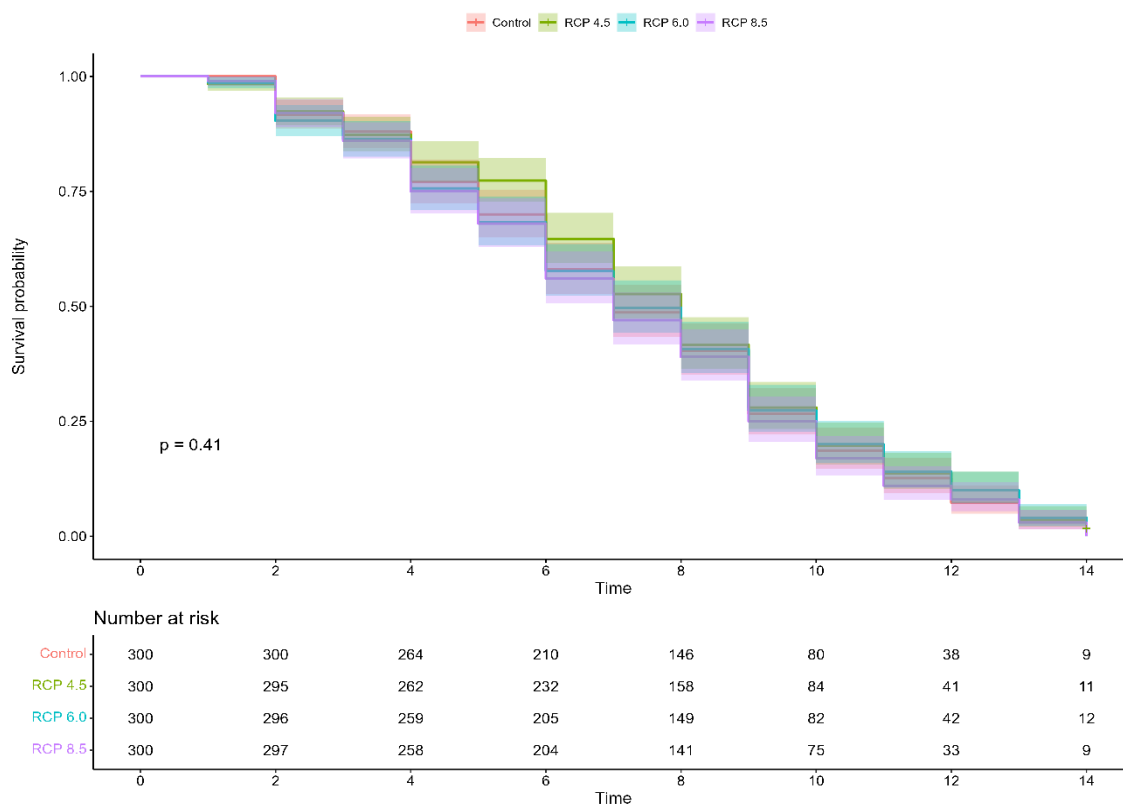


Tabela 3 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência adultos G2.

Surv (DIA, MORT_TOTAL)				
<i>Predictors</i>		<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
Intercept		1	1.00 – 1.01	0.134
RCP 4.5		1.01	1.01 – 1.01	<0.001
RCP 6.0		1.02	1.02 – 1.02	<0.001
RCP 8.5		1.04	1.03 – 1.04	<0.001
Temperatura		1	1.00 – 1.00	<0.001
Umidade		1	1.00 – 1.00	0.045
CO2		1	1.00 – 1.00	<0.001
Observations		1200		

Figura 3 – Curva de sobrevivência dos adultos Geração 3

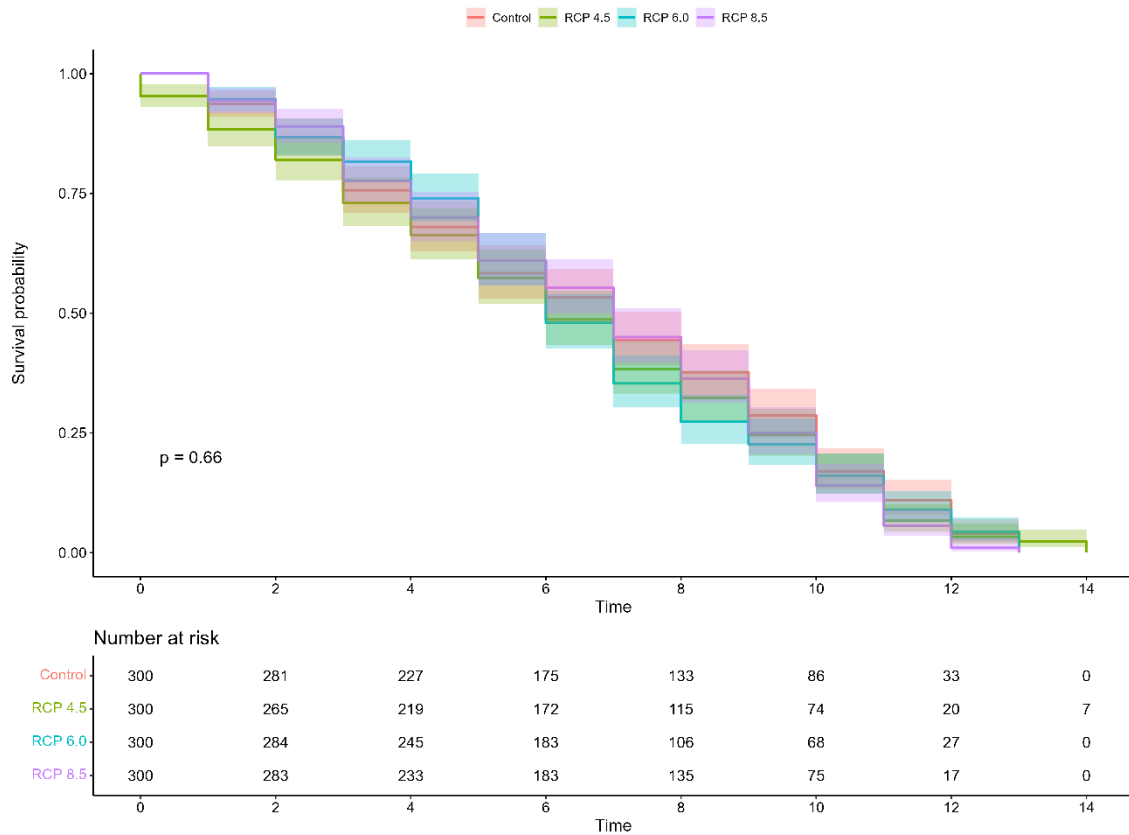


Tabela 4 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência adultos G3.

Surv (DIA, MORT_TOTAL)			
Predictors	Estimates	CI	p
Intercept	0.99	0.99 – 1.00	0.002
RCP 4.5	1.01	1.01 – 1.01	<0.001
RCP 6.0	1.02	1.01 – 1.02	<0.001
RCP 8.5	1.03	1.03 – 1.04	<0.001
Temperatura	1	1.00 – 1.00	<0.001
Umidade	1	1.00 – 1.00	<0.001
CO2	1	1.00 – 1.00	<0.001
Observations	1186		

O teste não paramétrico Friedman foi realizado para avaliar a coerência das triplicatas em estágios larvais, os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as triplicatas das larvas conforme Tabela 5.

Tabela 5 – Friedman test com medidas repetidas para avaliação da existência de diferença entre as triplicatas técnicas, Larva.

Cenário	Geração	Friedman test
1	1	Friedman chi-squared = 4.6667, df = 2, p-value = 0.09697
	2	Friedman chi-squared = 0.93333, df = 2, p-value = 0.6271
	3	Friedman chi-squared = 0.21622, df = 2, p-value = 0.8975
2	1	Friedman chi-squared = 5.3529, df = 2, p-value = 0.06881
	2	Friedman chi-squared = 0.56, df = 2, p-value = 0.7558
	3	Friedman chi-squared = 2.1081, df = 2, p-value = 0.3485
3	1	Friedman chi-squared = 0.43902, df = 2, p-value = 0.8029
	2	Friedman chi-squared = 0.94118, df = 2, p-value = 0.6246
	3	Friedman chi-squared = 0.66667, df = 2, p-value = 0.7165
4	1	Friedman chi-squared = 5.2667, df = 2, p-value = 0.07184
	2	Friedman chi-squared = 0.22222, df = 2, p-value = 0.8948
	3	Friedman chi-squared = 6, df = 2, p-value = 0.05

Através do teste de Kaplan-Meier verificou-se que para a taxa de sobrevivência das larvas houve diferença significativa entre os cenários Figura 4, Figura 5, Figura 6 e em todas as gerações G1 ($P < 0.001$), G2 ($P < 0.001$) e G3 ($P < 0.001$) mostrando que as larvas no cenário RCP 8.5 têm um curto período de vida maior mortalidade. A análise de regressão de Cox Tabelas 6, Tabela 7 e Tabela 8, mostrou que a temperatura e o CO₂ influenciaram a taxa de sobrevivência das larvas no cenário RCP 6.0 e RCP 8.5 na G1. Na G2 estes mesmos parâmetros influenciaram a sobrevivência nos três cenários. Já na G3 os três parâmetros influenciaram a sobrevivência das larvas nos cenários RCP 6.0 e RCP 8.5.

Figura 4 – Curva de sobrevivência larval geração 1

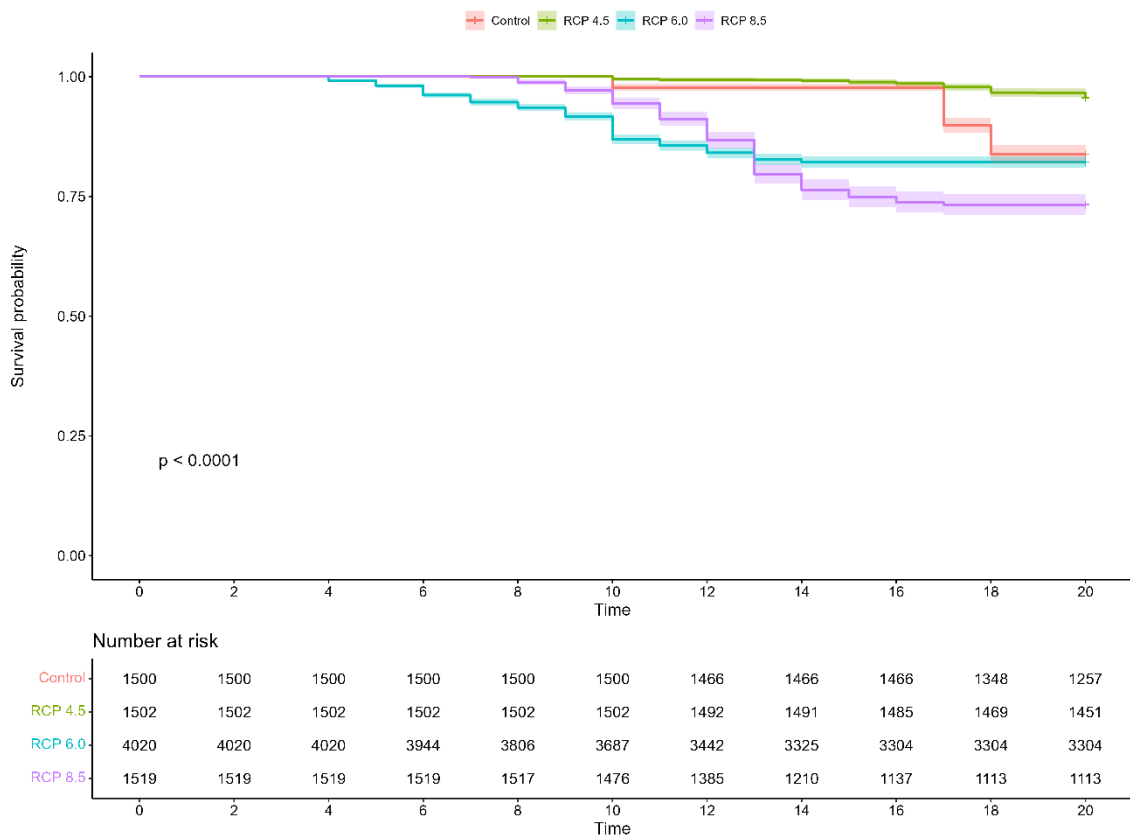


Tabela 6 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência larval geração 1.

Surv (DIA, LARVAS_MORTAS)			
Predictors	Estimates	CI	P
Intercept	1.02	1.02 – 1.02	<0.001
RCP 4.5	1	1.00 – 1.00	0.054
RCP 6.0	1	1.00 – 1.00	<0.001
RCP 8.5	1	1.00 – 1.00	<0.001
Temperatura	1	1.00 – 1.00	<0.001
Umidade	1	1.00 – 1.00	0.197
CO2	1	1.00 – 1.00	<0.001
Observations	1415		

Figura 5 – Curva de sobrevivência larval geração 2

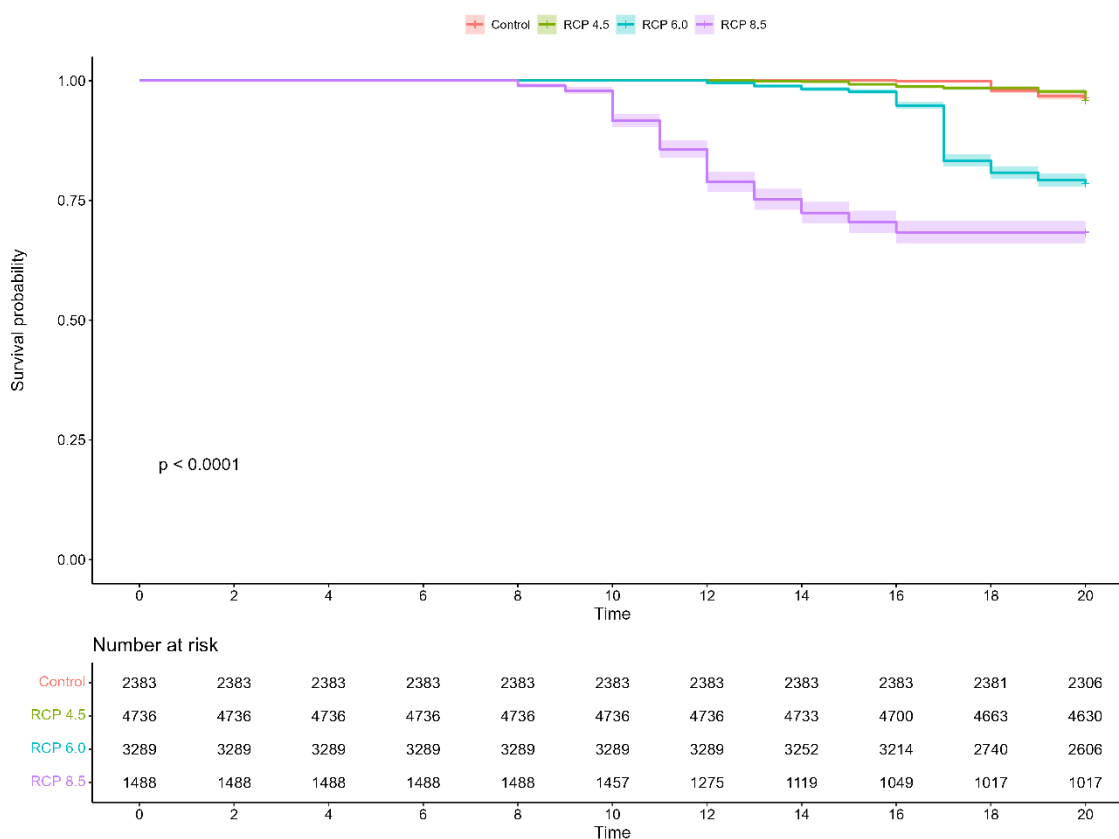


Tabela 7 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência das larvas geração 2.

Surv (DIA, LARVAS_MORTAS)			
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>P</i>
Intercept	1.04	1.03 – 1.05	<0.001
RCP 4.5	1	1.00 – 1.00	<0.001
RCP 6.0	1	1.00 – 1.00	<0.001
RCP 8.5	1.01	1.00 – 1.01	<0.001
Temperatura	1	1.00 – 1.00	<0.001
Umidade	1	1.00 – 1.00	0.014
CO2	1	1.00 – 1.00	<0.001
Observations	1225		

Figura 6 – Curva de sobrevivência larval geração 3

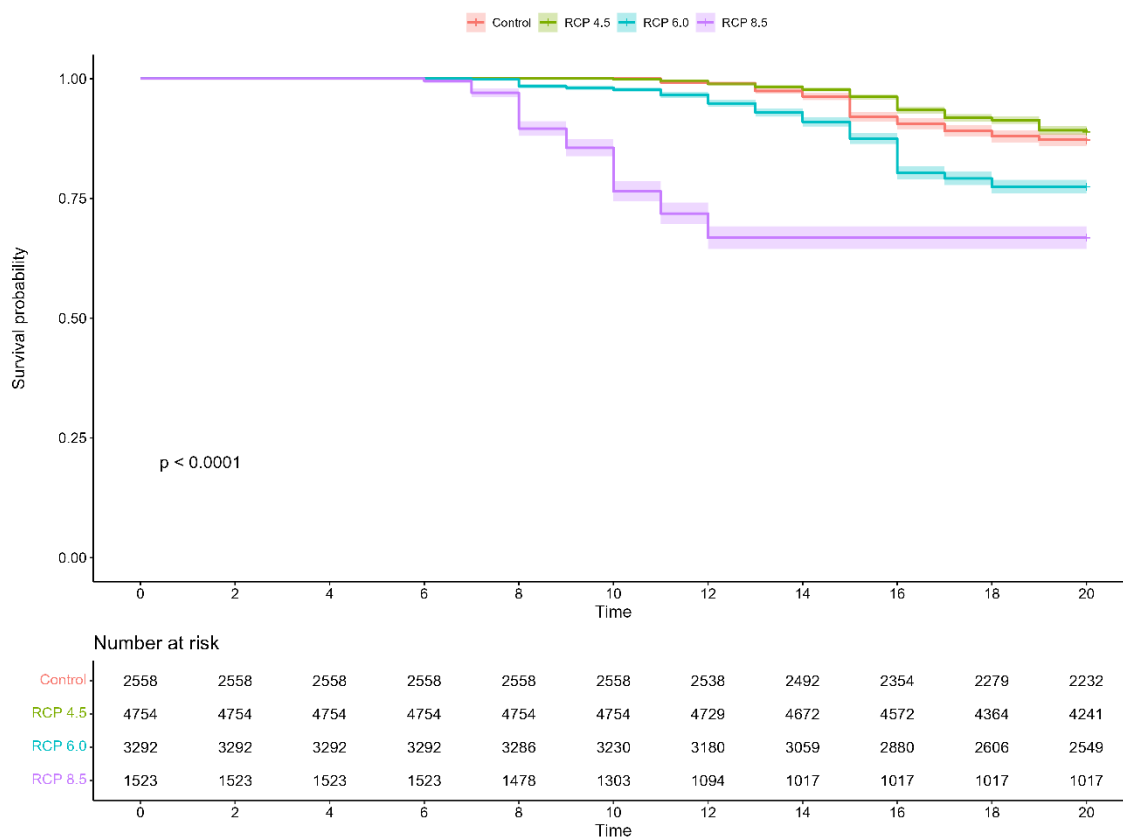


Tabela 8 – Regressão de Cox relação dos parâmetros ambientais na sobrevivência das larvas geração 3.

Surv (DIA, LARVAS_MORTAS)			
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>P</i>
Intercept	0.99	0.99 – 1.00	0.001
RCP 4.5	1.00	1.00 – 1.00	0.843
RCP 6.0	0.99	0.99 – 0.99	<0.001
RCP 8.5	1.00	1.00 – 1.00	0.001
Temperatura	1.00	1.00 – 1.00	<0.001
Umidade	1.00	1.00 – 1.00	<0.001
CO2	1.00	1.00 – 1.00	<0.001
Observations	1968		

Os resultados da taxa média entre as triplicatas por gerações estão descritos na Tabela 9. Na Tabela 10 está a análise entre as gerações, onde observa-se diferenças significativas nas

médias de larvas vivas nos cenários RCP controle ($P < 0.000319$) e RCP 4.5 ($P < 0.000474$), nas médias de pupas nos mesmos cenários RCP controle ($P < 0.000111$) e RCP 4.5 ($P < 0.000126$), nas médias de sobrevivência dos indivíduos adultos RCP controle ($P < 0.000148$) e RCP 4.5 ($P < 0.000144$). já nas médias de taxa de fecundidade observou-se diferença significativa entre as gerações nos cenários RCP controle ($P < 0.0158$) e RCP 6.0 ($P < 0.0236$).

A Tabela 11 e Figura 7 apresenta os resultados das taxas médias entre os cenários onde a maior média de larvas vivas e desvio padrão encontrou-se no cenário RCP 6.0 - 1299 (246.96), de pupas no mesmo cenário 1055 (235), de adultos no cenário RCP 4.5 - 993 (434.07) e fecundidade no mesmo cenário RCP 4.5 -113 (13.36). Não houve diferenças estatísticas na análise entre os cenários conforme Tabela 12 e Figura 8.

Em relação as médias dos parâmetros ambientais verificaram-se que há diferença significativas entre os cenários conforme Figura 9, Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 e Figura 14.

Tabela 9 – Taxa média das triplicatas entre as gerações.

Cenários	Geração	Média na entrada de Adultos (DP)	Média de larvas vivas (DP)	Média de pulpas Totais (DP)	Média de Adultos (DP)	Fecundidade (DP)
1	1	10 (0)	500 (0)	353 (19.14)	336 (18.52)	111 (4.58)
	2	100 (0)	794 (82.5)	701 (76.43)	674 (72.06)	112 (11)
	3	100 (0)	1060 (102.32)	908 (75.57)	876 (83.26)	83 (11.15)
2	1	100 (0)	501 (1.15)	443 (32.19)	433 (30.09)	106 (7.55)
	2	100 (0)	1579 (153.5)	1374 (98.51)	1329 (99.03)	127 (12.01)
	3	100 (0)	1469 (256.42)	1258 (173.3)	1216 (169.81)	106 (9.61)
3	1	100 (0)	1340 (0)	1101 (80.79)	1012 (58.29)	103 (8.02)
	2	100 (0)	1096 (145.45)	850 (113.99)	753 (83.51)	84 (7)
	3	100 (0)	1461 (345.16)	1214 (311.69)	1131 (310.67)	78 (9.2)
4	1	100 (0)	506 (3.51)	371 (35.55)	329 (44.61)	66 (20.81)
	2	100 (0)	496 (39.34)	339 (23.58)	270 (50.77)	70 (23.46)
	3	100 (0)	516 (60.83)	347 (26.16)	252 (23.71)	41 (5)

Tabela 10 – Análise entre as gerações*.

Média de larvas vivas (DP)						
Cenários	Geração	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
1	1,2,3	2	471362	235681	40.93	0.000319
2	1,2,3	2	2112353	1056176	35.48	0.000474
3	1,2,3	2	207320	103660	2.217	0.19
4	1,2,3	2	600	300.1	0.171	0.847
Média de pulpas Totais (DP)						
Cenários	Geração	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
1	1,2,3	2	471791	235895	59.38	0.000111
2	1,2,3	2	1544211	772105	56.81	0.000126
3	1,2,3	2	208451	104225	2.68	0.147
4	1,2,3	2	1654	826.8	0.99	0.425
Média de Adultos (DP)						
Cenários	Geração	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
1	1,2,3	2	446063	223031	53.67	0.000148
2	1,2,3	2	1428228	714114	54.17	0.000144
3	1,2,3	2	223278	111639	3.133	0.117
4	1,2,3	2	9235	4617	2.608	0.153
Fecundidade (DP)						
Cenários	Geração	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
1	1,2,3	2	1588.2	794.1	8.945	0.0158
2	1,2,3	2	840.7	420.3	4.294	0.0696
3	1,2,3	2	984.7	492.4	7.461	0.0236
4	1,2,3	2	1504	752.1	2.238	0.188

*Test de ANOVA

Tabela 11 – Taxa média entre os cenários

Cenários	Média na entrada de Adultos (DP)	Média de larvas vivas (DP)	Média de pulpas Totais (DP)	Média de Adultos (DP)	Fecundidade (DP)
1	100 (0)	785 (251.47)	654 (248.9)	628 (242.64)	102 (16.28)
2	100 (0)	1183 (535.14)	1025 (450.8)	993 (434.07)	113 (13.36)
3	100 (0)	1299 (246.96)	1055 (235)	965 (233.73)	88 (13.14)
4	100 (0)	506 (37.28)	352 (28.86)	284 (49.93)	59 (20.98)

Tabela 12 – Análise entre os cenários*.

Cenários	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Média de larvas vivas (DP)	1	850111	850111	2.492	0.122
Média de pulpas Totais (DP)	1	1117119	1117119	3.428	0.071
Média de Adultos (DP)	1	1119349	1119349	3.343	0.0744
Fecundidade (DP)	1	179	179.2	0.191	0.664

*Test de ANOVA

Figura 7 – Análise entre as gerações

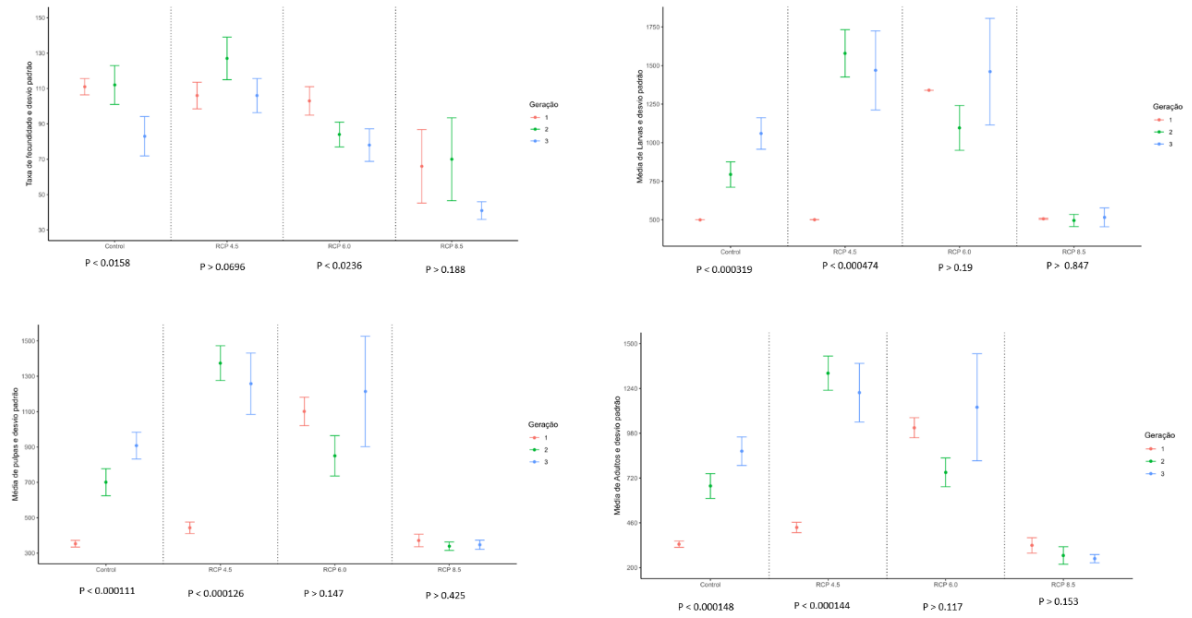


Figura 8 – Análise entre os cenários

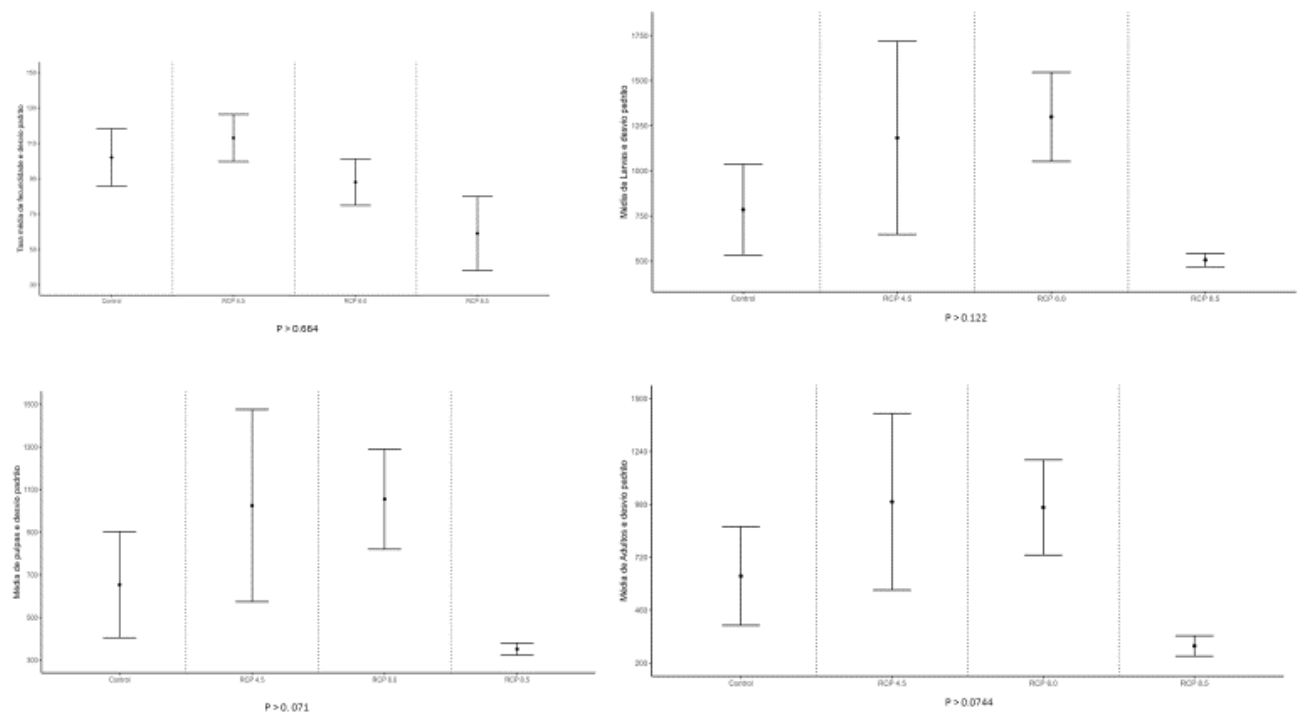


Figura 9 – Parâmetros ambientais geração 1

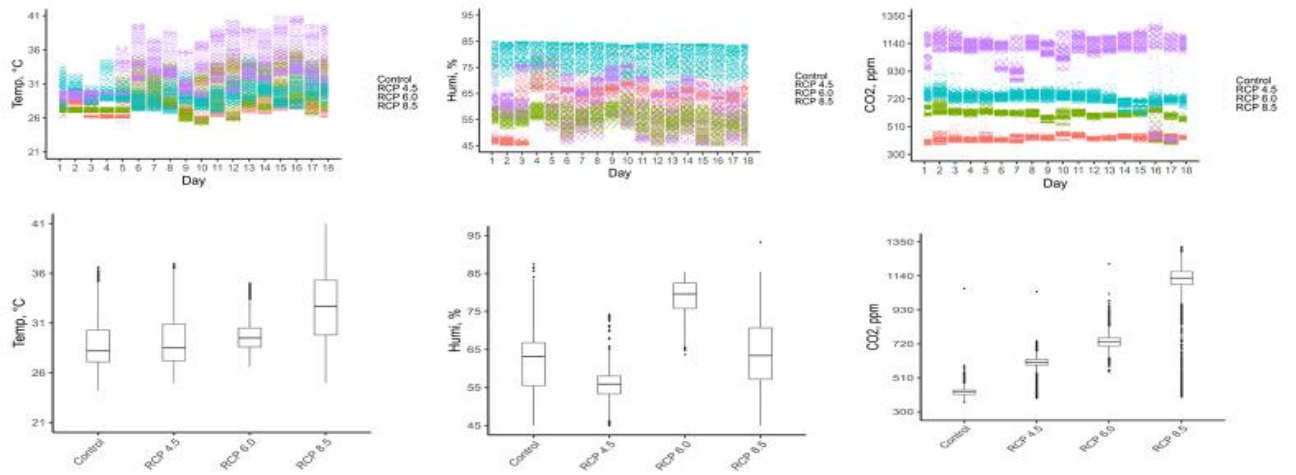


Figura 10 – Variáveis ambientais geração 1

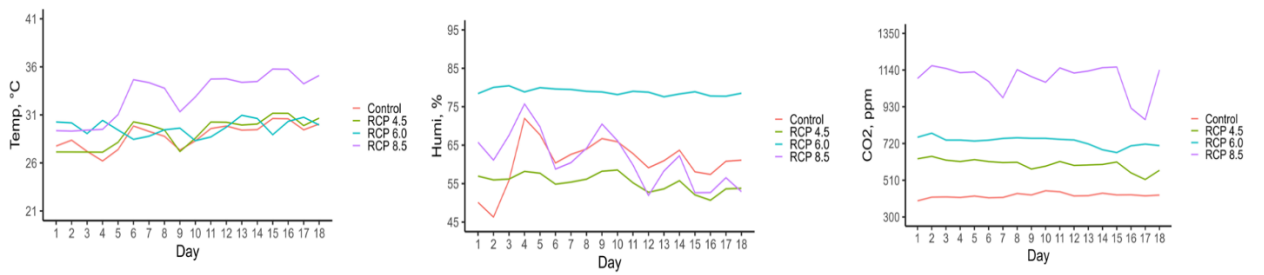


Figura 11 – Parâmetros ambientais geração 2

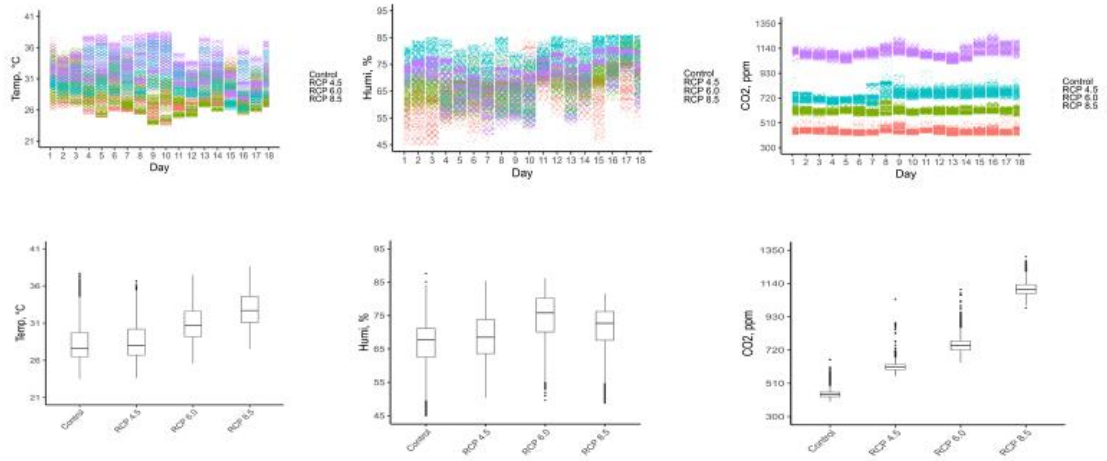


Figura 12 – Variáveis ambientais geração 2

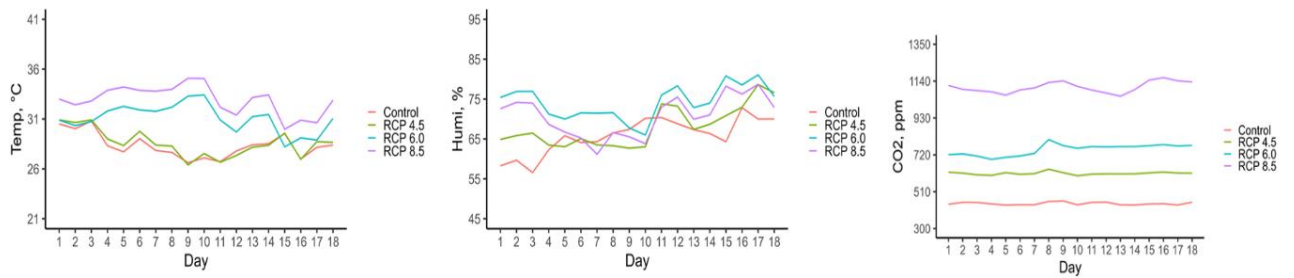


Figura 13 – Parâmetros ambientais geração 3

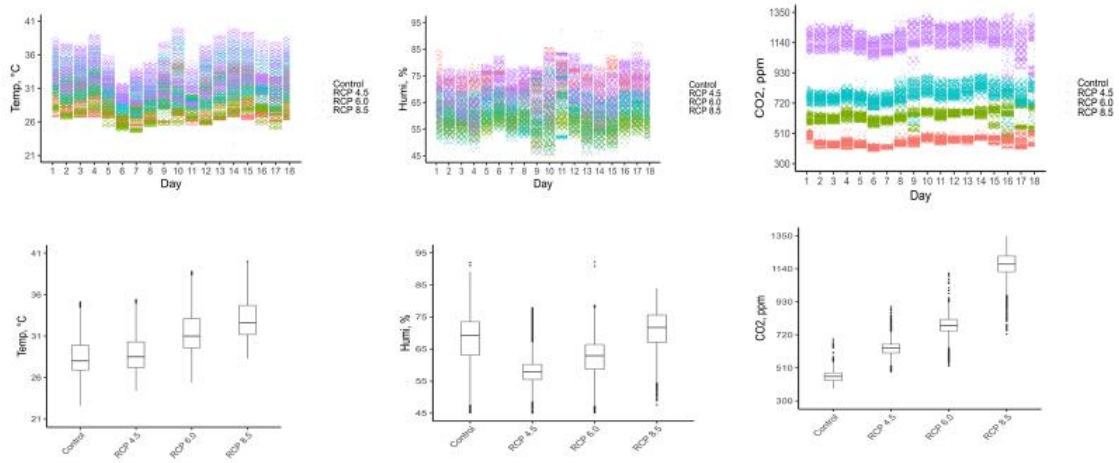
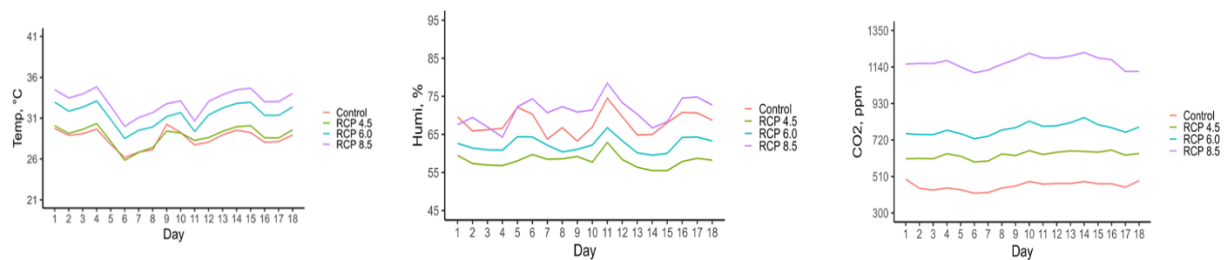


Figura 14 – Variáveis ambientais geração 2.



DISCUSSÃO

Esse desenho experimental levou em consideração flutuações de temperatura, umidade e CO₂ no fitness reprodutivo de *Anopheles aquasalis* e na sobrevivência dos mosquitos em condições de climáticas simuladas. Uma vez que mudanças climáticas, em especial a elevação da temperatura, tende a causar mudanças na morfologia, como no fitness reprodutivo dos insetos vetores alterando sua biologia, o que pode resultar em maior capacidade de transmitir doenças (Chu *et al.*, 2020).

Em um estudo de dinâmica populacional dos insetos, tanto a taxa de desenvolvimento quanto a supervivência até a fase adulta podem impactar as futuras gerações das populações dos mosquitos (Kirby; Lindsay, 2009). Neste trabalho mosquitos foram criados até a terceira

geração, o qual mostrou que tanto a taxa de desenvolvimento quanto a sobrevivência dos mosquitos adultos não foram afetadas quando feitas análises os cenários, no entanto verificou-se diferenças significativas quando realizada análise entre gerações. Distintos estudos evidenciaram que fatores como temperatura, precipitação, umidade, densidade de mosquitos, diversidade genética e capacidade de encontrar uma refeição sanguínea, alteram a sobrevivência do mosquito (Gilles *et al.*, 2011; Muriu *et al.*, 2013; Tchuinkam *et al.*, 2010). Este estudo corroborou com esta pesquisa, pois fatores como temperatura, umidade e CO₂ tiveram relação com as taxas de sobrevivência de todas as fases de desenvolvimento do mosquito.

Pesquisas laboratoriais sugerem que temperaturas acima de 28°C são fatores de risco que podem resultar em maior taxa de mortalidade dos insetos o que reduz a incidência de doenças transmitidas por eles, ou até mesmo a adaptação destes insetos a ambientes com mudanças no clima, dando seguimento a transmissão de parasitos (Chu *et al.*, 2020). Neste estudo, os cenários 3 e 4 apresentam temperaturas acima de 28°C que resultaram em maior número de mortos. Não se deve ignorar que os fatores climáticos desenvolvem um importante papel na sobrevivência dos mosquitos e na multiplicação dos parasitos nos vetores, pois em regiões mais frias, estudos relatam que tanto os mosquitos como parasitos desenvolveram estratégias de sobrevivência nos tempos de inverno e de seca (Meyer, 2001).

A influência dos Fatores como a temperatura e umidade são cruciais na transmissão da malária, pois estes são relevantes para o desenvolvimento, sobrevivência tanto dos vetores quanto do parasita (Miller *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2006b; Patz; Olson, 2006). Neste estudo experimental observou-se que na geração 1, os parâmetros ambientais como a temperatura e umidade tiveram influência na taxa de sobrevivência dos adultos no cenário chamado de RCP 4.5, na G2 foram a temperatura e densidade de CO₂, já na geração 3, a temperatura, umidade e CO₂ tiveram relação com a sobrevivência, o que demonstra que esses fatores são de grande importância na sobrevivência dos mosquitos adultos.

O ciclo de vida do mosquito é interdependente; assim, as condições ambientais e as características individuais em uma fase da vida afetam as outras fases da vida. Estudos demonstram que em regiões com alta temperatura a fase larval dos anofelinos é mais rápida, além disso, as fêmeas fazem seu repasto sanguíneo com maior frequência o que é conveniente para a fecundidade (Cella *et al.* 2019). Neste experimento nos cenários 3 e 4, que são de alta temperatura não se observou que diminuição no tempo de desenvolvimento larval. Outros estudos relataram que o aumento da temperatura também reduziu o desenvolvimento dos

estágios imaturos (Oliver; Brooke, 2017; Phasomkusolsil, 2011). Larvas de *An. dirus* e *An. sawadwongporni* criadas a 30 °C apresentaram um tempo de desenvolvimento significativamente menor (aproximadamente 7–8 dias) do que aquelas criadas a 23 °C (12–14 dias) ($p < 0,05$) (Phasomkusolsil, 2011).

Altas temperaturas foram cruciais na diminuição do tempo de desenvolvimento larval de *An. Gambiae* e aumento da mortalidade larval, e em temperaturas com intervalos variados (Bayoh; Lindsay, 2004; Christiansen-Jucht *et al.*, 2014). Este estudo apresentou resultados significativos quanto a sobrevivência das larvas de *Anopheles aquasalis* em ambientes simulados prospectados pelo AR5 do painel intergovernamental, e os parâmetros ambientais como temperatura, Umidade e CO2 tiveram relação com a taxa de sobrevivência.

Estágios imaturos de *An. arabiensis* foram mais tolerantes (em termos de sobrevivência) a temperaturas mais elevadas que *An. funestus* e *An. quadrianulato*. Temperaturas mais altas resultaram em larvas menores e diminuíram o tempo de eclosão e pupação (Agyekum *et al.*, 2021). O tempo de eclosão foi diminuído com o aumento da temperatura, porém não interferiu na taxa de eclosão dos ovos de *Anopheles* (Mamai *et al.*, 2018). Este estudo não apresentou menor tempo de eclosão em nenhum dos cenários simulados. Estudos mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a taxa média de eclosão dos ovos de *An. dirus* e *An. sawadwongporni* criados a 23 °C e 30 °C (Phasomkusolsil *et al.*, 2011). Não houve diferença significativa na taxa de fecundidade de *An. aquasalis* ($p > 0,664$) neste trabalho em nenhum dos cenários experimentais.

Christiansen-jucht *et al.*, 2014 demonstraram que a temperatura ambiental afeta a sobrevivência de *An. gambiae* tanto durante seu estágio imaturo de desenvolvimento quanto durante sua vida adulta. Esses autores mostraram que houve uma diminuição estatística significativa na sobrevivência larval e do adulto a cada aumento de 4° C na temperatura ambiente, aspecto que já havia sido evidenciado em outros trabalhos prévios (Armstrong; Bransby-Williams, 1961; Bayoh; Lindsay, 2004; Kirby; Lindsay, 2009). A taxa de desenvolvimento pupar e eclosão de ovos, neste estudo, não apresentou diferença significativa entre os cenários, o que indica que os cenários climáticos simulados não tiveram relação com a taxa de eclosão de ovos e o desenvolvimento das pupas. A limitação desse estudo se dá no fato de que não se utilizou para avaliar a longevidade, fêmeas alimentadas com sangue para mimetizar as condições ambientais.

CONCLUSÃO

Mudanças climáticas previstas pelo quinto relatório AR5 do Painel Intergovernamental Sobre Mudanças Climáticas (IPCC) em condições experimentais não alteram a sobrevivência, fecundidade, desenvolvimento larval e pupar dos mosquitos *An. aquasalis* importante vetor da malária. Embora as análises comparativas entre gerações entre as gerações mostrassem que os parâmetros ambientais têm relação na taxa de sobrevivência das larvas.

REFERÊNCIAS

AGYEKUM, T. P. *et al.* A systematic review of the effects of temperature on *Anopheles* mosquito development and survival: Implications for malaria control in a future warmer climate. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 14, p. 1–22, 2021.

ARMSTRONG, J. A.; BRANSBY-WILLIAMS, W. R. The maintenance of a colony of *Anopheles gambiae*, with observations on the effects of changes in temperature. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 24, p. 427–435, 1961.

AYTEKIN, S.; AYTEKIN, A. M.; ALTEN, B. Effect of different larval rearing temperatures on the productivity (RO) and morphology of the malaria vector *Anopheles superpictus* Grassi (Diptera: Culicida). **Journal of Vector Ecology**, v. 34, n. 1, p. 32–42, 2009.

BARCELLOS, C. *et al.* Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 3, p. 285–304, 2009.

BARREAUX, A. M. G. *et al.* The relationship between size and longevity of the malaria vector *Anopheles gambiae* (s.s.) depends on the larval environment. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2018.

BAYOH, M. N.; LINDSAY, S. W. Effect of temperature on the development of the aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 93, n. 5, p. 375–381, 2003.

BAYOH, M. N.; LINDSAY, S. W. Temperature-related duration of aquatic stages of the Afrotropical malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* in the laboratory. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 2, p. 174–179, 2004.

BLANFORD, J. I. *et al.* Implications of temperature variation for malaria parasite development across Africa. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1–11, 2013.

BUENO-MARÍ, R.; JIMÉNEZ-PEYDRÓ, R. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 4 JUN, n. 1, p. 136–173, 2013.

CAMINADE, C. *et al.* Impact of climate change on global malaria distribution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 9, p. 3286–3291, 2014.

CHRISTIANSEN-JUCHT, C. *et al.* Temperature during larval development and adult maintenance influences the survival of *Anopheles gambiae* s.s. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2014.

CHRISTIANSEN-JUCHT, C. D. *et al.* Larval and adult environmental temperatures influence the adult reproductive traits of *Anopheles gambiae* s.s. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2015.

CHU, V. M. *et al.* Evidence for family-level variation of phenotypic traits in response to temperature of Brazilian *Nyssorhynchus darlingi*. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2020.

CRAIG, M.; LE SUEUR, D.; SNOW, B. A climate-based distribution model of malaria transmission in sub-Saharan Africa. **Parasitology Today**, v. 15, n. 3, p. 105–111, 1999.

DEPINAY, J. M. O. *et al.* A simulation model of African *Anopheles* ecology and population dynamics for the analysis of malaria transmission. **Malaria Journal**, v. 3, p. 1–21, 2004.

ESTRADA, F.; PERRON, P.; YAMAMOTO, Y. Anthropogenic influence on extremes and risk hotspots. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2023.

GILLES, J. R. L. *et al.* Density-dependent effects in experimental larval populations of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) can be negative, neutral, or overcompensatory depending on density and diet levels. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 296–304, 2011.

HAY, S.I. *et al.* Developing global maps of the dominant *Anopheles* vectors of human malaria. **PLoS Medicine**, v. 7, n. 2, p. 1–6, 2010.

HEMINGWAY, J. *et al.* Tools and strategies for malaria control and elimination: What do we need to achieve a grand convergence in malaria? **PLoS Biology**, v. 14, n. 3, p. 1–14, 2016.

KIRBY, M. J.; LINDSAY, S. W. Responses of adult mosquitoes of two sibling species, *Anopheles arabiensis* and *A. gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae), to high temperatures. **Bulletin of Entomological Research**, v. 94, n. 5, p. 441–448, 2004.

KIRBY, M. J.; LINDSAY, S. W. Effect of temperature and inter-specific competition on the development and survival of *Anopheles gambiae* sensu stricto and *An. arabiensis* larvae. **Acta Tropica**, v. 109, n. 2, p. 118–123, 2009.

LAFFERTY, D. K. The ecology of climate change and infectious diseases. **Ecology**, v. 90, n. 4, p. 888–900, 2009.

LYIMO, E. O.; TAKKEN, W.; KOELLA, J. C. Effect of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 63, n. 3, p. 265–271, 1992.

LYONS, C. L.; COETZEE, M.; CHOWN, S. L. Stable and fluctuating temperature effects on the development rate and survival of two malaria vectors, *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus*. **Parasites and Vectors**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2013.

MAMAI, W. *et al.* Optimization of mass-rearing methods for *Anopheles arabiensis* larval stages: Effects of rearing water temperature and larval density on mosquito life-history traits. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 5, p. 2383–2390, 2018.

MEYER, R. P. Estimativa da capacidade vetorial: incubação extrínseca de patógenos e competência vetorial. **Touro**. 161, 2001.

MILLER, L. H. *et al.* The pathogenic basis of malaria. **Nature**, v. 415, n. 6872, p. 673–679, 2002.

MUNGA, S. *et al.* Survivorship of immature stages of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in natural habitats in western Kenya highlands. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, n. 5, p. 758–764, 2007.

MURIU, S. M. *et al.* Larval density dependence in *Anopheles gambiae* s.s., the major African vector of malaria. **Journal of Animal Ecology**, v. 82, n. 1, p. 166–174, 2013.

NAGY, G. J. *et al.* Desarrollo de la capacidad de evaluación de la vulnerabilidad costera al Cambio Climático: Zona Oeste de Montevideo como caso de estudio. **El Cambio climático en el Río de la Plata**, p. 173–180, 2005.

OLIVER, S. V.; BROOKE, B. D. The effect of elevated temperatures on the life history and insecticide resistance phenotype of the major malaria vector *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). **Malaria journal**, v. 16, p. 1-13, 2017.

PAAIJMANS, K. P. *et al.* Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. **Global Change Biology**, v. 19, n. 8, p. 2373–2380, 2013.

PAAIJMANS, K. P.; CATOR, L. J.; THOMAS, M. B. Temperature-Dependent Pre-Bloodmeal Period and Temperature-Driven Asynchrony between Parasite Development and Mosquito Biting Rate Reduce Malaria Transmission Intensity. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. 1–7, 2013.

PASCUAL, M. *et al.* Malaria resurgence in the East African highlands: Temperature trends revisited. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 15, p. 5829–5834, 2006a.

PASCUAL, M. *et al.* Malaria resurgence in the East African highlands: Temperature trends revisited. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 15, p. 5829–5834, 11 abr. 2006b.

PATZ, J. A. *et al.* Environmental Changes & Parasitic Diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12–13, p. 1395–1405, 2000.

PATZ, J. A.; OLSON, S. H. Risco e temperatura da malária: Influências das alterações climáticas globais e práticas locais de uso da terra. **Anais da Academia Nacional de Ciências**. 2006; 103 (15): 5635–5636. 10.1073/pnas.

PETRIC, D. *et al.* Dependence of CO₂-baited suction trap captures on temperature variations. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 11, n. 1, p. 6–10, 1995.

PHASOMKUSOLSIL, S. *et al.* Effect of temperature on laboratory reared *Anopheles dirus*

Peyton and Harrison and *Anopheles sawadwongporni* Rattanarithikul and Green. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 42, n. 1, p. 63, 2011.

PIMENTA, P. F. P. *et al.* An overview of malaria transmission from the perspective of amazon anopheles vectors. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 1, p. 23–47, 2015.

PIZZULLI, V. A.; TELESCA, V.; COVATARIU, G. Analysis of correlation between climate change and human health based on a machine learning approach. **Healthcare (Switzerland)**, v. 9, n. 1, 2021.

SEMENZA, J. C.; ROCKLÖV, J.; EBI, K. L. Climate Change and Cascading Risks from Infectious Disease. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 11, n. 4, p. 1371–1390, 2022.

SIRAJ, A. S. *et al.* Altitudinal changes in malaria incidence in highlands of Ethiopia and Colombia. **Science**, v. 343, n. 6175, p. 1154–1158, 2014.

SUN, Y. *et al.* Understanding human influence on climate change in China. **National Science Review**, v. 9, n. 3, 2022.

SUTHERST, R. W. AMB 2004 - Global changes ...vector-borne diseases. **Sutherst - Clin Microbiol Rev. pdf**. v. 17, n. 1, p. 136–173, 2004.

TCHUINKAM, T. *et al.* Bionomics of Anopheline species and malaria transmission dynamics along an altitudinal transect in Western Cameroon. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, 2010.

Experimental infection of *Anopheles aquasalis* with *Plasmodium vivax* in predicted climate changes

***Anopheles aquasalis* infection with *Plasmodium vivax* and Predicted climate changes**

Arineia Soares Silva (1,2)*, Rejane Lima Leda (2,3)*, Julia Melissa da Rocha Albuquerque (1,2), Andréia da Costa Paz (1,2), Victor Irungu Mwangi (1,2), Maria de Nazaré Paula da Silva (5), Rogério Pereira (5), Filemon Paolucci Pimenta (1,4), Marcus Lacerda (1,2,3), Gisely Cardoso Melo (1,2), Adalberto Luis Val (5), Alexandre Vilhena Silva-Neto (1,2), Djane Clarys Baía-da-Silva (1,2,3,6,7)#, Wuelton Marcelo Monteiro (2,3)#

1. Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
2. Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Amazonas, Brazil
3. Instituto Leônidas e Maria Deane, Fiocruz- Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
4. Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz-Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
5. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
6. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
7. Universidade Nilton Lins, Manaus, Amazonas, Brazil

*,# Authors contributed equally.

Corresponding author:

Wuelton Marcelo Monteiro

wueltonmm@gmail.com

Av. Pedro Teixeira, s/n - Dom Pedro, Manaus - AM, 69040-000

Abstract

Introduction: Increased international travel, globalization, and climate change are important and significant factors in the introduction, establishment, and spread of vector-borne pathogens such as the agents of arboviruses and malaria. The objective of this study was to estimate the impact of climate change, using three future scenarios predicted by the fifth report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), on mosquitos' survival and on *Plasmodium vivax* infection in *Anopheles aquasalis*, using the current scenario in the Brazilian Amazon as control. **Methods:** Mosquitoes were obtained from a well-established colony in the insectary and fed with infected patient blood samples containing *P. vivax*. Fully engorged female mosquitos were placed in the different scenario conditions and evaluated seven days after the infective blood meal for infection rates, and oocyst and infection intensities. **Results:** All experimental groups showed infected *P. vivax* mosquitos with different infection rates ($p=0.421$) and infection intensities ($p=0.68$), however, there were no statistical differences when comparing group against group. Infected mosquitos acclimatized in the scenarios (RCP 6.0 and RCP 8.5) had a lower probability of survival on the seventh day than those in the environment control and experimental control (colonization insectary conditions) in the infected (daily probability of survival: 18.6-6.5%, RCP 6.0 and RCP 8.5 respectively, $p>0.001$). As for the group of uninfected mosquitos, the lowest survival rates were observed in the most extreme scenarios RCP 4.5 and RCP 8.5 (daily probability of survival: 42-57.2%, RCP 4.5 and RCP 8.5 respectively, $p>0.001$). **Conclusion:** Climate changes predicted by the IPCC under experimental conditions do not change the rates and intensities of infection of *An. aquasalis* with *P. vivax*, although they have a significant impact on the survival of mosquitos, especially when infected and this interferes with the vector capacity of *A. aquasalis*' vector capacity to *P. vivax*.

Keywords: Climate changes, malaria, *Anopheles aquasalis*, Plasmodium infection, Intergovernmental Panel on Climate Change.

Introduction

Vector-borne diseases (VBD) represent an important public health and economic problem worldwide (1–3). The socioeconomic impacts caused by VBD further increase health inequalities and act as an important brake on socio-economic development (1). More than 80% of the global population is at risk of VBDs, especially arboviruses, and malaria (4). Climate change is thought to be an important factor in introducing, establishing, and disseminating VBDs (5,6). Climate change refers to long-term changes in weather conditions and patterns of extreme weather events that include rising temperatures, changes in geographic precipitation patterns, increased climate variability, and increased frequency and severity of extreme weather events, which are indirectly reflected in changes in the quality of water, air, food and consequent transmission and expansion of diseases (7–10).

Malaria is an infectious disease considered a major public health problem. In 2021, there were estimated 247 million cases of malaria in 84 malaria-endemic countries (11). The epidemiology of malaria is complex and multifocal and dependent on the ecology of the vectors, parasite biology, the resistance and immunities of both humans and mosquitos, but it is also highly impacted by abiotic factors such as temperature, precipitation, and humidity (12–19). Understanding the relationship between climate change and malaria is essential and needs to be carefully evaluated to predict transmission changes and future control measures (19–23). An increase in temperature has important effects both on anophelines, on *Plasmodium* sporogonial development, and on the effectiveness of insecticides directed to Anopheles control (19–27). Anophelines are poikilothermic and temperature variations are responsible for changing biting rates, blood digestion speed, gonotrophic cycle duration, fecundity, time of development of immatures and adults, survival, and susceptibility to insecticides (9,19,23,25,27–50). Higher temperatures have been associated with significantly reduced sporogony development time (51). Temperature elevation alters the development of the parasite in the vector, interfering with fertilization to the ookinete maturation (52–55).

Several modeling studies use climate change parameters defined by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) to predict the effect of climate change on living organisms (58–60). The IPCC brings together scientists dedicated to evaluating and preparing comprehensive reports with scientific, technical, and socioeconomic information about climate change and its impacts, as well as proposing future climate change scenarios that can be used in different studies (61,62). In 2014, the IPCC presented the 5th (AR-5)

Report on Climate Change, predicting new scenarios with higher temperatures and higher concentration rates of greenhouse gases released into the atmosphere. The new scenarios presented ranges from optimistic (RCP 2.6, with an increase of 1.7°C and RCP 4.5, with a rise of 2.6°C until 2100) to extreme (RCP 6.0, with an increase of 3.1°C and RCP 8.5, with a rise of 4.8°C until 2100), which may be threatening to life on Earth (63).

In the current global context, it is essential to know what effects future climate changes predicted by AR-5 may have on the infection rates of *Anopheles* populations by *Plasmodium*, unveiling aspects related to the parasite-vector interaction and generating data for future malaria transmission prediction models. . This study aimed to estimate the impact of climate change, predicted by climate scenarios using three future scenarios indicated by the fifth report of the IPCC, on mosquito survival and *Plasmodium vivax* infection in *Anopheles aquasalis*, compared to the current scenario in the Brazilian Amazon.

Methods

***Anopheles aquasalis* rearing and maintenance**

Anopheles aquasalis were obtained from a well-established colony in the insectary of the Department of Entomology at the *Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado* (FMT-HVD), Manaus, Amazonas, Brazil. The mosquitoes were created according to the methodology described by Pimenta *et al.* (64). Larvae were kept in a 2% saline solution and fed with commercial ground fish food (TetraMin Flakes). Pupae were placed in cages closed with mesh. Adults were fed ad libitum on 10% sucrose solution until one days before infectious blood meals. All mosquitoes were reared at 26 °C, 70-80% relative humidity under a light/dark photoperiod of 12/12 hours. Adult females three to five days old were used in all experiments.

Blood collection

Adult volunteers (age ≥ 18 years), living in the Manaus region (Amazon State, Brazil) with *P. vivax* mono-infection diagnosed by blood smear, were recruited from the FMT-HVD. All participants were instructed about the study, objectives, and methodologies. About 3 ml of blood was collected by venipuncture and placed into a sterile heparinized vacutainer tube. After blood collection, all patients received treatment as per the Brazilian Ministry of Health

treatment guidelines (65). This study was approved by the FMT-HVD Research Ethics Committee(CAAE: 13127819.9.0000.0005).

Infection of *Anopheles aquasalis* mosquitoes by *Plasmodium vivax* via membrane feeding assay

Adult mosquitoes were deprived of sugar solution overnight before infection and separated into 10 experimental groups, two in each scenario, one being infected and the other not. Blood samples infected by *P. vivax* were offered to groups of 150 *An. aquasalis* for about 30 to 90 min through membrane feeders at 37°C as previously described (66). Fully engorged mosquitoes were transferred to rearing containers and placed in different simulated experimental climate scenarios within an hour after the infection. mosquitoes were fed ad libitum with 10% sugar solution until 7 days after infection when they were dissected and analyzed for intensity and infection rates.

Simulations of climate change in microcosms

The experimental rooms consist of climatic rooms, of 25 m³ with temperature, CO₂ concentration, air unit, and photoperiod automatically controlled under a real-time protocol, according to the scenarios provided by the 5th report (AR-5) of the IPCC (2014) for the year 2100, namely, (i) Scenario RCP 4.5 (light, +1.0 °C and +250 ppm CO₂ on current scenario); RCP Scenario 6.0 (intermediate, +2.5 °C and +400 ppm CO₂ over current scenario) and RCP Scenario 8.5 (extreme, +4.5 °C and +850 ppm CO₂ over current scenario) (63,67–69).

The control room (current scenario) reproduces the temperature and CO₂ concentration conditions in a natural state forest close to the laboratory, where sensors are installed. A proportional integral derivative system monitored and adjusted environmental parameters every two minutes in each microcosm based on the control room. The light-dark cycle was set to 12:12h, and humidity was set as derived condition colonization scenario, 26°C-27°C, 70-80% relative humidity under a light/dark photoperiod of 12/12 and whose aspects of *Plasmodium*-vector interaction are reported in the literature was taken as a second control (control room) (64,70–74).

Evaluation of *An. aquasalis* with *P. vivax* in different climate scenarios

Seven days after the infective blood meal and acclimatization of the adult females in the different scenarios, the midgut of females from all experimental groups was dissected in phosphate saline solution (PBS), stained with a 0.1% commercial mercurochrome solution (Merbromin®) and observed under an optical microscope to verify the presence of oocysts. The intensity of *P. vivax* infection was determined by the median number of oocysts found per dissected intestine, while the infection rate was determined by the ratio of the number of intestines with oocysts to the total number of midguts dissected (64,70–74).

Statistical analysis

Data were tabulated in Microsoft Excel 2016® spreadsheets, and statistical analyses were performed using GraphPad Prism® software (Prism 5.01; GraphPad Software Inc.) and stata 17® software. Shapiro-Wilk test was used to verify the normality of the distribution. Multiple-sample comparisons were analyzed using one-way ANOVA. A nonparametric Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons post-hoc test was used for intensity analysis, and for the infection rate with parametric distribution the ordinary one-way ANOVA with Turkey's multiple comparisons post-hoc test.

Further, mosquito survivorship in the different conditions was analyzed using the Kaplan-Meier curve. In all tests, a p-value < 0.05 will be considered statistically significant. Significant correlations with P values ≤ 0.05 were considered significant.

Results

Variations in temperature, CO₂ concentration and humidity during the days of experiments in different rooms are represented in **figure 1A**. These variations represent the complexity of the natural events that occur in the environment. The cumulative mean of temperatures for each scenario was statistically different, with the average, minimum and maximum being 27.60°C (30.0-22.2°C) for the controlled environment, 29.76°C (25.3-37.1°C) for RCP 4.5; 30.68°C (25.6-37.6°C) for RCP 6.0; 32.23°C (27.5-39.4°C) for RCP 8.5; 25.60°C (18.25-27.2°C) for the experimental control. When the accumulated mean humidity for each scenario was also statistically different, with the mean, minimum and

maximum of 72.23% (46.4-92.0%) for the environmental control, 73.20% (47- 92.6%) for RCP 4.5; 76.124% (49.8-89.6%) for RCP 6.0; 73.40% (48-85.5%) for RCP 8.5; 67.94% (41-79%) for the experimental control. The same occurred for an accumulated median of CO₂ for each scenario that presented mean, minimum and maximum of 431.52ppm (307-962ppm) for the control environment, 582.12ppm (457-989ppm) for the PCR 4.5; 722.77ppm (433-991ppm) for RCP 6.0; 1118.34ppm (533-1345ppm) for RCP 8.5 (**Figura 1B** and **Supplementar table 1**).

All experimental groups had infected *P. vivax* mosquitoes, but with different infection rates (F value= 1.001, p= 0.421 and Df=4) and infection intensities (*Kruskal-Wallis H-test*: (4)= 2.30 , df = 4, p= 0.68) (**Figure 2**). There were no statistical differences when comparing group against group (**Supplementary Table 2**).

Infected mosquitoes acclimatized in the scenarios RCP 6.0 and RCP 8.5 had a lower probability of survival on the seventh days post infection than those in the environment control and experimental control (daily probability of survival= 18.6-6.5%, RCP 6.0 and RCP 8.5 respectively, p>0.001). As for the group of uninfected mosquitoes, the lowest survival rates were observed in the most extreme scenarios RCP 4.5 and RCP 8.5 (daily probability of survival= 42-57.2%, RCP 4.5 and RCP 8.5 respectively, p>0.001, **Figure 3**).

Discussion

Climate, in particular temperature, plays an important role in the dynamics and distribution of malaria (9,16,19,29,37,75–80). The dynamics and distribution of human malaria depend on the triad of interaction, parasites, mosquito vectors, and environment, the temperature being one of the most important factors to define the transmission of malaria (12–19). Temperatures and other climatic variants alter aspects of the vector's life and the sporogony development of the *Plasmodium*, directly influencing vector competence and, therefore, malaria transmission rates (9,19,23,25,27–40). In the present work, we showed that climate changes predicted by the IPCC under experimental conditions do not change *An. aquasalis*' rates and intensities of infection with *P. vivax*, although they significantly impact in the survival of mosquitoes, especially those infected ones.

This is the first work that evaluates how simulated climatic conditions predicted by the IPCC for the future in microcosms can influence the sporogony *P. vivax* cycle. Until then, studies that assessed these aspects using incubators, with or without constant temperatures,

non-regulated laboratory ambient temperatures, and home environments, whose temperatures were variable due to the local characteristics and materials of the houses, showed that changes in environmental parameters, predominantly temperature, can have significant effects on the dynamics of malaria transmission (42,55,81–85). Temperature influences the *Plasmodium* life cycle, which affects the duration of the sporogony cycle and the longevity of the vector, transmission intensity is generally considered to be greater in warmer conditions (18,85). Most studies, whether in models of malaria in rodents, birds, lizards, and humans, have shown that temperature increases have been associated with a reduction in the *Plasmodium* development time in mosquito vectors (24,52,55,86–93). In the present study, we did not evaluate the development time of the different phases of *P. vivax* in the midgut. However, we showed that different temperatures do not interfere with the rate and intensity of oocysts in the midgut of *An. aquasalis*.

The successful development of *Plasmodium* in the mosquito vector depends primarily on the differentiation of sexual forms in the peripheral blood of the vertebrate host, on exflagellation (male gametogenesis), a highly temperature-dependent process, on the vector-*Plasmodium* combination and the immune response mounted by the vector against the infection (94–100). In general, the *Plasmodium* spp. complete their sporogonic development inside the mosquito's midgut at a temperature range of 16–26°C (52,101). *P. berghei* develops at a minimum temperature of 16°C, although Rastogi et al. (81) have shown that the optimal development temperature of this species in the *An. stephensi* vector is $19 \pm 10^\circ$ C; lower temperatures ($16 \pm 1^\circ$ C) delay sporozoite development in the oocysts without altering the morphology of the parasite. However, according to these authors, higher temperature ($26 \pm 1^\circ$ C) causes deterioration of all phases of the sporogony cycle. *In vitro* exflagellation process is induced with temperature reduction (from 39° C in the vertebrate host to 20° C). For *P. falciparum* the minimum and maximum temperature of sporogonic development is 18°C and 32°C, respectively, while for *P. vivax* the sporogony is completed within the temperature range of 15 °C–17 °C to 30 °C in *An. quadrimaculatus* (101–103). In the present work, we show that *P. vivax* in *An. aquasalis* can develop oocysts in the midgut at temperatures ranging between 20.7 and 34.4 °C, a temperature range different from that found previously, without, however, evaluating the development time.

Shapiro et al. (42), evaluating the pair *An. stephensi* and *P. falciparum* combination show that it significantly affects the *Anopheles* vector competence at high temperatures. Oketch et al.(82) evaluated the effect of microhabitat temperature on the initial development

of *P. falciparum* in *An. gambiae* in incubators maintained at constant temperature (28 ± 1 °C, 23% humidity); laboratory with unregulated temperature (28°C, 73%), temperature of a canvas house (24°C, 32.5%), the temperature of a mud-walled house with thatched roof (27°C, 42%) and ironsheet-roofed house (27 ± 9.6 °C, 51%). Results show that natural microhabitats did not influence infection rates in mosquitoes. Paaijmans et al (85) using the rodent malaria model (*P. yoelii*) in *An. stephensi* infections showed that temperature does not interfere in the baseline prevalence of infection, nor in the average number of oocysts per midgut; however, the increase in temperature causes an increase in the parasite development rates, with the first infectious mosquitoes being observed on the first 15th, 11th, 9th and 8th days, when the temperatures were, respectively, 20°C, 22°C, 24°C, and 26°C. Noden et al. (55) demonstrated that the reduction of temperatures (27°C to 21°C) significantly influences the elongation of *P. falciparum* ookinete development in *An. stephensi* but not interfere substantially with infection rates or ookinete or oocyst density. However, temperature increase (from 21 ° to 30 °) significantly impacted parasite desirability and infection rates. In the present work, we also showed that changes in temperature, humidity, and CO₂ concentration do not interfere with the rates and intensities of infection but are responsible for the increase in mortality of both infected and non-infected mosquitoes. High mortality rates may interfere with the vectorial capacity of *An. aquasalis* to *P. vivax*.

It is recognized that temperature alone does not determine malaria transmission (42,92). The effect of humidity and CO₂ concentration on *Plasmodium* sporogonic development has yet to be reported in the literature. Although Santos-Veiga et al. (104) and Tiegang et al. (105) showed a significant effect of humidity on malaria transmission in two semi-arid cities in India and southern China, respectively, concluding that climate change and lack of hydrological planning can compromise efforts to eliminate malaria. High humidity rates are responsible for changes in Anopheline life parameters (reproductive activity and survival) (106–108). CO₂ is essential for the growth of intraerythrocytic malarial parasites, synthesizing pyrimidine through CO₂ fixation and regulating intracellular pH (109). However, its effect on the sporogony cycle is not known. In the present study, we show that increases in temperature, CO₂ concentration, and humidity positively correlate with *An. aquasalis* mortality, and this interferes with the vectorial competence of this species.

This study has limitations: the time of development of the parasite was not evaluated nor the viability of the sporozoites inside the oocysts and in the salivary glands these are prospects for future studies.

Conclusion

Climate changes predicted by the IPCC under experimental conditions do not change rates and intensities of infection of *An. aquasalis* with *P. vivax*, although they significantly impact the survival of mosquitoes, especially when infected, indirectly interfere with *An. aquasalis* vector capacity to *P. vivax*.

Abbreviations

FMT-HVD Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado

CC Climatic change

IPCC Intergovernmental Panel on Climate Change

VBD Vector-borne diseases

AR-5 5th report on climate change

Declarations

Acknowledgements

We acknowledge the collaboration of the local microscopists and the study subjects for their participation.

Funding

This study was funded by Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (EDITAL N. 006/2019 - UNIVERSAL AMAZONAS) and INCT ADAPTA (CNPq - 465540/2014-7; FAPEAM - 062.1187/2017 and CAPES - finance code 001). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Availability of data and materials

All data generated from this study are included in this published article.

Authors' contributions

RLL, ASS, JMR, RP, RP, MNPS and MNPS were responsible for experimental infection, sample organization and climate rooms' management. ASS, VIM, AVSN and DCBS helped with statistical analysis. GM, DCBS, MVGL, ALV, WMM and PFPP helped draft the manuscript and manuscript revision. DCBS and WMM participated in study design, coordination, and writing the final version of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Ethical approval

This study was approved by the Ethics Committee of the Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (CAAE: 13127819.9.0000.0005). All participants were informed about the study's objectives and the potential risks and benefits of their participation. An informed consent form was signed by all study participants.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Notes**Authors' information**

RLL received master scholarships from CAPES. JMR received scientific initiation scholarship from FAPEAM. ALV, WMM and MVGL are senior fellows supported by CNPq. DCBS receives a national visiting researcher grant ii from FAPEAM.

Contributor Information

Rejane Lima Leda: rejaneguapa@yahoo.com.br
 Arineia Soares da Silva: arineiassilva@gmail.com
 Julia Melissa da Rocha Albuquerque: jmra18@eua.edu.br
 Andréia da Costa Paz: andreia.cpaz@gmail.com
 Victor Irungu Mwangi: mwangiv@gmail.com
 Adalberto Luis Val: dalval.inpa@gmail.com
 Alexandre Vilhena da Silva-Neto: alexandre.neto94@gmail.com
 Maria de Nazaré Paula da Silva: npaula@inpa.gov.br
 Rogério Pereira: rogerio.pereira@inpa.gov.br
 Paulo Pimenta: pfppimenta@gmail.com
 Marcus Vinicius Guimarães Lacerda: marcuslacerda.br@gmail.com
 Gisely Cardoso: cardosogisely@gmail.com
 Djane Clarys Baía-da-Silva: djane.claryss@gmail.com
 Wuelton Marcelo Monteiro: wueltonmm@gmail.com

Legends

Figure 1: Temperature, humidity, and carbon dioxide mean concentration for each evaluation scenario according to (A) days of infection and (B) accumulation of conditions over the entire time of infection.

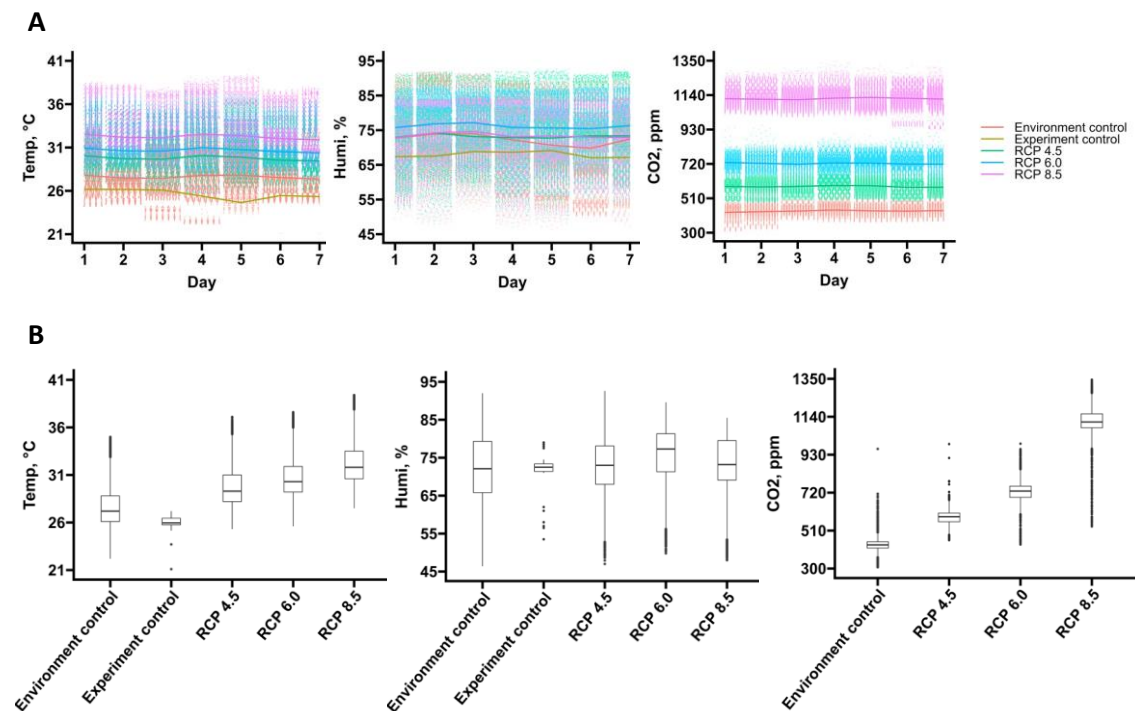


Figure 2: Effect of temperature, humidity, and CO₂ levels on *Anopheles aquasalis* infected with *Plasmodium vivax*. The intensity of infection of each experimental group is presented in the top graph as the oocyst number per midgut (dots); the black lines represent the mean (*Kruskal-Wallis H-test*: (4)= 2.30 , df = 4, p= 0.68). The infection rate is represented in the bottom graph as the percentage of *P. vivax*-infected mosquitoes (light blue pie section) (F value= 1.001, p= 0.421 and Df=4). Experimental Control is the colonization of insectary conditions.

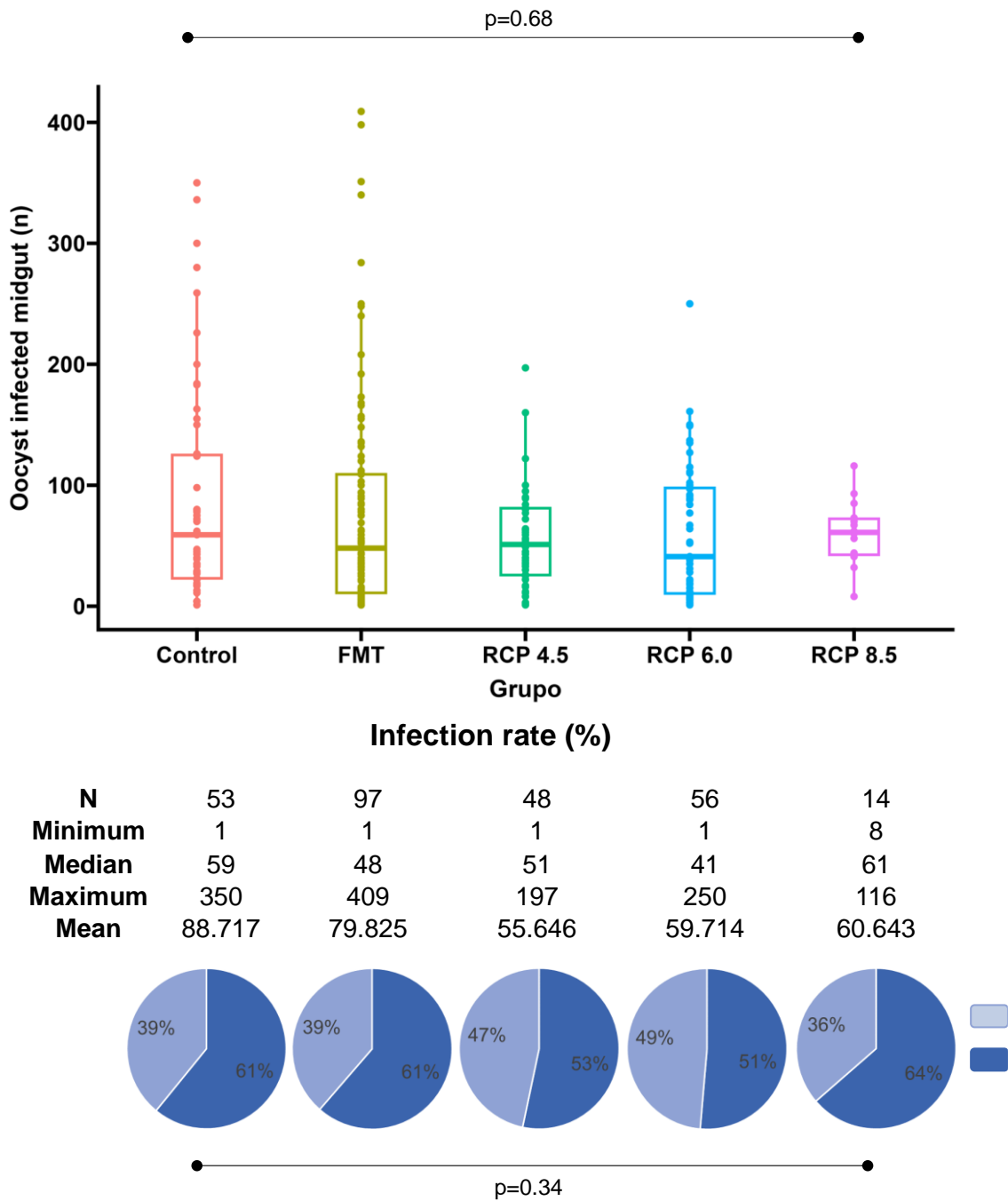
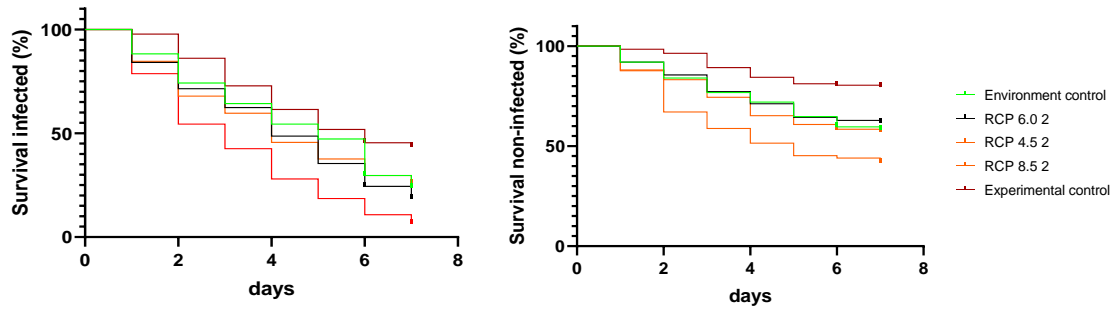


Figure 3: Percentage of *Anopheles aquasalis* survival until 8 days post. *Plasmodium vivax* infection in different climatic conditions prospected for the future by the Intergovernmental Panel on Climate Change



Supplementary table 1: Wilcoxon test results comparing group by group according to temperature, humidity, and CO2 concentration.

Temperature				
	Envir. Control	Exp. control	RCP 4.5	RCP 6.0
Exp. control	<0.01	-	-	-
RCP 4.5	<0.01	<0.01	-	-
RCP 6.0	<0.01	<0.01	<0.01	-
RCP 8.5	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Kruskal-Wallis (X^2) = 62733, df = 4, p-value < 0.01				
Humidity				
Exp. control	0.029	-		
RCP 4.5	<0.01	<0.01		
RCP 6.0	<0.01	<0.01	<0.01	
RCP 8.5	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Kruskal-Wallis (X^2) = 5464.7, df = 4, p-value < 0.01				
CO2 concentration				
RCP 4.5	<0.01		-	-
RCP 6.0	<0.01		<0.01	-
RCP 8.5	<0.01		<0.01	<0.01
Kruskal-Wallis (X^2) = 150120, df = 3, p-value < 0.01				

Supplementary table 2: Wilcoxon test results comparing group by group in the intensity and infection rate.

Group x Group		p-Valor
Infection Intensity		
Environment control	Experimental control	0.88
Environment control	RCP 4.5	0.88
Environment control	RCP 6.0	0.88
Environment control	RCP 8.5	0.98
control Experimental	RCP 4.5	0.98
control Experimental	RCP 6.0	0.98
control Experimental	RCP 8.5	0.92
RCP 4.5	RCP 6.0	0.98
RCP 4.5	RCP 8.5	0.88
RCP 6.0	RCP 8.5	0.88
<i>(Kruskal-Wallis H-test: (4)= 2.30 , df = 4, p= 0.68)</i>		
Infection rate		
Experimental control	Environment control	0.99
RCP 4.5	Environment control	0.90
RCP 6.0	Environment control	0.45
RCP 8.5	Environment control	0.64
RCP 4.5	Experimental control	0.98
RCP 6.0	Experimental control	0.67
RCP 8.5	Experimental control	0.83
RCP 6.0	RCP 4.5	0.93
RCP 8.5	RCP 4.5	0.98
RCP 8.5	RCP 6.0	0.10
p-value=0.421 (ANOVA) Tukey's Test*		

Reference

1. Campbell-Lendrum D, Manga L, Bagayoko M, Sommerfeld J. Climate change and vector-borne diseases: what are the implications for public health research and policy? Philosophical

- Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences [Internet]. 2015 Apr 4 [cited 2023 Jan 26];370(1665):1–8. Available from: [/pmc/articles/PMC4342958/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2642958/).
2. Chala B, Hamde F. Emerging and Re-emerging Vector-Borne Infectious Diseases and the Challenges for Control: A Review. *Front Public Health*. 2021 Oct 5;9:1466.
 3. Threats I of M (US) F on M. Vector-Borne Disease Emergence and Resurgence. 2008 [cited 2023 Jan 26]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK52945/>
 4. Franklins LHV, Jones KE, Redding DW, Abubakar I. The effect of global change on mosquito-borne disease. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(9):e302–12.
 5. Hendrickx G, Gilbert M, Staubach C, Elbers A, Mintiens K, Gerbier G, et al. A wind density model to quantify the airborne spread of *Culicoides* species during north-western Europe bluetongue epidemic, 2006. *Prev Vet Med [Internet]*. 2008 Oct 15 [cited 2023 Jan 26];87(1–2):162–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18639355/>
 6. Elbers ARW, Koenraadt CJM, Meiswinkel R. Mosquitoes and *Culicoides* biting midges: vector range and the influence of climate change. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 2015;34(1):123–37.
 7. Masson-Delmotte V, Zhai P, Chen Y, Goldfarb L, Gomis MI, Matthews JBR, et al. Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Edited by. 2021 [cited 2023 Jan 26]; Available from: www.ipcc.ch
 8. Ampadu B, Boateng EF, Abassa MA. Assessing Adaptation Strategies to the Impacts of Climate Change: A Case Study of Pungu - Upper East Region, Ghana. *Environment and Ecology Research [Internet]*. 2018 Feb [cited 2023 Jan 28];6(1):33–44. Available from: <http://www.hrpub.org>
 9. Antwi-Agyei P, Stringer LC, Dougill AJ. Livelihood adaptations to climate variability: Insights from farming households in Ghana. *Reg Environ Change [Internet]*. 2014 Mar 12 [cited 2023 Jan 28];14(4):1615–26. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10113-014-0597-9>
 10. Nichols G, Lake I, Heaviside C. Climate Change and Water-Related Infectious Diseases. *Atmosphere* 2018, Vol 9, Page 385 [Internet]. 2018 Oct 2 [cited 2023 Jan 28];9(10):385. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4433/9/10/385/htm>
 11. World malaria report 2022 [Internet]. [cited 2023 Jan 23]. Available from: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>
 12. Nabi SA, Qader SS. Is global warming likely to cause an increased incidence of malaria? *Libyan Journal of Medicine*. 2009;4(1):9–16.
 13. Müller I, Bockarie M, Alpers M, Smith T. The epidemiology of malaria in Papua New Guinea. *Trends Parasitol [Internet]*. 2003 Jun 1 [cited 2023 Jan 26];19(6):253–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12798082/>
 14. Control I of M (US) C for the S on MP and, Stanley C. Oaks Jr, Mitchell VS, Pearson GW, Carpenter CCJ. *Vector Biology, Ecology, and Control*. 1991 [cited 2023 Jan 26]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK234322/>
 15. Adams JH, Mueller I. *The Biology of Plasmodium vivax*. *Cold Spring Harb Perspect Med [Internet]*. 2017 Sep 1 [cited 2023 Jan 26];7(9). Available from: [/pmc/articles/PMC5580510/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2642958/)
 16. Mohammadkhani M, Khanjani N, Bakhtiari B, Tabatabai SM, Sheikhzadeh K. The Relation Between Climatic Factors and Malaria Incidence in Sistan and Baluchestan, Iran. <https://doi.org/10.1177/2158244019864205> [Internet]. 2019 Jul 19 [cited 2023 Jan 26];9(3). Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2158244019864205>
 17. Blanford JI, Blanford S, Crane RG, Mann ME, Paaijmans KP, Schreiber K v., et al. Implications of temperature variation for malaria parasite development across Africa. *Sci Rep [Internet]*. 2013 [cited 2023 Jan 27];3. Available from: [/pmc/articles/PMC3575117/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2642958/)

18. article [Internet]. [cited 2023 Jan 28]. Available from: https://www.infezmed.it/index.php/article?Anno=2016&numero=2&ArticoloDaVisualizzare=Vol_24_2_2016_93
19. Agyekum TP, Botwe PK, Arko-Mensah J, Issah I, Acquah AA, Hogarh JN, et al. A systematic review of the effects of temperature on anopheles mosquito development and survival: Implications for malaria control in a future warmer climate. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021 Jul 2 [cited 2023 Jan 28];18(14):7255. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/14/7255/htm>
20. Lyons CL, Coetzee M, Chown SL. Stable and fluctuating temperature effects on the development rate and survival of two malaria vectors, *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus*. *Parasit Vectors*. 2013;6(1):1–9.
21. Hundessa S, Williams G, Li S, Liu DL, Cao W, Ren H, et al. Projecting potential spatial and temporal changes in the distribution of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria in China with climate change. *Science of the Total Environment*. 2018;627(20):1285–93.
22. Gillooly JF, Brown JH, West GB, Savage VM, Charnov EL. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science* (1979). 2001;293(5538):2248–51.
23. Afrane YA, Githeko AK, Yan G. The Ecology of Anopheles Mosquitoes under Climate Change: Case Studies from the Effects of Environmental Changes in East Africa Highlands. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;9:1249.
24. Murdock CC, Paaijmans KP, Cox-Foster D, Read AF, Thomas MB. Rethinking vector immunology: the role of environmental temperature in shaping resistance. *Nature Reviews Microbiology* 2012 10:12 [Internet]. 2012 Nov 13 [cited 2023 Jan 28];10(12):869–76. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2900>
25. Murdock CC, Paaijmans KP, Bells AS, King JG, Hillyer JF, Read AF, et al. Complex effects of temperature on mosquito immune function. *Proc Biol Sci* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 28];279(1741):3357–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22593107/>
26. Glunt KD, Oliver S v., Hunt RH, Paaijmans KP. The impact of temperature on insecticide toxicity against the malaria vectors *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus*. *Malar J* [Internet]. 2018 Apr 2 [cited 2023 Jan 28];17(1):1–8. Available from: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-018-2250-4>
27. Murdock CC, Blanford S, Luckhart S, Thomas MB. Ambient temperature and dietary supplementation interact to shape mosquito vector competence for malaria. *J Insect Physiol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 28];67:37–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24911425/>
28. Villena OC, Ryan SJ, Murdock CC, Johnson LR. Temperature impacts the environmental suitability for malaria transmission by *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. *Ecology* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2023 Jan 28];103(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35315521/>
29. Beck-Johnson LM, Nelson WA, Paaijmans KP, Read AF, Thomas MB, Bjørnstad ON. The Effect of Temperature on Anopheles Mosquito Population Dynamics and the Potential for Malaria Transmission. *PLoS One* [Internet]. 2013 Nov 14 [cited 2023 Jan 28];8(11):e79276. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079276>
30. Rúa GL, Quiñones ML, Vélez ID, Zuluaga JS, Rojas W, Poveda G, et al. Laboratory estimation of the effects of increasing temperatures on the duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2005 Aug 31 [cited 2023 Jan 28];100(5):515–20. Available from: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/f8b4bDtgB8QmVsMPmFX4C5H/?lang=en>

31. Murdock CC, Moller-Jacobs LL, Thomas MB. Complex environmental drivers of immunity and resistance in malaria mosquitoes. *Proc Biol Sci* [Internet]. 2013 Sep 18 [cited 2023 Jan 28];280(1770). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24048159/>
32. Olayemi K, Danlami G, Isah B, Odeyemi OM, Ukubuiwe C, Mustapha OM. Indoor behaviour responses of the principal malaria vector, *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae), in relation to micro- climatic conditions in Minna, North Central Nigeria. *Research Journal of Parasitology* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jan 28];6(3):109–15. Available from: https://www.researchgate.net/publication/273197790_Indoor_Behaviour_Responses_of_the_Principal_Malaria_Vector_Anopheles_gambiae_Diptera_Culicidae_in_Relation_to_Micro-climatic_Conditions_in_Minna_North_Central_Nigeria
33. Oliver S v., Brooke BD. The effect of elevated temperatures on the life history and insecticide resistance phenotype of the major malaria vector *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Malar J* [Internet]. 2017 Feb 14 [cited 2023 Jan 28];16(1):1–13. Available from: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-017-1720-4>
34. Kirby MJ, Lindsay SW. Effect of temperature and inter-specific competition on the development and survival of *Anopheles gambiae* sensu stricto and *An. arabiensis* larvae. *Acta Trop*. 2009 Feb;109(2):118–23.
35. Mala AO, Irungu LW, Mitaki EK, Shililu JI, Mbogo CM, Njagi JK, et al. Gonotrophic cycle duration, fecundity and parity of *Anopheles gambiae* complex mosquitoes during an extended period of dry weather in a semi arid area in Baringo County, Kenya. ~ 28 ~ *International Journal of Mosquito Research*. 2014;1(2):28–34.
36. Kirby MJ, Lindsay SW. Effect of temperature and inter-specific competition on the development and survival of *Anopheles gambiae* sensu stricto and *An. arabiensis* larvae. *Acta Trop* [Internet]. 2009 Feb [cited 2023 Jan 28];109(2):118–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19013420/>
37. Charlwood JD, Bragança M. Some like it cool: The effect of ambient temperature on the size of *Anopheles funestus* from southern Mozambique. *J Med Entomol* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2023 Jan 28];49(5):1154–8. Available from: <https://academic.oup.com/jme/article/49/5/1154/1047016>
38. Barreaux AMG, Stone CM, Barreaux P, Koella JC. The relationship between size and longevity of the malaria vector *Anopheles gambiae* (s.s.) depends on the larval environment. *Parasit Vectors* [Internet]. 2018 Aug 29 [cited 2023 Jan 28];11(1):1–9. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3058-3>
39. Maciej Serda, Becker FG, Cleary M, Team RM, Holtermann H, The D, et al. Larval environment influences vector competence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. G. Balint, Antala B, Carty C, Mabieme JMA, Amar IB, Kaplanova A, editors. *Malariaworld J* [Internet]. 2016 Jun 29 [cited 2023 Jan 28];7(8):MWJ2016. Available from: <https://research-information.bris.ac.uk/en/publications/larval-environment-influences-vector-competence-of-the-malaria-mo>
40. Christiansen-Jucht CD, Parham PE, Saddler A, Koella JC, Basáñez MG. Larval and adult environmental temperatures influence the adult reproductive traits of *Anopheles gambiae* s.s. *Parasit Vectors* [Internet]. 2015 Sep 17 [cited 2023 Jan 28];8(1):1–12. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-1053-5>
41. Ndo C, Poumachu Y, Metitsi D, Awono-Ambene HP, Tchuinkam T, Gilles JLR, et al. Isolation and characterization of a temperature-sensitive lethal strain of *Anopheles arabiensis* for SIT-based application. *Parasit Vectors* [Internet]. 2018 Dec 24 [cited 2023 Jan 28];11(Suppl 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30583745/>
42. Shapiro LLM, Whitehead SA, Thomas MB. Quantifying the effects of temperature on mosquito and parasite traits that determine the transmission potential of human malaria. *PLoS*

- Biol [Internet]. 2017 Oct 16 [cited 2023 Jan 28];15(10):e2003489. Available from: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2003489>
43. Villena OC, Ryan SJ, Murdock CC, Johnson LR. Temperature impacts the environmental suitability for malaria transmission by *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. *Ecology* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2023 Jan 28];103(8):e3685. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ecy.3685>
 44. Constant temperature and time period effects on *Anopheles gambiae* egg hatching.
 45. Lyimo EO, Takken W, Koella JC. Effect of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. *Entomol Exp Appl* [Internet]. 1992 Jun 1 [cited 2023 Jan 28];63(3):265–71. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1570-7458.1992.tb01583.x>
 46. Shelton RM. The effect of temperatures on development of eight mosquito species. *Mosq News*. 1973;33(1):1–12.
 47. Lardeux FJ, Tejerina RH, Quispe V, Chavez TK. A physiological time analysis of the duration of the gonotrophic cycle of *Anopheles pseudopunctipennis* and its implications for malaria transmission in Bolivia. *Malar J* [Internet]. 2008 [cited 2023 Jan 28];7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18655724/>
 48. Zakharova NF, Losev GI, Yakubovich Ya. V. [The effect of density and temperature on the larval populations of the malaria vector *Anopheles sacharovi*]. *Med Parazitol (Mosk)* [Internet]. 1990 Jan 1 [cited 2023 Jan 28];(1):3–7. Available from: <https://europepmc.org/article/med/2352515>
 49. Suwanchaichinda C, Paskewitz SM. Effects of larval nutrition, adult body size, and adult temperature on the ability of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to melanize sephadex beads. *J Med Entomol* [Internet]. 1998 [cited 2023 Jan 28];35(2):157–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9538577/>
 50. Paaijmans KP, Blanford S, Chan BHK, Thomas MB. Warmer temperatures reduce the vectorial capacity of malaria mosquitoes. *Biol Lett* [Internet]. 2012 Jun 23 [cited 2023 Jan 28];8(3):465–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22188673/>
 51. Afrane YA, Githeko AK, Yan G. The ecology of *Anopheles* mosquitoes under climate change: Case studies from the effects of deforestation in East African highlands. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2012 [cited 2021 May 27];1249(1):204–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22320421/>
 52. Effects of temperature on sporogonic development of *Plasmodium berghei*.
 53. The effect of low temperature on *Plasmodium relictum* in *Culex tarsalis*.
 54. Stratman-thomas WK. The Influence of Temperature on *Plasmodium vivax*. *American Journal of Tropical Medicine*. 1940;20(5).
 55. Beier JC, Kent MD, Beier JC. The impact of variations in temperature on early *plasmodium falciparum* development in *Anopheles stephensi*. *Parasitology* [Internet]. 1995 [cited 2021 May 27];111(5):539–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8559585/>
 56. Murdock CC, Paaijmans KP, Bells AS, King JG, Hillyer JF, Read AF, et al. Complex effects of temperature on mosquito immune function. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2012;279(1741):3357–66.
 57. Murdock CC, Sternberg ED, Thomas MB. Malaria transmission potential could be reduced with current and future climate change. *Sci Rep*. 2016;6(May):1–7.
 58. Parmesan C, Yohe G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 2003 421:6918 [Internet]. 2003 Jan 2 [cited 2023 Feb 6];421(6918):37–42. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature01286>
 59. Ihlow F, Dambach J, Engler JO, Flecks M, Hartmann T, Nekum S, et al. On the brink of extinction? How climate change may affect global chelonian species richness and distribution.

- Glob Chang Biol [Internet]. 2012 May 1 [cited 2023 Feb 6];18(5):1520–30. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2486.2011.02623.x>
60. Benito Garzón M, Sánchez De Dios R, Sainz Ollero H. Effects of climate change on the distribution of Iberian tree species. *Appl Veg Sci* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2023 Feb 6];11(2):169–78. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3170/2008-7-18348>
 61. IPCC. Annex II: Models [Gutiérrez, J M., A.-M. Tréguier (eds.)]. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. 2021. 2087–2138 p.
 62. Masson-Delmotte V, PZHOPDRJSPRSAPWMOCPRPSCJBRMYCXZMIGELTMMT and TW (eds.). Summary for Policymakers. In *Global Warming of 1.5°C: IPCC Special Report on Impacts of Global Warming of 1.5°C above Pre-industrial Levels in Context of Strengthening Response to Climate Change, Sustainable Development, and Efforts to Eradicate Poverty* (. Global Warming of 15°C. 2018;1–24.
 63. IPCC a. *Climate Change 2014 Synthesis Report Summary Chapter for Policymakers*. Ippc. 2014;31.
 64. Pimenta PFP, Orfano AS, Bahia AC, Duarte APM, Ríos-Velásquez CM, Melo FF, et al. An overview of malaria transmission from the perspective of amazon anopheles vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(1):23–47.
 65. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Guia Prático de Tratamento da Malária no Brasil*. 1ª edição. Fernandes Fontes, Cor J; Faria e Silva S., Ana C; Mangabeira da Silva, Carlos J; Tauil, Pedro L; de Brito Ladislau JL, editor. Ministério da Saúde. Brasília DF: Esplanada dos Ministérios; 2010. 38 p.
 66. Rios-Velásquez CM, Martins-Campos KM, Simões RC, Izzo T, Dos Santos E V., Pessoa FA, et al. Experimental *Plasmodium vivax* infection of key Anopheles species from the Brazilian Amazon. *Malar J*. 2013;12(1):1–10.
 67. Gonçalves LMF, da Silva M de NP, Val AL, de Almeida-Val VMF. Differential survivorship of congeneric ornamental fishes under forecasted climate changes are related to anaerobic potential. *Genet Mol Biol*. 2018;41(1):107–18.
 68. Velders GJM, Fahey DW, Daniel JS, Andersen SO, McFarland M. Future atmospheric abundances and climate forcings from scenarios of global and regional hydrofluorocarbon (HFC) emissions. *Atmos Environ*. 2015;123:200–9.
 69. Meinshausen M, Smith SJ, Calvin K, Daniel JS, Kainuma MLT, Lamarque J, et al. The RCP greenhouse gas concentrations and their extensions from 1765 to 2300. *Clim Change*. 2011;109(1):213–41.
 70. Santana RAG, Oliveira MC, Cabral I, Junior RCAS, De Sousa DRT, Ferreira L, et al. Anopheles aquasalis transcriptome reveals autophagic responses to *Plasmodium vivax* midgut invasion. *Parasit Vectors*. 2019;12(1):1–14.
 71. Pereira-Silva JW, Martins-Campos KM, Sabrina dos Reis Martins E, de Souza Menezes A, Guimarães Lacerda MV, Costa Pessoa FA, et al. Long-lasting infectivity of *Plasmodium vivax* present in malarial patient blood to *Anopheles aquasalis*. *Exp Parasitol*. 2021;222(July 2020).
 72. Baia-Da-Silva DC, Alvarez LCS, Lizcano OV, Costa FTM, Lopes SCP, Orfanó AS, et al. The role of the peritrophic matrix and red blood cell concentration in *Plasmodium vivax* infection of *Anopheles aquasalis*. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):1–10.
 73. Pinilla YT, C. P. Lopes S, S. Sampaio V, Andrade FS, Melo GC, Orfanó AS, et al. Promising approach to reducing Malaria transmission by ivermectin: Sporontocidal effect against *Plasmodium vivax* in the South American vectors *Anopheles aquasalis* and *Anopheles darlingi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(2):1–23.

74. Bahia AC, Kubota MS, Tempone AJ, Araújo HRC, Guedes BAM, Orfanó AS, et al. The JAK-STAT pathway controls *Plasmodium vivax* load in early stages of *Anopheles aquasalis* infection. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(11).
75. Craig M, Le Sueur D, Snow B. A climate-based distribution model of malaria transmission in sub-Saharan Africa. *Parasitology Today*. 1999;15(3):105–11.
76. Bayoh MN, Lindsay SW. Effect of temperature on the development of the aquatic stages of *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae) . *Bull Entomol Res*. 2003;93(5):375–81.
77. Kiszewski A, Mellinger A, Spielman A, Malaney P, Sachs SE, Sachs J. A global index representing the stability of malaria transmission. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2004;70(5):486–98.
78. Caminade C, Kovats S, Rocklov J, Tompkins AM, Morse AP, Colón-González FJ, et al. Impact of climate change on global malaria distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2014 Mar 4 [cited 2023 Jan 26];111(9):3286–91. Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1302089111>
79. Cella W, Baia-Da Silva DC, de Melo GC, Tadei WP, Sampaio VDS, Pimenta P, et al. Do climate changes alter the distribution and transmission of malaria? Evidence assessment and recommendations for future studies. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2019 Dec 2 [cited 2023 Jan 26];52. Available from: <http://www.scielo.br/j/rsbmt/a/QXzJ7Nryvrf95Hr9BmpwcJv/?lang=en>
80. Pascual M, Ahumada JA, Chaves LF, Rodó X, Bouma M. Malaria resurgence in the East African highlands: Temperature trends revisited. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 Apr 11 [cited 2021 May 27];103(15):5829–34. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0508929103
81. Effect of variation in temperature on development of *Plasmodium berghei* (NK 65 strain) in *Anopheles stephensi*.
82. Okech BA, Gouagna LC, Walczak E, Kabiru EW, Beier JC, Yan G, et al. The development of *Plasmodium falciparum* in experimentally infected *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) under ambient microhabitat temperature in western Kenya. *Acta Trop* [Internet]. 2004 Oct [cited 2021 May 27];92(2):99–108. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15350861/>
83. Beck-Johnson LM, Nelson WA, Paaajmans KP, Read AF, Thomas MB, Bjørnstad ON. The effect of temperature on *Anopheles* mosquito population dynamics and the potential for malaria transmission. *PLoS One* [Internet]. 2013 Nov 14 [cited 2023 Jan 28];8(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24244467/>
84. Murdock CC, Blanford S, Hughes GL, Rasgon JL, Thomas MB. Temperature alters *Plasmodium* blocking by *Wolbachia*. *Sci Rep* [Internet]. 2014 Feb 3 [cited 2023 Jan 28];4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24488176/>
85. Paaajmans KP, Blanford S, Chan BHK, Thomas MB. Warmer temperatures reduce the vectorial capacity of malaria mosquitoes. *Biol Lett* [Internet]. 2012 Jun 23 [cited 2023 Jan 28];8(3):465–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22188673/>
86. Paaajmans KP, Blanford S, Bell AS, Blanford JI, Read AF, Thomas MB. Influence of climate on malaria transmission depends on daily temperature variation. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Aug 24 [cited 2021 May 27];107(34):15135–9. Available from: [/pmc/articles/PMC2930540/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20930540/)
87. Temperature stresses on mosquito phase of *Plasmodium relictum*.
88. CHAO J, BALL GH. The effect of low temperature on *Plasmodium relictum* in *Culex tarsalis*. *J Parasitol*. 1962;48:252–4.
89. Lapointe DA, Goff ML, Atkinson CT. Thermal constraints to the sporogonic development and altitudinal distribution of avian malaria *Plasmodium relictum* in Hawai'i. *J Parasitol*

- [Internet]. 2010 Apr [cited 2023 Jan 28];96(2):318–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20001096/>
90. Fialho RF, Schall JJ. Thermal Ecology of a Malarial Parasite and its Insect Vector: Consequences for the Parasite's Transmission Success. *J Anim Ecol.* 1995 Sep;64(5):553.
 91. Okech BA, Gouagna LC, Kabiru EW, Walczak E, Beier JC, Yan G, et al. Resistance of early midgut stages of natural *Plasmodium falciparum* parasites to high temperatures in experimentally infected *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J Parasitol* [Internet]. 2004 Aug [cited 2023 Jan 28];90(4):764–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15357066/>
 92. Afrane YA, Little TJ, Lawson BW, Githeko AK, Yan G. Deforestation and Vectorial Capacity of *Anopheles gambiae* Giles Mosquitoes in Malaria Transmission, Kenya. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2008 Oct [cited 2023 Jan 28];14(10):1533. Available from: </pmc/articles/PMC2573462/>
 93. Sato Y, Matsuoka H, Araki M, Ando K, Chinzei Y. Effect of Temperature to *Plasmodium berghei* and *P. yoelii* on Mosquito Stage in *Anopheles stephensi*. *Jpn J Parasitol.* 1996;45(2):98–104.
 94. Gupta L, Kumar S, Yeon SH, Pimenta PFP, Barillas-Mury C. Midgut epithelial responses of different mosquito-*Plasmodium* combinations: The actin cone zipper repair mechanism in *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 Mar 15 [cited 2023 Jan 28];102(11):4010–5. Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0409642102>
 95. Baton LA, Ranford-Cartwright LC. *Plasmodium falciparum* ookinete invasion of the midgut epithelium of *Anopheles stephensi* is consistent with the Time Bomb model. *Parasitology* [Internet]. 2004 Dec [cited 2023 Jan 28];129(Pt 6):663–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15648689/>
 96. Han YS, Thompson J, Kafatos FC, Barillas-Mury C. Molecular interactions between *Anopheles stephensi* midgut cells and *Plasmodium berghei*: the time bomb theory of ookinete invasion of mosquitoes. *EMBO J* [Internet]. 2000 Nov 11 [cited 2023 Jan 28];19(22):6030. Available from: </pmc/articles/PMC305834/>
 97. Shahabuddin M, Pimenta PFP. *Plasmodium gallinaceum* preferentially invades vesicular ATPase-expressing cells in *Aedes aegypti* midgut. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1998 Mar 3 [cited 2023 Jan 28];95(7):3385. Available from: </pmc/articles/PMC19845/>
 98. Billker O, Shaw MK, Margos G, Sinden RE. The roles of temperature, pH and mosquito factors as triggers of male and female gametogenesis of *Plasmodium berghei* in vitro. *Parasitology* [Internet]. 1997 [cited 2023 Jan 28];115 (Pt 1)(1):1–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9280891/>
 99. Baia-Silva DC, Monteiro WM, de Lacerda MVG, Secundino NFC, Pimenta PFP. Cellular and Molecular Interactions of *Plasmodium* with Mosquito Vectors. 2022 [cited 2023 Jan 28];283–329. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-80682-8_6
 100. Sinden RE. Molecular interactions between *Plasmodium* and its insect vectors. *Cell Microbiol* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2023 Jan 28];4(11):713–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12427094/>
 101. Dash M, Sachdeva S, Bansal A, Sinha A. Gametogenesis in *Plasmodium*: Delving Deeper to Connect the Dots. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Jun 15;12:717.
 102. Gething PW, van Boeckel TP, Smith DL, Guerra CA, Patil AP, Snow RW, et al. Modelling the global constraints of temperature on transmission of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. *Parasit Vectors* [Internet]. 2011 May 26 [cited 2023 Jan 28];4(1):1–11. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-92>
 103. Stratman-thomas WK. The Influence of Temperature on *Plasmodium vivax*. *American Journal of Tropical Medicine.* 1940;20(5).

104. Santos-Vega M, Martinez PP, Vaishnav KG, Kohli V, Desai V, Bouma MJ, et al. The neglected role of relative humidity in the interannual variability of urban malaria in Indian cities. *Nature Communications* 2022 13:1 [Internet]. 2022 Jan 27 [cited 2023 Jan 28];13(1):1–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-28145-7>
105. Li T, Yang Z, Wang M. Temperature, relative humidity and sunshine may be the effective predictors for occurrence of malaria in Guangzhou, southern China, 2006-2012. *Parasit Vectors* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jan 28];6(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23721484/>
106. Mehta DR. Studies on the Longevity of some Indian Anophelines. Part I. Survival of *Anopheles subpictus* Grassi under controlled Conditions of Temperature and Humidity. *Records of the Malaria Survey of India*. 1934;4(3).
107. Yamana TK, Eltahir EAB. Incorporating the effects of humidity in a mechanistic model of *Anopheles gambiae* mosquito population dynamics in the Sahel region of Africa. *Parasit Vectors* [Internet]. 2013 Aug 9 [cited 2023 Jan 28];6(1):1–10. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-6-235>
108. Michael OD, Pam CR, Hassan SC, Amuga GA. Effects Of Temperature And Relative Humidity On The Development Of *Anopheles* Mosquitoes Reared In The Laboratory. *African Journal Of Natural Sciences (Ajns)* ISSN 1119-1104 [Internet]. 2021 Jun 15 [cited 2023 Jan 28];22(0):23. Available from: <http://www.ajns.org.ng/ojs/index.php/AJNS/article/view/152>
109. Sein KK, Aikawa M. The pivotal role of carbonic anhydrase in malaria infection. *Med Hypotheses* [Internet]. 1998 [cited 2023 Jan 28];50(1):19–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9488177/>

6. CONCLUSÃO

Mudanças climáticas previstas pelo quinto relatório AR5 do Painel Intergovernamental Sobre Mudanças Climáticas IPCC em condições experimentais não alteram a sobrevivência, fecundidade, desenvolvimento larval e pupar., embora tenham impacto na sobrevivência das larvas. Também não alteram as taxas e intensidades de infecção de *An. aquasalis* com *P. vivax*, embora tenham um impacto significativo na sobrevivência dos mosquitos, principalmente quando infectados e isso interfere na capacidade vetorial de *A. aquasalis* para *P. vivax*.

7. REFERÊNCIAS GERAIS

AFRANE, Y. A. et al. Effects of microclimatic changes caused by deforestation on the survivorship and reproductive fitness of *Anopheles gambiae* in western Kenya highlands. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 74, n. 5, p. 772–778, 2006.

AFRANE, Y. A.; GITHEKO, A. K.; YAN, G. The Ecology of Anopheles Mosquitoes under Climate Change: Case Studies from the Effects of Environmental Changes in East Africa Highlands. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 9, p. 1249, 2012.

ALONSO, D.; BOUMA, M. J.; PASCUAL, M. Epidemic malaria and warmer temperatures in recent decades in an East African highland. *Proceedings of the Royal Society B: **Biological Sciences***, v. 278, n. 1712, p. 1661–1669, 2011.

ALTIZER, S. et al. Climate change and infectious diseases: From evidence to a predictive framework. **Science**, v. 341, n. 6145, p. 514–519, 2013.

AMINO, R. et al. Quantitative imaging of Plasmodium transmission from mosquito to mammal. **Nature Medicine**, v. 12, n. 2, p. 220–224, 2006.

ANTINORI, S. et al. Biology of human malaria plasmodia including Plasmodium knowlesi. *Mediterranean **Journal of Hematology and Infectious Diseases***, v. 4, n. 1, 2012.

BARCELLOS, C. et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 3, p. 285–304, 2009.

BOLFE, É. L. et al. Futuro da Agricultura Brasileira. **Embrapa**, p. 212, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 18 de 2022**. [s.l: s.n.]. v. 53

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. BOLETIM ESPECIAL: MALÁRIA, 2021.; MINISTÉRIO DA SAÚDE. BRASÍLIA - DF. NOV. 2021. **Boletim Epidemiológico da Malária 2021**. p. 1–100, 2021.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **Mosquito life-cycle**. 2012.

CELLA W, BAIA-DA SILVA DC, DE MELO GC, TADEI WP, SAMPAIO VDS, PIMENTA P, ET AL. As mudanças climáticas alteram a distribuição e transmissão da malária? Avaliação de evidências e recomendações para estudos futuros. **Rev Soc Bras Med Trop** - 2019

COLLINS WE, JEFFERY GM. Plasmodium ovale: parasite and disease. **Clin Microbiol Ver** 2005 Jul;18(3):570-

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. DE. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. 1994

DA SILVA, A. N. M. et al. Susceptibility of Anopheles aquasalis and An. darlingi to Plasmodium vivax VK210 and VK247. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 5, p. 547–550, 2006.

DEANE, M. Malaria vectors in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, vol. 81, n. 2, Rio de Janeiro, 1986.

DELGADO-PETROCELLI, L. et al. Analysis of the El Niño/La niña-Southern oscillation variability and malaria in the Estado Sucre, Venezuela. **Geospatial Health**, v. 6, n. 3 SUPPL., p. 51–57, 2012.

DRONAMRAJU, K. R.; ARESE, P. **Malaria: Genetic and Evolutionary Aspects**. [s.l: s.n.].

EPSTEIN, P. R. Climate change and emerging infectious diseases. **Microbes and Infection**, v. 3, n. 9, p. 747–754, 2001.

FAYE FB, SPIEGEL A, TALL A, SOKHNA C, FONTENILLE D, ROGIER C ET AL. Diagnostic Criteria and Risk Factors for Plasmodium Ovale Malária. **J Infect Dis** 2002 Sep;186 (5):690-95

FLORES-MENDOZA C, CUNHA RA, ROCHA DS, LOURENCO-DE-OLIVEIRA R. Determinação das fontes alimentares de Anopheles aquasalis (Diptera: Culicidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, pelo teste de precipitina. **Rev Saúde Pública** [online] 1996;30(2):129-34.

FORATTINI OP. Culicidologia médica. **São Paulo: Edusp**; v. 2, 2002.

GILLOOLY, J. F. et al. Effects of size and temperature on metabolic rate. **Science**, v. 293, n. 5538, p. 2248–2251, 2001.

GOH X, LIM YA, VYTHILINGAM I, CHEW C, LEE P, NGUI R et al. Increased detection of Plasmodium knowlesi in Sandakan division, Sabah as revealed by PlasmoNex™. **Malar J** 2013 Jul; 12:264.

HAY SI, SINKA ME, OKARA RM, KABARIA CW, MBITHI PM, TAGO CC et al. Developing global maps of the dominant Anopheles vectors of human malária. **PLoS Med** 2010 Feb;7(2):e1000209.

HILLYER JF, BARREAU C, VERNICK KD. Efficiency of salivary gland invasion by malária sporozoites is controlled by rapid sporozoite destruction in the mosquito haemocoel. **Int J Parasitol** 2007;37(6):673–81.

HOWES, R. E. et al. Global epidemiology of Plasmodium vivax. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. Suppl 6, p. 15–34, 2016.

IPCC A. Climate Change 2014 Synthesis Report Summary Chapter for Policymakers. **Ipcc**, p. 31, 2014.

IPCC, 2014: Mudanças Climáticas 2014: Relatório Síntese. Contribuição dos Grupos de Trabalho I, II e III para o Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas [Core Writing Team, RK Pachauri e LA Meyer (eds.)]. **IPCC, Genebra, Suíça**, 151 pp.

IPCC, 2021: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. **Cambridge University Press**. In Press.

KOENRAADT, C. J. M. et al. Low larval vector survival explains unstable malaria in the western Kenya highlands. **Tropical medicine and International Health**, v. 11, n. 8, p. 1195–1205, 2006.

LEITE, J. C. Controvérsias na climatologia: o IPCC e o aquecimento global antropogênico. **Scientiae Studia**, v. 13, n. 3, p. 643–677, 2015.

MARENGO, J. A.; SOARES, W. R. Impacto das Mudanças Climáticas no Brasil e Possíveis Futuros Cenários Climáticos: Síntese do Terceiro Relatório do IPCC 2001. **Clima e Recursos hídricos**, p. 209–233, 2003.

MARENGO, P. J. A. Jose A. Marengo | Mudanças climáticas, impactos e políticas públicas para reduzir impactos. p. 239–245, 2019.

MUELLER AK, KOHLHEPP F, HAMMERSCHMIDT C E MICHEL K. Invasion of mosquito salivary glands by malaria parasites: Prerequisites and defense strategies. **Int J Parasitol**. 2010; 40(11): 1229–35.

MIOTO, L. D.; GALHARDI, L. C. F.; AMARANTE, M. K. Aspectos parasitológicos e imunológicos da malária. **Biosaúde**, v. 14, n. 1, p. 42–55, 2012.

MORDECAI EA, CALDWELL JM, GROSSMAN MK, et al. Thermal biology of mosquito-borne disease. **Ecology Letters**. 2019; 22: 1690-1708

MOTTA E. Fatores determinantes da situação da malária na Amazônia. **Rev Soc Bras Med Trop**. 1992;25((Supl II)):27–32.

MUNGA, S. et al. Survivorship of immature stages of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in natural habitats in western Kenya highlands. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, n. 5, p. 758–764, 2007.

MURDOCK, C. C.; STERNBERG, E. D.; THOMAS, M. B. Malaria transmission potential could be reduced with current and future climate change. **Scientific Reports**, v. 6, n. May, p. 1–7, 2016.

NAGY, G. J. et al. Desarrollo de la capacidad de evaluación de la vulnerabilidad costera al Cambio Climático: Zona Oeste de Montevideo como caso de estudio. **El Cambio climático en el Río de la Plata**, p. 173–180, 2005.

NODEN BH, KENT MD, BEIER JC. The impact of variations in temperature on early *Plasmodium falciparum* development in *Anopheles stephensi*. **Parasitology**. 1995 Dec;111 (Pt 5):539-45. doi: 10.1017/s0031182000077003. PMID: 8559585.

OKECH, B. A. et al. The development of *Plasmodium falciparum* in experimentally infected *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) under ambient microhabitat temperature in western Kenya. **Acta Tropica**, v. 92, n. 2, p. 99–108, out. 2004.

OMUMBO, J. A. et al. Modelling malaria risk in East Africa at high-spatial resolution. **Tropical medicine and International Health**, v. 10, n. 6, p. 557–566, 2005.

ORFANO, A.S et al. Species-specific escape of *Plasmodium* sporozoites from oocysts of avian, rodent, and human malarial parasites. **Malar J**. 2016 Aug 2;15(1):394.

PAAIJMANS, K. P. et al. Influence of climate on malaria transmission depends on daily temperature variation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 34, p. 15135–15139, 2010.

PARHAM, P. E.; MICHAEL, E. Modeling the effects of weather and climate change on malaria transmission. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 5, p. 620–626, 2010.

PASCUAL, M. et al. Malaria resurgence in the East African highlands: Temperature trends revisited. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 15, p. 5829–5834, 11 abr. 2006.

PIMENTA PF, TOURAY M, MILLER L. The journey of malaria sporozoites in the mosquito salivary gland. **J Eukaryot Microbiol** 1994 Nov-Dec;41(6):608–24.

PIMENTA, P. F. P. et al. An overview of malaria transmission from the perspective of amazon anopheles vectors. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 1, p. 23–47, 2015.

PRADEL G, GARAPATY S, FREVERT U. Proteoglycans mediate malaria sporozoite targeting to the liver. **Mol Microbiol**. 2002;45(3):637-51.

RODÓ, X., PASCUAL, M., DOBLAS-REYES, F.J., GERSHUNOV, A., STONE, D.A., GIORGI, F., HUDSON, P.J., KINTER, J., RODRÍGUEZ-ARIAS, M.-À., STENSETH, N.C.,

2013. Climate change and infectious diseases: can we meet the needs for better prediction? **Clim. Chang.** 118, 625–640.

ROSA-GONÇALVES, P.; RIBEIRO-GOMES, F. L.; DANIEL-RIBEIRO, C. T. Malaria Related Neurocognitive Deficits and Behavioral Alterations. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, n. February, p. 1–9, 2022.

RUEDA, L. M. et al. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 27, n. 5, p. 892–898, 1990.

SILVA, ANM, et al. Laboratory colonization of *anopheles aquasalis* (diptera: culicidae) in Belem, Para Brazil. **J Med. Entomol**, v. 43, n. 1, 2006

SILVA, B, et al. Current vector control challenges in the fight against malaria in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, vol. 52, e-20180542, 2019

SINKA, M.E. et al. The dominant Anopheles vectors of human malária in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. **Parasit Vectors**. 2010 May 25; 4:89.

SINKA ME, BANGS MJ, MANGUIN S, RUBIO-PALIS Y, CHAREONVIRIYAPHAP T, COETZEE M et al. A global map of dominant malária vectors. **Parasit Vectors** 2012 Apr; 5:69.

SMITH RC, VEGA-RODRÍGUEZ J, JACOBS-LORENA M. The Plasmodium bottleneck: malária parasite losses in the mosquito vector. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2014 Aug;109(5): 644-61.

STURM A, HEUSSLER V. Live and let die: manipulation of host hepatocytes by exoerythrocytic Plasmodium parasites. **Med Microbiol Immunol**. 2007;196 (3):127-33.11.

TAVARES J, FORMAGLIO P, THIBERGE S, MORDELET E, VAN ROOIJEN N, MEDVINSKY A, MÉNARD R, AMINO R. 2013. Role of host cell traversal by the malaria sporozoite during liver infection. **J Exp Med** 210: 905–915.

TRAMPUZ, A. et al. Clinical review: Severe malaria. *Critical Care*, v. 7, n. 4, p. 315–323, 2003.

UCHOA, N. M.; LUSTOSA, R. P.; UCHOA, F. N. M. Relação entre mudanças climáticas e saúde humana. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 12, n. 1, p. 10–18, 2019.

VIANA, F.F.O. Bioatividade dos extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyriforme* (Apocynaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Dissertação (Mestre em Meio ambiente e desenvolvimento), Itapetinga, BA, 2015.

WHO – World Health Organization. 2019. World malaria report 2019. Geneva: World Health Organization 2019. 210 pp.

WHO. (2021). Relatório Mundial da Malária 2021. **World Malaria report Geneva: Organização Mundial da Saúde**. (2021). Licença: CC (pág. 2013–2015).

WIRTH DF. Biological revelations. **Nature** 2002; 419:495–96.

YI, L. et al. The impact of climate variability on infectious disease transmission in China: Current knowledge and further directions. **Environmental Research**, v. 173, n. March, p. 255–261, 2019.

ZEZZO, L. V. et al. Doenças Infecciosas No Contexto das Mudanças Climáticas E da Vulnerabilidade Socioambiental. **Revista Brasileira de Climatologia**, 2021.