



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE
AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**A IMPORTÂNCIA DOS *ANOPHELES DARLINGI* ROOT, 1926 E
ANOPHELES MARAJOARA GALVÃO E DAMASCENO, 1942 NA
TRANSMISSÃO DE MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ/AP -
BRASIL**

ALLAN KARDEC RIBEIRO GALARDO

Belém-Pará

2010

ALLAN KARDEC RIBEIRO GALARDO

**A IMPORTÂNCIA DOS *ANOPHELES DARLINGI* ROOT, 1926 E
ANOPHELES MARAJOARA GALVÃO E DAMASCENO, 1942 NA
TRANSMISSÃO DE MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ/AP -
BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Instituto Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito final para obtenção do grau de doutor em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientadora: Prof. Dra. Marinete Marins Póvoa

Belém-Pará

2010

Galardo, Allan Kardec Ribeiro

A Importância do *Anopheles darlingi* Root, 1926 e *Anopheles marajoara* Galvão e Damasceno, 1942 na transmissão de malária no município de Macapá – AP - Brasil. Belém-Pará, 2010. 147p. Tese de Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

1. *Anopheles darlingi* 2. *Anopheles marajoara* 3. Malária
4. Sazonalidade 5. Infecção natural

ALLAN KARDEC RIBEIRO GALARDO

A IMPORTÂNCIA DOS *ANOPHELES DARLINGI* ROOT, 1926 E *ANOPHELES MARAJOARA* GALVÃO E DAMASCENO, 1942 NA TRANSMISSÃO DE MALÁRIA NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ/AP - BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito final para obtenção do grau de Doutor em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marinete Marins Póvoa
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS-PA

Membros Titulares: Prof^a. Dra. Maristela Gomes da Cunha
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA-PA

Prof^o. Dr. Edvaldo Carlos Brito Loureiro
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS-PA

Prof^o. Dr. Inocêncio de Sousa Gorayeb
Museu Paraense Emilio Goeldi – PA

Prof^o. Dr. Emerson Monteiro dos Santos
Laboratório Central de Saúde Pública do estado do Pará

Membro Suplente: Prof^a. Dra. Edilene Oliveira da Silva
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA-PA

Belém, 11 de março de 2010

“Amai os vossos inimigos: fazei o bem aos que vos odeiam e orai pelos que vos perseguem e caluniam. – Porque se somente amardes os que vos amam que recompensa teres disso?”

(Mateus, cap. V, 44-46)

A DEUS, que nos deu a vida, presenteou-nos com o livre arbítrio, abençoou-nos com a inteligência e deu-nos a força para lutar afim de conquistar os nossos ideais. Além disso, permite que possamos ser pessoas melhores e assim ajudar ao próximo. A ELE toda a nossa gratidão e respeito.

Aos meus PAIS Adalberto Galardo e Nair de Lourdes Ribeiro Galardo, pelo amor, dedicação, humildade e simplicidade e pelo exemplo de vida em amor que representaram para mim em toda a minha vida.

A minha ESPOSA, Clicia Denis Galardo pelo seu apoio e compreensão em todos os momentos da minha vida, fazendo-se sempre presente e dando coragem e força para transpor os obstáculos da vida, sendo assim a minha eterna companheira, amiga, e acima de tudo motivo de orgulho para mim.

A minha ORIENTADORA, Dra. Marinete Marins Póvoa, orientadora e amiga, que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis da minha vida profissional. Obrigado por me ouvir, por se preocupar com os meus problemas, por me defender em momentos em que todos me criticavam e pelas palavras de carinho e conforto espiritual.

AGRADECIMENTOS

A todas as pessoas que cruzaram o meu caminho nessa vida, mesmo que por alguns segundos, pois de alguma forma me auxiliaram a seguir esse caminho. A todos os meus amigos e a minha família.

As minhas filhas Allayne Campos Galardo, Hanna Beatriz Denis, Alicia Denis Galardo e ao meu filho Leonardo Campos Galardo.

A minha querida esposa pelas auxílio nas pesquisas bibliográficas e correção de textos.

Ao Diretor Presidente do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA), Dr. Benedito Victor Rabelo que em muito me ajudou na manutenção do nosso laboratório de Entomologia Médica, auxiliando nos momentos em que precisamos do apoio do diretor e amigo.

A diretora e amigos do Instituto Evandro Chagas (IEC) que em muito contribuíram para a realização das minhas pesquisas de laboratório.

Ao projeto PIATAMmar, por terem acreditado em nosso projeto de pesquisa dando o seu apoio financeiro às atividades de campo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará na figura do seu antigo coordenador Dr. Antônio Carlos do Rosário Vallinoto e do atual Dr. Sandro Percário pelo valioso auxílio em minha trajetória acadêmica.

Aos meus amigos de trabalho, Aderbal Amanajas Santana, Jorge Pereira Duarte, Francisco Redivaldo Almeida de Souza, José Claudio Cortes Mendes e Rosemeire Nascimento Amoras, por estarem trabalhando juntos a mim no Laboratório de Entomologia Médica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, auxiliando em todos os momentos da minha pesquisa.

Aos amigos, Izis Monica Carvalho Sucupira e Raimundo Tadeu Lessa de Souza, da seção de Parasitologia do Instituto Evandro Chagas que em muito me auxiliaram nas atividades de infecção natural.

A Dra. Dra. Maria Anice Sallum, do laboratório de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (USP), pela valiosa e fundamental colaboração nas dissecções e imagens fornecidas para esta tese.

Aos amigos da Coordenação de Vigilância em Saúde da Secretaria Estadual de Saúde do Amapá, Arianna Falcão, Rafaela pelo apoio e fornecimento dos dados de malária.

Ao companheiro Marcio Wendel do Instituto de Pesquisa Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, pelo valioso apoio na parte gráfica de minha tese.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	04
LISTA DE TABELAS.....	08
RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 MALÁRIA.....	11
1.2 EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA.....	13
1.2.1 Malária no mundo.....	13
1.2.2 Malária no Brasil.....	14
1.2.3 Malária no estado do Amapá.....	16
1.3 VETORES.....	18
1.3.1 Vetores nos continentes africano e asiático.....	21
1.3.2 Vetores nas Américas.....	21
1.3.3 Vetores no Brasil.....	22
1.3.4 Vetores no estado do Amapá	26
1.3.5 Biologia dos Vetores	29
1.3.5.1 Ovos	29
1.3.5.2 Larvas	31
1.3.5.3 Pupas	31
1.3.5.4 Adultos	32
1.3.6 Comportamento e hábitos de <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i>	35
1.3.6.1 <i>Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi</i> - Root, 1926	35
1.3.6.2 <i>Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis</i> - Lynch-Arribáizaga, 1878	36
1.3.7 Identificação morfológica das espécies dos mosquitos anofelinos	38
1.3.8 Coleção das formas adultas das espécies	38
1.3.9 Taxa de paridade	39
1.3.10 Hábitos hematofágicos e preferência alimentar	40
1.3.11 Infecção natural e IPHH (Índice de Picada Homem Hora)	43

1.4	MÉTODOS DE CONTROLE VETORIAL.....	44
1.4.1	Métodos para diminuir o contato homem/vetor.....	45
1.4.2	Métodos para reduzir a densidade vetorial.....	45
1.4.3	Métodos para diminuir a longevidade dos vetores.....	45
1.4.4	Controle biológico	46
1.4.5	Ordenamento do meio	46
1.4.5.1	Modificação ambiental	46
1.4.5.2	Manipulação ambiental	47
1.4.5.3	Modificação ou manipulação da habitação e do comportamento humano	47
1.4.6	Proteção pessoal	47
1.4.7	Controle químico	48
1.4.7.1	Aplicação espacial	48
1.4.7.2	Aplicação intradomiciliar.....	48
1.5	OBJETIVOS.....	49
1.5.1	Objetivo Geral	49
1.5.2	Objetivos Específicos	49
2	MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1	ÁREA DE ESTUDO	50
2.2	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE FORMAS ADULTAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS.....	53
2.2.1	Determinação do Índice de Picada Homem Hora (IPHH).....	56
2.2.2	Determinação da taxa de paridade	57
2.2.3	Separação do tórax e abdome	58
2.2.4	Hábitos hematofágicos e preferência alimentar	59
2.2.4.1	Coleta de mosquitos para determinação da taxa de mosquitos ingurgitados com sangue humano	59
2.2.4.2	Determinação do estágio alimentar	60
2.2.5	Coleta de informações meteorológicas	63
2.2.6	Obtenção de Geração F1 para obtenção de exúvias e mosquito adulto	63

2.2.7	Montagem de exúvias de larvas e pupas	66
2.2.8	Montagem de adultos em alfinetes entomológicos	67
2.2.9	Preparo de genitálias masculinas de mosquitos	68
2.2.10	Determinação da infecção pelo teste imunoenzimático (ELISA)	69
3	RESULTADOS	71
3.1	COLETA DE FORMAS ADULTAS	71
3.1.1	Diversidade e densidade anofélica	71
3.1.2	Sazonalidade das espécies coletadas	71
3.1.3	Comportamento hematofágico	73
3.1.4	Determinação do Índice de Picada Homem Hora (IPHH).....	78
3.1.5	Taxa de Paridade	78
3.1.6	Coleta de informações meteorológicas	82
3.1.7	Montagem de exúvias de larvas e pupas e genitália para confirmação de espécies	86
3.1.8	Montagem de adultos em alfinetes entomológicos	93
3.1.9	Hábitos de repouso e preferência alimentar	94
3.1.10	Digestão sanguínea	97
3.2	DETERMINAÇÃO DA INFECÇÃO NATURAL PELO TESTE IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)	99
4	DISCUSSÃO	103
5	CONCLUSÕES	112
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
	ANEXOS	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Casos de malária no mundo calculada por 1.000 habitantes no ano de 2006.....	15
Figura 2 -	Número de casos de malária, por mês de 2005 a 2008 no estado do Amapá.....	17
Figura 3 -	Distribuição de espécies de <i>Anopheles</i> no mundo	20
Figura 4 -	Distribuição de <i>Anopheles darlingi</i> no Brasil	23
Figura 5 -	Distribuição das espécies do <i>complexo albitarsis</i> no Brasil.....	25
Figura 6 -	Ciclo de desenvolvimento do <i>Anopheles</i>	30
Figura 7 -	Desenho de um exemplar adulto de anofelino	32
Figura 8 -	Aspectos morfológicos externos de mosquito anofelino adulto	33
Figura 9 -	Diferença morfológica das antenas entre machos e fêmeas.....	34
Figura 10 -	Ovários de fêmea do Gênero <i>Anopheles</i>	40
Figura 11 -	Localização da área de estudo.....	52
Figura 12 -	Residência na comunidade de Lagoa dos Índios onde foram realizadas as capturas mensais de três e doze horas (Ponto A).....	54
Figura 13 -	Residência na comunidade de Lagoa dos Índios onde foram realizadas as capturas mensais de três horas (Ponto B).....	54
Figura 14 -	Acondicionamento de mosquitos em copos entomológicos com alimentação açucarada.....	56
Figura 15 -	Extração de ovário com corte entre o VI e VII esternito.....	57
Figura 16 -	Separação do tórax e abdome com auxílio de um bisturi.....	58
Figura 17 -	Captura de mosquitos em repouso no peridomicílio com auxílio de capturadores a bateria	60
Figura 18 -	Captura de mosquitos em repouso no intradomicílio com auxílio de capturadores a bateria	61

Figura 19 - Gaiolas em campo para estudo de digestão sanguínea.....	62
Figura 20 - Gaiolas em campo para estudo de digestão sanguínea.....	62
Figura 21 - Captura e criação individual de anofelinos para obtenção de geração F1	65
Figura 22 - Montagem de mosquitos adultos em alfinete	68
Figura 23 - Percentual de espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	71
Figura 24 - Sazonalidade das espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008, na comunidade do Goiabal.....	72
Figura 25 - Percentual de espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008 no intra e peridomicílio.....	73
Figura 26 - Período de atividade hematofágica de <i>An. darlingi</i> no intradomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	76
Figura 27 - Período de atividade hematofágica de <i>An. darlingi</i> no peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	76
Figura 28 - Período de atividade hematofágica de <i>An. marajoara</i> no intradomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	77
Figura 29 - Período de atividade hematofágica de <i>An. marajoara</i> no peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	77
Figura 30 - Paridade de <i>An. darlingi</i> no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	79
Figura 31 - Paridade de <i>An. marajoara</i> no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	79
Figura 32 - Comparação da paridade entre as espécies <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	82

Figura 33 - Precipitação pluviométrica do estado do Amapá e <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> capturados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	84
Figura 34 - Percentual de paridade para <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> relacionados a precipitação pluviométrica no estado do Amapá	84
Figura 35 - Casos de malária registrados no estado do Amapá e precipitação pluviométrica no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	85
Figura 36 - Casos de malária registrados no estado do Amapá e densidade do <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	86
Figura 37 - Exúvias de larva e pupa de <i>Anopheles darlingi</i>	87
Figura 38 - Genitália masculina de <i>Anopheles darlingi</i>	88
Figura 39 - Mosquito adulto de <i>Anopheles darlingi</i>	89
Figura 40 - Exúvia de larva e pupa de <i>Anopheles marajoara</i>	90
Figura 41 - Genitália masculina de <i>Anopheles marajoara</i>	91
Figura 42 - Mosquito adultos de <i>Anopheles marajoara</i>	92
Figura 43 - Montagem de mosquitos para armazenamento na coleção entomológica	93
Figura 44 - Espécimes coletadas e acondicionadas na coleção entomológica do Instituto de Pesquisas Científicas e tecnológicas do estado do Amapá	94
Figura 45 - Vista dorsal do abdome mosquito do <i>Anopheles</i> , com os oito segmentos abdominais	97
Figura 46 - Tabela de digestão sanguínea por intervalos de tempo de seis horas após a alimentação sanguínea	98
Figura 47 - Taxa de infecção natural de <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> ao <i>P. falciparum</i> no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	101

Figura 48 - Taxa de infecção natural de <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> ao <i>P. vivax</i> (VK 210) no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	102
Figura 49 - Taxa de infecção natural de <i>An. darlingi</i> e <i>An. marajoara</i> ao <i>P. vivax</i> (VK 247) no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Lista de espécies coletadas no estado do Amapá (1948 a 2009).....	28
Tabela 2 -	Espécie e número de exemplares coletados mensalmente no período de outubro de 2007 a setembro de 2008, na comunidade do Goiabal	72
Tabela 3 -	Exemplares de mosquitos anofelinos coletados mensalmente no período de outubro de 2007 a setembro de 2008 no intra e peridomicílio, na comunidade do Goiabal.....	75
Tabela 4 -	Índice de Picada Homem Hora de <i>An. darlingi</i> no intra e peridomicílio no período de out. de 2007 a set. de 2008....	80
Tabela 5 -	Índice de Picada Homem Hora de <i>An. marajoara</i> no intra e peridomicílio no período de out. de 2007 a set. de 2008.	81
Tabela 6 -	Dados mensais de precipitação pluviométrica do estado do Amapá no período de out. de 2007 a set. de 2008	83
Tabela 7 -	Mosquitos ingurgitados coletados em repouso no intra e peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	95
Tabela 8 -	Mosquitos não alimentados coletados em repouso no intra e peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	96
Tabela 9 -	Espécies de mosquitos anofelinos infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	99
Tabela 10 -	<i>Anopheles darlingi</i> encontrados infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	100
Tabela 11 -	<i>Anopheles marajoara</i> encontrados infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	101

RESUMO

A malária no município de Macapá é principalmente peri urbana, áreas estas caracterizadas por ressaca, pela presença de fragmentos de floresta e assentamentos desordenados (invasões). O objetivo deste estudo foi verificar a importância dos *Anopheles darlingi* e *Anopheles marajoara* na transmissão de malária em Macapá. O estudo foi realizado de outubro de 2007 a setembro de 2008, na comunidade de Lagoa dos Índios, Macapá. Foram coletados 4.601 mosquitos, dos quais 3.029 foram *Anopheles marajoara* (65,8%), 917 *Anopheles darlingi* (19,9%), 429 *Anopheles braziliensis* (9,3%), 208 *Anopheles triannulatus* (4,5%), 18 *Anopheles peryassui* (0,4%) e cinco *Anopheles nuneztovari* (0,1%). Apenas 32,8% dos espécimes foram coletadas no intradomicílio (1.511) e 67,2% no peridomicílio (3.090). O Índice de Picada Homem Hora do *An. darlingi* no intradomicílio variou entre 0 a 6,5 e no peridomicílio de 0 a 22 picadas homem hora. Já para o *An. marajoara* a variação foi de 0 a 22 no intradomicílio e de 0 a 175,5 no peridomicílio. A análise das exúvias e da dissecação de genitália resultaram na confirmação das duas espécies estudadas, *An. darlingi* e *An. marajoara*, e que o *An. marajoara* é a única espécie do complexo albitarsis circulante na área. A abundância dos vetores flutuou associada com o padrão sazonal das chuvas. *An. darlingi* é mais abundante no final e início das chuvas, enquanto o *An. marajoara* esteve presente em alta densidade durante todo o período de chuvas. Dos 4.601 mosquitos testados, 100 foram positivos para plasmódios humanos pelo método de ELISA, resultando em uma taxa de infecção de 2,17%. Dos 3.029 *An. marajoara* testados 71 (2,34%) foram positivos e dos 917 *An. darlingi*, 28 (3,05%). Este estudo demonstrou que as duas espécies estudadas mantêm a transmissão de malária durante todo o ano, ratificando assim a importância das mesmas

ABSTRACT

Malaria in the municipality of Macapá is mainly peri urban, which are characterized by flooding area, presence of forest fragments and disorganized settlements. The aim of this study was to determine the importance of *Anopheles darlingi* e *Anopheles marajoara* in the malaria transmission in Macapá. The study was carried out from October 2007 to September 2008, in the Lagoa dos Índios community, Macapá. It was collected 4,601 mosquitoes, from which 3,029 were *Anopheles marajoara* (65,8%), 917 *Anopheles darlingi* (19,9%), 429 *Anopheles braziliensis* (9,3%), 208 *Anopheles triannulatus* (4,5%), 18 *Anopheles peryassui* (0,4%) and 5 *Anopheles nuneztovari* (0,1%). Only 32.8% (1.511) of the adult mosquitoes were collected indoors and 67.2% (3.090) outdoors. The index of the bites by man and by hour for *An. darlingi* in the intradomicile had ranged from 0 to 6.5 and in the peridomicile from 0 a 22. As for the *An. marajoara* the range was from 0 to 22 in the intradomicile and from 0 to 175.5 in the peridomicile. The analysis of the exuvia and the genitalia dissection had resulted in the confirmation of the two species, *An. darlingi* and *An. marajoara*, and that the *An. marajoara* is the only albitarsis complex specie that is circulating in the study area. The vectors abundance had flutuated associated with the sazonal pattern of the rain. *An. darlingi* is the most frequent at the beginning and end of the rain, while *An. marajoara* was present, in high density, during the rainy season. From the 4,601 tested mosquitoes, 100 were positive for human malaria parasites by the ELISA method with a infection index of 2.17%. The infection index for *An. marajoara* was 2,34% (71/3,029) and for *An. darlingi* 3.05% (28/917). This study had demonstrated that the two studied species are responsible for the malaria transmission maintenance during the whole year, thus confirming the importance of both.

1 INTRODUÇÃO

1.1 MALÁRIA

A malária é uma doença sistêmica causada por protozoários do gênero *Plasmodium* pertencente ao Filo Apicomplexa. Conhecida também como febre palustre, impaludismo ou febre intermitente, é transmitida ao homem pela picada de fêmeas do mosquito do gênero *Anopheles*, e é uma das parasitoses que mais afeta o homem.

Embora a origem da malária seja incerta, evidências históricas sugerem a sua existência desde os tempos mais remotos. A presença de febres intermitentes foi referida por diversos povos em diferentes épocas, com os relatos descritos pelos chineses em 1700 a.C. em tijolos na Mesopotâmia em 2000 a.C., nas descrições egípcias de 1570 a.C., assim como em escritos Vedas na Índia (1500 a 800 a.C.). No século IV a.C., Hipócrates na Grécia, foi o primeiro médico a descrever a doença clinicamente e a estabelecer sua relação com as estações do ano e o local onde as pessoas acometidas pela doença viviam.

No século XVII, o missionário peruano Juan Lopes, observou que os ameríndios empregavam a casca de uma árvore nativa, conhecida por “casca das febres” para fazer infusões de chá contra as febres. Em 1643, a droga conhecida como “pó dos jesuítas” foi levada para Roma pelo cardeal Juan de Lugo e usada no Hospital Santo Spiritu na cura dos soldados, reis e cardeais, espalhando-se a sua utilização por toda a Europa. A referida árvore foi descrita por Linnaeus em 1742 e recebeu o nome de *Cinchona ledgeriana*.

O princípio ativo do quinino foi isolado em 1820, em Paris por dois franceses, Joseph Caventou e Joseph Pelletier.

Em 1717, Giovanni Maria Lancini relacionou os mosquitos dos pântanos com a transmissão de malária. Em 1854, Louis Daniel Beauperthuy propôs a hipótese de que tanto a malária quanto a febre amarela eram transmitidas por mosquitos, depois de observar que tais doenças e os mosquitos estavam presentes nas áreas baixas (Laveran, 1905 apud Sucupira, 2006).

Em 1880, o médico francês Charles Alphonse Laveran observou e descreveu parasitas da malária no interior de glóbulos vermelhos humanos. Quase duas décadas depois, em 1897, o médico britânico Ronald Ross elucidou o modo de transmissão da doença, ao encontrar formas do parasita da malária no interior de um mosquito que havia se alimentado do sangue de um portador. O quadro completo do ciclo de desenvolvimento do parasita da malária no homem e na fêmea do mosquito *Anopheles* foi descrito pelos pesquisadores italianos Amico Bignami, Giuseppe Bastianelli e Batista Grassi, em estudos realizados entre 1898 e 1899.

Eram quatro as espécies de plasmódio que infectam o homem: *Plasmodium (Laverania) falciparum* (Welch); *Plasmodium (Plasmodium) malariae* (Grassi & Feletti); *Plasmodium (Plasmodium) ovale* (Stephens) e *Plasmodium (Plasmodium) vivax* (Grassi & Feletti). Lee *et al.*, 2009, descreveram a quinta espécie de plasmódio, denominado de *Plasmodium (Plasmodium) knowlesi*. Os plasmódios humanos são parasitos intracelulares

obrigatórios que infectam e destroem os eritrócitos durante seu ciclo assexuado (Lee *et al.*, 2009).

O ciclo do plasmódio é do tipo heteroxênico, sendo o homem o hospedeiro vertebrado e no qual ocorre a reprodução assexuada (esquizogonia) e o mosquito, hospedeiro invertebrado, responsável pela reprodução sexuada, a esporogonia (Gilles, 1993).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA

1.2.1 Malária no mundo

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, a malária mata mais de um milhão de pessoas por ano e outras 3,2 bilhões de pessoas estão vivendo em áreas de risco. Mais de 80% das mortes ocorre na África, onde aproximadamente 66% dessa população estão em área de risco (WHO, 2008).

Menos de 15% do total mundial de mortes por malária ocorre na Ásia, incluindo o leste Europeu, apesar da estimativa de que 49% da população desta região estejam vivendo em área de risco (WHO, 2008).

Nas Américas, 14% da população estão sob risco de transmissão, porém esta região representa uma pequena fração do total de mortes registradas no mundo. Desde o ano de 1990, o número de casos de malária relatados na América do Sul, Central e Caribe permanecem relativamente baixos, todavia há risco de transmissão de malária em nove países que fazem parte da região Amazônica e em oito países da América Central e Caribe (WHO, 2008). Em 1998, 38% da população habitavam em zonas de condições

ecológicas ideais à transmissão de malária o que contribuiu para o aumento no número de casos da doença. A transmissão de malária varia de acordo com as condições ecológicas, sócio-culturais e econômicas (Marquez & Gutierrez, 1994).

O clima tropical e a ecologia da África oferecem condições ideais para a proliferação do *An. gambiae*, principal vetor, que juntamente com o *P. falciparum*, parasito mais comum da malária nesta região, podem causar a doença e aumentar o risco de morte. Outros fatores importantes para o alto número de casos desta doença são: a pobreza e a falta de serviços de saúde de qualidade (WHO, 2008) (Figura 1).

1.2.2 Malária no Brasil

A transmissão de malária no Brasil está concentrada na Amazônia Legal, onde são registrados cerca de 99,5% do total dos casos (SVS, 2009), uma vez que fatores climáticos e ecológicos como temperatura, umidade, chuvas frequentes e vegetação em torno dos criadouros, favorecem o desenvolvimento dos anofelinos, pois aumenta a atividade vital, longevidade e ainda servem de abrigo natural (Motta, 1992).

A partir da década de 1970 houve um aumento dos casos na Amazônia, culminando no ano de 1999, com o registro de 635.646 casos. Este incremento deveu-se principalmente ao processo de colonização e às atividades de mineração sem a necessária estrutura de saúde para atender a população. No ano seguinte (2000) foram registrados mais de 611 mil casos da

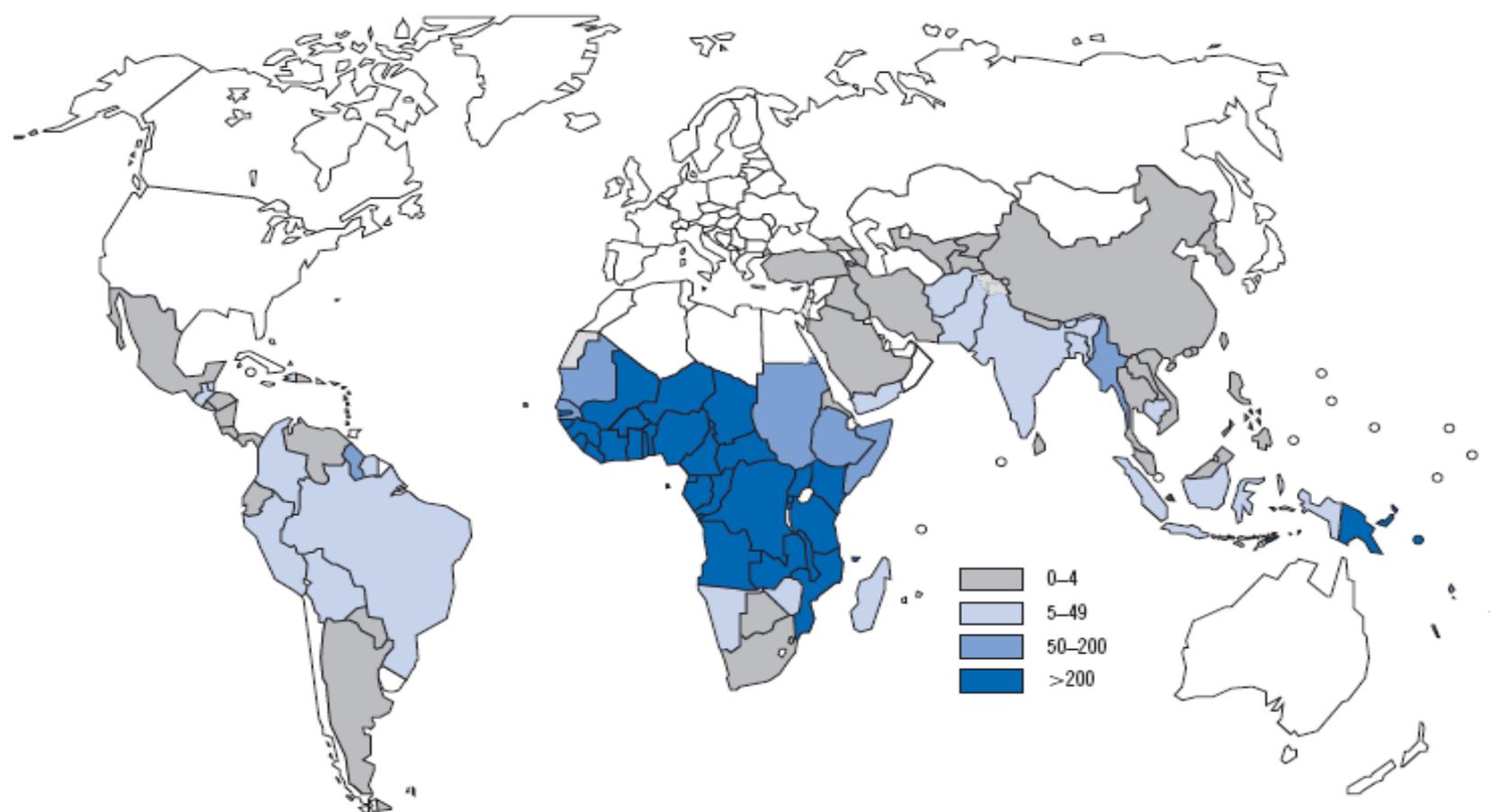


Figura 1 – Casos de malária no mundo calculada por 1.000 habitantes em 2006.

Fonte: World Health Organization, 2008.

doença no Brasil, sendo 99,4% destes oriundos da Amazônia Legal (OPAS, 1999; SVS, 2007).

A presença de florestas tropicais, condições sócio-culturais da população e movimentos migratórios foram fatores que contribuíram e contribuem para manutenção desta endemia na Amazônia (Martens & Hall, 2000).

No ano de 2008 foram registrados 314.676 casos autóctones de malária, sendo 46.093 (14,6%) casos de malária por *P. falciparum*, 265.530 (84,4%) de malária por *P. vivax*, 2.975 (0,9%) de malária mista e 78 (0,1%) casos de malária por *P. malariae* (SVS, 2009).

1.2.3 Malária no estado do Amapá

Em 2008 o estado do Amapá notificou 15.132 casos da doença, destes 2.712 (17,9%) casos de malária *falciparum*, 11.985 (79,2%) de malária *vivax*, 387 (2,6%) casos de malária mista e 48 (0,3%) de malária *malariae*. Neste ano o estado apresentou uma grande redução de casos em relação aos três anos anteriores (Figura 2). Já em 2009, a redução esta sendo mantida, visto que o número de casos registrados até novembro de 2009 foi 10.212 (SIVEP–Malária/SVS - 2009).

Os municípios que apresentam o maior número de casos de malária em 2008 foram: Oiapoque com 3.477 casos (23%), Porto Grande com 1.957 (12,9%), Calçoene com 1.822 (12,0%), Mazagão com 1.098 (7,3%) e Santana com 1.078 (7,1%). Esses municípios juntos somam 62,3% dos casos de malária do estado (SIVEP–Malária/SVS – 2009).

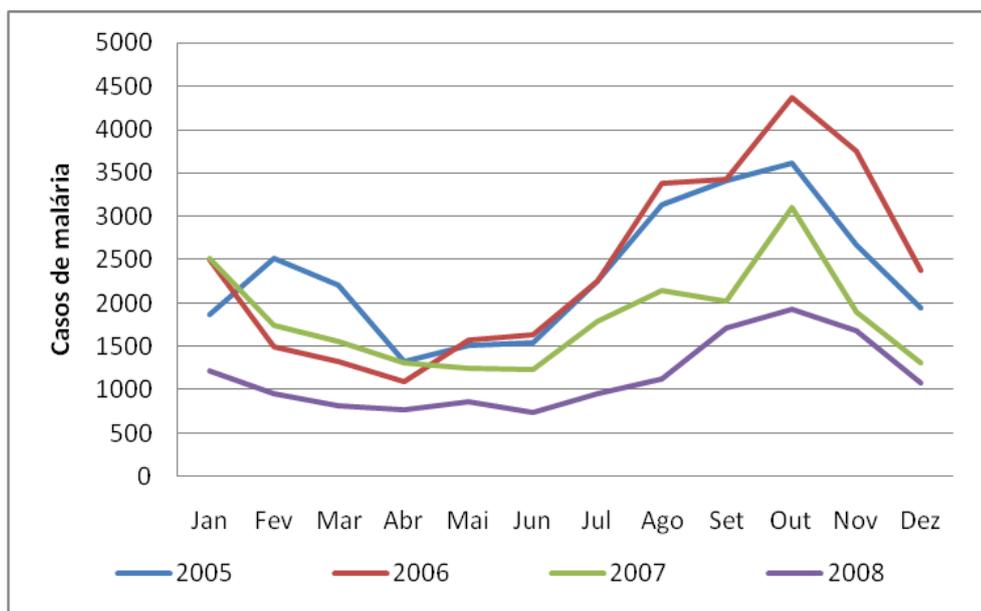


Figura 2 – Número de casos de malária, por mês de 2005 a 2008 no estado do Amapá.

Fonte: Sivep_malaria, 2009.

O município de Macapá é uma área com receptividade entomológica e vulnerabilidade para a transmissão da malária na área peri urbana, devido à presença das espécies vetoras *An. darlingi* e *An. albitarsis*. Tal situação, aliada a conjuntura sócio-econômica (existência de áreas de invasão), os mananciais aquáticos do estuário do rio Amazonas, as áreas de ressaca, bem como o intenso fluxo migratório, propiciam sua disseminação e a elevação dos indicadores epidemiológicos de incidência, expondo a população ao risco de contrair a doença. Apesar da distribuição dos casos de malária no município de Macapá se encontrar quase em sua totalidade em áreas distantes do grande centro urbano, em 2008 foram registrados apenas 478 casos de malária, o que equivale a 3,2% do total de casos registrados no estado (SIVEP–Malária/SVS – 2009).

1.3 VETORES

Os vetores da malária humana pertencem ao reino Animal, filo Arthropoda, classe Insecta, subclasse Pterygota, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae, subfamília Anophelinae, gênero *Anopheles* (Consoli & Oliveira, 1994).

Como já é de conhecimento geral as condições ecológicas, sócio-culturais e econômicas determinam a distribuição dos vetores da malária no mundo. Tais fatores influenciam diretamente a atividade do vetor (Tadei, 1998, Forattini, 2002).

O gênero *Anopheles* Meigen compreende no mínimo 484 espécies (Harbach, 2004) distribuídas em sete subgêneros: *Anopheles* Meigen, *Kerteszia* Theobald, *Nyssorhynchus* Blanchard, *Cellia* Theobald, *Stethomyia* Theobald, *Lophopodomyia* Antunes e *Baimaia* Harbach, Rattanarithikul e Harrison (Harbach *et al.*, 2005), sendo que apenas 50 são vetores de plasmódio humano e destes, cerca de 20 são importantes transmissores de malária ao homem (Pages *et al.*, 2007). A distribuição geográfica dos anofelinos é ampla (Figura 3) podendo ser encontrados em diversos ambientes, desde desertos às florestas tropicais (Kiszewski *et al.*, 2004).

No Brasil, os subgêneros de mosquitos anofelinos de importância na transmissão de malária são *Nyssorhynchus* e *Kerteszia*, sendo que no primeiro encontram-se as espécies consideradas vetores primários *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* Root 1926; *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *aquasalis* Curry 1932; espécies do complexo *albitarsis*; como *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *marajoara* Galvão e Damasceno, 1942 e *Anopheles* (*Nyssorhynchus*)

deaneorum Rosa-Freitas, 1989; e no segundo, os *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908; *Anopheles (Kerteszia) bellator* Dyar & Knab, 1906 e *Anopheles (Kerteszia) homunculus* Komp, 1937. Existem outras espécies *Anopheles (Nyssorhynchus) braziliensis* Chagas, 1907; *Anopheles (Nyssorhynchus) nuneztovari* Galbadon, 1940 e *Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus* Neiva & Pinto, 1922, que já foram encontradas naturalmente infectadas e que por isso podem ter papel secundário na transmissão de malária.

A malária na Amazônia, assim como em outras regiões tropicais, sofre variações com as estações do ano. Nessas regiões a temperatura é praticamente estável, mas os índices de umidade variam conforme a época do ano. Assim, o ritmo de propagação da malária se dá de acordo com as chuvas, e a estiagem diminui a proliferação de mosquitos contribuindo para o decréscimo do número de casos da doença (Wise *et al.*, 2006).

Os mananciais hídricos onde se desenvolvem as formas imaturas do *Anopheles* são conhecidas pelo nome genérico de criadouros. Neles, processa-se a oviposição e o desenvolvimento até a formação do adulto. Assim sendo, tanto os ovos como as larvas e pupas ocupam o mesmo ecótopo, cuja natureza e conhecimento são de interesse epidemiológico (Forattini, 2002).

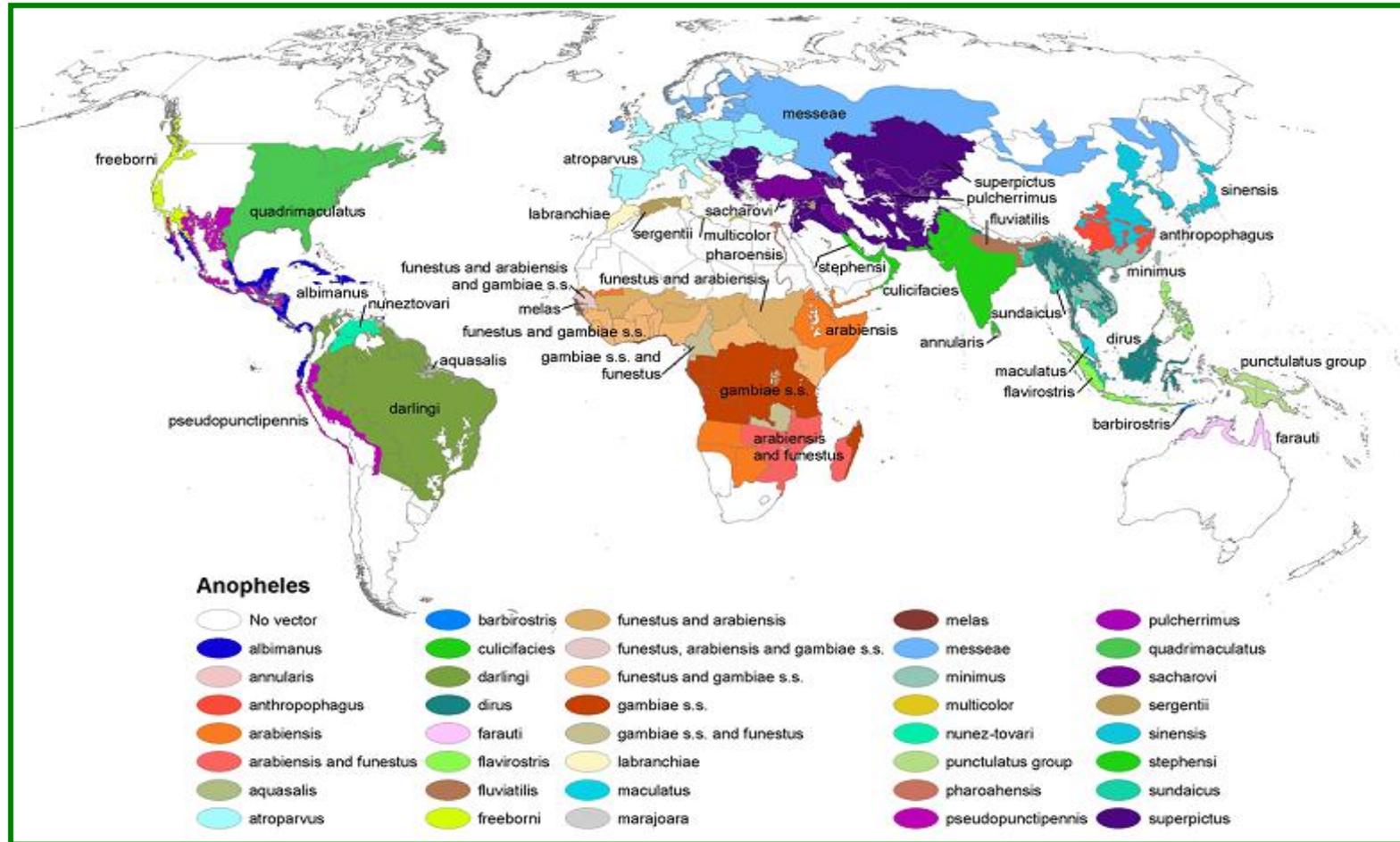


Figura. 3 – Distribuição de espécies de *Anopheles* no mundo.

Fonte: WHOPES 2005.

Ao longo de sua evolução, os mosquitos desenvolveram o comportamento de se adaptarem a diferentes condições bióticas e abióticas dos locais de criação. A adaptação às diversas situações traduz-se atualmente pela multiplicidade de processos de oviposição, de crescimento embrionário, de eclosão e de desenvolvimento das formas imaturas. Tal ecletismo garante a sobrevivência nos meios modificados pelo homem (Becker, 1989).

Os anofelinos preferem criadouros que possuam águas límpidas, com certa profundidade, sombreadas, com vegetação flutuante e com pouco teor de sais e matéria orgânica (Consoli & Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

1.3.1 Vetores nos continentes africano e asiático

No continente africano o *An. (Myzomyia) gambiae*, *sensu strictu* Giles, 1902 e o *An. (Myzomyia) funestus* Giles, 1900 são os principais transmissores da malária, ao lado de espécies pertencentes ao complexo *gambiae*, como os *An. arabiensis* Patton, 1905, que tem grande importância na transmissão de malária (Collins & Besansky, 1994; WHO, 2008).

1.3.2 Vetores nas Américas

O *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi*, vetor principal, é um mosquito encontrado desde o sul do México (Chiapas) até a Nicarágua, na América do Sul é encontrado na Colômbia, leste da Cordilheira dos Andes, Venezuela, Bolívia, Peru, Brasil, Argentina, Paraguai e Guianas (Consoli & Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Outra espécie importante é *An. (Nys) aquasalis* Curry, 1932, presente em uma faixa que vai do município de Peruibe em São Paulo até a Costa Rica, beirando o Oceano Atlântico. Seguindo até o Golfo de Guaiquil, no Equador. Também, é encontrada nas Antilhas, em Trinidad e Tobago (Consoli & Oliveira, 1994).

Destacam-se ainda os *An. (Nys) albimanus* Wiedemann, 1821, encontrado no México, Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá, Colômbia, Republica Dominicana e Equador, *An. (Nys) nuneztovari* Galbadón, 1940, está presente na Colômbia e Venezuela; *An. (Nys) pseudopunctipennis* Theobald, 1901, na Bolívia, Panamá, Nicarágua, México, Peru e Argentina e *An. (Ker) bellator* Dyar e Knab, 1906, na Venezuela, nas Guianas e Trinidad e Tobag, (Rodriguez *et al.*, 1992; Rubio-Palis, 1992; Loyola *et al.*, 1993).

1.3.3 Vetores no Brasil

No Brasil foi registrada a presença de 55 espécies (Rebelo *et al.*, 2007) e aquelas pertencentes ao subgênero *Nyssorhynchus* são as responsáveis pela manutenção da malária na região Amazônica. Neste subgênero estão inseridas as principais espécies vetoras do Brasil: *An. darlingi* Root, 1926, *An. aquasalis* curry, 1932, *An. albitarsis* s.l. Arribalzága, 1878, além de outras espécies encontradas naturalmente infectadas como *An. braziliensis* Chagas, 1907, *An. nuneztovari*, *An. triannulatus* Neiva & Pinto, 1922, *An. strodei* Root, 1926, *An. galvaoi* Causey, Deane & Deane, 1945 entre outros (Deane, 1948; 1986; Klein *et al.*, 1991; Arruda *et al.*, 1998; Póvoa *et al.*, 2000).

O *An. darlingi* Root, 1926 é o principal vetor de malária no Brasil (Figura 4) em virtude de diversas características e a transmissão da doença em diversos locais da região Amazônica está estreitamente vinculada à presença desta espécie. O *An. darlingi* é altamente antropofílico, endofílico e apresenta taxas de sobrevivência maiores que de outros anofelinos (Kiszewski *et al.*, 2004), revelando-se capaz de manter a endemidade da malária em grau elevado mesmo quando presente em baixa densidade (Deane *et al.*, 1986).

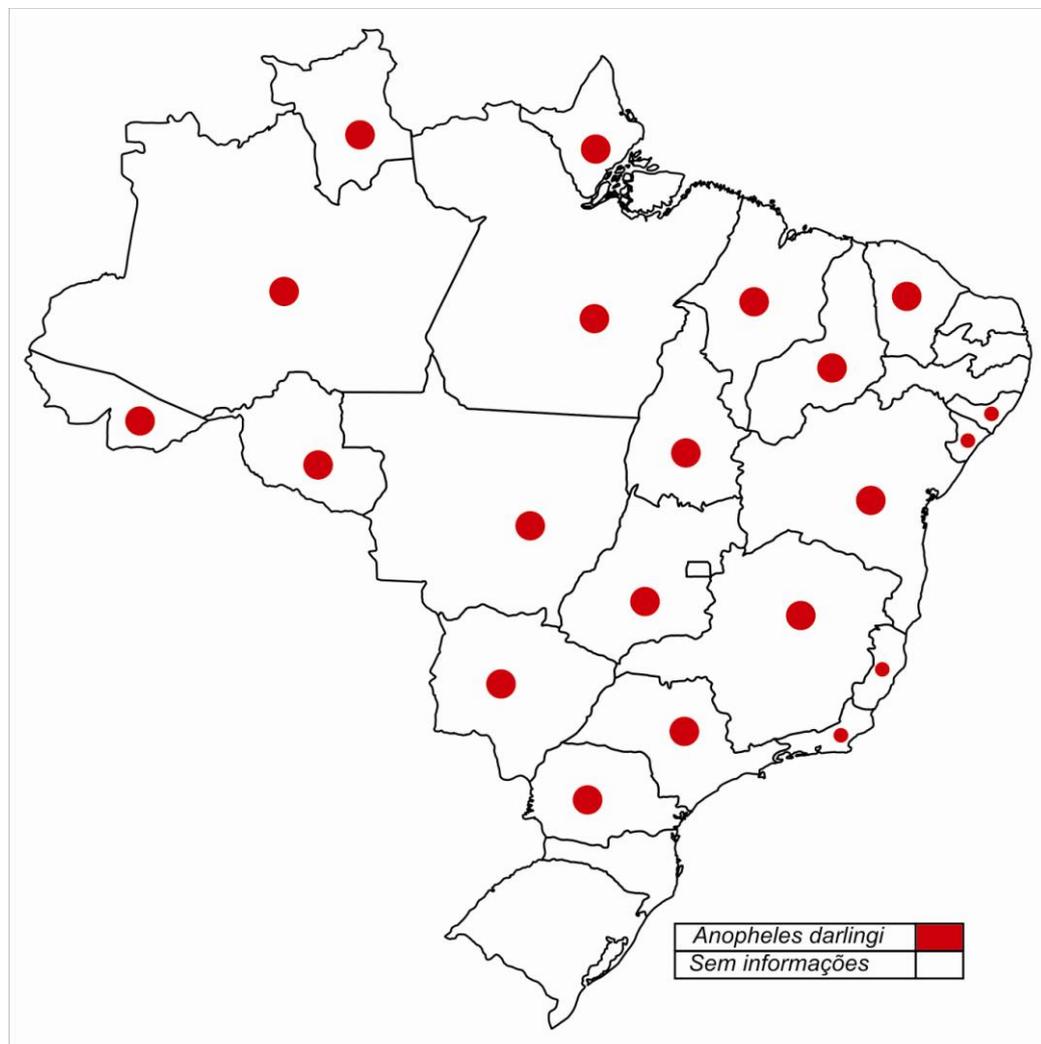


Figura 4. Distribuição de *Anopheles darlingi* no Brasil.

Fonte: SVS/MS – 2006.

Em relação ao subgênero *Kerteszia*, as principais espécies encontradas no Brasil são *An. (Ker) cruzii* Dyar e Knab, 1908 e *An. (Ker) bellator* Dyar e Knab, 1906, espécies neotropicais, com ampla distribuição na costa brasileira e são responsáveis pela transmissão de plasmódio humano em áreas recobertas pela Floresta Atlântica.

O *An. aquasalis* é um vetor cujo comportamento vetorial varia de acordo com a sua distribuição. Em algumas situações já foi considerado como um mosquito de hábitos de exofilia e zoofilia (Davis, 1931; Florez-Mendonça, 1994; 1996). Porém, tem apresentando comportamento endófilo e antropófilico em algumas localidades do Brasil (Costa-Lima, 1928; Lucena, 1946; Deane, 1986). Esta espécie é encontrada numa faixa litorânea longa e, de certa forma estreita, próximo ao paralelo 24° e 30' S (Peruíbe, São Paulo) até a Costa Rica, no lado Atlântico, e desde esse ponto até o Golfo de Guayaquil, no Equador, que é o seu limite sul na costa pacífica. Ocorre também nas Antilhas Menores, em Trinidad e Tobago (Consoli & Oliveira, 1994). *An. aquasalis* também tem sido considerado um importante vetor de malária nas áreas onde se encontra distribuído (Faran, 1980; Berti *et al.*, 1993; Santos, 2001).

O complexo *albitarsis* era formado por quatro espécies: *An. albitarsis* s. s., *An. deaneorum*, *An. marajoara* e *An. albitarsis* **B** (Wilkerson, 1995). Póvoa e colaboradores em 2006 descreveram mais uma espécie, o *An. albitarsis* **E**, encontrado na cidade de Boa Vista – Roraima - Brasil, e recentemente na Colômbia foi descrito o *An. albitarsis* **F** (Brochero *et al.*, 2007). As espécies deste complexo estão distribuídas por quase todo continente sul-americano sendo comum e amplamente distribuído no Brasil (Consoli & Oliveira, 1994) (Figura 5).

Recentemente, Motoki *et al.*, 2009, denominaram as duas espécies recentemente encontradas e descritas, *An. albitarsis* **B** e *An. albitarsis* **E**, como *An. oryzalimnetes* e *Anopheles janconnae*, respectivamente.

Foi demonstrado que espécies deste complexo são antropofílicas e parcialmente endofílicas e tão suscetíveis ao *P. vivax* e *P. falciparum* quanto o *An. darlingi* (Forattini, 1962b; Klein *et al.*, 1991; Branquinho *et al.*, 1993; Sucupira, 2006).

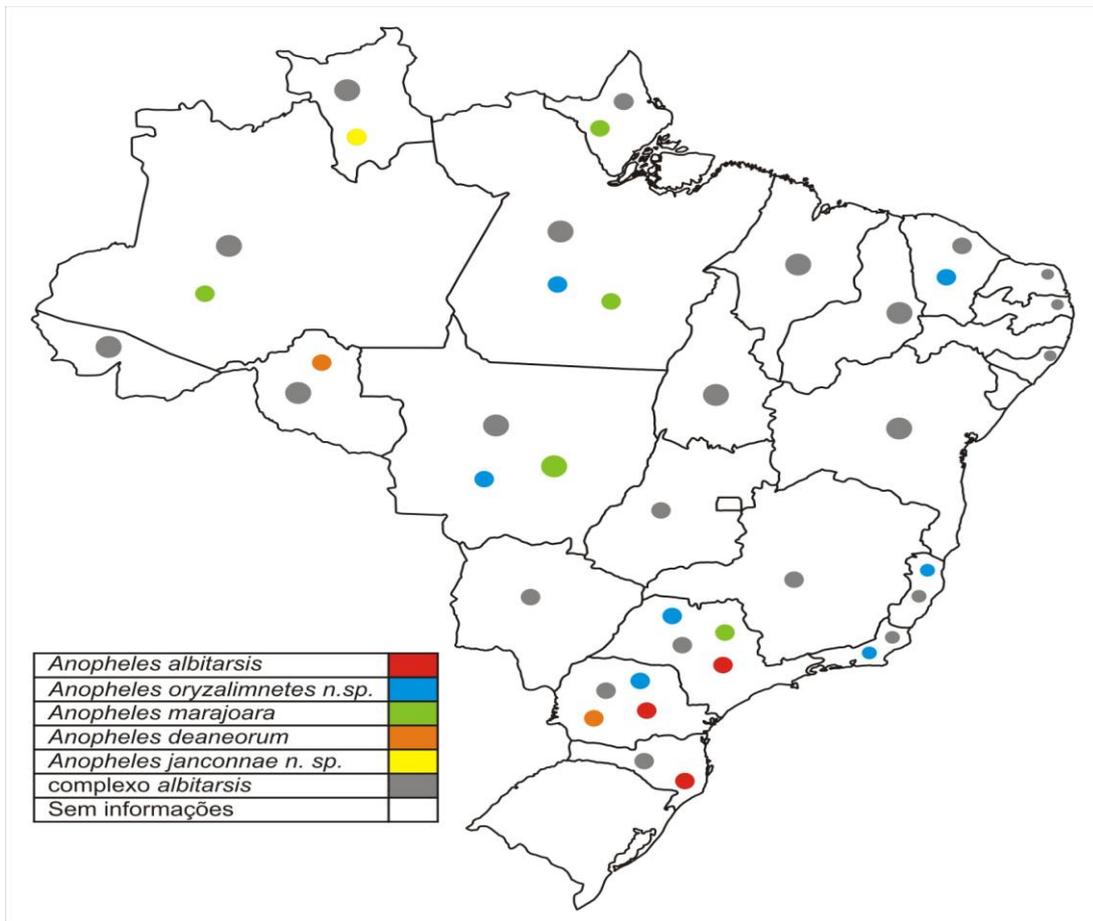


Figura 5. Distribuição das espécies do *complexo albitarsis* no Brasil.

Fonte: Segura, 1998; SVS, 2006; Motoki *et al.*, 2009.

1.3.4 Vetores no estado do Amapá

Deane e colaboradores em 1948 realizaram levantamento entomológico no atual estado do Amapá, onde foram registradas várias espécies de mosquitos anofelinos: *An. darlingi* (1.779 espécimes), *An. pessoai* (965), *An. aquasalis* (717), *An. peryassui* (594), *An. albitarsis* (247), *An. nuneztovari* (137), *An. triannulatus* (119), *An. intermedius* (42), *An. konderi* (25), *An. mediopunctatus* (05), *An. matogrossensis* (05) e *An. minor* (01) (Tabela 1).

Cerqueira (1961) realizou diversas coletas de mosquitos anofelinos neste mesmo estado, onde foram registradas as seguintes espécies: *An. darlingi*, (Macapá, Amapá, Mazagão, Oiapoque e Ponta dos Índios), *An. albitarsis*, (Macapá, Amapá, Mazagão e Oiapoque), *An. aquasalis*, (Macapá, Amapá, e Oiapoque), *An. triannulatus*, (Macapá, Amapá, e Oiapoque), *An. braziliensis*, (Macapá, Amapá, Mazagão e Oiapoque), *An. nuneztovari*, (Macapá, Amapá, Mazagão, Oiapoque e Ponta dos Índios), *An. oswaldoi*, (Macapá, Amapá, Mazagão, Oiapoque e Ponta dos Índios), *An. peryassui*, (Macapá e Amapá), *An. mediopunctatus*, (Macapá, Amapá e Oiapoque), *An. nimbus*, (Macapá, Amapá e Oiapoque), *An. matogrossensis*, (Amapá) *An. gilesi*, (Macapá) *An. intermedius*, (Macapá, Amapá e Oiapoque) *An. minor*, (Oiapoque) e *An. shannoni*, (Macapá) (Tabela 1).

Em 1994, Souto em estudo realizado no Parque Zoobotânico da cidade de Macapá, estado do Amapá, em áreas de floresta e savana, identificou seis espécies de anofelinos *An. triannulatus*, *An. oswaldoi*, *An. intermedius*, *An. nuneztovari*, *An. braziliensis* e *An. albitarsis* (Tabela 1).

Em 1998, Tadei e colaboradores realizaram pesquisas de campo

coletando mosquitos anofelinos adultos em garimpos do Amapá, encontrando 12 espécies: *An. matogrossensis*, *An. peryassui*, *An. mediopunctatus*, *An. argyritarsis*, *An. brazilensis*, *An. darlingi*, *An. evansae*, *An. galvaoui*, *An. nuneztovari*, *An. oswaldoi*, *An. rangeli* e *An. triannulatus* (Tabela 1).

Segura (1998) realizou estudo entomológico em três localidades periurbanas do município de Macapá, encontrando nove espécies: *An. darlingi*, *An. marajoara*, *An. matogrossensis*, *An. braziliensis*, *An. peryassui*, *An. nuneztovari*, *An. triannulatus*, *An. intermedius* e *An. aquasalis* (Tabela 1).

Póvoa *et al.* (2001) conduziram estudos em seis localidades do município de Serra do Navio coletando 3.053 espécimes, de 14 espécies, sendo as mais prevalentes *An. albitarsis s.l.* (64,4%), *An. braziliensis* (16,7%), *An. nuneztovari* (9,5%) e *An. triannulatus* (5,8%), as outras espécies coletadas foram *An. oswaldoi*, *An. darlingi*, *An. peryassui*, *An. minor*, *An. intermedius*, *An. mediopunctatus*, *An. rangeli*, *An. evansae*, *An. neivai* e *An. argyritarsis* (Tabela 1).

Branquinho *et al.*, 2001 e Voorhan (2002) em estudos conduzidos nas mesma comunidade ribeirinha, São Raimundo do Pirativa do município de Santana, descreveram a existência das mesmas seis espécies: *An. darlingi*, *An. albitarsis*, *An. braziliensis*, *An. nuneztovari*, *An. oswaldoi* e *An. triannulatus* (Tabela 1).

Conn *et al.*, (2002; 2006) coletaram nos municípios de Macapá (comunidades de Lagoa dos Índios e Granja Alves) e Santana as espécies *An. darlingi* e *An. marajoara* (Tabela 1).

Souto (2003) ao realizar inventário da fauna culicidiana nas

1.3.5 Biologia dos vetores

Os anofelinos são insetos holometábolos, isto é, tem metamorfose completa em seu processo de desenvolvimento, desenvolvendo-se de ovo até adulto, passando por larva (quatro estádios larvais) e pupa (Forattini, 2002) (Figura 6).

1.3.5.1 Ovos

Os ovos dos anofelinos são postos sobre a superfície da água, possui aspecto alongado, simetria bilateral apresentando flutuadores laterais, o que permite sua flutuação (Consoli & Oliveira, 1994). O tamanho e forma destes flutuadores variam de acordo com a espécie e algumas vezes entre os próprios indivíduos de uma mesma espécie (Fleming, 1992). Esses ovos são postos individualmente quando as fêmeas repousam sobre a vegetação ou em detritos na superfície da água ou simplesmente os deixam cair enquanto voam sobre os criadouros. O número de ovos depositados em cada postura varia de 75 a 150 e geralmente eclodem em dois ou três dias a temperatura entre 25°C e 30°C, contudo, podem demorar mais dias dependendo da espécie e da temperatura (Forattini, 1962a; Oliveira-Ferreira *et al.*, 1992; Consoli & Oliveira, 1994). Normalmente não resistem à dessecação, embora existam algumas espécies que resistem por poucas horas a dessecação total ou parcial por semanas em solo úmido (Forattini, 2002).

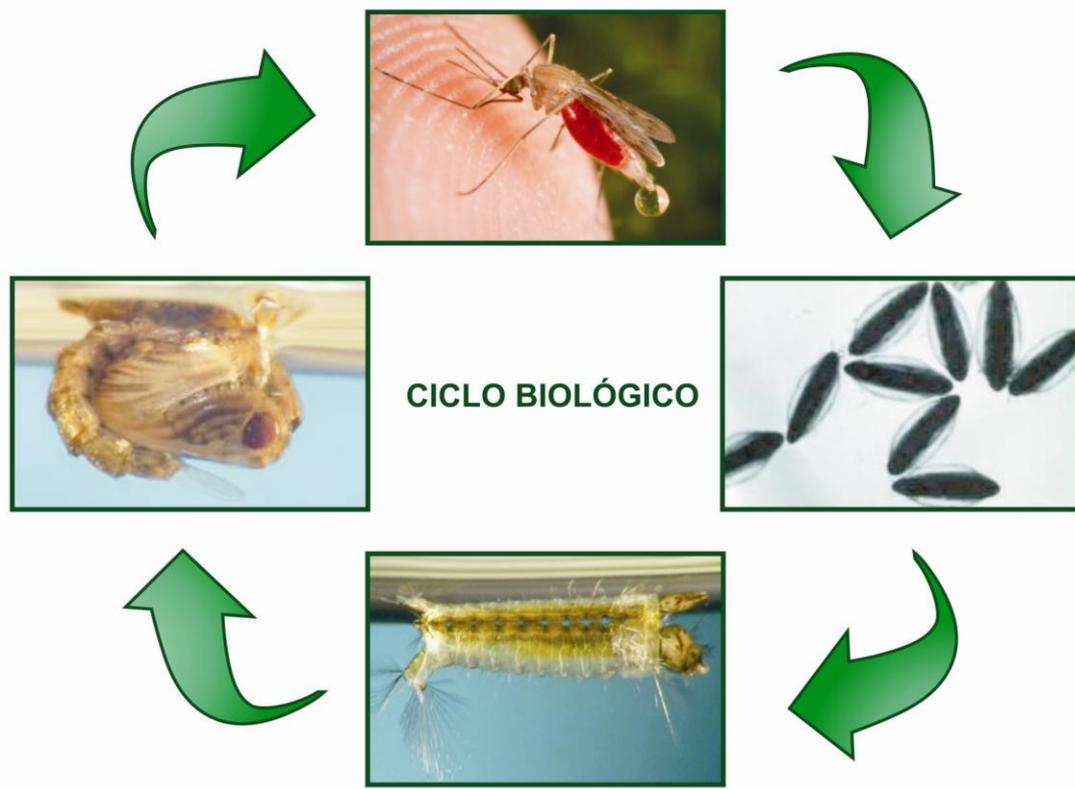


Figura 6 - Ciclo de desenvolvimento do *Anopheles*.

Fonte: Ovos: Entomology and Plant Pathology, Oklahoma State University (www.ento.okstate.edu/mosquito/biology.html); Larva: Larvae hatch from the eggs, and pass through 4 stages; Pupa: The adult (imago) mosquito emerges from the pupa. © Stephen L. Dogett, NSW Arbovirus Surveillance & Vector Monitoring Program; Adulto: http://www.cdc.gov/malaria/ppt/freeborni_sequence.pps

1.3.5.2 Larvas

As larvas dos mosquitos anofelinos são semelhantes aos demais mosquitos, apresentam aspecto vermiforme com o corpo nitidamente dividido em cabeça, tórax e abdome, sendo os dois primeiros tagmas bastante globosos e o abdome semicilíndrico com oito segmentos (Consoli & Oliveira, 1994; Fleming, 1992). Em geral, elas precisam de sete a dez dias para o desenvolvimento, mas isso pode variar de acordo com a espécie, fatores abióticos (temperatura, luz, salinidade...) e bióticos (vegetais, predadores, alimentos disponíveis...) (Consoli &

Oliveira, 1994). Elas são facilmente distinguidas dos outros culicíneos pela ausência do sifão respiratório posterior, que é substituído por um aparelho espiracular localizado dorsalmente e que não se projeta visivelmente do corpo (Forattini, 2002) e por sua posição de repouso, paralela à superfície da água (Ricciardi, 1978; Fleming, 1992). Seus habitats são variados e as espécies da América tropical usam água não contaminada como lagoas, lagos e margens. Os microhabitats são formados por vegetação flutuante ou emergente como algas e entre detritos flutuantes (Forattini, 1962a; Fleming, 1992; Manguins *et al.*, 1996).

1.3.5.3 Pupas

As pupas de anofelinos são geralmente inativas, mas se movem com grande agilidade quando ocorrem distúrbios na água. É nesta fase que ocorre o maior processo de metamorfose (Fleming, 1992), onde deixam de ser aquáticas para se tornarem aladas. Essas pupas flutuam na superfície quando estão em repouso, respirando através das trombetas respiratórias, que se projetam para cima, desde o tórax. Diferem das dos demais culicíneos pela presença da cerda nove (espinho rígido na margem lateral posterior que está situado nos segmentos abdominais III a VII) e pela sua forma e tamanho. Nesta fase, que dura de dois a três dias, as pupas não se alimentam (Forattini 1962a; Consoli & Oliveira, 1994). As pupas dos machos são um pouco menores que as das fêmeas e os machos adultos emergem uma hora antes que as fêmeas (Fleming, 1992).

1.3.5.4 Adultos

Os mosquitos adultos se diferenciam morfologicamente por seu escutelo (lóbulo transversal em seu dorso e tórax, posterior ao escudo) que é curvo em toda a sua extensão em vez de trilobado como no gênero *Chagasia* e outros culicídeos (Fleming, 1992).

Os mosquitos anofelinos apresentam o corpo dividido em cabeça, tórax e abdome (Figura 7).

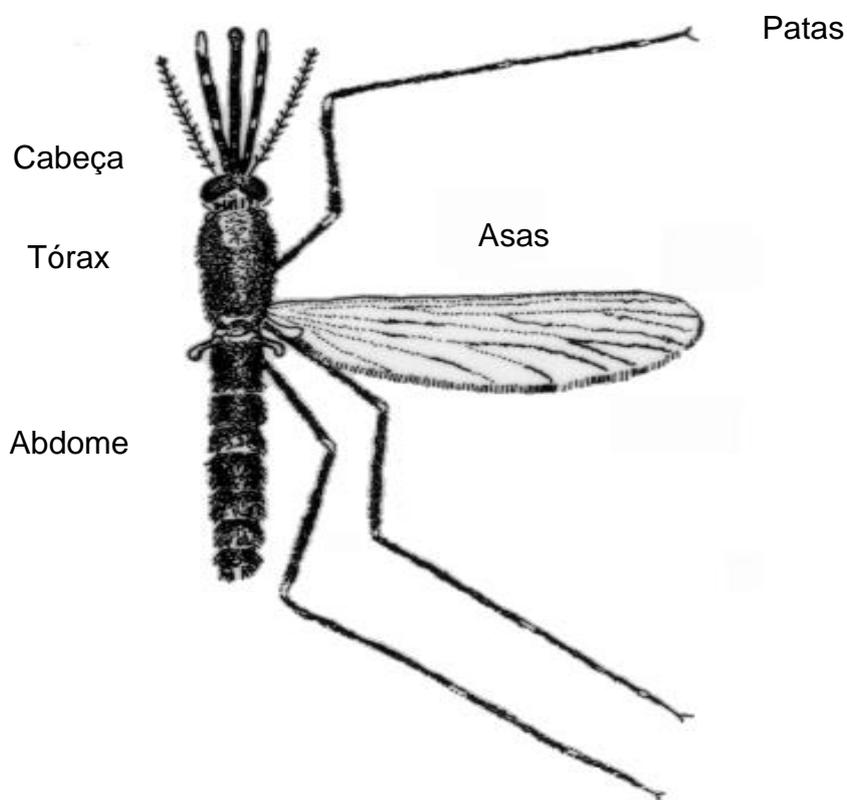


Figura 7 – Desenho de um exemplar adulto de anofelino.

Fonte: Manual de Captura, Manejo e Preservação de Anofelinos – Dra. Mercia Arruda - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fundação Oswaldo Cruz. 2003.

Na cabeça encontram-se os principais órgãos dos sentidos: olhos compostos, antenas, palpos e ainda o aparelho bucal tipo picador. No tórax são

encontradas as pernas (2 anteriores, 2 médias e 2 posteriores), duas asas cobertas de escamas claras e escuras e os halteres chamados também balancins que são asas vestigiais (Figura 8). O aparelho digestivo, reprodutor e excretor encontra-se no abdome (Consoli & Oliveira, 1994).

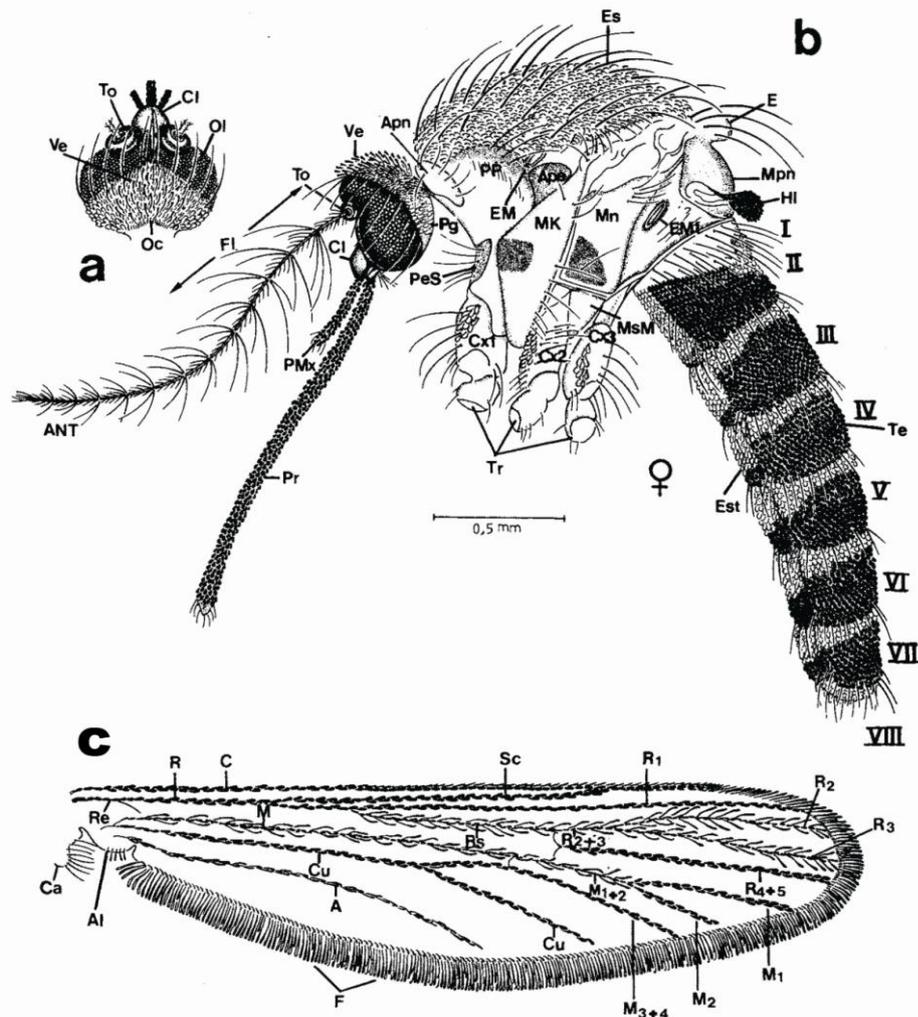


Figura 8 – Aspectos morfológicos externos de mosquito anofelino adulto (a: Cabeça; b: Cabeça, Tórax e abdome, vista lateral; c: asa.

Fonte: Consoli e Oliveira, 1994.

Os mosquitos adultos machos se diferenciam das fêmeas por seus pêlos mais longos nas antenas. Já as fêmeas podem ser diferenciadas dos

demais gêneros pelos palpos maxilares tão longos quanto à probóscida, enquanto as dos outros gêneros não ultrapassam mais que um quinto do tamanho da probóscida (Forattini 1962a) (Figura 9). As fêmeas necessitam de sangue para a maturação e desenvolvimento de seus ovos, e aumento da longevidade (Consoli & Oliveira, 1994).

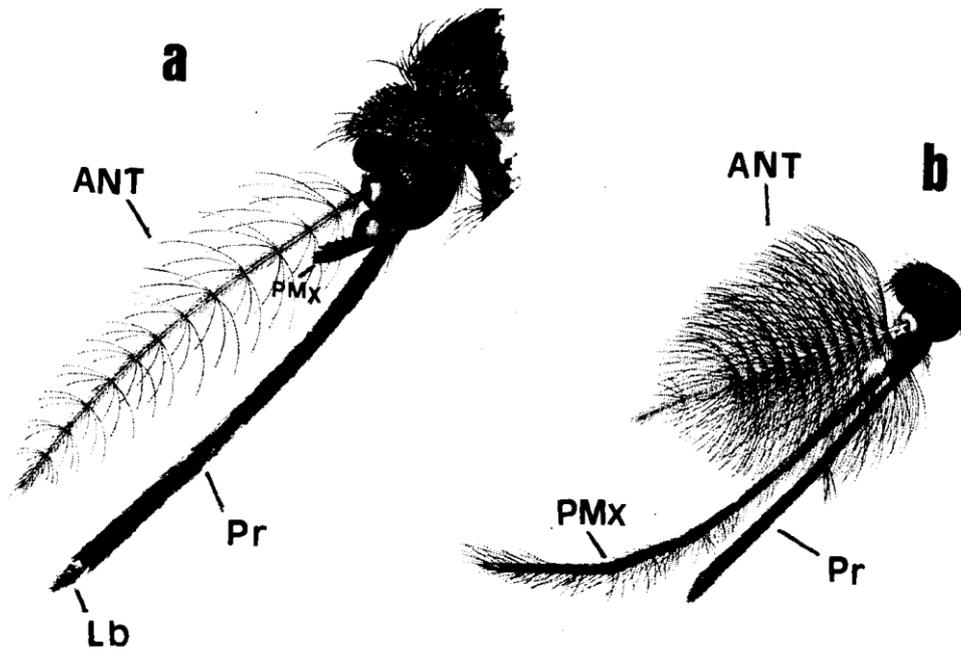


Figura 9 – Diferença morfológica das antenas entre machos e fêmeas (**a** – fêmea, **b** – macho) – ANT: antena; PMx: Palpo maxilar; Pr: probóscida; Lb: labela.

Fonte: Consoli & Oliveira, 1994.

Os mosquitos anofelinos são espécies eurigâmicas cuja cópula depende da formação de enxames para o acasalamento, e esse acasalamento ocorre geralmente durante o vôo (Consoli & Oliveira, 1994).

1.3.6 Comportamento e hábitos de *An. darlingi* e *An. marajoara*

1.3.6.1 *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* - Root, 1926

Classicamente, admite-se que os criadouros deste anofelíneo sejam representados por coleções de águas límpidas, com certa profundidade, sombreadas, dotadas de vegetação flutuantes ou emergentes e pobres em sais e matéria orgânica. Em épocas chuvosas e em ocasiões de grande produtividade, podem ser encontradas formas imaturas em vários tipos de coleções, como diversas depressões do terreno, valas, alagadiços, charcos e pântanos em campos abertos. Contudo, em virtude desse mosquito ter elevada sensibilidade aos baixos teores de umidade, desaparece em tais ambientes assim que cessa a pluviosidade. Dessa maneira, em condições naturais, os habitats das formas imaturas são mais comumente encontrados em remansos de rios e cursos d' água de porte variável. Devido a estas características o *An. darlingi* tem sido considerado como anofelino "fluvial" (Roberts *et al.*, 1996). O estudo do curso dos rios permite verificar a presença dessa população culicídea, mediante o estudo do regime das águas, visto que nas curvas dos rios, a velocidade do líquido diminui sensivelmente, chegando mesmo a parar. Daí a tendência ao acúmulo de detritos de plantas aquáticas flutuantes, como *Eichhornia sp.* ("aguapé"), *Salvinia sp.* e *Pistia sp.*, as quais oferecem ambiente favorável às larvas, permitindo-lhes o desenvolvimento (Tadei *et al.*, 1983; Hudson, 1984). Na América Central a associação de fatores representados por sombreamento parcial, a presença de vegetação submersa (*Cabomba*) e algas mostrou-se significativa para os criadouros desse mosquito (Manguins *et al.*, 1996).

O *An. darlingi* é o mais antropofílico e de comportamento endófilo mais acentuado entre os anofelinos, já que costuma se alimentar do homem dentro das casas (Deane *et al.*, 1948; 1986; Consoli & Oliveira, 1994). Esta espécie normalmente costuma fazer sua alimentação sanguínea no período crepuscular e noturno, (Forattini, 2002). É a principal espécie vetora de malária humana no Brasil, susceptível aos plasmódios humanos e possui a capacidade de transmitir a doença mesmo em baixa densidade (Deane *et al.*, 1948). É a espécie que melhor se adapta as alterações produzidas no ambiente silvestre, pois a substituição das florestas por pastagens, plantações ou garimpos afasta os mosquitos de hábitos mais silvestres e propicia ambiente favorável ao desenvolvimento deste vetor provocando aumento da sua densidade (Consoli & Oliveira, 1994).

A consideração que o *An. darlingi* era o vetor mais ativo na transmissão de malária, permaneceu por muitos anos, até que em 1986 Arruda e colaboradores demonstraram que outras espécies *An. albitarsis* s.l., *An. nuneztovari*, *An. oswaldoi* e *An. triannulatus*, estavam naturalmente infectadas com plasmódios humanos e poderiam transmitir malária. Estes resultados foram confirmados em estudos realizados em diferentes áreas da Região Amazônica do Brasil, por Klein *et al.*, 1990; Tadei *et al.*, 1993; Póvoa *et al.*, 1993; Branquinho *et al.*, 1993; 1996; Conn *et al.*, 2002; Galardo *et al.*, 2007).

1.3.6.2 - *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* - Lynch-Arribálzaga, 1878

As espécies deste complexo desenvolvem-se em vários tipos de criadouros, temporários ou permanentes, naturais ou artificiais. Todavia, parece

haver alguma freqüência em relação às áreas alagadas dotadas de vegetação emergente. Desta forma, pode-se entender a formação de criadouros a partir do uso antrópico inadequado de certas áreas (Forattini, 2002). Normalmente é encontrado durante o ano todo, porém é mais abundante na estação chuvosa (Consoli & Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

A coleta de formas imaturas em criadouros normalmente ocorre nas margens da vegetação, tanto em condições naturais como artificiais (Shannon & Del Ponte, 1927; Umana *et al.*, 1959; Forattini *et al.*, 1994). Assim sendo, as formas imaturas deste anofelino são encontradas em coleções hídricas de certo porte, como lagoas e represas, as quais podem, portanto, ser consideradas como criadouros permanentes por se manterem com água durante todo o ano (Berti *et al.*, 1993; Natal *et al.*, 1995).

As espécies deste complexo são consideradas como vetores secundários. No entanto, em algumas localidades são incriminadas como vetores principais de malária (Consoli & Oliveira, 1994; Forattini, 2002), como ocorre na cidade de Macapá e no município de Serra do Navio, ambos no estado do Amapá (Segura, 1998; Póvoa *et al.*, 2001; Conn, 2002; Galardo *et al.*, 2007).

1.3.7 Identificação morfológica das espécies de mosquitos anofelinos

Uma das atividades de grande importância nos estudos entomológicos é a perfeita identificação taxonômica dos mosquitos coletados, por ser fundamental para o estudo da biologia e ecologia dos insetos. A identificação incorreta acarreta a falsa incriminação de espécies que podem ser consideradas como vetoras e não identifica as espécies importantes na transmissão de malária.

Normalmente a identificação das formas imaturas e adultas é morfológica (aspectos externos) e realizada com o auxílio de chaves dicotômicas como as de Forattini, Deane, Consoli & Oliveira, Linthicum e etc...., Devido a constatação dos complexos, a diferenciação entre as espécies destes complexos tornou-se quase impossível. Assim, hoje é necessária a utilização de técnicas de identificação morfológica mais detalhada (Ex. genitália) e de biologia molecular.

1.3.8 Coleção das formas adultas das espécies

A função primária das coleções de história natural consiste em preservar indefinidamente espécimes e informações de suas relações com o meio ambiente de origem. Em outros termos, preservar conjuntamente, de modo indissociável, um objeto e as informações referentes ao tempo e ao local onde foi coletado (SPNHC, 1998).

As coleções entomológicas, mais especificamente, têm importância nos estudos relativos à agricultura, epidemiologia, medicina veterinária, controle biológico animal e vegetal, agropecuária, biogeografia e taxonomia.

A coleção de material biológico devidamente tratado, conservado e documentado de acordo com normas e padrões que garantam a segurança, acessibilidade, qualidade, longevidade, integridade e intercâmbio dos dados da coleção, pertencente à instituição científica tem por objetivo subsidiar pesquisa científica e tecnológica.

O Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá é credenciado como fiel depositária de amostras de componentes do

patrimônio genético (Anexo I) e assim recebe em suas coleções todas as amostras do herbário, fauna e entomofauna do estado do Amapá.

1.3.9 Taxa de paridade

A definição do percentual de paridade é um parâmetro importante para estimar a idade das populações, o que é de extrema importância quando se trata de insetos vetores de doenças. A longevidade das fêmeas de mosquitos é fator que influencia a sua eficácia, pois quanto maior sua idade fisiológica, maior é a possibilidade de ter entrado em contato com o agente infeccioso (Forattini, 1962a; 2002).

A avaliação da taxa de paridade é importante para verificar a capacidade vetorial de anofelinos e que também está diretamente ligada à densidade, proporção de picadas, antropofilia e sobrevivência da população (Deus & Kakitani, 2006).

Os ovários são compostos por ovariolos, os quais podem apresentar dilatações ou não. O número de dilatações encontradas nos ovariolos corresponde ao número de ovos produzidos anteriormente (Figura 10). Como nem todos os ovariolos entram em atividade a cada ciclo gonotrófico (é o intervalo entre as oviposições, espaço de tempo decorrido entre a postura e o novo repasto sanguíneo e nova oviposição), deve-se examinar o maior número possível de ovariolos (n° mínimo de seis), (Consoli & Oliveira, 1994). Os ovariolos enovelados (Figura 10 A) demonstram que a fêmea ainda não realizou a postura e neste caso a denominamos como nulípara, enquanto as que apresentam ovários com os ovariolos desenrolados (Figura 10 B) já efetuou a postura sendo então denominada como parida.

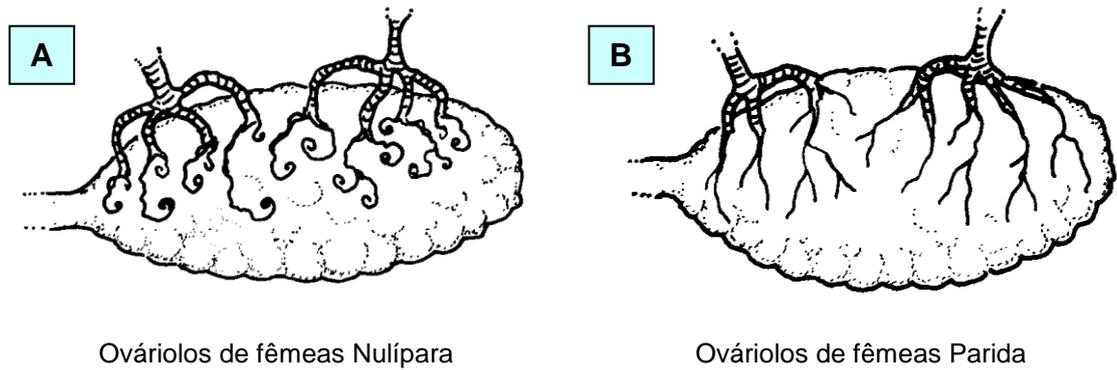


Figura 10. Ovários de fêmea do Gênero *Anopheles*

Fonte: Consoli e Oliveira, 1994.

A taxa de paridade é calculada em percentual de fêmeas paridas em uma determinada área estudada, dividindo-se o número de fêmeas paridas pelo número total de fêmeas dissecadas e multiplicando o resultado por cem.

1.3.10 Hábitos hematofágicos e preferência alimentar

Normalmente os mosquitos se alimentam (repasto sanguíneo) no período crepuscular e noturno. Esta hematofagia obedece a ciclos circadianos (nictimerais), isto é, periodicidade ao longo de período correspondente a 24 horas sucessivas. Podem ser observados horários de picos com atividade elevada, o que também pode ser influenciado por fatores ambientais e climáticos como temperatura, umidade, ventos e luminosidade do luar. Os picos são principalmente crepusculares (vespertinos como matutinos). Assim, os horários e o local do hábito de sugar são informações de importância epidemiológica. Como consequência, o anofelino que se alimenta no fim da tarde poderá transmitir a malária para pessoas que permanecem acordadas, enquanto que aqueles que apresentam hábitos noturnos se alimentaram de todos os moradores da casa que

não estejam protegidos. Os mosquitos anofelinos do extradomicílio são exofágicos por se alimentarem das pessoas nesses locais (Forattini, 2002).

Os hábitos de alimentação sanguínea dos anofelinos e seu padrão alimentar fazem parte de um conjunto de informações necessárias para o entendimento do comportamento de espécies em áreas de transmissão de malária, o que é de importância para subsidiar medidas adequadas de controle da doença (Flores-Mendoza, 1996; Marassá *et al.*, 2004).

Algumas populações de anofelinos se alimentam de sangue em um grande número de animais, enquanto outros têm essa capacidade restrita a poucas ou mesmo a uma única espécie de hospedeiro. Quando acontece esta preferência, o mosquito passa a adquirir hábitos que resulta em sua ligação com a fonte alimentar, passando a frequentar o local onde esta vive. No caso da preferência pelo homem o mosquito passa a manter seus hábitos alimentares no domicílio e tal fenômeno dá-se o nome de antropofilia. No caso de preferir o sangue de animais, denomina-se de zoofilia. Tais conceitos encontram-se estreitamente associados às endofilia-endofagia e exofilia-exofagia, respectivamente (Forattini, 2002).

Mediante a coleta de fêmeas que estejam ingurgitadas, torna-se possível identificar o sangue que foi ingerido e assim saber as preferências alimentares que uma determinada população anofélica apresenta.

Outra medida importante é analisarmos as fêmeas adultas que se encontram completamente alimentadas, ou seja, que tenha completado o repasto sanguíneo, e que esteja em repouso aguardando a sua digestão. Neste sentido é fundamental definirmos o tempo de digestão do sangue ingerido, estágio de Sella

(Sella, 1920). Este estágio define em quantas horas aproximadamente ocorreu o repasto sanguíneo, e é importante para estudarmos o ciclo gonotrófico da espécie.

Poucas espécies são suficientemente endófilas para repousar na própria habitação humana. Grande parte das espécies de anofelinos que sugam o sangue dentro das casas tende a abandoná-las após picar seus habitantes, procurando repouso no peridomicílio ou mesmo no extradomicílio.

Em estudos dos hábitos alimentares de anofelíneos em comunidades ribeirinhas do estado do Amapá, através de capturas com aspiradores a bateria, foi observada a preferência alimentar de três espécies importantes na transmissão de malária, avaliando-se a ingestão de sangue de humano, bovino, suíno, aves, roedores e cachorro, bem como a avaliação de repastos múltiplos. *An. nuneztovari* foi a espécie que mais apresentou repasto em mais de uma fonte alimentar (119). Nas alimentações com sangue humano o *An. darlingi* apresentou um percentual de 11,69%, o *An. marajoara* (13,13%) e *An. nuneztovari* (3,71%). Nos repastos sanguíneos com sangue animal, observou-se que o sangue bovino foi o mais encontrado no *An. darlingi* (56,56%) e *An. marajoara* (56,85). Já o *An. nuneztovari* teve preferência pelo sangue suíno (77,95%) (Zimmeman *et al.*, 2006).

As técnicas imunológicas para a detecção de sangue ingerido em artrópodes têm sido utilizadas desde os primórdios de 1900, quando King & Bull (1923) e Rice & Barber (1935) adaptaram a técnica da precipitina para determinar a fonte alimentar em mosquitos e outros insetos. Embora a técnica da precipitina tenha sido mais utilizada por muito tempo, havia limitações como sensibilidade e

especificidade baixas e exigência de grande quantidade de sangue, o que dificulta a utilização da mesma com insetos de pequeno porte (Marassá *et al.*, 2004).

A técnica imunoenzimática foi inicialmente desenvolvida para o diagnóstico de pacientes portadores de malária, sendo posteriormente adaptado para o estudo de hábito alimentar de culicídeos. Edrissian & Hafizi (1982) foram os primeiros a modificar o protocolo de Voller *et al.* (1974) para identificação de repastos em *An. stephensi* alimentados em voluntários e animais de laboratório. Dessa maneira, diversas modalidades do método foram introduzidas, dependendo particularmente da concentração de sangue ingerido, contido nas amostras e das informações que se deseja obter no estudo (Massará *et al.*, 2004).

Chow *et al.* (1993) reconheceram o potencial da técnica de ELISA para a identificação dos hospedeiros, dos quais os mosquitos e outros importantes artrópodes vetores obtiveram seu repasto sanguíneo. A versatilidade desta técnica pode ser vista pelo número de diferentes protocolos existentes e a escolha de um deles depende de fatores como a concentração do antígeno nas amostras a serem testadas e o tipo de informação desejada do ensaio.

1.3.11 Infecção natural e IPHH (Índice de Picada Homem Hora)

A taxa de infecção em mosquitos e o índice de picadas fornecem parâmetros para a estimativa da intensidade de transmissão da malária e da taxa de inoculação entomológica, que podem ser utilizadas como medidas de risco entre populações humanas expostas (Killen *et al.*, 2000).

Antes do desenvolvimento da técnica de ensaio imunoenzimático, baseada em anticorpos monoclonais específicos para a (CS) do esporozoíta, a

determinação dos transmissores de malária no Brasil vinha sendo feita pelo exame a fresco das glândulas salivares (Coutinho, 1947; Rachou, 1958). Na Amazônia, os pioneiros foram Davis (1931) que demonstrou a infecção no *An. darlingi* em Belém, e Shannon (1933) que encontrou essa mesma espécie infectada em Porto Velho. Logo após, Galvão e colaboradores mostraram em Belém que os transmissores eram *An. darlingi* e o *An. aquasalis* (Galvão *et al.*, 1942). Deane e colaboradores em 1947 demonstraram a infecção natural do *An. darlingi* em Rondônia, Amazonas, Pará e Amapá. Foi detectada infecção natural no *An. aquasalis* no Pará e Amapá, no *An. braziliensis* no Pará (Deane, 1989) e no *An. (kerteszia) cruzi* no litoral sul (Deane, 1986).

A técnica de ELISA veio revolucionar os estudos de campo da malária, pela sua capacidade de reconhecer a espécie plasmodial no hospedeiro invertebrado, além de permitir a utilização de mosquito morto, tornando possível seu processamento em laboratórios distantes das áreas malarígenas.

O índice de picada/homem/hora (IPHH) determina o número de mosquitos anofelinos que se alimentam no homem em determinados horários da noite.

1.4 MÉTODOS DE CONTROLE VETORIAL

Controle é toda ação que visa eliminar ou evitar o contato do mosquito com o homem, reduzindo ao máximo as possibilidades de se contrair a doença.

Dentre os métodos de controle de insetos podemos definir duas estratégias de eliminação do vetor. 1 na fase aquática (larvas) e 2 na fase adulta.

Atualmente é preconizada a utilização do controle seletivo do vetor, isto é, selecionar os métodos mais efetivos para controlar os vetores, com baixo custo e dentro da realidade local. Os métodos de controle são classificados como a seguir:

1.4.1 Métodos para diminuir o contato homem/vetor:

- ✚ Mosquiteiros impregnados ou não;
- ✚ Telagem de portas e janelas;
- ✚ Repelentes loções e elétricos;
- ✚ Atividades humanas nos horários de maior transmissão.

1.4.2 Métodos para reduzir a densidade vetorial:

- ✚ Ordenamento do meio;
- ✚ Larvicidas/controladores biológicos
- ✚ Aplicação de inseticidas com pulverização espaciais.

1.4.3 Métodos para diminuir a longevidade dos vetores:

- ✚ Borrifação intradomiciliar residual;
- ✚ Amplo uso de mosquiteiros impregnados.

1.4.4 Controle biológico

Existem vários métodos de controle biológico empregando-se para este controle, nematódeos, bactérias, predadores naturais, etc.

As bactérias estão entre as alternativas mais promissoras e são as mais indicadas pelo Ministério da Saúde do Brasil. A bactéria mais utilizada e que apresenta resultados satisfatórios é o *Bacillus sphaericus* 2362 (Bs), por persistir e se reciclar em água limpa por 30-50 dias e em águas contaminadas por 80-90 dias (WHO, 1987). É altamente eficaz para o controle de larvas de *Anopheles*.

1.4.5 Ordenamento do meio

A ação de ordenamento do meio compreende o planejamento, organização, execução e vigilância de atividades destinadas a modificações e/ou alterações de fatores ambientais com o propósito de prevenir ou diminuir a propagação de vetores e reduzir o contato homem/vetor e agentes patógenos

As medidas de ordenamento do meio podem ser classificadas em três grupos, segundo a natureza da intervenção:

1.4.5.1 Modificação ambiental

Qualquer transformação física, permanente ou duradoura, da terra, da água ou da vegetação, dirigida a prevenir, eliminar ou reduzir os habitats de vetores, sem causar efeitos adversos excessivos na qualidade do meio ambiente humano.

1.4.5.2 Manipulação ambiental

Qualquer atividade periódica planejada, dirigida a originar condições temporárias desfavoráveis para a reprodução dos vetores em seu habitat.

1.4.5.3 Modificação ou manipulação da habitação e do comportamento humano

É uma forma de ordenamento do meio que tem por objetivo reduzir o contato entre o homem, o vetor e o agente patógeno.

1.4.6 Proteção pessoal

As medidas de proteção pessoal são várias e tem a finalidade de proteger o indivíduo, sua família ou comunidade. Para sua implementação, é necessário levar em consideração características ambientais e a variedade de alterações antrópicas, assim como a relação dos locais onde vivem, trabalham e dormem. Além disso, considera os abrigos dos anofelinos e a relação do comportamento hematofágico com as atividades humanas.

Nas áreas onde as atividades humanas e atividade hematofágica do mosquito são fora de casa, os métodos mais indicados são: repelentes e roupas e acessórios impregnados com inseticida.

No caso das atividades humanas ocorrerem fora e dentro de casa, o ideal é utilizar cortinas, telas em portas e janelas.

O uso de mosquiteiros impregnados são recomendados em áreas e situações onde os anofelinos apresentam hábitos hematofágicos mais intenso nas horas mais avançadas da noite (BRASIL, 1999).

1.4.7 Controle químico

1.4.7.1 Aplicação espacial

As aplicações espaciais variam com a sensibilidade da espécie combatida e as condições ambientais, em particular com o vento, que afeta a eficácia dos mesmos. As aplicações de nebulizadores devem ser feitas quando a velocidade do vento for inferior a 10 Km/h (BRASIL, 1999). As aplicações também devem levar em consideração o horário de maior atividade de picar dos anofelinos que normalmente ocorrem nos primeiros horários da noite ou ao amanhecer.

A termonebulização tem indicações restritas para o controle de malária, pois sua efetividade é reconhecidamente muito limitada (BRASIL, 2009).

1.4.7.2 Aplicação intradomiciliar

É a aplicação de inseticida nas paredes das casas que utiliza um equipamento costal que produz gotas de inseticidas entre 100 e 400 μ e deixa na parede interna da residência certa quantidade de principio ativo (produto químico) por m². Assim, os vetores potenciais repousam nas paredes tratadas, absorvem a dose letal de inseticida e morrem. Normalmente, o inseticida é aplicado de forma a abranger a parede desde o chão até o teto. Este método é considerado apropriado para o controle do vetor quando a área tem uma alta porcentagem de superfície a ser pulverizada e a população de vetores é endófilas e tem hábitos de repouso intradomiciliar (BRASIL, 1999).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Verificar o papel das espécies *An. darlingi* e *An. marajoara* na transmissão de malária no município de Macapá e relacioná-las a transmissão de malária.

1.5.2 Objetivos Específicos

- ✚ Determinar a densidade e diversidade anofélica na área de estudo, preparar coleção das fases de desenvolvimento das espécies alvo deste estudo com caracterização morfológica;
- ✚ Confirmar a identificação morfológica dos adultos das espécies alvo do estudo;
- ✚ Determinar a taxa de paridade das duas espécies alvo deste estudo;
- ✚ Determinar a infectividade natural das espécies coletadas para *P. vivax* e *P. falciparum*;
- ✚ Descrever o comportamento e a importância de cada espécie na transmissão e manutenção da malária na área de estudo do município de Macapá/AP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo é parte integrante do Projeto PIATAM - Mar intitulado “Avaliação da transmissão de malária humana na área de abrangência do projeto PIATAM MAR II”, trabalho colaborativo entre a UFPA e Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas, Nº.0026/2007 (Anexo II).

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O estado do Amapá está localizado no extremo norte do Brasil, sendo o estado amazônico mais conservado em relação a sua cobertura florestal. Apresenta uma área de aproximadamente 143.453 Km², que abriga uma singular diversidade de ecossistemas, constituído por florestas de terra firme, várzeas, igapós, manguezais, cerrados e ambientes de lagos (Ambiente Brasil, 2007).

A área do estado encontra-se dividida em 16 municípios, tem por capital a cidade de Macapá, que concentra em seu território o maior índice populacional do estado

O Município de Macapá foi criado pela Lei n.º 281 de 06 de setembro de 1.856, localiza-se na parte centro oriental do estado do Amapá, fazendo limites com os municípios de Amapá, Cutias, Ferreira Gomes, Itaubal, Porto Grande, Santana e o estado do Pará, compreendendo uma área de 6.407 Km². Sua superfície é coberta por campos, caatinga, várzea e mata com clima quente e úmido, onde predominam duas estações: verão (julho a dezembro) e inverno (janeiro a junho). Seus principais rios são o Rio Amazonas, Rio Pedreira e o Rio Matapi.

A população informada pelo IBGE em 2007 foi de 344.153 mil habitantes, o município apresenta suas vias de acesso através da BR-156, BR-210, Rodovia JK, Rodovia Duque de Caxias, Rio Amazonas e afluentes.

A temperatura média anual no município é em torno de 27 °C, sendo que a temperatura média máxima fica em torno de 31 °C e a temperatura média mínima em torno de 23 °C (IEPA, 2007).

A precipitação média anual é em torno de 2500 mm, sendo o trimestre mais chuvoso nos meses de março, abril e maio com uma variação média de 2112,9 mm e o trimestre mais seco nos meses de setembro, outubro e novembro com uma variação média de 177,8 mm. A umidade relativa anual é em torno de 85%. (IEPA, 2007).

A área de estudo foi a comunidade do Goiabal, localizada na área peri urbana de Macapá, na comunidade da Lagoa dos Índios. É constituída por coleções hídricas com vegetação emergente, limitada por fragmentos de mata. Assim, essa comunidade, do ponto de vista entomológico e epidemiológico, agrega condições naturais favoráveis para atividade de reprodução e desenvolvimento de diversos culicídeos de importância médica. Dentre estes, espécies do gênero *Anopheles*, com grande relevância, por transmitirem *Plasmodium* humano, causadores da Malária (Figura 11).

A área da Lagoa dos Índios possui características naturais peculiares, apresentando ambientes úmidos característicos, denominados “ressacas”. O termo “ressaca” é utilizado regionalmente para denominar os vários lagos de várzeas existentes no estado do Amapá. Esse lagos surgem

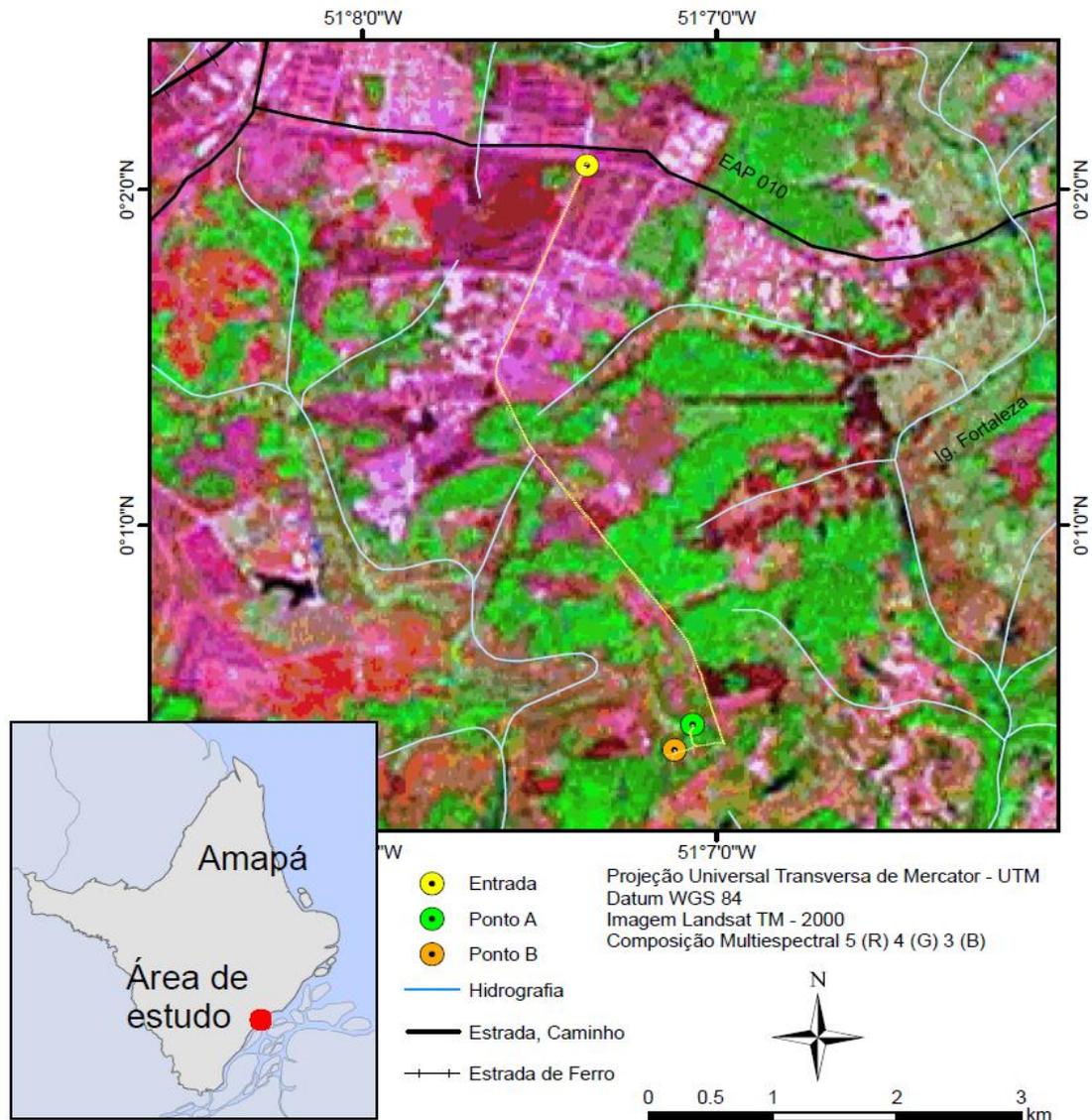


Figura 11 - Localização da área de estudo.

durante o período chuvoso, dezembro a junho. A água dessas chuvas alimenta os rios e igarapés inundando essas áreas. Quando cessam as chuvas, as águas se restringem ao canal principal dos rios formadores e as “ressacas” se transformam em grandes campos (Gama & Halboth, 2004). Tais áreas também compõem o cenário urbano e periurbano de Macapá, dentre estas se inclui a Lagoa dos

Índios, localizada no Km 03 da Rodovia Duque de Caxias, agregando várias comunidades em seu entorno, como a comunidade do Ramal do Goiabal.

A pressão antrópica nestes ambientes dá origem a problemas de infraestrutura, característica de bairros emergentes (Aguiar & Silva, 2004), favorecendo a exposição dos habitantes a vetores, favorecendo a transmissão de malária.

Segundo Segura (1998) há uma inter-relação entre o processo de ocupação desordenada e o aumento de casos de malária urbana na cidade de Macapá, sendo *An. marajoara* a principal espécie responsável por esta transmissão.

2.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE FORMAS ADULTAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS

Capturas noturnas foram realizadas na comunidade de Lagos dos Índios, durante doze meses consecutivos, de outubro de 2007 a setembro de 2008.

As atividades de coleta de *Anopheles* foram realizadas no peri e intradomicílio. Na coleta de doze horas foi utilizado um único ponto (Ponto "A") e nas capturas de três horas os pontos (A e B) (Figura 12 e 13).



Figura 12 - Residência na comunidade de Lagoa dos Índios onde foram realizadas as capturas mensais de três e doze horas (Ponto **A**).



Figura 13 - Residência na comunidade de Lagoa dos Índios onde foram realizadas captura mensais de três horas (Ponto **B**).

Na captura de doze horas, quatro capturadores se revezavam, dois a dois, a cada três horas, um no peri e um no intradomicílio. Na captura de três horas os técnicos faziam o revezamento entre intra e peridomicílio. A cada noite foi feita mudança de coletores por horário de captura, seguindo programação previamente estabelecida (Anexo III).

O trabalho foi realizado por quatro técnicos de entomologia devidamente treinados e membros do laboratório de entomologia Médica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá (IEPA), cada técnico assinou o termo de contrato de trabalho (TCT) (Anexo IV).

A cada captura foram avaliados aspectos ambientais, como: temperatura, umidade relativa do ar, velocidade do vento e chuvas (Anexo V).

Os anofelinos coletados com capturador de sucção manual antes de realizarem o repasto sanguíneo foram acondicionados em copos entomológicos apropriados e devidamente identificados com data, local, hora e tipo de captura (peri ou intradomicílio) e em seguida, foram acondicionados em uma caixa de isopor preparada como câmara úmida, sendo colocado sobre os copos algodão embebido em água natural e açúcar a 10% (Figura 14).

Os exemplares vivos foram anestesiados com acetato de etila ($C_4H_8O_2$) e posteriormente identificados. As espécies do subgênero *Nyssorhynchus* foram identificadas utilizando-se as chaves taxonômicas de Faran & Linthicum (1981) modificada por Voorham e Consoli & Oliveira (1994). Foi preenchido o formulário específico para esta atividade (Anexo VI),



Figura 14 - Acondicionamento de mosquitos em copos entomológicos com alimentação açucarada.

juntamente com o formulário de captura de alados da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (Anexo VII).

Foi preservada uma amostra de dez espécimes de cada espécie coletada e identificada em cada uma das coletas, com o fim de serem depositadas na coleção entomológica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá (IEPA).

2.2.1 Determinação do Índice de Picada Homem Hora (IPHH)

O índice de picada homem/hora (IPHH) foi calculado dividindo-se o número de mosquitos coletados (N) em determinada área pelo número de capturadores (NC) e o resultado pelo número de horas da coleta (NH). Este índice

pode ser calculado por hora, dia, mês ou ano, espécie e ponto de captura (intra e peridomicílio).

$$\text{IPHH} = \frac{\text{N} / \text{NC}}{\text{NH}}$$

2.2.2 Determinação da taxa de paridade

Foi realizada a extração dos ovários de 50% dos mosquitos capturados das espécies de *An. darlingi* e *An. marajoara*. Este procedimento permitiu determinar a proporção de fêmeas paridas e nulíparas como parâmetro para estimar a longevidade do mosquito. Os mosquitos foram anestesiados e colocados dorsalmente sobre uma lâmina com uma gota de água destilada próxima a extremidade do abdome, foi introduzida uma das agulhas no músculo do tórax e com a ajuda da outra agulha fez-se um corte entre o VI e VII esternito. Em seguida foi movida suavemente a segunda agulha para extrair os ovários, seccionar o intestino posterior e separar os ovários (Figura 15).

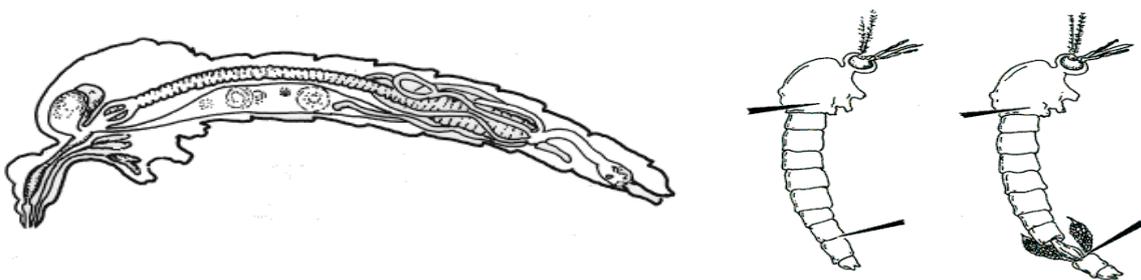


Figura 15 –
Extração

de ovário com corte entre o VI e VII esternito.

Fonte: Manual de Captura, Manejo e Preservação de Anofelinos – Mercia Arruda - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fund. Oswaldo Cruz, 2003.

Após a extração do ovário colocou-se o mesmo em uma gota de água destilada colocada sobre uma lâmina limpa. Após secagem, o material preparado foi examinado imediatamente em microscópio óptico com aumento de 400X seguindo a técnica descrita por Detinova (1962). Foram consideradas nulíparas as que apresentaram extremidades traqueolares ovarianas enoveladas e oníparas (paridas) as com filamentos traqueolares distendidos. Todas as lâminas foram devidamente identificadas (Anexo VIII).

A taxa de paridade é calculada pela divisão das fêmeas paridas pelas fêmeas dissecadas, multiplicada por 100.

$$\frac{\text{Fêmeas paridas} \times 100}{\text{Fêmeas dissecadas}}$$

Fêmeas dissecadas

2.2.3 Separação do tórax e abdome

Após a identificação taxonômica e dissecação do ovário, o mosquito foi colocado sob a lâmina de vidro. Com o auxílio de um bisturi, foi separado o tórax do abdome (Figura 16).

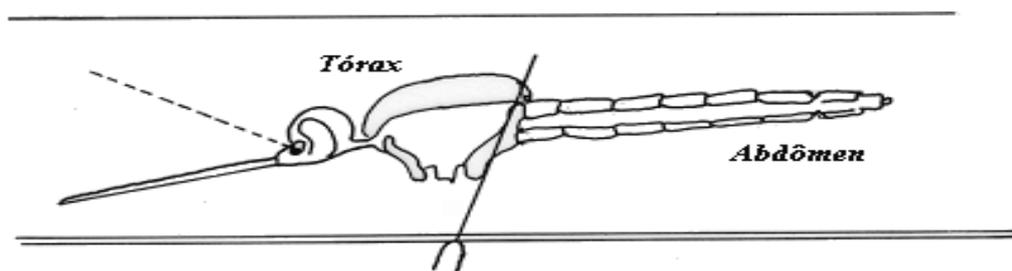


Figura 16 - Separação do

do tórax e abdome com auxílio de um bisturi.

Fonte: Manual de Captura, Manejo e Preservação de Anofelinos – Mercia Arruda – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fund. Oswaldo Cruz, 2003.

Após separação, a cabeça e o tórax foram transferidos para tubo eppendorf, sendo descartado o abdome. Para as espécies *An. darlingi* e *An. marajoara* foi acondicionado um espécime por tubo e para as demais espécies, o máximo dez. Os tubos receberam identificação com uma etiqueta interna contendo as seguintes informações: número de identificação, nome da espécie coletada, número seqüencial, local e data (Anexo IX).

Para cada tubo etiquetado foi preenchido formulário (Anexo X) contendo as informações complementares à identificação, como hora, local de captura, ponto de coleta e resultado da dissecação de ovário. A cabeça e o tórax foram conservados em tubos eppendorf colocados em sacos plásticos contendo sílica gel.

2.2.4 Hábitos hematofágicos e preferência alimentar

2.2.4.1. Coleta de mosquitos para determinação da taxa de mosquitos ingurgitados com sangue Humano

Após as capturas de 12 horas ao nascer do sol, e ao termino das capturas de 3 horas as 21:00 horas, foi realizada a coleta de mosquitos repousando nas paredes externas das casas (peridomicílio) (Figura 17) e nas paredes internas (intradomicilio) (Figura 18). As coletas foram realizadas com aspirador à bateria modificado (Natal & Marucci, 1984). Os anofelinos coletados foram classificados segundo (Beier *et al.*, 1988) como: alimentados ou não alimentados, com ou sem ovos, baseado no estado alimentar (estágio de Sella). Os mosquitos foram avaliados quanto à digestão de sangue (<12, <24, <36, <48 e

48 horas) (Anexo XI). Posteriormente foram avaliados pelo teste de ELISA para determinação da fonte alimentar (Anexo XII).

2.2.4.2 Determinação do estágio alimentar

Em estudo realizado no período de 2003 a 2005 em Macapá e Santana, estado do Amapá, pelo grupo de pesquisa de Galardo (dados não publicados), foi observado que nos testes para determinação da preferência alimentar de mosquitos anofelinos, os mosquitos classificados como 48 horas de alimentado (método de Sella) não apresentaram resultado positivo para nenhum tipo de alimentação sanguínea testada. Assim, há necessidade de se verificar o estágio de alimentação em intervalos menores que 12 horas, que é o intervalo utilizado no método de Sella.



Figura 17 - Captura de mosquitos em repouso no peridomicílio com auxílio de capturadores a bateria



Figura 18 - Captura de mosquitos em repouso no intradomicílio com auxílio de capturadores a bateria.

Para determinação do estágio alimentar foram coletados 600 mosquitos fêmeas do gênero *Anopheles* alimentados em curral que tinham completado a alimentação sanguínea. Estas fêmeas foram divididas em três gaiolas entomológicas e colocadas no interior da mata do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá sob uma estrutura montada para este fim. A estrutura evita o contato do sol e chuva e protege as gaiolas do acesso das formigas. Foi feita alimentação açucarada em todas as gaiolas para manutenção dos espécimes em condições ambientais (Figura 19 e 20).

Para avaliação do processo de digestão do sangue ingerido, a cada seis horas após o repasto sanguíneo (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48h) dez fêmeas por gaiola foram anestesiadas e então observadas em microscópio entomológico para verificação do estágio de digestão sanguínea. O resultado da observação foi

colocado em formulário específico com desenho do abdome e permitiu adaptar uma nova tabela de estágio de Sella. As avaliações foram feitas em três réplicas, nas estações de chuva, seca e no início das chuvas.



Figura 19 - Gaiolas em campo para estudo de digestão sanguínea.



Figura 20 - Gaiolas em campo para estudo de digestão sanguínea.

2.2.5 Coleta de informações meteorológicas

Foi instalado na comunidade em estudo um equipamento para coleta de informações de temperatura e umidade nos dias e horários de captura. Os dados de pluviosidade foram coletados diariamente nas estações meteorológicas do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá (IEPA).

2.2.6 Obtenção de Geração F1 para obtenção de exúvias e mosquitos adultos

Para a obtenção de indivíduos F1, foram coletadas fêmeas de *An. darlingi* e *An. marajoara*, ingurgitadas, provenientes de curral localizado na Lagoa dos Índios, no Município de Macapá/Amapá.

Após identificação das espécies, estas fêmeas foram separadas individualmente, colocadas em copos entomológicos e mantidas por três dias oferecendo-se solução de sacarose a 10%. A temperatura foi mantida entre 26 °C e 29 °C e a umidade relativa do ar entre 77 e 86% com registros diários realizados sempre entre as 8:00h \pm :30

Para a oviposição individual foram adotados recipientes de acrílico transparentes com abertura superior ocluída por uma tela de náilon (filó). Tiras de papel filtro foram colocados no interior do recipiente acima de um chumaço de algodão. Após o 3º dia, a fêmea ainda viva era retirada e eliminada. Os ovos eram transferidos para bandejas retangulares de polietileno na cor branca, com dimensões de 31 x 23 x 6,5cm contendo aproximadamente 400 ml de água de criadouro natural. Em cada bandeja foi colocada apenas a postura de uma única

fêmea. A temperatura da água foi mantida entre 24 °C e 26,5 °C. Para a alimentação das larvas foi utilizado ração para peixe Tetramin® triturada segundo a orientação de Horosko *et al.* (1997). A limpeza das bacias foi realizada diariamente, com o uso de papel toalha para retirar o excesso de comida da superfície da água e com pipetas plásticas (tipo Pasteur) para retirar a sujeira depositada no fundo das bandejas.

Diariamente foi feita a separação conforme o estágio larvar, colocando em copos individuais as larvas de segundo instar, para que fosse retirada uma única larva e exúvias (pele) para posterior montagem.

As pupas foram recolhidas diariamente e colocadas em pequenos copos plásticos descartáveis com capacidade para 50 ml e inseridas em gaiolas de papelão medindo 17 cm de diâmetro X 17 cm de altura com a parte superior ocluída com tela de náilon preta, onde o adulto emergia e eram mantidos até posterior transferência para tubos individuais (Figura 21).

A: Captura de fêmeas em curral. **B:** Identificação da espécie por caracterização morfológica externa. **C:** Oviposição individual em tubos de acrílico. **D:** Criação de larvas em bandejas até o segundo estágio. **E:** Criação de larvas em copos individuais para retirada de exúvia. **F:** Criação de pupas em copos individuais para retirada de exúvia. **G:** Manutenção de adultos para dissecação de genitália e montagem para coleção.



Figura 21 – Captura e criação individual de anofelinos para obtenção de geração F1.

2.2.7 Montagem de exúvias de larvas e pupas

As exúvias foram preservadas em álcool 80% até a hora da montagem. Com o auxílio de pipetas de ponta larga as exúvias foram transferidas para as placas de preparação com todo cuidado para não cortar, ou danificar. Em seguida, foram imersas em uma seqüência crescente de concentração [90%, 95%, 100% (álcool absoluto)] e mais uma seção de álcool a 100%. Após esta etapa, todo o álcool existente foi removido e então a exúvia foi transferida para solução de creosoto de faia, onde permaneceu por dez minutos. A pele da larva foi então colocada sobre a lâmina com uma gota de creosoto à esquerda do centro da lâmina, sendo montada com a superfície dorsal para cima e a cabeça mais distante do corpo. As partes bucais foram montadas para baixo de forma não visível. Em seguida, as cerdas laterais foram esticadas de modo a formarem ângulos de 90° com o corpo. O sifão e o segmento VIII foram afastados um do outro, ficando o primeiro à direita e o segundo à esquerda. O segmento VIII foi mantido em vista lateral para que a escova ventral fique visível. As brânquias foram arranjadas de modo a se tornarem visíveis.

A pele da pupa foi colocada à direita da pele da larva. Com a pele em posição lateral, o abdômen juntamente com o metanoto foram separados do cefalotórax. O abdome foi montado com o lado dorsal para cima e as cerdas flutuadoras arranjadas de modo a formarem ângulo reto com a linha média longitudinal. O cefalotórax rompido durante a emergência ficou conectado no lado dorsal, por curta seção no extremo posterior da cumeeira dorsal mediana e entre as caixas das pernas. Para montar o cefalotórax, as conexões foram quebradas. O

escudo da cabeça foi colocado para cima do restante da pele. As trompas foram dirigidas lateralmente e o excesso de creosoto foi retirado.

Pequena quantidade de bálsamo, bem fino, foi aplicada sobre o espécime e deixando secar por uma noite. As lâminas foram mantidas cobertas para prevenir acúmulo de poeira durante a montagem.

Após período de secagem preliminar o excesso de creosoto foi removido com a ajuda de pequeno pincel de pelos de camelo umedecido em diluente (xilol). As lâminas foram mantidas sobre superfície horizontal e seca em estufa (50-55°C) por cerca de 30 dias. Pequenas bolhas de ar foram dissipadas durante o processo de secagem.

2.2.8 Montagem de adultos em alfinetes entomológicos

Os espécimes adultos foram conservados secos em tubos com sílica gel e montados em alfinetes entomológicos de aço inoxidável. Foi colocada pequena quantidade de esmalte no vértice de pequenos triângulos de cartolina, cuja base foi transfixada por alfinete entomológico n.2. O triângulo foi movido para o topo do alfinete com o auxílio de pinça. O espécime adulto foi mantido deitado sobre uma mesa e então a ponta do triângulo foi pressionada contra a pleura direita do exemplar e mantido assim por 3-5 segundos e em seguida foi colocado na metade do comprimento do alfinete utilizando-se a escada entomológica. As patas do espécime foram colocadas voltadas para a base do triângulo. As etiquetas (uma com os dados da coleta - quem coletou local e data e outra com o nome da espécie, quem identificou e data) foram colocadas após a total secagem do esmalte e colocadas em alturas já padronizadas (Figura 22).

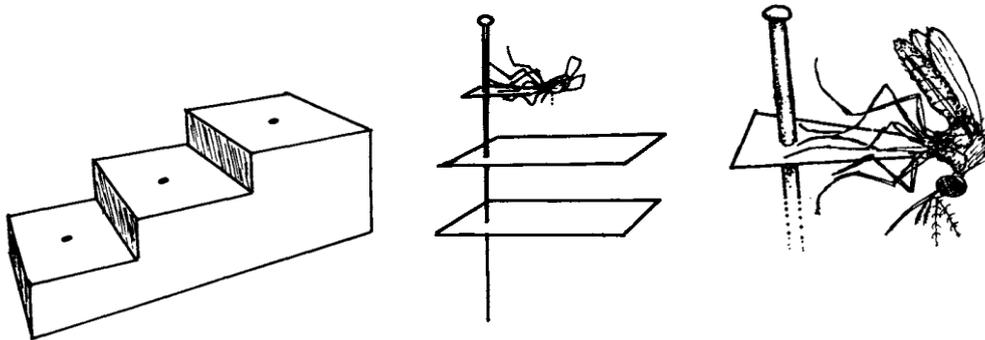


Figura 22 - Montagem de mosquitos adultos em alfinete.

Fonte: Consoli e Oliveira, 1994.

2.2.9 Preparo de genitálias masculinas de mosquitos

Com o auxílio de pinças ou tesouras de pontas bem finas, a genitália foi cortada na altura do segmento abdominal VII. A ponta da pinça foi molhada em álcool 70% para evitar que a genitália se perdesse durante o processo de corte. Em seguida ao corte, a genitália foi colocada em banho de KOH 20% por cerca de doze horas. Com o auxílio de pipeta Pasteur de ponta bem fina, a solução de KOH 20% foi retirada e em seguida foi acrescentado álcool acético 20%. Após dez minutos, o álcool acético 20% foi substituído pela mesma solução contendo 1 ou 2 gotas de fucsina ácida. O material foi deixado nesta solução até alcançar a cor desejada (rosa médio). Em seguida, o banho corante foi submetido a uma sequência de diferentes concentrações de (80%, 90%, 95% e álcool absoluto) por dez minutos em cada concentração. Para finalizar, o material foi colocado em creosoto de faia por dez minutos. Em seguida, a genitália foi montada na mesma lâmina das formas imaturas.

As imagens foram tiradas em Estereomicroscopio Leica modelo M205C, com Câmera de vídeo digital Leica DFC295, usando o programa Leica

LAS Montage e LAS 3D View, feitas no laboratório de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (USP), com a coordenação da Dra. Maria Anice Sallum.

Uma parte dos espécimes coletados foi acondicionada em caixas de lâminas identificadas e arquivadas em armários com gavetas bem vedadas. Cada exemplar possui etiqueta contendo informações sobre a localidade geográfica de procedência, data de coleta, nome dos coletores.

2.2.10 Determinação da infecção pelo teste imunoenzimático (ELISA)

Todos os anofelinos capturados foram utilizados para detecção da infecção malárica pelo método ELISA (Enzyme-linked Immunoabsorbant Assay) descrito por Wirtz *et al.* (1987).

Para o preparo do antígeno, foi utilizado a cabeça e o tórax dos exemplares, os quais foram colocados em tubos eppendorf de 1,5 ml contendo 50µl de tampão bloqueador (BB) com Nonidet – NP – 40 e triturados. Em seguida foi acrescentado 200µl de tampão BB, para completar 250 µl.

As microplacas (Nunc – Imuno plate MaxiSorp) foram sensibilizadas com 50 µl de MoAbs específicos e incubadas à temperatura ambiente (TA) por cerca de doze horas. Após esta incubação todo conteúdo dos poços foi aspirado e esses receberão 200 µl de tampão BB seguindo-se uma nova incubação a TA por uma hora. Após esse tempo, foi feita a aspiração do conteúdo dos poços que se adicionou 50 µl do antígeno, controles positivos e controles negativos nos poços específicos. Uma nova incubação de duas horas foi realizada a TA. Em seguida os poços foram lavados duas vezes com PBS–Tween –20 a 0,05% e

então 50 μ l/poço dos conjugados específicos (MoAbs específicos marcados com peroxidase) foi adicionado, seguida de outra incubação de uma hora à TA. Três novas lavagens com 200 μ l de PBS – Tween foram realizadas e finalmente 200 μ l de solução tampão do substrato (ABTS + Peróxido de hidrogênio) foi adicionado em cada poço e incubado durante 30 a 60 minutos a TA.

A leitura da densidade óptica foi realizada visualmente e a 405nm em leitor de ELISA (Titertex Multikan Plus – MK II).

Para os controles negativos foram usados mosquitos machos e os positivos obtidos de fabricantes (Kiekegaard & Perry Laboratories). O ponto de corte foi duas vezes à média dos controles negativos.

3 RESULTADOS

3.1 COLETA DE FORMAS ADULTAS

3.1.1 Diversidade e densidade anofélica

Em um ano de coleta (outubro de 2007 a setembro de 2008) foram realizadas 360 horas de coleta no intra e peridomicílio, foram capturados 4.601 *Anopheles* distribuídos em seis espécies: *Anopheles marajoara* 3.029 (65,8%), *Anopheles darlingi* 917 (19,9%), *Anopheles braziliensis* 429 (9,3%), *Anopheles triannulatus* 203 (4,5%), *Anopheles peryassui* 18 (0,4%) e *Anopheles nuneztovari* 05 (0,1%) Figura 23.

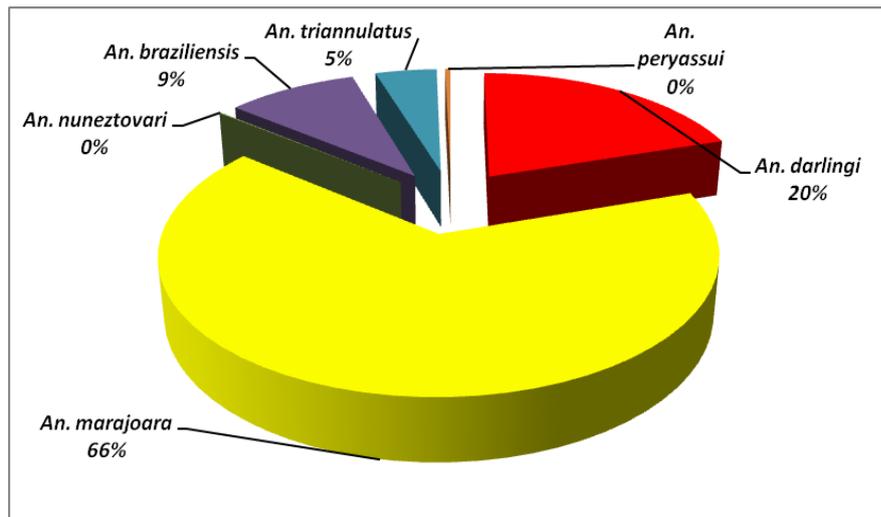


Figura 23 - Percentual de espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

3.1.2 Sazonalidade das espécies coletadas

Na tabela 2 e Figura 24, são apresentados os dados referentes ao número de espécies coletadas por mês. *An. marajoara* esteve presente durante

todo o período chuvoso e o *An. darlingi* durante o início e fim do período chuvoso.

Tabela 2 – Espécie e número de exemplares coletados mensalmente no período de outubro de 2007 a setembro de 2008, na comunidade do Goiabal.

Total de <i>Anopheles</i> capturados							
	<i>An. darlingi</i>	<i>An. marajoara</i>	<i>An. nuneztovari</i>	<i>An. braziliensis</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. peryassui</i>	Total
out/07	226	103	0	35	25	0	389
nov/07	6	8	0	3	0	0	17
dez/07	5	6	1	1	0	0	13
jan/08	13	120	1	6	5	0	145
fev/08	133	693	0	12	10	0	848
mar/08	52	812	0	16	16	1	897
abr/08	62	200	0	3	2	0	267
mai/08	31	399	0	58	26	6	520
jun/08	67	173	0	33	35	4	312
jul/08	49	391	2	192	58	1	693
ago/08	238	89	1	42	16	4	390
set/08	35	35	0	28	10	2	110
Total	917	3029	5	429	203	18	4601

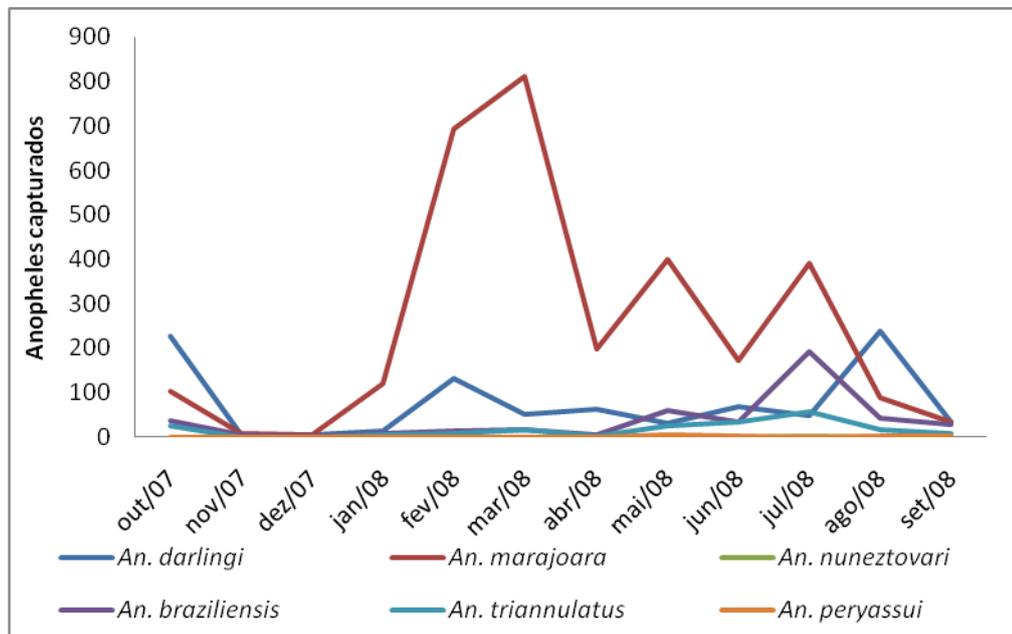


Figura 24 – Sazonalidade das espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008, na comunidade do Goiabal.

3.1.3 Comportamento hematofágico

Analisando as espécies de mosquitos no intra e peridomicílio, foi observado que apenas 32,8% dos espécimes foram coletadas no intradomicílio (1.511), e 67,2% apresentou hábitos de repasto sanguíneo no peridomicílio (3.090). O *An. nuneztovari* apresentou baixa densidade e foi coletado somente no peridomicílio (Figura 25, Tabela 3).

As espécies alvo deste estudo apresentaram tendência exofágica por fazerem o repasto sanguíneo, preferencialmente fora de casa. Apesar desta tendência, ambas também apresentaram hábito endofágico, principalmente nos meses de maior atividade hematofágica: *An. marajoara* (fevereiro a julho) e *An. darlingi* (fevereiro, agosto e outubro) (Tabela 3).

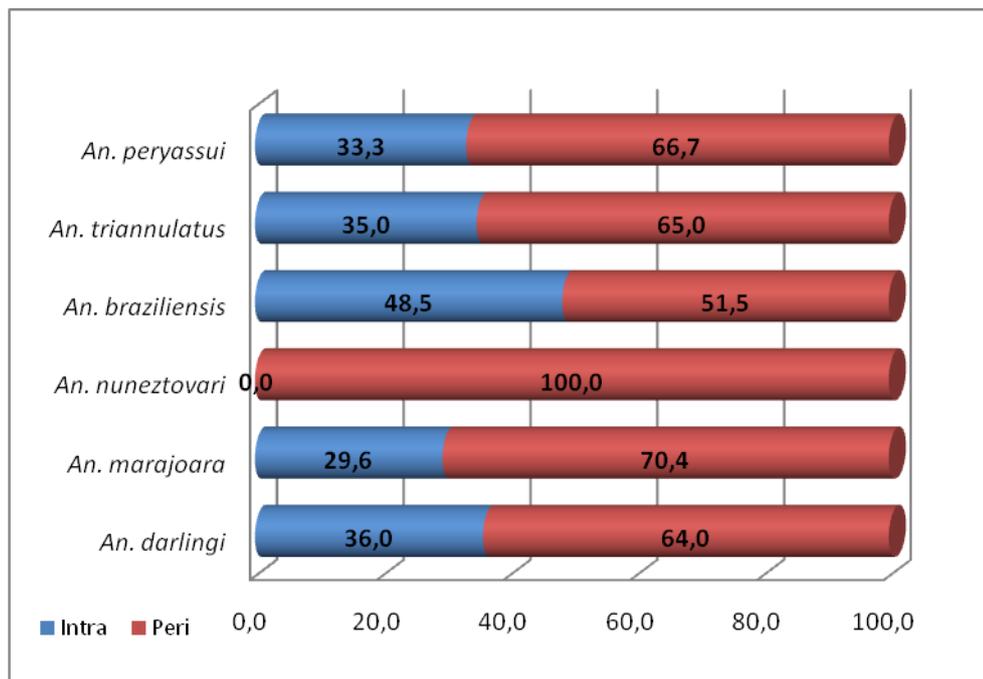


Figura 25 - Percentual de espécies de mosquitos anofelinos coletados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008 no intra e peridomicílio.

Os dados referentes às duas espécies alvo do estudo mostram que a transmissão de malária pode ser intermitente durante todo o ano. Em contraste, demonstra-se que as outras espécies encontradas não têm papel importante na manutenção da malária na área de estudo, pois embora presentes durante todos os períodos do ano não apresentam infecção para a malária (Tabela 3).

Tabela 3 – Exemplos de mosquitos anofelinos coletados mensalmente no período de outubro de 2007 a setembro de 2008 no intra e peridomicílio na comunidade de Goiabal.

Espécie	<i>An. darlingi</i>		<i>An. marajoara</i>		<i>An. nuneztovari</i>		<i>An. braziliensis</i>		<i>An. triannulatus</i>		<i>An. peryassui</i>		Total	
	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri
out/07	64	162	4	99	0	0	0	35	0	25	0	0	68	321
nov/07	5	1	4	4	0	0	1	2	0	0	0	0	10	7
dez/07	3	2	3	3	0	1	0	1	0	0	0	0	6	7
jan/08	5	8	49	71	0	1	4	2	1	4	0	0	59	86
fev/08	30	103	120	573	0	0	0	12	2	8	0	0	152	696
mar/08	16	36	228	584	0	0	8	8	7	9	0	1	259	638
abr/08	17	45	47	153	0	0	0	3	0	2	0	0	64	203
mai/08	14	17	164	235	0	0	27	31	10	16	1	5	216	304
jun/08	27	40	64	109	0	0	13	20	13	22	2	2	119	193
jul/08	30	19	155	236	0	2	126	66	29	29	0	1	340	353
ago/08	104	134	44	45	0	1	13	29	4	12	2	2	167	223
set/08	15	20	14	21	0	0	16	12	5	5	1	1	51	59
Total	330	587	896	2133	0	5	208	221	71	132	6	12	1511	3090

Neste estudo o período de atividade, “hora de picar”, dos anofelinos variou para as duas espécies alvo. O *An. darlingi* apresentou atividade hematofágica no período crepuscular e noturno tanto no intra como no peridomicílio não sendo possível definir durante o período de estudo o horário de maior atividade hematofágica (Figura 26 e 27).

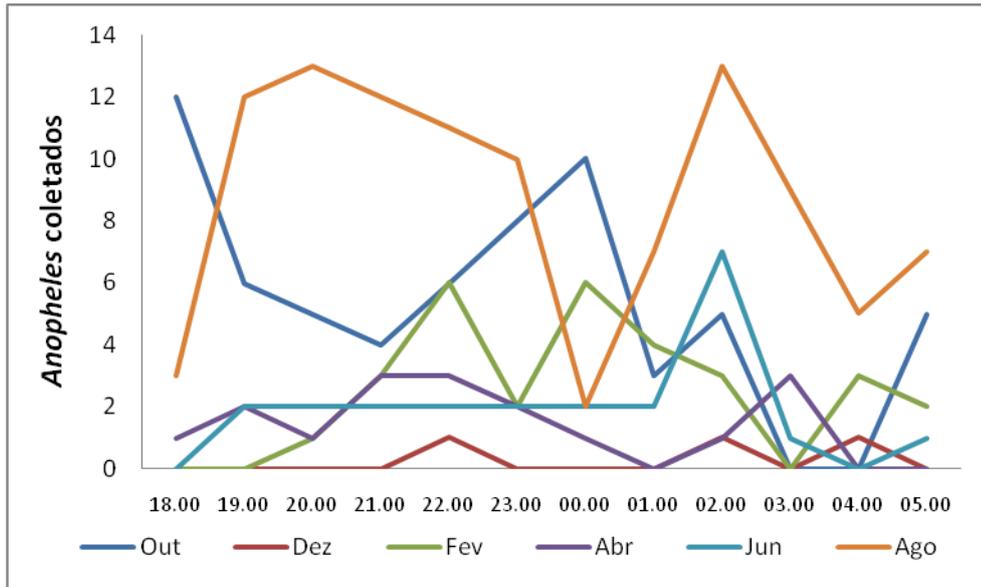


Figura 26 - Período de atividade hematofágica de *An. darlingi* no intradomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

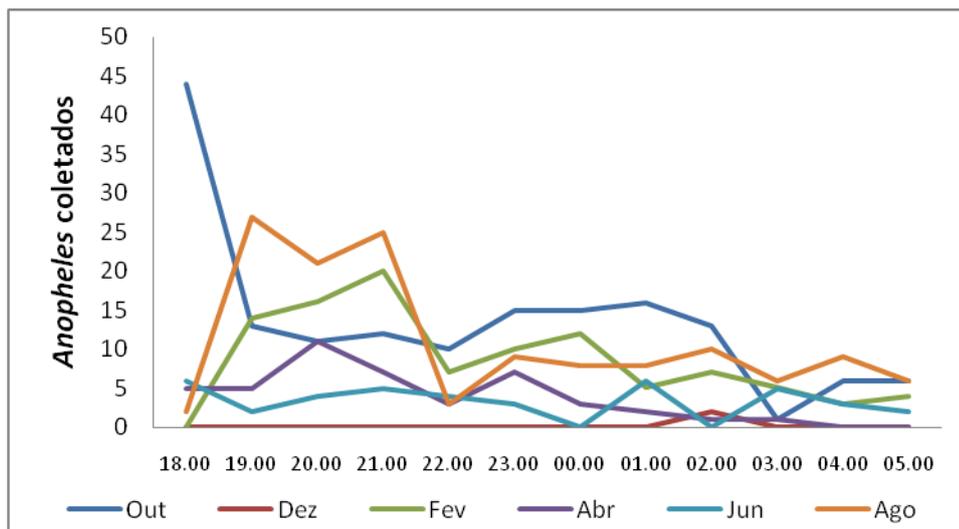


Figura 27 - Período de atividade hematofágica de *An. darlingi* no peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

A outra espécie, o *An. marajoara*, apresentou horário de atividade bem definido, das 18:00 às 21:00 no intradomicílio e das 18:00 às 20:00 no peridomicílio (Figura 28 e 29).

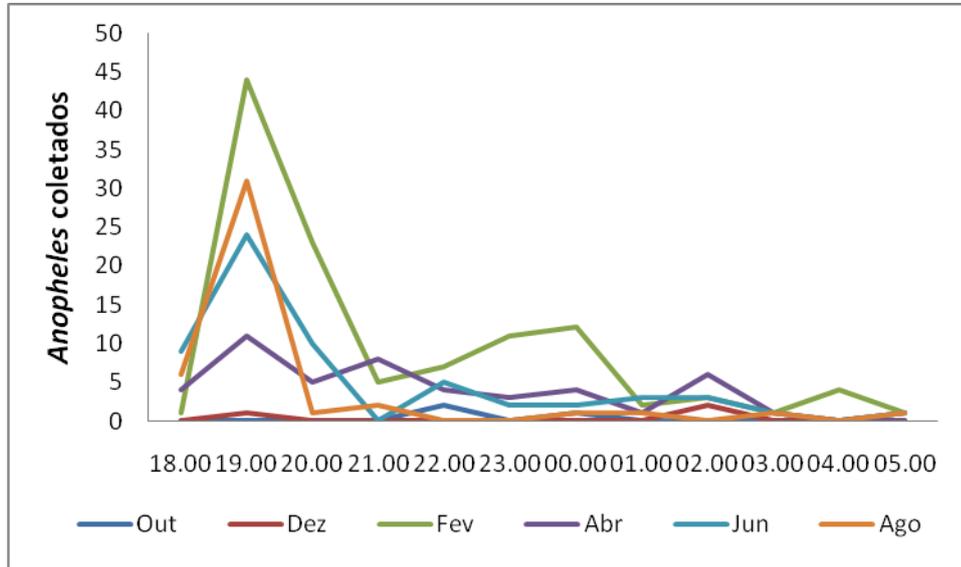


Figura 28 - Período de atividade hematofágica de *An. marajoara* no intradomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

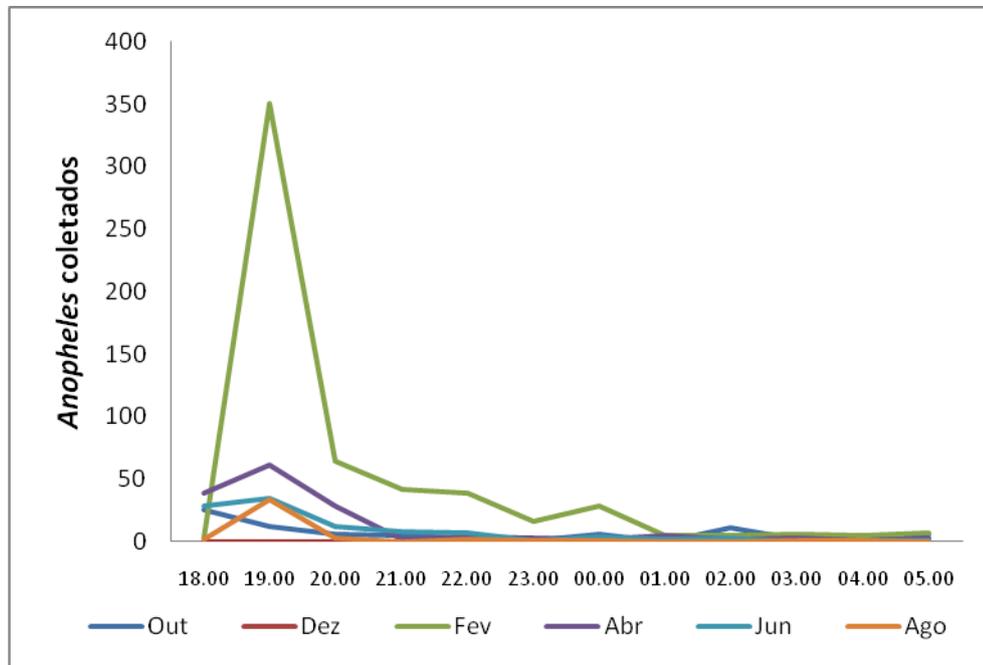


Figura 29 - Período de atividade hematofágica de *An. marajoara* no peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Ambas as espécies, independentemente do pico hematofágico, estiveram presentes em todos os horários, tanto no intra como no peridomicílio.

3.1.4 Determinação do Índice de Picada Homem Hora (IPHH)

Na tabela 4 e 5 estão apresentados os IPHH por mês de coleta dos *An. darlingi* e *An. marajoara*, no intra e peridomicílio. No período de estudo, o IPHH do *An. darlingi* no intradomicílio variou entre 0 a 6,5, já no peridomicílio a variação foi de 0 a 22 picadas homem hora (Tabela 4). O mês com o menor IPHH (0,1) para esta espécie foi o mês de dezembro. O inverso ocorreu no mês de agosto quando foram coletados mosquitos no intradomicílio em todos os horários e com dois picos de atividade (20:00h e 02:00h).

O IPHH do *An. marajoara* no intradomicílio variou entre 0 a 22, já no peridomicílio a variação foi de 0 a 175,5 picadas homem hora (Tabela 05). O mês com o menor índice de picada (0,1) foi dezembro. O inverso ocorreu no mês de fevereiro (175,5) no intervalo de 19:00h as 20:00h.

Diferentemente do *An. darlingi*, o *An. marajoara* se apresentou ativo durante todo os meses do ano com o IPHH mais alto nos meses de fevereiro, abril, junho e outubro (Tabela 05).

3.1.5 Taxa de Paridade

No período de estudo foram dissecados 2.572 anofelinos 55,9% dos mosquitos coletados. Destes, 908 eram *An. darlingi* (35,3%), 1.664 *An. marajoara* (64,7%) e 05 *An. nuneztovari* (0,03%).

No mês de setembro ambas as espécies alvo deste estudo apresentaram taxa de paridade acima de 80%, demonstrando que este é o período mais crítico para a transmissão da malária na área estudada (Figura 30 e 31).

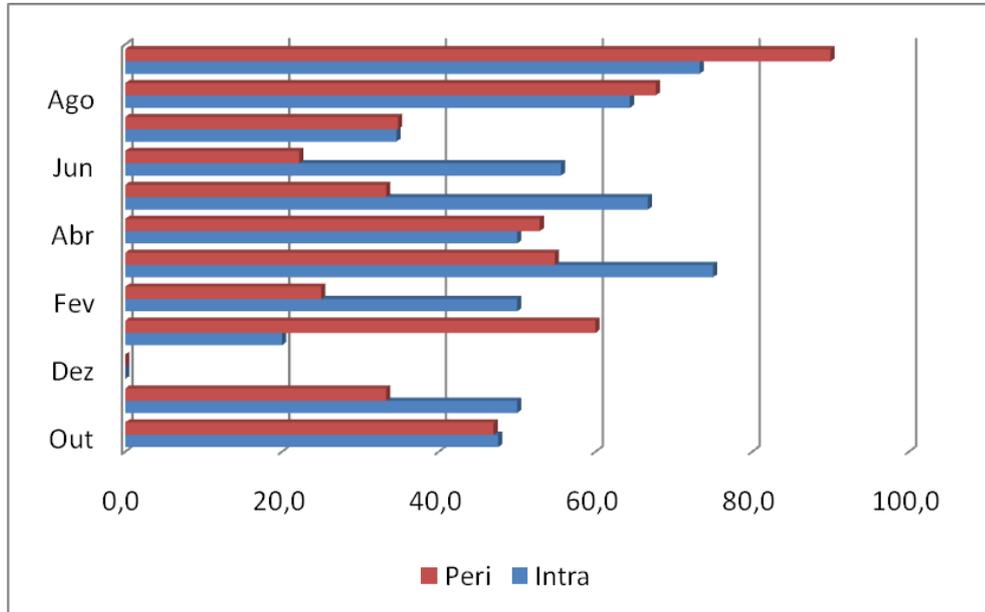


Figura 30 - Paridade de *An. darlingi* no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

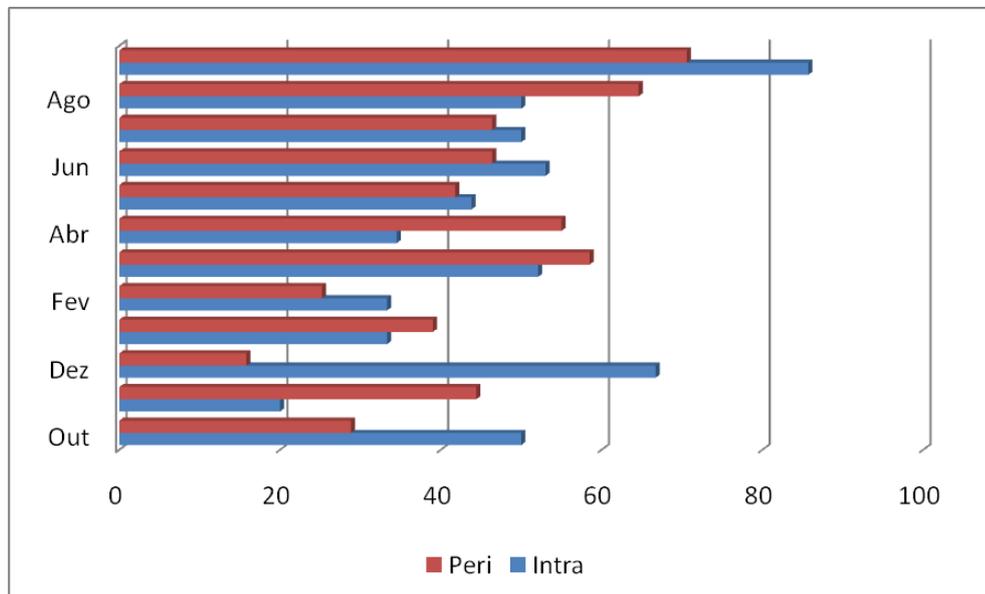


Figura 31 - Paridade de *An. marajoara* no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Tabela 04 - Índice de Picada Homem Hora de *An. darlingi* no intra e peridomicílio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Mês	Out		Dez		Fev		Abr		Jun		Ago	
Horário	Intra	Peri										
18:00	6	22	0	0	0	0	0,5	2,5	0	3	1,5	1
19:00	3	6,5	0	0	0	7	1	2,5	1	1	6	13,5
20:00	2,5	5,5	0	0	0,5	8	0,5	5,5	1	2	6,5	10,5
21:00	2	6	0	0	1,5	10	1,5	3,5	1	2,5	6	12,5
22:00	3	5	0,5	0	3	3,5	1,5	1,5	1	2	5,5	1,5
23:00	4	7,5	0	0	1	5	1	3,5	1	1,5	5	4,5
00:00	5	7,5	0	0	3	6	0,5	1,5	2	0	1	4
01:00	1,5	8	0	0	2	2,5	0	1	2	3	3,5	4
02:00	2,5	6,5	0,5	1	1,5	3,5	0,5	0,5	3,5	0	6,5	5
03:00	0	0,5	0	0	0	2,5	1,5	0,5	0,5	2,5	4,5	3
04:00	0	3	0,5	0	1,5	1,5	0	0	0	1,5	2,5	4,5
05:00	2,5	3	0	0	1	2	0	0	0,5	1	3,5	3
Total	2,7	6,8	0,1	0,1	1,3	4,3	0,7	1,9	1,1	1,7	4,3	5,6

Tabela 05 – Índice de Picada Homem Hora de *An. marajoara* no intra e peridomicilio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Mês	Out		Dez		Fev		Abr		Jun		Ago	
Horário	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri	Intra	Peri
18:00	0	22,5	0	0	0,5	1,5	2	19,5	4,5	14,5	3	1
19:00	0	6	0,5	0	22	175,5	5,5	30,5	12	17,5	15,5	17
20:00	0	3	0	0	11,5	32,5	2,5	14	5	6	0,5	1,5
21:00	0	2,5	0	0	2,5	21	4	1	0	4	1	0
22:00	1	1,5	0	0,5	6,5	19,5	2	2	4,5	6,5	0	1
23:00	0	0,5	0	0	5,5	8	1,5	1,5	1	0,5	0	0,5
00:00	0,5	3	0	0,5	6	14,5	2	1	1	2	0,5	0,5
01:00	0	0	0	0,5	1	2,5	0,5	2,5	1,5	1	0,5	0
02:00	0	5,5	1	0	1,5	2,5	3	1	1,5	1,5	0	0
03:00	0	1	0	0	0,5	3	0,5	1,5	0,5	0	0,5	0,5
04:00	0	1	0	0	2	2,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5
05:00	0,5	3	0	0	0,5	3,5	0	1,5	0,5	0,5	0,5	0
Total	0,2	4,1	0,1	0,1	5,0	23,9	2,0	6,4	2,7	4,5	1,8	1,9

As maiores taxas de paridade foram registradas nos meses de março e setembro no intradomicílio para *An. darlingi* e setembro e dezembro para *An. marajoara* (Tabela 5). Já no peridomicílio para ambas as espécies os meses de maior taxa foram agosto e setembro (Figura 30 e 31).

Como pode ser observado na figura 32, ambas as espécies apresentaram a maior taxa de paridade no mês de setembro. O *An. darlingi* apresentou taxas maiores do que as do *An. marajoara* durante o período de estudo, exceto em dezembro, junho e julho.

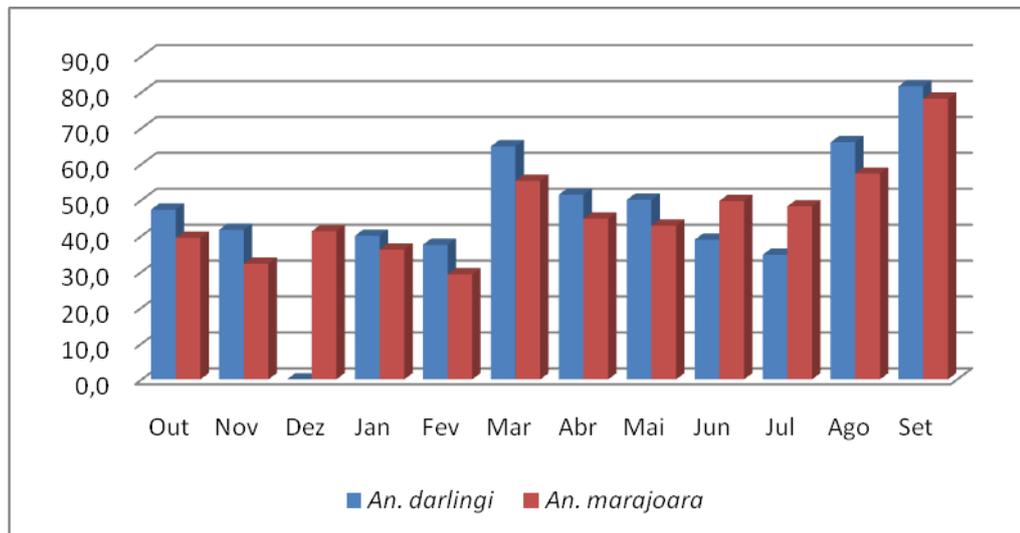


Figura 32 – Comparação da paridade entre as espécies *An. darlingi* e *An. marajoara* no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

3.1.6 Coleta de informações meteorológicas

A tabela 6 demonstra os índices de precipitação pluviométrica registrados nos meses do ano em que o estudo foi realizado, caracterizando o período chuvoso entre dezembro de 2007 a julho de 2008.

Tabela 6 - Dados mensais de precipitação pluviométrica do estado do Amapá no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Mês	Precipitação Mensal (mm)
Outubro de 2007	59,2
Novembro de 2007	3,3
Dezembro de 2007	309,1
Janeiro de 2008	262,1
Fevereiro de 2008	242,7
Março de 2008	376,3
Abril de 2008	334,3
Mai de 2008	251,6
Junho de 2008	192,1
Julho de 2008	172,6
Agosto de 2008	30,6
Setembro de 2008	25,2
Total de chuvas	2259,1

Fonte: Laboratório de Hidrometeorologia do IEPA.

A abundância dos vetores flutuou associada com o padrão sazonal das chuvas. *An. darlingi* é mais abundante durante o período de transição, no final das chuvas e início dos períodos seco, apresentando um discreto aumento sempre que ocorre a redução das chuvas (Figura 33).

O inverso ocorreu com *An. marajoara* que começou a aumentar em janeiro, logo após o início das chuvas, mantendo-se em alta densidade durante todo o período de chuvas (Figura 33).

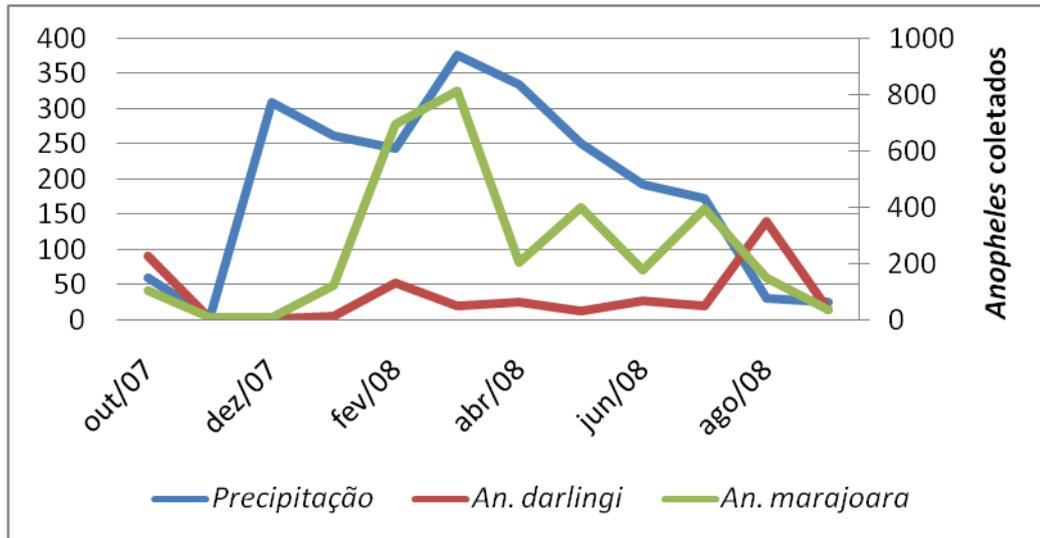


Figura 33 - Precipitação pluviométrica do estado do Amapá e *An. darlingi* e *An. marajoara* capturados no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Analisando a relação entre as precipitações pluviométricas e as taxas de paridade de ambas as espécies, observa-se que estas espécies apresentaram taxas de paridade maiores no período de redução das chuvas, de julho a dezembro (Figura 34).

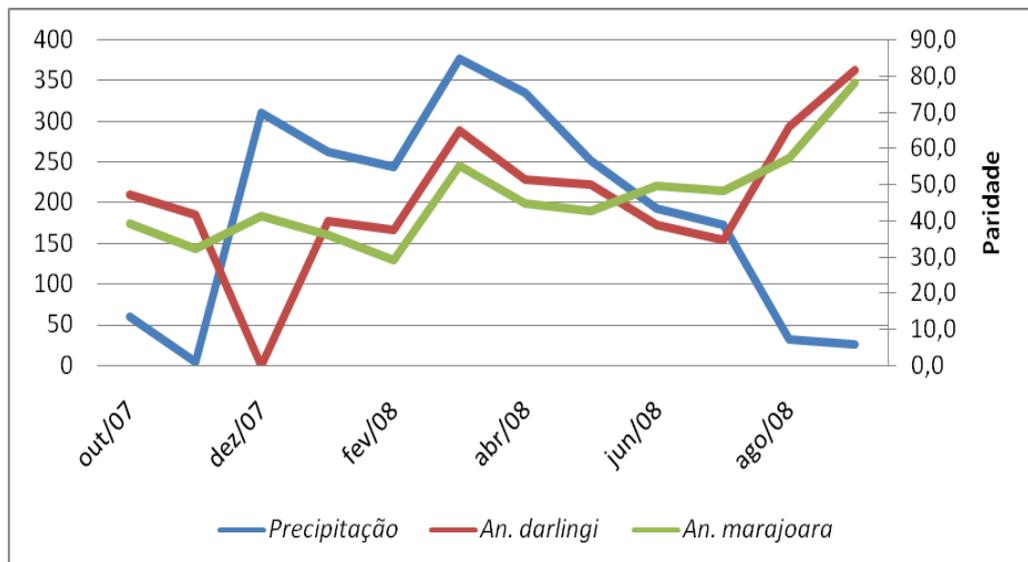


Figura 34 - Percentual de paridade para *An. darlingi* e *An. marajoara* relacionados a precipitação pluviométrica no estado do Amapá.

Observa-se que o aumento de casos de malária está relacionado diretamente às épocas com menor precipitação pluviométrica (Figura 35) que é o período em que há aumento na densidade de *An. darlingi*. Todavia no período chuvoso, dezembro de 2007 a julho de 2008, a incidência de malária é baixa, mas se mantém, principalmente pela presença do *An. marajoara* (Figura 36).

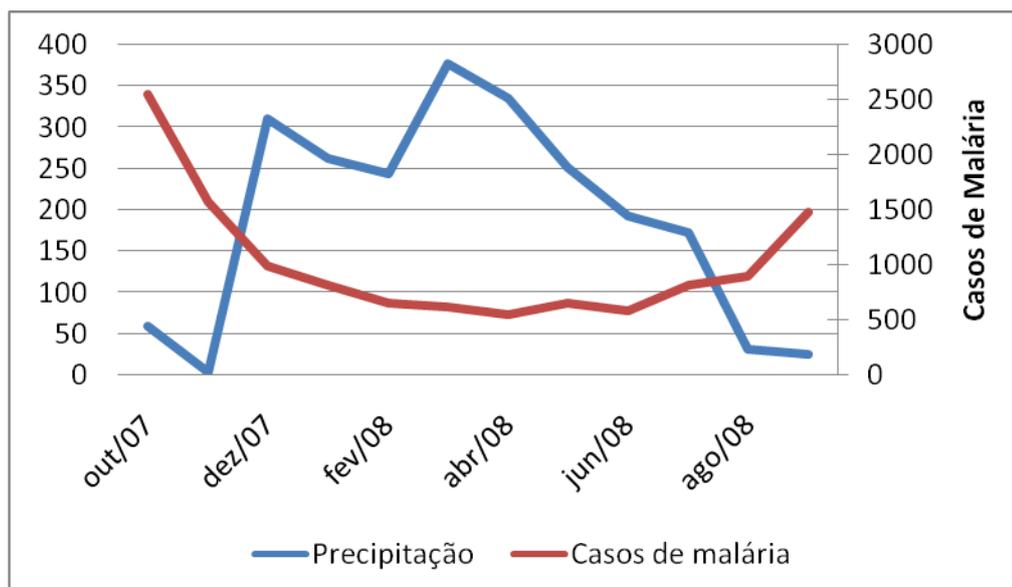


Figura 35 - Casos de malária registrados no estado do Amapá e precipitação pluviométrica no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

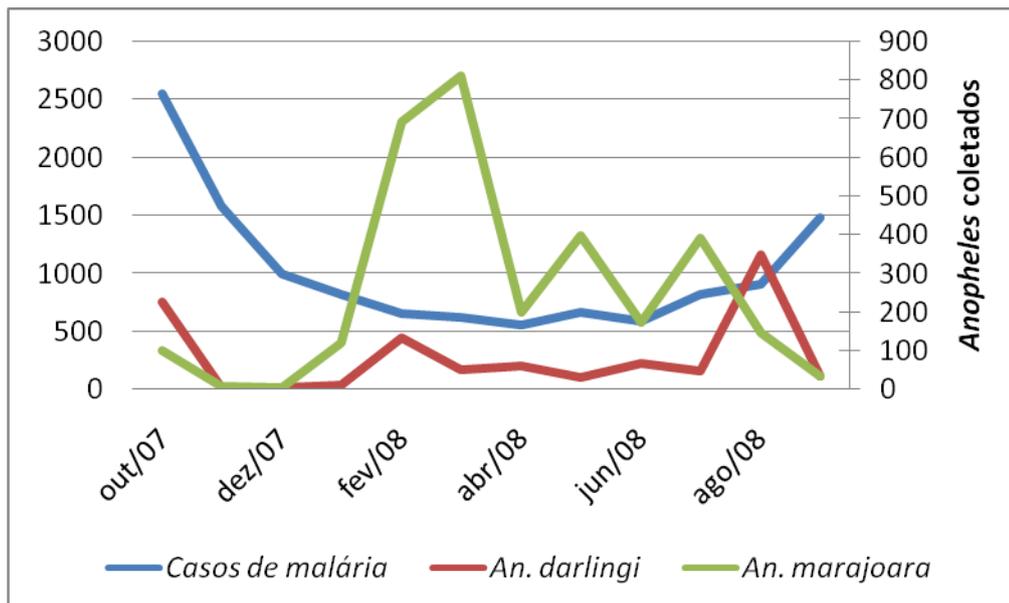


Figura 36 - Casos de malária registrados no estado do Amapá e densidade do *An. darlingi* e *An. marajoara* no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

3.1.7 Montagem de exúvias de larvas e pupas e genitália para confirmação de espécies

Os mosquitos coletados em campo e criados individualmente em insetário foram montados em lâminas para identificação. As exúvias de larvas e pupas e a dissecação das genitálias confirmaram as duas espécies por caracteres morfológicos, sendo definidas como *An. darlingi* e *An. marajoara*.

Os caracteres morfológicos utilizados para esta identificação estão descritas nas Figuras 37 a 42.

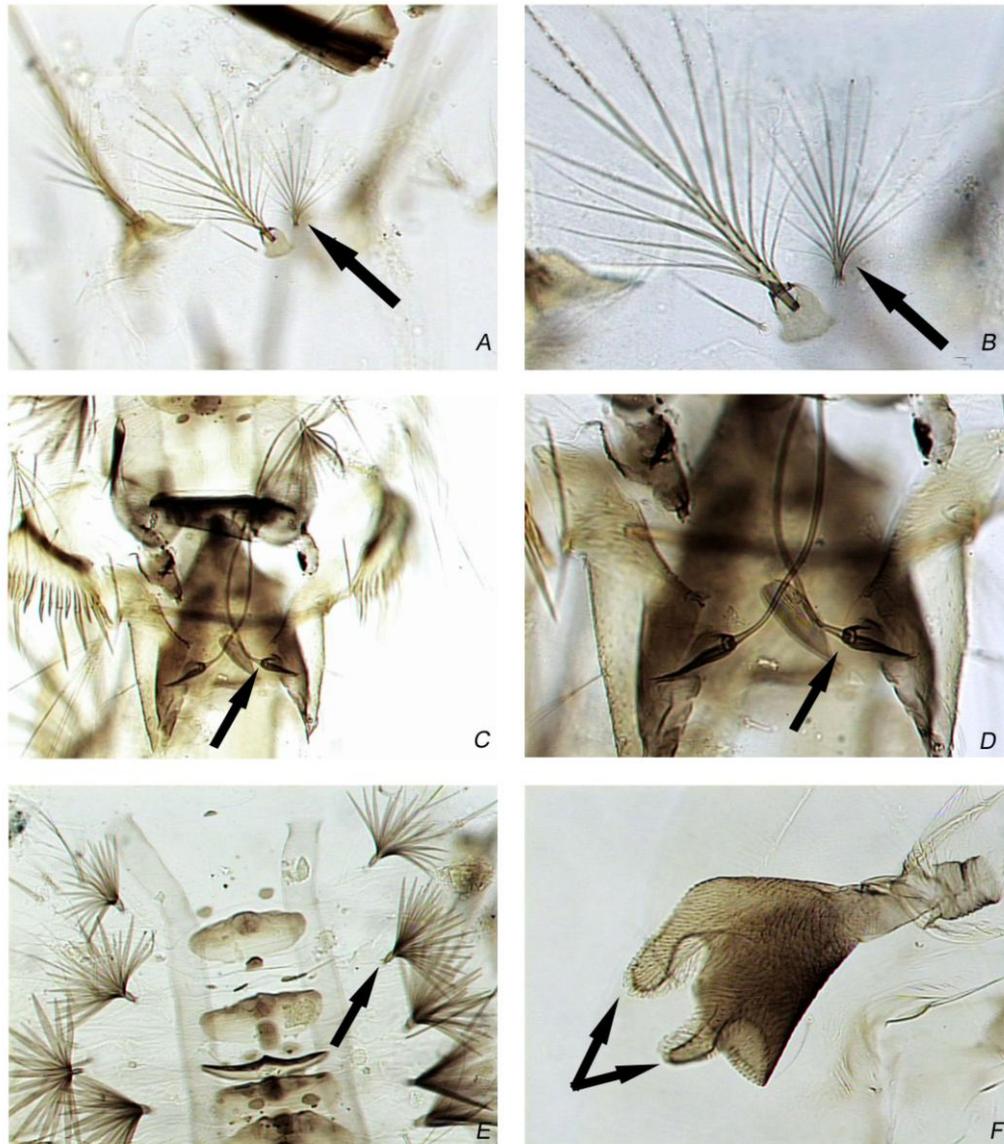
Anopheles darlingi

Figura 37 – Exúvia de larva e pupa de *Anopheles darlingi*.

A: Cerdas do 1-3 do protórax da larva de quarto ínstar, evidenciando a cerda 1-P ramificada, não palmada. **B:** Detalhe da cerda 1-P, ramificada, não palmada. **C:** Lobo espiracular da larva de quarto ínstar. **D:** lobo espiracular, mostrando a cerda 13-S, longa e forte, inserida em tubérculo evidente. **E:** Cerda palmadas, com folíolos lisos, do abdome da larva de quarto ínstar. **F:** Trompa da pupa, mostrando as duas saliências apicais.

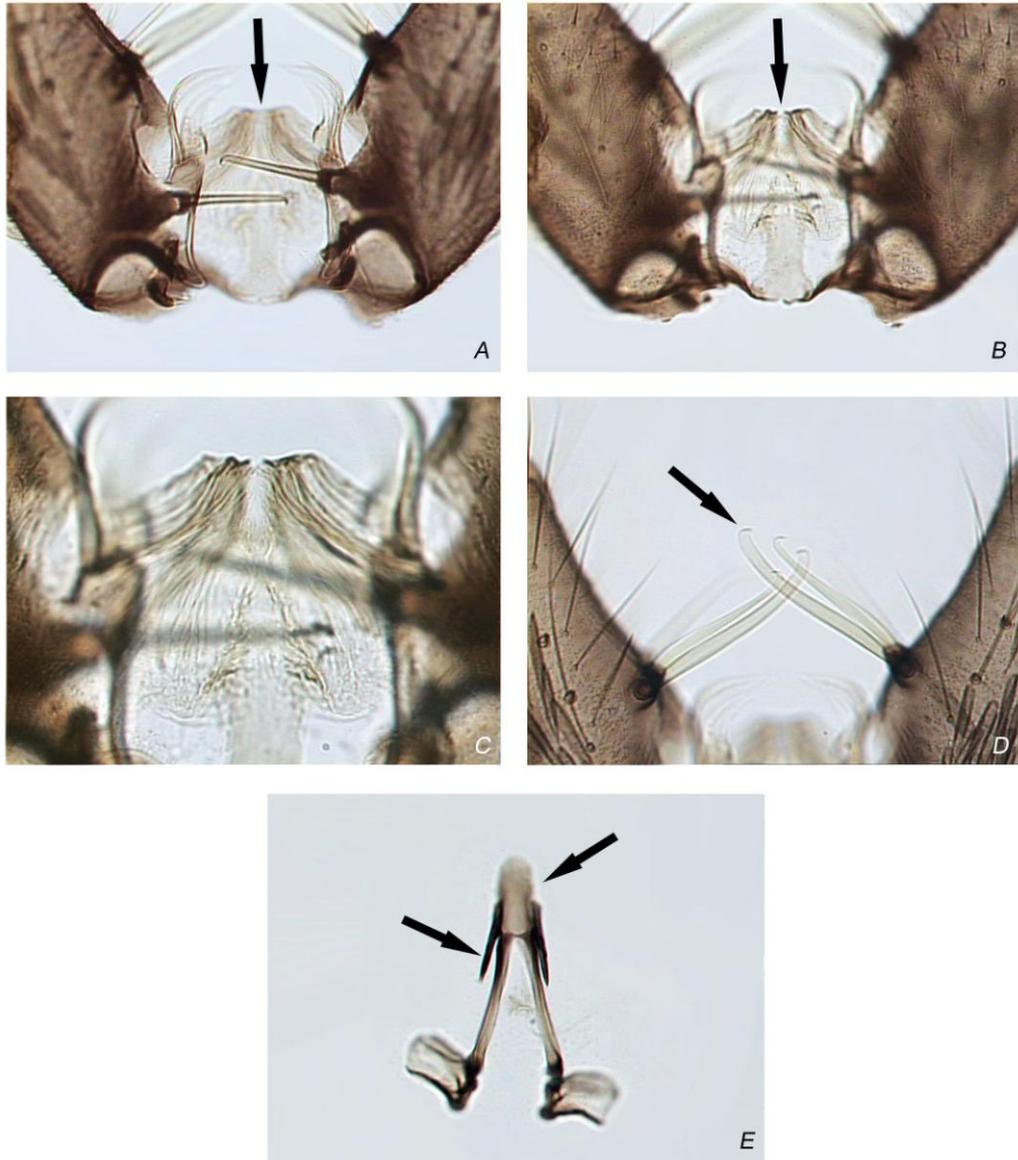


Figura 38 - Genitália masculina de *Anopheles darlingi*.

A: Claspete ventral, em vista dorsal. **B:** Claspete ventral, em vista ventral. **C:** Detalhe do claspete ventral, em vista ventral, mostrando os lóbulos ventrais. **D:** Cerdas acessórias do gonocoxito, mostrando a ápice em gancho. **E:** Edeago, mostrando o ápice alongado, folíolos subapicais serrilhados emergindo de área hialina.



Figura 39 – Mosquito adulto de *Anopheles darlingi*

A: Primeira mancha escura da veia costa (pré-umeral escura) maior que a mancha clara seguinte (umeral clara) **B:** Veia Anal predominantemente clara, com uma mancha negra perto de cada extremidade; tergitos abdominais com escamas amareladas **C:** Tarsos posteriores com os três últimos artículos (III-V) inteiramente brancos.

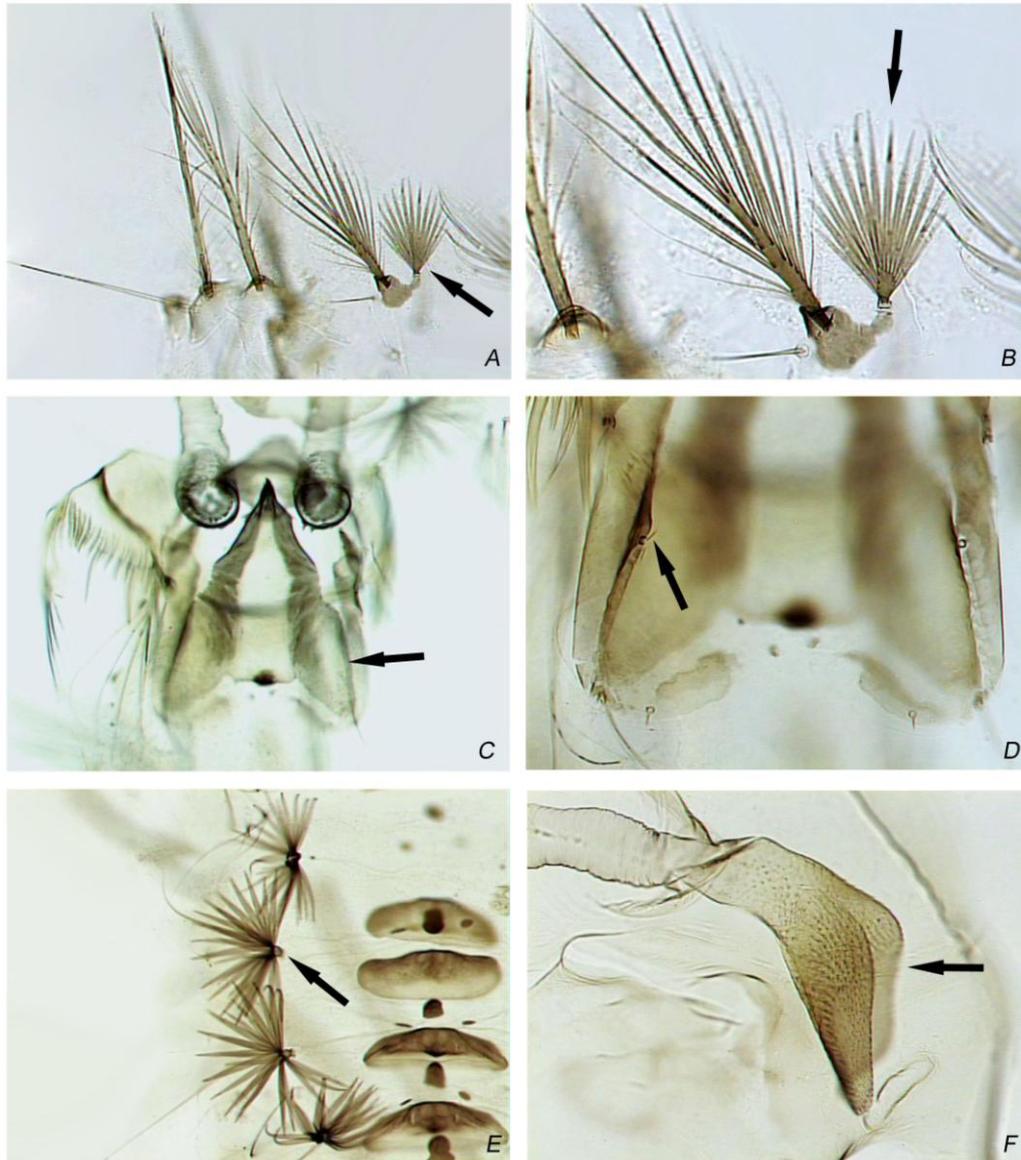
Anopheles marajoara

Figura 40 – Exúvia de larva e pupa de *Anopheles marajoara*.

A: Cerdas do 1-3 do protórax da larva de quarto ínstar, evidenciando a cerda 1-P ramificada, palmada. **B:** Detalhe da cerda 1-P, ramificada, palmada. **C:** Lobo espiracular da larva de quarto ínstar. **D:** lobo espiracular, mostrando a cerda 13-S, diminuta. **E:** Cerda palmada, com folíolos lisos, do abdome da larva de quarto ínstar. **F:** Trompa da pupa, evidenciando a ausência de saliências no ápice.

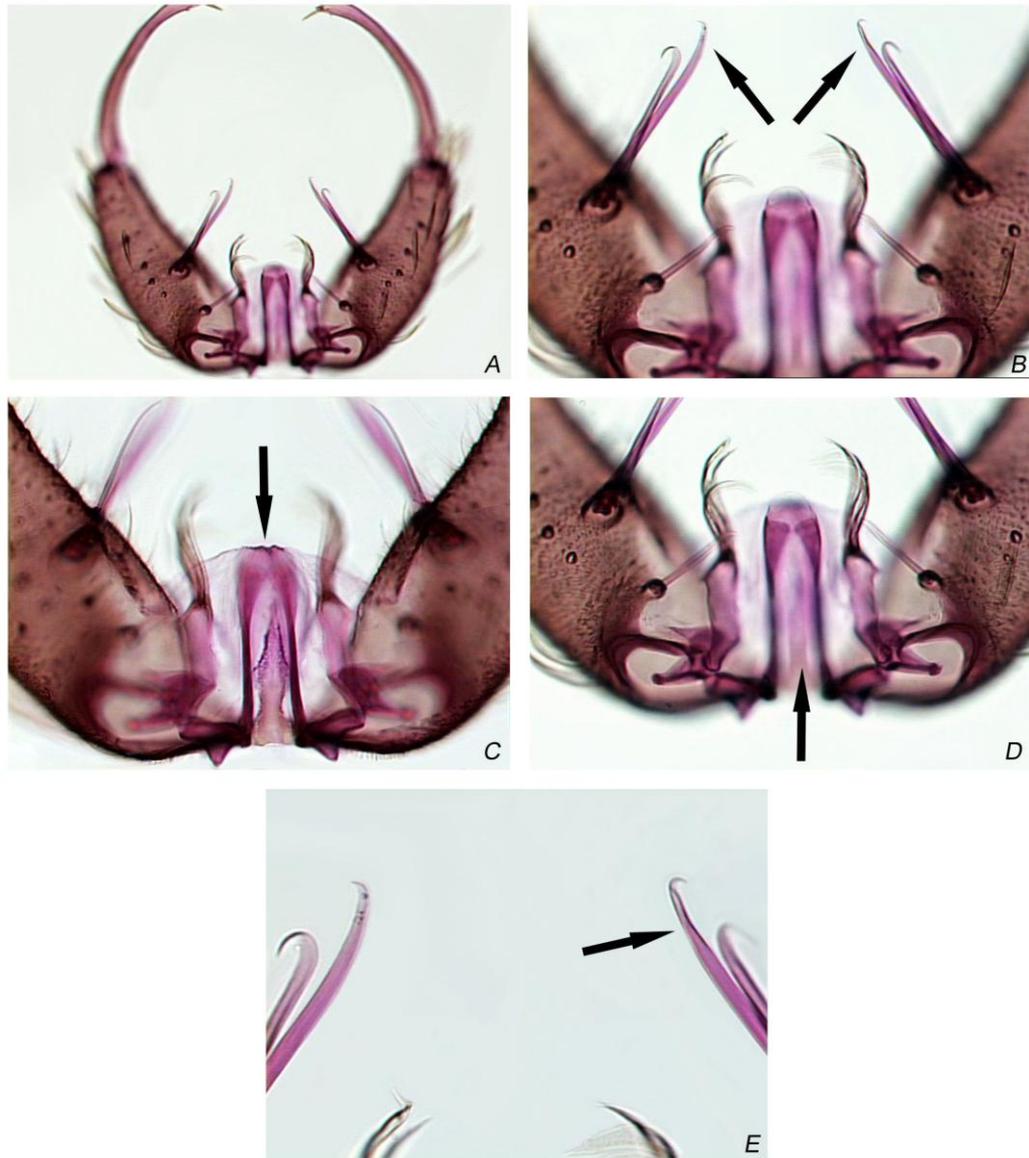


Figura 41 - Genitália masculina de *Anopheles marajoara*.

A: Aspecto geral das estruturas que formam a genitália, em vista dorsal, evidenciando o edeago e o claspete dorsal. **B:** Cerdas acessórias do gonocoxito, mostrando a ápice em gancho. **C:** Claspete ventral, em vista ventral, mostrando detalhes do ápice e lóbulos ventrais. **D:** Edeago, mostrando o ápice hialino, baixo, sem folíolos subapicais. **E:** Cerdas acessórias do gonocoxito, mostrando a ápice em gancho.

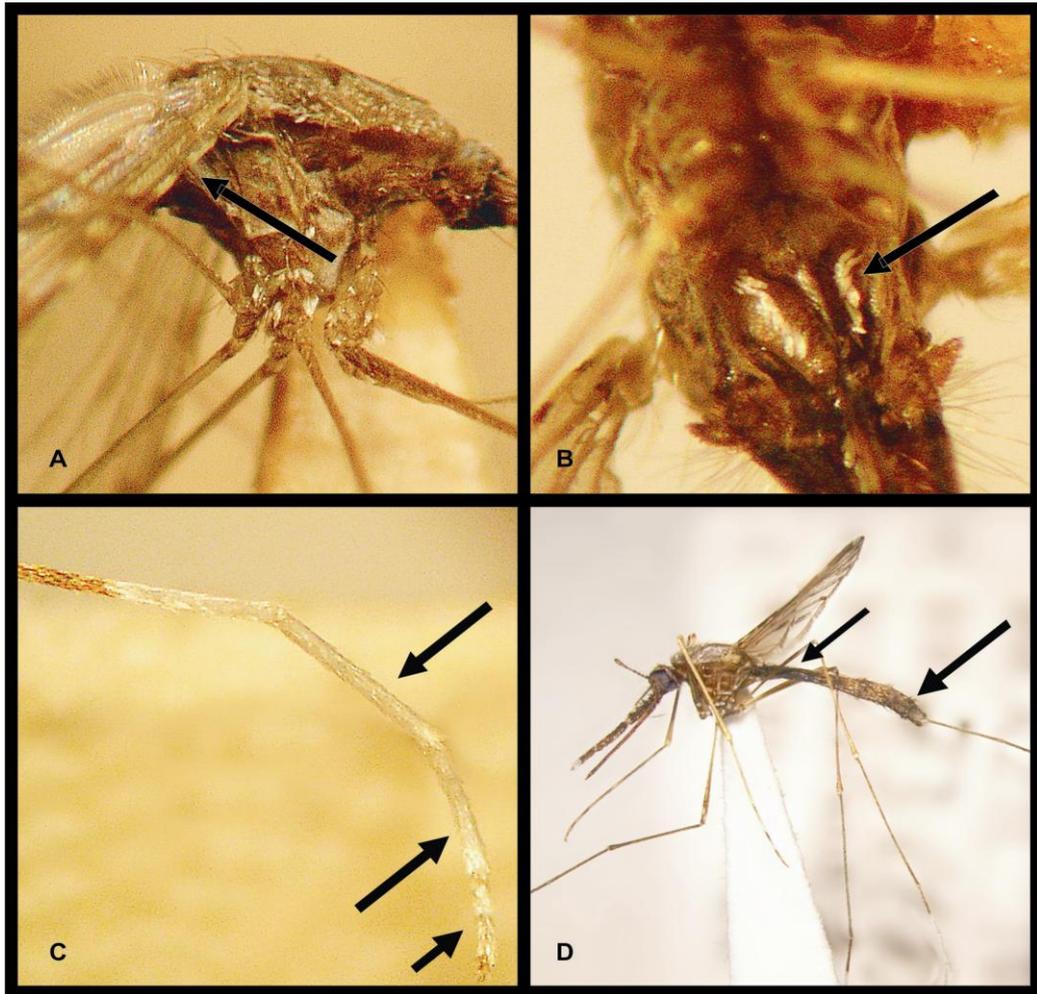


Figura 42 – Mosquito adultos de *Anopheles marajoara*.

A: Primeira mancha escura da veia costa menor que a mancha clara seguinte; manchas claras das veias anteriores da asa, particularmente da costa, formadas por escamas quase tão alvas quanto as dos tarsos posteriores III-V; **B:** Esternito abdominal I com duas linhas de escamas brancas **C:** Tarsos posteriores com os três últimos artículos (II-V) inteiramente brancos, **D:** Tergito abdominal II sem tufos póstero-laterais de escamas escuras; Tergito VIII com escamas amareladas e brancas; Tergitos abdominais com tufos póstero-laterais de escamas escuras a partir do segmento III.

Imagens de *An. marajoara* foram obtidas com os equipamentos da Aotec Instrumentos Científicos e cedidas para esta tese pela Dra. Maria Anice Sallum (USP), estando as mesmas arquivadas em seu laboratório de pesquisa.

3.1.8 Montagem de adultos em alfinetes entomológicos

Os exemplares montados foram conservados em caixas entomológicas adequadas contendo naftalina em bolas e encaminhados a coleção entomológica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá – IEPA (Figura 43).

Durante o período de estudo foram depositados na coleção entomológica do Instituto de Pesquisas Científicas e tecnológicas do estado do Amapá, que é fiel depositário de fauna e flora, as seguintes espécies *An. marajoara* (50), *An. darlingi* (20), *An. braziliensis* (20), *An. triannulatus* (20) e *An. peryassui* (05) (Figura 44).

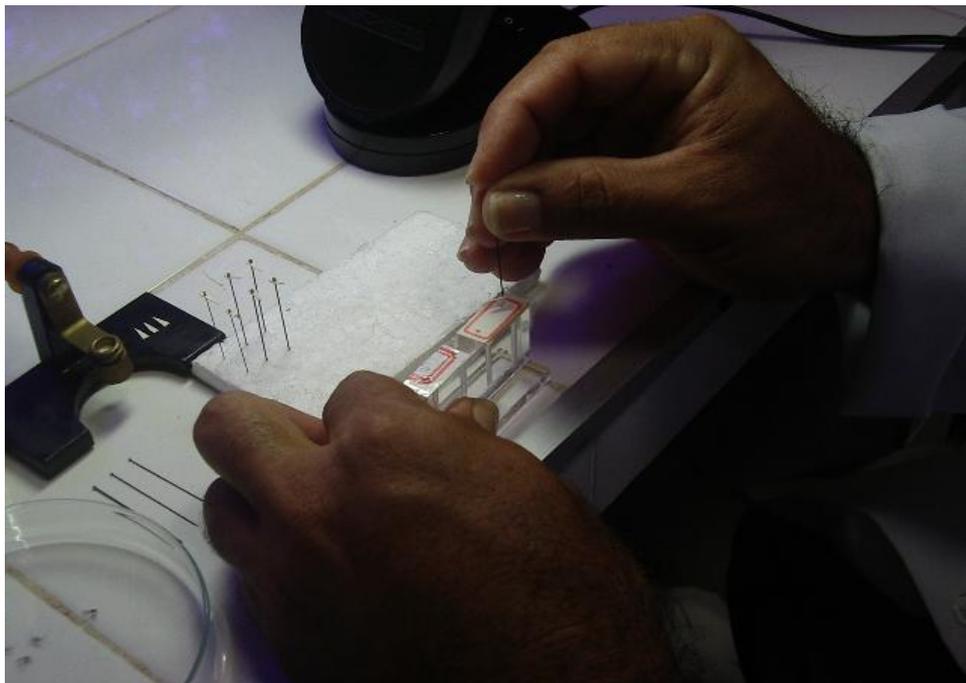


Figura 43 - Montagem de mosquitos para armazenamento na coleção entomológica.



Figura 44 - Espécimes coletadas e acondicionadas na coleção entomológica do Instituto de Pesquisas Científicas e tecnológicas do estado do Amapá.

3.1.9 Hábitos de repouso e preferência alimentar

Neste estudo não foram coletados anofelinos repousando dentro da casa após o repasto sanguíneo (Tabela 7). Este comportamento mostra que os mesmos só adentravam a residência para realizar o repasto sanguíneo, após o que se retiravam e repousavam no extradomicílio.

Tabela 7 - Mosquitos ingurgitados coletados em repouso no intra e peridomicilio no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

N° Amostra	Ponto	Local de coleta	Espécie	Estágio de Sella	Paridade
1	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 24h de alimentado	Parida
2	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Parida
3	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Nulipara
4	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Nulipara
5	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Nulipara
6	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Parida
7	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 12h de alimentado	Nulipara
8	1	Peri	<i>An. marajoara</i>	< 24h de alimentado	Parida
9	1	Peri	<i>An. darlingi</i>	< 24h de alimentado	Parida
10	2	Peri	<i>An. darlingi</i>	< 36h de alimentado	Parida

O número de mosquitos coletados em repouso no intradomicilio foi pequeno e todos estavam sem sangue, ou seja, estavam aguardando o repasto sanguíneo. Destes, 90% eram da espécie *An. marajoara*. O *An. darlingi* não foi encontrado no intradomicilio (Tabela 8).

Vale ressaltar que devido ao número baixo de mosquitos coletados em repouso com sangue (dez), não foi realizado a técnica de ELISA para determinação de preferência alimentar.

77,4% foram *An. marajoara*, (05) 9,4% *An. braziliensis*, (04) 7,5% *An. darlingi*, (02) 3,8% *An. nuneztovari* e (01) 1,9% *An. triannulatus*.

3.1.10 Digestão sanguínea

Para a elaboração da tabela de digestão sanguínea, foram observados os oito (I a VIII) segmentos abdominais, a cada seis horas após a alimentação sanguínea (Figura 45), então definida quantos segmentos apresentavam sangue, classificando por tempo de digestão (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36 e 48 horas) (Figura 46).

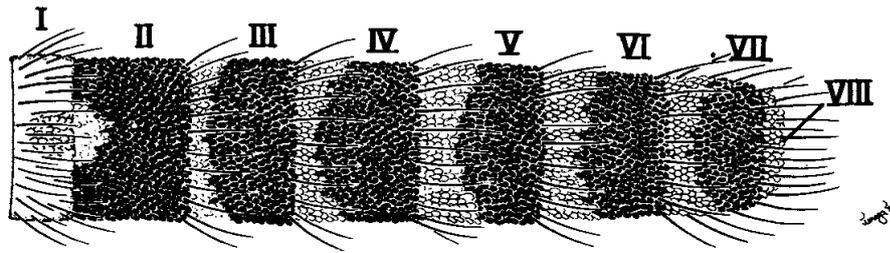


Figura 45 – Vista dorsal do abdome do mosquito *Anopheles*, com os oito segmentos abdominais.

Fonte: Consoli e Oliveira, 1994.

Nos meses de março, julho e novembro foram coletados 600 mosquitos do gênero *Anopheles* ingurgitados em curral próximo a localidade de estudo. Os mosquitos coletados foram divididos em três gaiolas entomológicas em grupos de 200 mosquitos e a cada seis horas durante o período de 48h. dez mosquitos por gaiola foram retirados para ser feita a classificação por digestão sanguínea.

A classificação constante da tabela de digestão foi feita baseada na leitura de digestão sanguínea dos 30 mosquitos examinados a cada seis horas. Portanto, fica claro que para fazer o teste de preferência alimentar, só se deve utilizar mosquitos até 42 horas após a repasto sanguíneo (Figura 46).

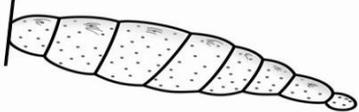
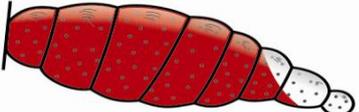
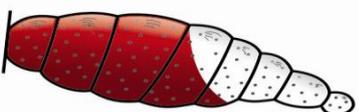
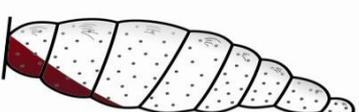
	Abdome vazio
	6 horas após a alimentação
	12 horas após a alimentação
	18 horas após a alimentação
	24 horas após a alimentação
	30 horas após a alimentação
	36 horas após a alimentação
	42 horas após a alimentação
	48 horas após a alimentação Abdome ocupado pelos ovários

Figura 46 – Tabela de digestão sanguínea por intervalos de tempo de seis horas após a alimentação sanguínea.

3.2 DETERMINAÇÃO DA INFECÇÃO NATURAL PELO TESTE IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

Dos 4.601 mosquitos testados, 100 foram positivos para plasmódios humanos, resultando em uma taxa de infecção de 2,17%. Dos 3.029 *An. marajoara* testados 71 (2,34%) foram positivos e dos 917 *An. darlingi* 28 (3,05%) foram positivos. Além destas duas espécies, o *An. braziliensis* apresentou positividade para o *P. falciparum* (1 espécime) resultando em taxa de infecção de 0,23% (Tabela 9).

Tabela 9 – Espécies de mosquitos anofelinos infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Espécie	# Espécies coletadas	Positivos				% de infecção				Taxa Infecção
		PF	PV 210	VK 247	Mista	PF	PV 210	VK 247	Mista	
<i>An. braziliensis</i>	429	1	0	0	0	0,23	0,00	0,00	0,00	0,23
<i>An. darlingi</i>	917	8	10	9	1	0,87	1,09	0,98	0,11	3,05
<i>An. marajoara</i>	3029	19	15	34	3	0,63	0,50	1,12	0,10	2,34
<i>An. triannulatus</i>	203	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>An. nuneztovari</i>	5	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>An. peryassui</i>	18	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total	4601	28	25	43	4	0,6	0,5	0,9	0,1	2,17

O *An. darlingi* foi encontrado positivo para plasmódios humanos nos meses de outubro e dezembro de 2007 e fevereiro, março, maio, junho e agosto de 2008, enquanto que o *An. marajoara* não apresentou infecção somente no mês de setembro (Tabela 10).

Conforme mostra a tabela 10 e a figura 47, o *An. marajoara* apresenta um índice maior de infecção para o *P. falciparum* que o *An. darlingi*, principalmente no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008. Padrão

semelhante é observado no caso de infecção pela variante VK 247 do *P. vivax*. No entanto para a variante VK 210 do *P. vivax* o *An. darlingi* apresenta índice de infecção maior principalmente no período de fevereiro, março e junho de 2008 (Tabela 10 e 11, Figura 48 e 49).

No mês de setembro nenhuma espécie foi encontrada naturalmente infectada, embora este tenha sido o mês de maior taxa de paridade.

Tabela 10 - *Anopheles darlingi* encontrados infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

<i>Anopheles darlingi</i>									
Mês	# Espécies coletadas	Positivos				% de infecção			
		PF	PV 210	VK 247	Mista	PF	PV 210	VK 247	Mista
out/07	226	1	0	0	0	0,44	0,00	0,00	0
nov/07	6	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0
dez/07	5	0	0	1	0	0,00	0,00	20,00	0
jan/08	13	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0
fev/08	133	5	3	3	1	3,76	2,26	2,26	0,75
mar/08	52	0	2	0	0	0	3,85	0	0
abr/08	62	0	0	0	0	0	0	0	0
mai/08	31	0	0	1	0	0	0	3,23	0
jun/08	67	0	3	0	0	0	4,48	0	0
jul/08	49	0	0	0	0	0	0	0	0
ago/08	238	2	2	4	0	0,84	0,84	1,68	0
set/08	35	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	917	8	10	9	1	0,87	1,09	0,98	0,75

Tabela 11 - *Anopheles marajoara* encontrados infectados naturalmente nas coletas de campo no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

<i>Anopheles marajoara</i>									
Mês	# Espécies coletadas	Positivos				% de infecção			
		PF	PV 210	VK 247	Mista	PF	PV 210	VK 247	Mista
out/07	103	1	0	0	0	0,97	0,00	0,00	0,00
nov/07	8	1	0	0	1	12,50	0,00	0,00	12,50
dez/07	6	2	0	3	0	33,33	0,00	50,00	0,00
jan/08	120	4	1	3	1	3,33	0,83	2,50	0,83
fev/08	693	7	5	18	1	1,01	0,72	2,60	0,14
mar/08	812	0	3	0	0	0,00	0,37	0,00	0,00
abr/08	200	2	1	0	0	1,00	0,50	0,00	0,00
mai/08	399	0	0	4	0	0,00	0,00	1,00	0,00
jun/08	173	0	5	3	0	0,00	2,89	1,73	0,00
jul/08	391	1	0	2	0	0,26	0,00	0,51	0,00
ago/08	89	1	0	1	0	1,12	0,00	1,12	0,00
set/08	35	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
Total	3029	19	15	34	3	0,63	0,50	1,12	0,10

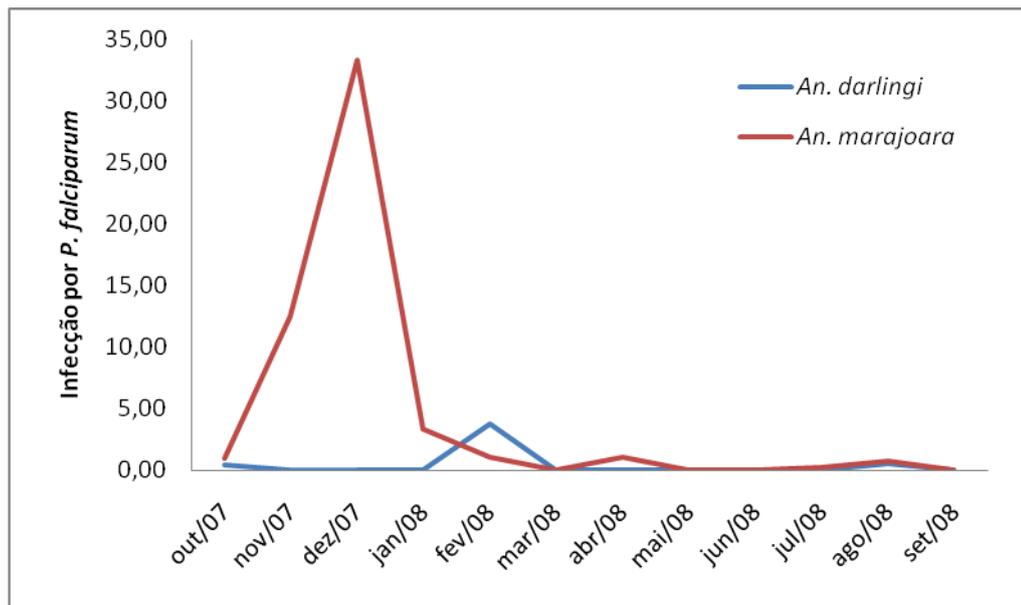


Figura 47 – Taxa de infecção natural de *An. darlingi* e *An. marajoara* ao *P. falciparum* no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

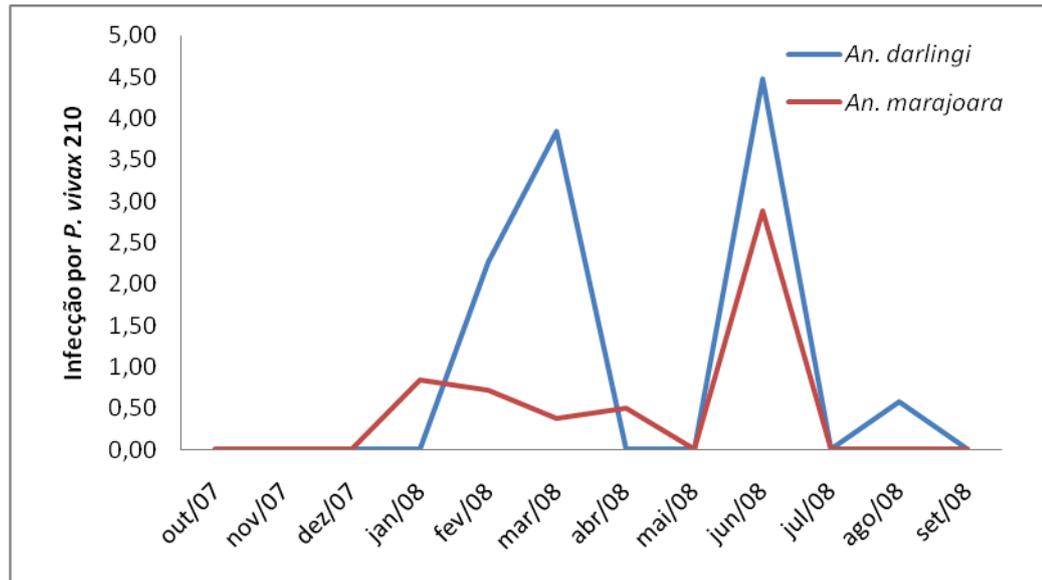


Figura 48 – Taxa de infecção natural de *An. darlingi* e *An. marajoara* ao *P. vivax* (VK 210) no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

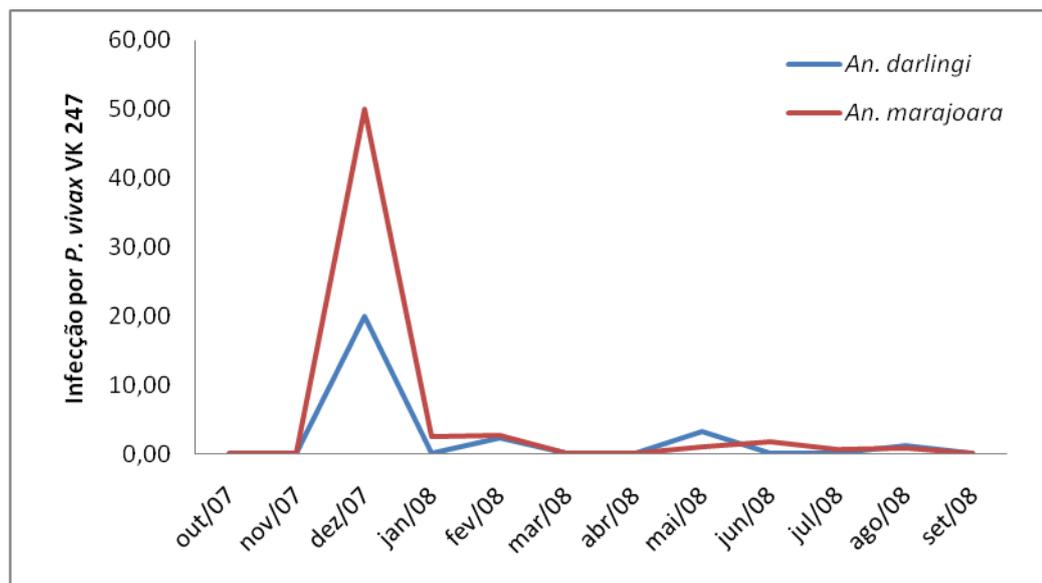


Figura 49 – Taxa de infecção natural de *An. darlingi* e *An. marajoara* ao *P. vivax* (VK 247) no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

4 DISCUSSÃO

A malária no município de Macapá é principalmente peri urbana, áreas estas caracterizadas por ressaca, pela presença de fragmentos de floresta e assentamentos desordenados (invasões).

A diversidade de espécies de mosquitos anofelinos está diretamente relacionada com as características geográficas da área, principalmente os tipos de coleções hídricas (criadouros) existentes e que podem favorecer o desenvolvimento do ciclo evolutivo do mosquito. Portanto, dependendo do tipo e qualidade do criadouro o número de espécies destes mosquitos pode variar de local para local (Forattini, 2002).

Neste estudo foram encontradas seis diferentes espécies de mosquitos anofelinos, o que difere do que está descrito em trabalhos anteriores (Deane *et al.*, 1948, encontrou 12 espécies, Tadei *et al.*, 1998 coletou 11 espécies, Segura *et al.*, 1998 coletou nove espécies e Conn *et al.*, 2002 descreveu apenas duas espécies). Tal diferença pode ser justificada pelas mudanças ocorridas nestas áreas devido ao uso antrópico inadequado das mesmas. Todavia, em todos os estudos há relato da presença de *An. darlingi* e espécie(s) do *An. albitarsis s.l.*, conhecidos vetores de malária humana e que portanto, vem mantendo a transmissão de malária neste município ao longo dos anos.

Quanto à variável densidade, cabe ressaltar a variação existente, quer de local para local, mês para mês, noite para noite, estação climática para estação climática, pois são vários os fatores que podem influenciar a mesma. Dentre estes, pode-se destacar a temperatura, umidade, velocidade dos ventos,

fase da lua, presença de chuva, etc. Nos nossos resultados pode-se observar a relação direta de densidade das espécies encontradas com a presença ou ausência de chuvas. Em estudos prévios (Deane *et al.*, 1948, Tadei *et al.*, 1998, Segura *et al.*, 1998 e Conn *et al.*, 2002) foram encontradas frequências diferentes para as espécies coletadas, e este fato também está relacionado à sazonalidade da malária na região amazônica, isto é, registra-se maior densidade nos períodos de início e término do período chuvoso, o que nos últimos anos vem variando muito.

O *An. marajoara* foi a espécie mais prevalente (64%) com densidade três vezes maior que a segunda espécie, o *An. darlingi* (21,3%). Resultado semelhante foi verificado por Conn *et al.* (2002) quando estudando três localidades, 2 em Macapá e 1 em Santana, no estado do Amapá. Todavia, estes relatos contrastam com os descritos por Deane *et al.*, 1948, pois neste período e no mesmo município o *An. darlingi* era a espécie com maior densidade. Este fato deve-se principalmente a dois fatores, mudanças ecológicas e atividades antrópicas nestas áreas.

As quatro estações do ano na região Amazônica não são bem definidas e por este motivo adota-se o critério de período seco (Julho a novembro) e período chuvoso (Dezembro a Junho).

O padrão sazonal observado em nosso estudo para o *An. darlingi* é semelhante ao descrito na maioria dos estudos prévios e é mais abundante nos períodos de início das chuvas (Forattini, 1962b; Charlwood & Hayes, 1978,; Hayes & Charlwood, 1979,; Charlwood, 1980; Klein & Lima, 1990; Deane, 1992; Rozendaal, 1992; Consoli & Oliveira, 1994; Gil *et al.*, 2003; Moreno *et al.*, 2007;

Galardo *et al.*, 2009). Porém, no Suriname e Peru foi verificado que em algumas áreas o *An. darlingi* é mais abundante na estação chuvosa (Hudson, 1984; Leon *et al.* 2003). Existem estudos avaliando a hipótese desta espécie constituir um complexo (Canto, 2007; Conn *et al.*, 2006; Charlwoold & Hays (1978); Forattini, 1987), o que justificaria os comportamentos referidos acima.

Já para o *An. marajoara* observamos maior densidade nos períodos chuvosos, o que já havia sido registrado por Rubio-Palis & Curtis (1992) na Venezuela ocidental. Moreno *et al.* (2007) também descreve ser o *An. marajoara* mais abundante nas estações chuvosas em áreas de prospecção mineral no sul da Venezuela.

Os nossos resultados comparados com diversos estudos sugerem que chuva pode ser considerada fator importante para a elaboração de plano de controle para a interrupção da transmissão de malária, pois a *An. marajoara* é nitidamente mais abundante em períodos de chuvas em contraste com *An. darlingi*.

A atividade de *An. darlingi* foi registrada nas 12 horas de captura em ambos os pontos pesquisados (A e B) com elevada atividade noturna, não sendo possível definir o horário de maior atividade hematofágica. Rozendaal (1990) durante capturas de 13h (17:30 às 6:30h) no Suriname, encontrou *An. darlingi* em todos os horários. Resultados semelhantes foram encontrados por Hudson (1984); Elliott (1972) na Colômbia e Gama *et al.* (2009) em Rondônia. Assim, é imprescindível implantar medidas de controle que possam diminuir ou eliminar o contato homem-vetor quando o *An. darlingi* estiver envolvido na transmissão de malária.

Barros *et al.*, 2007 em Roraima obtiveram resultados semelhantes aos estudos acima citados e demonstraram que estudos entomológicos limitados ao período crepuscular (18:00 as 21:00h) podem subestimar o tamanho da população de *An. darlingi* existente na localidade e além disso, apresentar variações no padrão de atividade hematofágica. Este fato também foi observado por Voorham, 2002; Galardo *et al.*, 2009, em estudos realizados no estado do Amapá.

O *An. marajoara* apresentou picos de atividade hematofágica bem definidos, das 18:00 às 21:00h no intradomicílio e das 18:00 às 20:00h no peridomicílio, embora tenha sido encontrado durante toda a noite no intradomicílio. Tais resultados podem variar, dependendo do tipo de habitats, regime das chuvas e tipo de casa, comportamento da população entre outros.

Assim verifica-se que ambas as espécies, *An. darlingi* e *An. marajoara* apresentam comportamento endofílico e exofílico, o que pode representar dificuldade de implementação de ações de controle que atinjam os dois tipos de comportamento.

Na década de 40 Deane *et al.* (1948) coletaram cerca de 93% do total de espécimes adultos dentro das casas picando o homem e durante a noite, demonstrando o seu comportamento endofílico e antropofílico.

O percentual de picada para *An. darlingi* no presente estudo foi de 36% no intradomicílio (IPHH 0,1 a 4,3) e de 64% no peridomicílio (IPHH 0,1 a 6,8). Padrão semelhante foi observado no Suriname, onde o percentual de picada do *An. darlingi* foi de 27,4% no intradomicílio e 72,6% no peridomicílio (Rozendaal,

1987). Em comunidade próxima ao rio Ituxi no estado do Amazonas *An. darlingi* está presente em maior densidade no peridomicílio (Roberts *et al.*, 1987).

O *An. marajoara* apresentou um percentual de picada de 29,6% no intradomicílio (IPHH 0,1 a 5,0) e de 70,4% no peridomicílio (IPHH 0,1 a 23,9) demonstrando um padrão semelhante ao *An. darlingi* em seu percentual de atividade no intra e peridomicílio. Foram encontrados resultados semelhantes nos estudos realizados por Conn *et al.* (2002) e Segura (1998) no mesmo município e por Klein *et al.*, 1991; e Oliveira-Ferreira, 1992 em Rondônia. O comportamento dessa espécie é semelhante ao *An. darlingi*, isto é, mais exofílica do que endofílica.

Baseados nos dados acima torna-se difícil afirmar que estas espécies em estudo sejam antropofílicas em grau elevado e de maneira uniforme para todas as populações.

O índice de picada homem hora é mais uma forma de ratificar a importância das duas espécies alvo deste estudo na transmissão de malária, visto que o IPHH do *An. marajoara* foi superior a outra espécie no período chuvoso, enquanto o *An. darlingi* foi superior no início e final das chuvas, período onde ocorre o maior número de casos de malária, fatos estes que permitem que a transmissão de malária nesta área seja constante, independentemente dos períodos seco e chuvoso.

Observa-se que as maiores taxas de paridade para ambas as espécies ocorreram no mês de setembro, março e agosto, o que significa maior risco de transmissão, pois as fêmeas por serem mais velhas apresentam maior probabilidade de contato com o parasita, o que a torna fonte de infecção. Esta

taxa varia muito de local para local, como pode ser visto em estudos realizados na Amazônia como o de Barros *et al.* (2007) em Roraima nos anos de 2003 e 2004, que verificou a redução de fêmeas nulíparas em período de fortes chuvas. Esta variável pode ser útil na implementação de medidas de controle, pois mostra o nível do risco de transmissão.

Em trabalhos desenvolvidos por Wilkerson *et al.* (1995), foi possível a identificação das espécies do complexo *albitarsis* usando testes com biologia molecular. Assim, sabe-se que a identificação morfológica destas espécies usando chaves dicotômicas é quase impossível, exceto para o *An. marajoara* e *An. deaneorum*, quando o identificador é muito experiente. Devido a esta limitação e ao fato de que os núcleos de entomologia dos municípios ou estados não dispõem de condições para execução de técnicas de biologia molecular, normalmente, recorre-se a outras técnicas morfológicas, como identificação das exúvias de larvas e pupas e a dissecação de genitália (Sallum *et al.*, 2000). Assim, utilizando estas últimas técnicas foi possível confirmar a identificação morfológica das duas espécies alvo deste estudo e de que o *An. marajoara* é a única espécie do complexo *albitarsis* existente na área de estudo.

Não foi capturado *An. darlingi* em repouso dentro do domicílio em doze meses de coletas mensais. Todavia, foram encontrados 8 (oito) exemplares de *An. marajoara* repousando. Zimmerman *et al.* (2006), em estudos realizados nos municípios de Macapá e Santana encontraram 1.232 exemplares de *An. darlingi* e *An. marajoara* em repouso, o que demonstra que este comportamento é muito variável. Charlwood (1996) mostra que em vários estudos realizados em diferentes estados brasileiros, o hábito de repousar dentro das casas varia e

muito, podendo ser de poucos minutos até horas. Provavelmente, na área de nosso trabalho as populações das espécies estudadas, se permanecem dentro das casas após alimentar-se, o fazem por pouco tempo. Isto demonstra que ações de controle visando este hábito podem não ser eficientes para esta área. Assim, borrifação intradomiciliar é uma ação que não é recomendada nesta área.

Zimmerman *et al.* (2006) verificaram que somente 47,9% dos mosquitos (*An. darlingi* e *An. marajoara*) coletados em repouso (1.232) continham sangue no abdome. Estes exemplares foram examinados quanto à digestão sanguínea seguindo a tabela de Sella que separa a digestão sanguínea em períodos de 12 horas até 48 horas. Ao analisarem os resultados verificaram que os intervalos de 12 horas eram muito extensos. Por isso, neste estudo foi realizada a análise com intervalo de seis horas, o que resultou na demonstração de que testes para identificação de fonte alimentícia devem ser realizados até 42 horas pós-repasto sanguíneo.

De acordo com Curtis & Graves (1983), a suscetibilidade dos mosquitos à infecção consiste na habilidade de patógenos se desenvolverem em determinado espécie de vetor até a forma ou fase em que vai ser transmitido e que pode haver uma variação intra e interespecífica. Nossos resultados demonstram que as duas espécies de anofelinos estudadas são susceptíveis ao *P. falciparum* e a variantes do *P. vivax*.

Os resultados demonstram que a prevalência de infecção de mosquitos por espécies do parasito é maior para PVK210 em *An. darlingi* e para VK247 em *An. marajoara*, o que está em consonância com os achados de Machado & Póvoa (2000) que mostra maior proporção de infecção por VK210

seguida por VK247, em humanos, em estudo sobre distribuição de variantes de *P. vivax* na Amazônia.

Os dados epidemiológicos da infecção malárica constantes no banco de dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (Sivep_Malária - SVS/MS) mostram que no estado do Amapá em 2008, 79,2% da malária registrada no município de Macapá foi causado por *P. vivax*. Portanto, a taxa de infecção encontrada em mosquitos (maior para *P. vivax*) justifica o número de casos de malária humana causada por este mesmo agente.

Rachou em 1958, fazendo dissecação de espécimes de *Anopheles* encontrou formas de esporozoítos nas glândulas salivares de *An. darlingi* e *An. albitarsis*, entre outras espécies, e por isso considerou tais espécies como possíveis transmissores de malária no Brasil.

De acordo com nossos resultados, assim como os observados nos estudos realizados por Segura (1998) e Conn *et al.* (2002), as espécies *An. darlingi* e *An. marajoara* são importantes vetores de malária no município de Macapá.

Portanto, é possível afirmar que *An. marajoara* é um bom vetor de malária na área estudada quando em alta densidade, não só por ser o mais prevalente, mas principalmente por se apresentar infectado tanto pelas variantes do *P. vivax* quanto pelo *P. falciparum*. O perfil de transmissão torna-se mais contundente quando vemos que o *An. marajoara* junto com o *An. darlingi*, mantém a transmissão de parasitos da malária à humanos durante todo o ano.

Os resultados obtidos neste estudo reafirmam a importância de estudos clínicos e entomológicos para a determinação do índice de infecção de

humanos por plasmódio e identificação das espécies vetoras, bem como o conhecimento da biologia e comportamento dos anofelinos antes da implementação de medidas de controle vetorial.

Assim, para as áreas peri-urbanas de Macapá onde as características geográficas e ambientes são semelhantes e onde a transmissão por *An. darlingi* e *An. marajoara* ocorre durante todo o ano, é possível sugerir ao programa de controle da malária estadual ou municipal as ações visando, principalmente, a proteção individual como uso de mosquiteiros (proteção durante a noite) e repelente e roupas que protejam a maior parte do corpo durante o período em que as pessoas permanecem em ambientes externo à casa. Além disso, é possível a utilização de telas tipo mosquitinho em portas e janelas como medida de proteção coletiva.

5 CONCLUSÕES

- ✚ O *An. darlingi* e o *An. marajora* co-existem de forma harmônica e são responsáveis pela transmissão de parasitos de malária à humanos durante todos os meses do ano;
- ✚ Os métodos de identificação das exúvias de larvas e pupas e dissecção de genitálias são ferramenta úteis para a confirmação, principalmente, das espécies de mosquitos do complexo *albitarsis*;
- ✚ Variáveis como taxa de paridade, hábito de repouso e preferência alimentar são ferramentas úteis para orientação ao programas de controle;
- ✚ Nossos resultados demonstram que as duas espécies de anofelinos estudadas são susceptíveis ao *P. falciparum* e a variantes do *P. vivax*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, J.S. & SILVA, L.M. S. Caracterização e avaliação das condições de vida das populações residentes nas ressacas urbanas dos municípios de Macapá e Santana. Diagnóstico de Ressacas do estado do Amapá: Bacias do Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú. (10) 2004. p.187.
- AMBIENTE BRASIL. **Turismo Verde na Amazônia: Amapá**. 2006. Disponível em: <http://www.ambientebrasil.com.br>. Acessado em: 21/12/2007.
- ARRUDA, M., SOUZA, R.C., VEIGA, M.E., FERREIRA, A.F. & ZIMMERMANN, R.H. Prevalence of *Plasmodium vivax* variants VK247 and *P. vivax* – like human malaria: a retrospective study in indigenous Indian population of Amazon region of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **92 (6)**: 628, 1998.
- BARROS, F.S., ARRUDA, M.E., VASCONCELOS, S.D., LUITGARDS-MOURA, J.F., CONFALONIERI, U. & ROSA-FREITAS, M.G. Parity and age composition for *Anopheles darlingi* Root (Diptera:Culicidae) and *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribáizaga (Diptera:Culicidae) of the northern Amazon Basin, Brazil. **Vector Ecology** **32 (1)**: 54-68, 2007.
- BECKER, N. Life strategies of mosquitoes as an adaptation to their habitats. **Bulletin of the Society of Vector Ecologists**, **14**: 6-25, 1989.
- BEIER, J.C., PERKINS, P.V., WIRTZ, R.A., KOROS, J., DIGGS, D., GARGAN, T.P. & KOECH, D.K. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. **Journal of Medical Entomology**, **25**: 9-16, 1988.

- BERGO, E. S., SOUTO, R.N.P., GALARDO, A.K.R., NAGAKI, S.S., CALADO, D.C., SALLUM, M.A.M. Systematic notes on *Anopheles* Meigen (Diptera: Culicidae) species in the state of Amapá, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **102 (3)**: 373-376, 2007.
- BERTI, J., ZIMMERMAN, R.H. & AMARISTA, J. Social and temporal distribution of anopheline larvae in two malarious areas in Sucre State, Venezuela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **88**: 353-362, 1993.
- BRANQUINHO, M.S., LAGOS, C.B., ROCHA, R.M., NATAL, D., BARATA, J.M., COCHRANE, A.H., NARDIN, E., NUSSENZWEIG, R.S. & KLOETZEL, J.K.L. Anophelines in the state of Acre, Brazil, infected with *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, the variant *P. vivax* VK247 and *P. malariae*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **87**: 391-394, 1993.
- BRANQUINHO, M.S., ARAUJO, M.S., NATAL, D., MARRELLI, M.T., ROCHA, R.M., TAVEIRA, F.A. & KLOETZEL, J.K. 1996. *Anopheles oswaldoi* a potential malaria vector in Acre, Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg** **90**: 233.
- BRANQUINHO, M.S. **Estudo da transmissão de malária em populações ribeirinhas do estado do Amapá. Brasil – Sorologia humana e uso de ELISA em anofelinos**. Tese (doutorado em epidemiologia). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001. 151p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle Seletivo de Vetores da Malária – Guia para o nível municipal**. Brasília: FUNASA/MS, 1999. 58p.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Avaliação Epidemiológica da Malária, segundo local do diagnóstico**. Brasília: (SVS/MS/CGPNM), 2005-2008. (Emitido em junho/2009).
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia para gestão local do controle da malária – Controle Vetorial**. Brasília: SVS/MS 2009. 59p.
- BROCHERO, H.L, CONG, LI. & WILKERSON, R. A newly recognized species in the *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* complex (Diptera: Culicidae) from Puerto Carreño, Colombia. **American Journal of Tropical Medical Hygiene**, **76 (6)**: 1113-1117, 2007.
- CANTO, RACHEL. **Genética de populações de *Anopheles darlingi* e *Anopheles marajoara* (Diptera: Culicidae), utilizando o gene timeless como marcador molecular**, Tese de Mestrado - Instituto Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro, 2007. 98 p.
- CERQUEIRA, N.L. Distribuição geográfica dos mosquitos da Amazônia, **Revista Brasileira de Entomologia**, **10**: 111-168, 1961.
- CHARLWOOD, J.D. Observations on the bionomics of *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) from Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, **70**: 685–692, 1980.
- CHARLWOOD, J.D. Biological variations in *Anopheles darlingi* Root. **Mémoires do Instituto Oswaldo Cruz**, **91 (4)**: 391-398, 1996.
- CHARLWOOD, J.D. & HAYES, J. (1978) Variações geográficas no ciclo de picada do *Anopheles darlingi* Root no Brasil. **Acta Amazonica**, **8**: 605–611, 1978.

- CHOW, E., WIRTZ, R.A. & SCOTT, T.W. Identification of blood meals in *Aedes aegypti* by antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **9 (2)**: 196-204, 1993.
- COLLINS, F.H. & BESANSKI, N.J. Vector Biology and the Control of Malaria in Africa. **Science**, **264**: 1874-1875, 1994.
- CONN, J.E., WILKERSON, R.C., SEGURA, M.N.O., SOUZA, R.T.L. SCHILCHTING, C.D., WIRTZ, R.A. & PÓVOA, M.M. Emergence of neotropical malaria vectors facilitated by human migration and changes in land use. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **66 (1)**: 18-22, 2002.
- CONN, J.E., VINEIS, J.H., BOLLBACK, J.P., ONYABE, D. Y., WILKERSON, R.C. & PÓVOA, M.M. Population structure of the malaria vector *Anopheles darlingi* in a malaria-endemic region of Eastern Amazonian Brazil. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, **74 (5)**: 798-806. 2006.
- CONSOLI, R.A. & OLIVEIRA, R.L. Classificação das Principais Espécies de importância Sanitária. In: CONSOLI, R. A. & OLIVEIRA, R. L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro. FIOCRUZ, 1994. p. 17-92.
- COSTA-LIMA, A. Sobre algumas anofelinas encontradas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **3**: Supl. Novo, 91-110, 1928.
- COUTINHO, S.O. **Contribuição para o estudo da distribuição geográfica dos anofelinos do Brasil. Sua importância na transmissão da malária**. Tese Faculdade de Medicina de São Paulo. 1947.

- CURTIS, C.F. & GRAVES, P.M. Genetic variation in the ability of insects to transmit filariase, trypanosomes and malarial parasites. In: **Currents Topics in Vector Research**, K.F. Harris (ed). New York. Praeger Publisher, 31-52, 1983.
- DAVIS, N. A note on the malaria-carrying Anophelines in Belém, Pará and Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista di Malariologia**, **10**: 43-51, 1931.
- DEANE, L.M. Observação sobre na Amazônia brasileira. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**, **1**: 1-60, 1947.
- DEANE, L.M., CAUSEY, O.R. & DEANE, M.P. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das Regiões Nordeste e Amazônica do Brasil. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**, **1**: 827-965, 1948.
- DEANE, L.M. Malaria vectors in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **81**: 5-14. Suplemento II, 1986.
- DEANE, L.M. Malaria studies and control in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **38**: 223-230, 1988.
- DEANE, L.M. A cronologia da descoberta dos transmissores da malária na Amazônia brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **84**: 149 - 156, (suplemento IV), 1989.
- DEANE, L.M. Os grandes marcos da história do controle da malária. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **25**: 12-22, Suplemento II, 1992.
- DETINOVA, T.S. Age-grouping methods in Diptera of medical importance. **World Health Organization**, Geneva, 210, 1962.
- DEUS, J.T. & KAKITANI, I. Paridade de *Ochlerotatus scapularis* em condições de laboratório e campo. **Revista de Saúde Pública**. **40(3)**: 505-512, 2006.

- EDRISSIAN, G.H. & HAFIZI, A. Application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in identification of *Anopheles* bloodmeals. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **76**: 54-56, 1982.
- ELLIOTT, R. The influence of vector behavior on malaria transmission. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **21**: 755-763, 1972.
- FARAN, M.E. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXXIV. A revision of the *albimanus* Section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. **Contrib. Am. Entomol. Inst. (Ann Arbor)** **15**: 1-21, 1980.
- FARAN, M.E. & LINTHICUM, K.J. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics**, **13**: 1-81, 1981.
- FLEMING, G. Los vectores de la malaria, biología y ecología. In: **Entomología com ênfasis em control de vectores, Vol. I**. Secretaria de la salud, Subsecretaria de servivios de salud, Direccion general de medicina preventiva, Organizacion Panamericana de la salud. México, 1992. p. 205-209.
- FLORES-MENDOZA, C. **Um estudo sobre alguns aspectos comportamentais, morfológicos e bioquímicos de *Anopheles aquasalis* Curry, 1932**. Tese de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, 1994. 172p.
- FLORES-MENDOZA, C., CUNHA, R.A., ROCHA, D.S. & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Identification of food sources of *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) by precipitin test in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, **30 (2)**: 129-34, 1996.

- FORATTINI, O.P. Família Culicidae. In: Forattini, O.P. (ed.). **Entomologia Médica**, São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública, 1962a. p. 123-301.
- FORATTINI, O.P. Tribo *Anophelini*. In: **Entomologia Médica**. Forattini, O.P. (ed.) São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública, 1962b. p. 303-503.
- FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**, v. 2: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002. p.54-62 e p.292 e 321.
- FORATTINI, O. P. Comportamento exófilo de *Anopheles darlingi* Root, em região meridional do Brasil. **Revista de Saúde Pública, S. Paulo, 21**: 291-304, 1987.
- FORATTINI, O.P., KAKITANI, I., MASSAD, E. & MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 5-Breeding of *Anopheles albitarsis* in flooded rice fields in South-Eastern Brazil. **Revista Saúde Publica. 28**: 329-331, 1994.
- GALARDO, A.K.R., ARRUDA, M., COUTO, A.A.R.D'A., WIRTZ, R., LOUNIBOS, L.P & ZIMMERMAN, R.H. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 76: (3)**, 461-469, 2007.
- GALARDO, A.K.R., ZIMMERMAN, R.H., LOUNIBOS, L.P., YOUNG, L.J., GALARDO, C.D., ARRUDA, M. & COUTO, A. A. R. D'ALMEIDA. Seasonal abundance of anopheline mosquitoes and their association with rainfall and malaria along the Matapí River, Amapá – Brazil. **Medical and Veterinary Entomology, 23**: 335–349, 2009.

- GALVÃO, A.L.A., DAMASCENO, R.G. & MARQUES, A.P. Algumas observações sobre a biologia dos anofelinos de importância epidemiológica em Belém, Pará. **Arq. Hig. (Rio de Janeiro) 12**: 51-111, 1942.
- GAMA, C.S. & HALBOTH, D.A. Ictiofauna das ressacas das bacias do Igarapé da Fortaleza e do Curiaú. In TAKIYAMA, L.R. & SILVA, A.Q. Organizadores. **Diagnósticos de Ressacas do estado do Amapá**. Macapá: GEA/SETEC/IEPA, 2004. 255p.
- GAMA, R.A., SANTOS, R.L.C., SANTOS, F., SILVA, I.M., RESENDE, M.C. & EIRAS, E.A. Periodicidade de captura de *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) em Porto Velho, RO. **Neotropical Entomology 38 (5)**: 677- 682, 2009.
- GIL, L.H., ALVES, F.P., & ZIELER, H. Seasonal malaria transmission and variation of anopheline density in two distinct endemic areas in Brazilian Amazonia. **Journal of Medical Entomology, 40**: 636–641, 2003.
- GILLES, H.M. The Malaria Parasite. In: GILLES, H.M.; WARREL, D.A. (eds.). **Essencial Malariology**, London, Edward Arnold, 12-34. 1993.
- HAYES, J. & CHARLWOOD, J.D. Dinâmica estacional de uma população de *Anopheles darlingi* numa área endêmica de malaria no Amazonas. **Acta Amazonica, 9**: 79–86, 1979.
- HARBACH, R. E. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships, **Bull. Entomol. Res. 95**: 537–553, 2004.
- HARBACH, R.E., RAITANARITHIKUL, R. & HARRISION, B.A. Baimaia, A new subgenus for *Anopheles kyondawensis* Abraham, u unique crabhole breeding Anopheline in southeastern Asia. **Proc, Entomol, Soc. Wash 107(4)**: 750-761, 2005.

- HOROSKO, I.I.I.S., LIMA, J.B.P. & BRANDOLINI, M.B. Establishment of free-mating colony of *Anopheles albitarsis* from Brazil. **Journal American Mosquito Control Association**. **13**: 95-6, 1997.
- HUDSON, J.E. *Anopheles darlingi* root (Diptera: Culicidae) in the Suriname rain forest. **Bulletin of Entomological Research**, **74**: 129–142, 1984.
- IBGE - **Estimativas Populacionais para os municípios brasileiros - 2004**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acessado em: 21/12/2007.
- IEPA – **Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do estado do Amapá**. 2007. Disponível em: <<Http://www.iepa.ap.gov.br> . acessado em: 12/12/2007.
- KILLEEN, G.F., MCKENZIE, F.E., FOY, B.D., SCHIEFFELIN, C., BILLINGSLEY, P.F. & BEIER, J.C. A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control. **American Journal of Tropical Medical Hygiene** **62 (5)**: 535–544, 2000.
- KING, W.V. & BULL, C.G. The blood feeding habits of malaria-carrying mosquitoes. – **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **3 (4)**: 497-513, 1923.
- KISZEWSKI, A., MELLINGER, A., SPIELMAN, A., MALANEY, P., SACHS, S.E. & SACHS, J. A global index representing the stability of malaria transmission. **American Journal of Tropical Medical Hygiene** **70**: 486-498, 2004.
- KLEIN, T.A. & LIMA, J.B.P. Seasonal distribution and biting patterns of *Anopheles* mosquitoes in Costa Marques, Rondônia, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **6**: 700–707, 1990.

- KLEIN, T.A., LIMA, J.B.P. & TADA, M.S. Comparative susceptibility of *Anopheles* mosquitoes in Rondônia, Brazil to infection by *Plasmodium vivax*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **45 (4)**: 436-470, 1991.
- LEE, KIM-SUNG.; COX-SINGH, J.; BROOKE, G.; MATUSOP, A. & SINGH, B. *Plasmodium knowlesi* from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. **Int J Parasitol.** **39 (10)**: 1125–1128, 2009.
- LEÓN, W., VALLE, J., NAUPAY, R., TINEO, E., ROSAS, A. & PALOMINO, M. Comportamiento estacional del *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* root 1926 en localidades de Loreto y Madre de Díos, Perú 1999–2000. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, **20**: 22–27, 2003.
- LINTHICUM, K.J. A revisión of the Argyritarsis Section of the subgenus Nyssorhynchus of Anopheles (Diptera: Culicidae). **Mosquito System**, **20**: 98-271, 1988.
- LOYOLA, E.G., GONZALEZ, C.L., RODRIGUEZ, M.H., ARREDONDO JIMENEZ, J.I., BENNETT, S. & BOWN, D.N. *An. Albimanus* (Diptera: Culicidae) host selection patterns in three ecological areas of the coastal plains of Chiapas, southern Mexico. **Journal of Medical Entomology**, **30**: 518-523, 1993.
- LUCENA, D.T. Esboço ecológico de *An. (N) tarsimaculatus* Goeldi, 1905, no nordeste Brasileiro. **A Folha Médica**, **27**: 113-114, 1946.

- MACHADO, R.L.D. & POVÓA, M.M. Distribution of *Plasmodium vivax* variants (VK210, VK247 e *Plasmodium vivax-like*) in three endemic areas of Amazonian of Brazil and their correlation with chloroquine treatment. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **94**: 377-381, 2000.
- MANGUINS, S., ROBERT, D.R., ANDRE, R.G. REJMANKOVA, E. & HAKRE, S. Characterization of *An. darlingi* (Diptera: Culicidae) larval habitants in Belize, Central America. **Journal of Medical Entomology**, **33 (2)**: 205-211, 1996.
- MARASSÁ, A.M., CONSALES, C.A. & GALATI, E.A.B. Padronização da técnica do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina para a identificação do sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37(6)**: 441-446, 2004.
- MARQUEZ, A.C. & GUTIERREZ, H.C. Combate à malária no Brasil: evolução, situação atual e perspectivas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **27**: 91-108, Suplemento III, 1994.
- MARTENS, P., HALL, L. Malaria on the move: Human movement and malaria transmission. **Emerging Infections Diseases**, **6 (2)**: 103-109, 2000.
- MOTOKI, M.T.; WILKERSON, R.C. & SALLUM, M.A.M. The *Anopheles albitarsis* complex with the recognition of *Anopheles oryzalimnetes* Wilkerson and Motoki, n. sp. and *Anopheles janconnae* Wilkerson and Sallum, n. sp. (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **104 (6)**: 823-850, 2009.
- MOTTA, E.G.E. Fatores determinantes da situação da malária na Amazônia. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, **25**: 27-32, Suplemento II, 1992.

- MORENO, J.E., RUBIO-PALIS, Y., PÁEZ, E., PÉREZ, E. & SANCHEZ, V. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. **Medical and Veterinary Entomology**, **21**: 339–349, 2007.
- NATAL, D. & MARUCCI, D. Aparelho de sucção tipo aspirador para captura de mosquitos. **Revista de Saúde Pública**. **18**: 418-20, 1984.
- NATAL, D. BARATA, E.A.M.F., URBINATTI, P.R. & BARATA, J.M.S. Contribuição do conhecimento da fauna de imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em área de implantação de hidrelétrica na bacia do Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**. **39**: 897-899, 1995.
- OLIVEIRA-FERREIRA, J., OLIVEIRA, L.R., DEANE, L.M. & DANIEL-RIBEIRO, C.T. Feeding preferences of *An. darlingi* in malaria endemic áreas of Rondônia state – northwestern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **87 (4)**: 601-602, 1992.
- OPAS – Consejo directivo de La Organizacion de La Organizacion Panamericana de La Salude, **41. Informe de lê situacion de los Programas de malária em Iãs Américas** (com base de dados de 1998). Washington; 1-35, 1999.
- PAGES, F., ORLANDI-PRADINESB, E. & CORBELC, V. Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. **Médecine et maladies infectieuses** **37**: 153–161, 2007.

- PÓVOA, M.M., SEGURA, M.N.O., LACERDA, R.N.L., VAZ DA SILVA, O., ALMEIDA, R.N., LESSA, R., ROSARIO, V., MILES, M.A; & WARHURST, D. Anophelines infected with human *Plasmodium* in the Serra do Navio, region of Amapá state, Brazil. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **87 (4)**: 353-496, 1993.
- PÓVOA, M.M., MACHADO, R.L.D., SEGURA, M.N., VIANA, G.R., VASCONCELOS, A. & CONN, J.E. Infectivity of malaria vector mosquitoes: correlation of positivity between ELISA and PRC/ELISA test. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **94: (1)** 107-107, 2000.
- PÓVOA, M.M., WIRTZ, R.A., LACERDA, R.N.L., MILES, M.A. & WARHURST, D. Malaria vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon region, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **96 (2)**: 179-184, 2001.
- RACHOU, R. Anofelinos do Brasil. Comportamento das espécies vetores da malária. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Troicais**. **10**: 145-181, 1958.
- REBÊLO, J.M.M., MORAES, J.L.P., ALVES, G.A., LEONARDO, F.S., ROCHA, R.V., MENDES, W.A., COSTA, E., CÂMARA, L.E M.B., SILVA, M.J.A., PEREIRA, Y.N.O. & MENDONÇA, J.A.C. Distribuição das espécies do gênero *Anopheles* (Diptera, Culicidae) no Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Publica, Rio de Janeiro**, **23 (12)**: 2959-2971, 2007.
- RICE, J.B. & BARBER, M.A. Malaria studies in Greece. A modification of the Uhlenhut-Weidanz precipitin test for determining the source of blood meals in mosquitoes and other insects. – **J. Lab. & Clin. Med**, **20 (8)**: 876-883, 1935.

- RICCIARDI, I. R. **Entomologia Aplicada**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Virologia, 1978. 254p.
- ROBERTS, D.R., ALECRIM, W.D., TAVARES, A.M. & RADKE, M.G. The house-frequenting, host-seeking and resting behavior of *Anopheles darlingi* in southeastern Amazonas, Brasil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **3**: 433-441, 1987.
- ROBERTS, D.R., PARIS, J.F., MANGUIN, S., HARBACH, R.E., WOODRUFF, R., REJMANKOVA, E., POLANCO, J., WULLSCHLEGER, B. & LEGTERS, L. Prediction of malaria vector distribution in Belize based on multispectral satellite data. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **54**: 304-308, 1996.
- RODRIGUEZ, M.H., BOWN, D.N., ARREDONDO-JIMENEZ, J.I., VILLARREAL, C., LOYOLA, E.G. & FREDERICKSON, C.E. Gonotrophic cycle and survivorship of *An. Albimanus* (Diptera: Culicidae) in southern Mexico. **Journal of Medical Entomology**, **29**: 395-399, 1992.
- ROZENDAAL, J.A. Observations on the biology and behaviour of Anophelines in the Suriname rainforest with special reference to *Anopheles darlingi*. **Cah. Orstom Ser. Entomol. Med. Parasitol.** **25 (1)**: 33-43, 1987.
- ROZENDAAL, J.A. Epidemiology and control of malaria in Suriname with special reference to *Anopheles darlingi* Dordrecht, ICG Printing b.v. 171p. 1990.
- ROZENDAAL, J.A. The relation between seasonal fluctuations in malaria transmission, breeding habitats of *Anopheles darlingi*, river height and rainfall in the rainforest of Suriname. **Medical and Veterinary Entomology**, **6**: 16–22, 1992.

- RUBIO-PALIS, & CURTIS, C.F. Biting and resting behaviour of anophelines in western Venezuela and implications for control of malaria transmission. **Medical and Veterinary Entomology** **6**: 325-334, 1992.
- SALLUM, M.A.S., SCHULTZ, T.R. & WILKERSON, R.C. Phylogeny of Anophelinae (Diptera: Culicinae) based on morphological characters. **Annals of Entomology Society of America**, **93** (4): 1-31, 2000.
- SANTOS, C.C.B. **A influência da salinidade na Suscetibilidade do *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) ao *Plasmodium falciparum***. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Belém, Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2001. 82p.
- SEGURA, M.N.O. **Estudo do *Anopheles (Nys) darlingi* Root, 1926 e *Anopheles (Nys) albitarsis* Arribalzaga, 1878 (Diptera: Culicidae) como vetores de malária numa mesma área de transmissão, e caracterização de espécies do Complexo *albitarsis***, Tese (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Pará, Museu Emílio Goeldi, Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, Belém, 1998. 123 p.
- SELLA, M. Relazione della campagna anti-anofelica di Fiumicino (1919) com speciale riguardo Allá biologia degli Anofeli Ed agli Anofeli infetti. **Ann. Igiene**, 30 (suppl. 585), 1920.
- SHANNON, R.C. & DEL PONTE, E. Informe de una investigación preliminar sobre *Anopheles* del rio Alto Paraná em la Argentina. **Rev. Inst. Bacteriol. Dep. Nac. Hig.**, **4**: 706-723, 1927.

- SHANNON, R.C. Anophelines of the Amazon Valley. **Proc. Entomol. Soc. Washington 35**: 117-143, 1933.
- SIVEP – MALÁRIA. Disponível em <HTTP // www.saude.gov.br/sivep_malaria. Acesso em 18 de dezembro de 2007.
- SIVEP – MALÁRIA. Disponível em <HTTP // www.saude.gov.br/sivep_malaria. Acesso em 22 de outubro de 2009.
- SOUTO, R.N.P. **Sazonalidade de culicídeos e tentativas de isolamento de arbovírus em floresta e savana no estado do Amapá**. Dissertação de Mestrado. Belém, Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi e Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, 1994. 115p.
- SOUTO, R. N. P. Inventário da fauna culicidiana (Diptera:Culicidae) nas ressacas do Lago do Curralinho e da Lagoa dos Índios, Macapá, Amapá, Brasil. In CD Diagnóstico das Ressacas do Estado do Amapá: CD Diagnóstico das Ressacas do Estado do Amapá: Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú, Macapá, 2003.
- SOUTO, R. N. P., BARBOSA, L. M. C. Ecologia de espécies de *Anopheles* (Diptera: Nematocera: Culicidae) em áreas de ressaca do bairro Zerão, Macapá, Amapá, Brasil. In: VII Congresso de Ecologia do Brasil, 2005, Caxambu, MG. VII Congresso de Ecologia do Brasil, 2005.
- SPNHC, Guidelines for the care of natural collections. Society for the preservation of natural history collection (SPNHC). 1998.

- SUCUPIRA, I.M.C. **Suscetibilidade experimental do *Anopheles (Nyssorhynchus) nuneztovari* Galbadon, 1940 ao *Plasmodium vivax* Grassi & Feletti, 1890 e *Plasmodium falciparum* Welch, 1897.** Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2006. 57p.
- TADEI, W.P., MASCARENHAS, B.M. & PODESTÁ, M.G. Biologia de anofelíneos Amazônicos. VIII. Conhecimentos sobre a distribuição de espécies de *Anopheles* na região de Tucuruí-Marabá (Pará), **Acta Amazônica**, **13**: 103-140. 1983.
- TADEI, W.P., SANTOS, J.M.M., SCARPASSA, V.M. & RODRIGUES, I.B. Incidência, distribuição e aspectos ecológicos de espécies de *Anopheles* (Díptera: Culicidae), em regiões naturais e sob impacto ambiental da Amazônia Brasileira. **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia**, **2**: 167-194, 1993.
- TADEI, W.P., THATCHER, B.D., SANTOS, J.M.M., SCARPASSA, V.M., RODRIGUES, I.B. & RAFAEL, M.S. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **59 (2)**: 325-335, 1998.
- UMANA, A.C., HEREDIA, R.L. & SIQUOT, J.C. Estudios sobre el *Anopheles (N.) albitarsis* em la Argentina (Nota prévia). In: BEJARANO, J.F.R., DEL PONTE, E. & ORFILA, R.N. (eds.). **Primeras Jornadas Entomoepidemiologicas Argentinas. vol. II**, 1959 p. 609-618.
- WHO – The World malaria situation, 1985. *World Health Statistics Quarterly*, **40**: 142-170, 1987.

- WILKERSON, R.C., PARSONS, T.J., KLEIN, T.A., GAFFIGAN, T.V., BERGO, E. & CONSOLIM, J. Diagnosis by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction of four cryptic species related to *An albitarsis* from Paraguay, Argentina and Brazil. **Journal of Medicine Entomology**, **32**: 697-704, 1995.
- WIRTZ, R.A., ZAVALA, F., CHAROENVIT, Y., CAMPBELL, G.H., BURKOT, T.R., SCHENEIDER, I., ESSER, K.M., BEAUDOIN, R.L. & ANDRE, R.G. Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. **Bulletin of the World Health Organization**, **65 (1)**: 39-45, 1987.
- WISE, A.P.P, BEVILACQUA, L & RAFIKOV, M. Modelo Matemático Sazonal para malária. **Tend. Mat. Apl. Comput.** **7(2)**: 391-400, 2006
- WHO - World Health Organization 2008. World Malaria Report 2008, WHO, Geneva, 190 pp.
- WHO - World Malaria Report, Genebra 2008. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/wmr_2008/malaria_2008>. Acesso em: 04/12/2008.
- VOLLER, A., BIDWELL, D., HULDT, G. & ENGVALL, E. A microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay and its application to malaria. **Bulletin of World Health Organization**, **51 (2)**: 209-11, 1974.
- VOORHAN, J. Intra-population plasticity of *Anopheles darlingi* (Diptera,Culicidae) biting activity patterns in the state of Amapá, Brazil. **Revista de Saúde Pública.** **36 (1)**: 75-80. 2002.

ZIMMERMAN, R.H., GALARDO, A.K.R., LOUNIBOS, L.P., ARRUDA, M. & WIRTZ, R.
Bloodmeal Hosts of *Anopheles* Species (Diptera: Culicidae) in a Malaria-Endemic
area of the Brazilian Amazon. **Journal of Medicine Entomology**, **43 (5)**: 947-956,
2006.

ANEXO I



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
SECRETARIA DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
DEPARTAMENTO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SECRETARIA EXECUTIVA DO CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SCEN – Trecho 2 – Setor de Clubes Desportivos Norte – Bloco G - 70.818-900 - Brasília - DF
 Telefone: (61) 4009-9518 - Fax: (61) 4009-9509 - <http://www.mma.gov.br/port/cgen> - cgen@mma.gov.br

Ofício nº 074/2005 CTEC/DPG/SBF/MMA

Brasília, 08 de março de 2005.

A Sua Senhoria o Senhor
ANTÔNIO CARLOS DA SILVA FARIAS
 Diretor Presidente - IEPA
 68900-260 – Macapá/AP

Assunto: Publicação da Deliberação nº 87, referente ao credenciamento das Coleções Herbário Amapaense, Fauna e Entomofauna do Amapá como fiéis depositários de amostras de componentes do patrimônio genético.

Senhor Diretor,

Informo que a Deliberação Nº 87, referente à aprovação da solicitação de credenciamento das Coleções Herbário Amapaense, Fauna e Entomofauna do Amapá, como fiéis depositários de amostras de componentes do patrimônio genético foi publicada no D.O.U., de 08 de março de 2005, Seção 1, Nº 45, página 55, conforme cópia anexa.

Atenciosamente,


CRISTINA AZEVEDO
 Gerente de Projeto
 Coordenação Técnica

C/c:
 A Sua Senhoria a Senhora
ROSÂNGELA DO SOCORRO FERREIRA RODRIGUES SARQUIS
 Curadora – Herbário Amapaense - HAMAB
 68.912-250 – Macapá/AP



unidades agrícolas familiares ao Projeto de Assentamento REMAN-SINH, Código SIPRA TO028000 criado através da Portaria IN-CRA 58-26/Nº 021 de 10 de Setembro de 2001, com área total 8.415,8934 há (Oito mil, quatrocentos e quinze hectares, oitenta e nove ares e trinta e quatro centésimos) localizado no Município de Tupiratinã, Estado do Tocantins com 82 (oitenta e duas) unidades agrícolas familiares, o qual passará a ter área de 15.071,7691 há (Quinze mil, setenta e um hectares, setenta e seis ares e seis centésimos) e 220 (duzentos e vinte) unidades agrícolas familiares.

II - A área incorporada passará a ter o Código SIPRA TO0280000.

III - Autorizar a Divisão de Suporte Operacional a promover as modificações e adaptações que, no curso da execução, se fizerem necessárias para a consecução dos objetivos do Projeto;

IV - Determinar a Divisão de Suporte Operacional que encaminhe cópia deste ato, para a SUPERINTENDÊNCIA NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO, para fins de registro, controle, distribuição e publicação do mesmo no Diário Oficial da União.

V - Determinar a Divisão de Suporte Operacional que comunique aos órgãos de Meio Ambiente, Federal e Estadual, bem como à FUNAI, a incorporação do Projeto;

VI - Determinar a Divisão de Suporte Operacional que registre todas as informações da incorporação, desenvolvimento e das famílias referenciadas no Projeto de Assentamento ora incorporado, no Sistema de Informações de Projetos de Reforma Agrária - SIPRA.

JOSÉ CARDOSO

Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome

CONSELHO NACIONAL DE ASSISTÊNCIA SOCIAL

RESOLUÇÃO Nº 27, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2005

O Conselho Nacional de Assistência Social - CNAS, em reunião realizada nos dias 22, 23 e 24 de fevereiro de 2005, no uso da competência que lhe confere os incisos II e IV do artigo 18 da Lei nº 8.742, de 7 de dezembro de 1993 - Lei Orgânica da Assistência Social - LOAS;

Considerando que a Política Nacional de Assistência Social, aprovada no resultado do Conselho Nacional de Assistência Social no dia 22 de setembro de 2004, estabelece as diretrizes gerais para a instituição do Sistema Único de Assistência Social, expressando a concepção e os pressupostos que orientam as mudanças de organização e gestão da assistência social em todo o território nacional, o que exige desdobramentos no sentido de novas normativas e instrumentos que viabilizem tal proposta;

Considerando que a República Federativa do Brasil, formada pela união indissolúvel de Estados, Distrito Federal e Municípios, os estes são dotados de autonomia administrativa e fiscal, uma vez que o poder é compartilhado em territórios diferentes, exige-se o estabelecimento de pactos federativos para que sejam assumidas responsabilidades inerentes à gestão descentralizada da assistência social nacional, refletindo o modelo de gestão e de financiamento inaugurado pelo novo texto da Política Nacional de Assistência Social;

Considerando que, durante o encontro do Conselho Nacional de Assistência Social com Conselhos Estaduais e Municipais de capital, definiu-se como encaminhamento uma Agenda Comum de discussões prioritárias, tendo a Norma Operacional Básica indicada como tema de principal relevância imediata, visando a sua publicação em julho do corrente ano;

Considerando que o CNAS tem como pauta da reunião ampliada do atual, a ser realizada no município de Curitiba - PR, a apresentação da nova NOB para os representantes de conselhos estaduais, municipais e gestores das três esferas de governo, desenhando o debate nacional em torno na proposta dessa nova norma;

Considerando que a NOB, por sua natureza de norma que disciplina a operacionalização da gestão dessa política, a divisão de competências e responsabilidades entre as três esferas de governo, a efetiva organização da prestação dos serviços, os modelos e níveis de gestão de cada uma dessas esferas, as instâncias que compõem o processo de gestão ou com ele estão relacionadas, os principais instrumentos de gestão a serem utilizados nesse processo, a forma da gestão financeira, que considera os mecanismos de transferência, os critérios de parâmetros e transparência de recursos;

Considerando que o processo de discussão e deliberação da nova NOB exige, assim, o exercício da pactuação prévia, para que as questões efetivas relacionadas à gestão sejam amplamente discutidas e definidas como propostas concretas postas à análise do Conselho para posterior decisão deliberativa que não corra risco de ilegitimidade e não correspondência à realidade dos processos.

RESOLVE:

Art. 1º - Definir as diretrizes para o desenvolvimento do processo de discussões e pactuações consideradas relevantes para a aprovação da nova Norma Operacional Básica da Assistência Social (NOB) junto aos atores relacionados à questão da gestão, operacionalização e financiamento dessa política nas três esferas de governo.

Art. 2º - A nova NOB deve seguir as diretrizes definidas pela LOAS e Política Nacional de Assistência Social, observando:

a) O modelo de gestão e de financiamento de assistência social, fundado nas relações intergovernamentais;

b) As modalidades e níveis de gestão devem respeitar as especificidades dos Municípios, Distrito Federal e Estados Brasileiros;

c) A definição de modalidades e níveis de gestão como subsídios para a operacionalização da nova sistemática de financiamento proposta, guardando consonância com o que se propõe no item da Política Nacional que trata da questão do Financiamento;

d) O respeito ao gradualismo, à capacidade de gestão e à adesão de Estados, Distrito Federal e Municípios aos SUAS;

e) A definição das competências das três esferas de governo, com objetividade na definição das possibilidades e limites de cada uma;

f) O financiamento das ações baseado no "descentralizament" dos recursos, tendo o plano de prestação como parâmetro para os serviços, de acordo com sua complexidade;

g) Respeito às instâncias de controle social e de pactuação entre gestores;

h) A forma de operacionalização, diferenciada entre os serviços, os programas, os projetos e os beneficiários de que trata a LOAS;

i) O papel dos entes e das instâncias no monitoramento, avaliação e controle;

Art. 3º - O Conselho Nacional de Assistência Social (CNAS) desencadeará um processo de discussão para a construção da nova NOB, em articulação com os conselhos estaduais, do Distrito Federal e municipais de assistência social, com os gestores nas três esferas de governo, com a Comissão Intergestores Tripartite (CIT) e com as organizações da sociedade civil, promovendo pelo cumprimento do compromisso de abertura do debate nacional em abril de 2005.

Parágrafo Único - Como forma de garantir a pactuação entre os gestores das três esferas de governo, relativas ao respeito à característica do Estado Federativo Brasileiro, a Comissão Intergestores Tripartite discutirá e definirá os espaços ampliados de representação de gestores Estaduais e Municipais de Assistência Social a serem acionados nesse processo, encaminhando a memória das discussões ao Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome e ao CNAS.

MÁRCIA MARIA BIONDI PINHEIRO

Presidente do Conselho

RETIFICAÇÃO

01) Excluir da Res. nº 91, de 25/08/2004, publicada em 03/09/2004, o item 244 - Processo nº 44096.000310/2002-29 - Sociedade Brasileira de Cardiologia - Rio de Janeiro-RJ - CNPJ: 31.444.094/0001-11, por ter sido indeferido indevidamente.

02) Na res. nº 170, de 08/12/2004, publicada em 10/12/2004, na qual se lê: "Associação de Pais e Amigos dos Deficientes de Emelino Matrazzo - ACDEM", leia-se: "Associação da Casa dos Deficientes de Emelino Matrazzo - ACDEM".

03) Excluir da Res. nº 140, de 15/10/2004, publicada em 22/10/2004, o item 03 - Processo nº 44006.001885/2001-79 - Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Camboriú - Camboriú-SC - CNPJ: 95.315.375/0001-18, por ter sido indeferido indevidamente.

Ministério do Meio Ambiente

GABINETE DA MINISTRA

RETIFICAÇÃO

No item 1, da alínea "b", do inciso I, do art. 2º da Portaria nº 44, de 23 de fevereiro de 2005, publicada no Diário Oficial da União de 24 de fevereiro de 2005, Seção 1, página 74, onde se lê, "um do Gabinete da Ministra de Estado do Meio Ambiente", leia-se: "um do Gabinete".

CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

DELIBERAÇÃO Nº 82, DE 9 DE DEZEMBRO DE 2004

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, no uso das competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, tendo em vista o disposto no art. 13, inciso III, do seu Regimento Interno, e considerando as informações constantes do Processo no 02000.001664/2004-53, resolve:

Art. 1º Credenciar a Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas-CPMA, do Divisão de Agropecuária, do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas-CPQBA, da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, CNPJ nº 46.068.425/0001-33, como fiel depositária de amostras de componentes do patrimônio genético.

Art. 2º Esta Deliberação entra em vigor na data de sua publicação.

MARINA SILVA
Ministra de Estado do Meio Ambiente

DELIBERAÇÃO Nº 86, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2005

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, no uso das competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, tendo em vista o disposto no art. 13, inciso III, do seu Regimento Interno, e considerando as informações constantes do Processo no 02000.001976/2004-86, resolve:

Art. 1º Credenciar as Coleções de Peixes, Répteis e Anfíbios, Mamíferos e Aves do Museu de História Natural Capão da Imbuia-MBINCI do Departamento de Zoológico da Secretaria de Meio Ambiente da Prefeitura de Curitiba/PR, CNPJ no 76.417.005/0013-10, como fiéis depositárias de amostras de componentes do patrimônio genético.

Art. 2º Esta Deliberação entra em vigor na data de sua publicação.

MARINA SILVA
Ministra de Estado do Meio Ambiente

DELIBERAÇÃO Nº 87, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2005

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, no uso das competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, tendo em vista o disposto no art. 13, inciso III, do seu Regimento Interno, e considerando as informações constantes do Processo no 02000.00341/2002-52, resolve:

Art. 1º Credenciar o Herbário Amapama-HAMAB, a Coleção Científica Fauna do Amapá-CCFA e a Coleção Entomofauna do Amapá, do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá-IEPA, CNPJ no 34.927.285/0001-22, como fiéis depositários de amostras de componentes do patrimônio genético.

Art. 2º Esta Deliberação entra em vigor na data de sua publicação.

MARINA SILVA

Ministra de Estado do Meio Ambiente

DELIBERAÇÃO Nº 88, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2005

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, no uso das competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, tendo em vista o disposto no art. 13, inciso III, do seu Regimento Interno, e considerando as informações constantes do Processo no 02000.002563/2004-88, resolve:

Art. 1º Credenciar o Herbário CEM, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA, CNPJ no 00.348.003/0001-10, como fiel depositária de amostras de componentes do patrimônio genético.

Art. 2º Esta Deliberação entra em vigor na data de sua publicação.

MARINA SILVA

Ministra de Estado do Meio Ambiente

DELIBERAÇÃO Nº 89, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2005

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, no uso das competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, tendo em vista o disposto no art. 13, inciso III, do seu Regimento Interno, e considerando as informações constantes do Processo no 02000.002110/2004-26, resolve:

Art. 1º Credenciar a Coleção Entomológica "Paulo Nogueira Neto", do Laboratório de Abelhas do Departamento de Ecologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo-USP, CNPJ no 63.025.530/0004-37, como fiel depositária de amostras de componentes do patrimônio genético.

Art. 2º Esta Deliberação entra em vigor na data de sua publicação.

MARINA SILVA

Ministra de Estado do Meio Ambiente

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

PORTARIA Nº 11, DE 7 DE MARÇO DE 2005

O PRESIDENTE DO INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA, no uso das atribuições previstas no art. 24, Anexo I, da Estrutura Regimental, aprovada pelo Decreto nº 4.756, de 20 de junho de 2003, e art. 95, item VI, do Regimento Interno, aprovada pela Portaria GM/IBAMA/Nº de 230, 14 de maio de 2003;

Considerando a solicitação de encerramento das atividades do Criadouro Barbuse Pires Leal, apresentada no processo IBAMA nº 21104009459/1985-15, e aprovada pela Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros - DIFAP, resolve:

Art. 1º Revogar a Portaria nº 117/IBDF, de 10 de março de 1986, que concedeu registro ao Criadouro de Aves Silvestres Azevedo, de propriedade de Barbuse Pires Leal, localizado na MSPFV, Quadra 15, Conjunto 02, Lote 06, Brasília - DF.

Art. 2º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

MARCUS LUZ BARROSO BARROS

ANEXO II



Carta de nº 0026/2007
 Protocolo CEP/IEC - Nº 0007/07
 CAAE: 0009.0.072.000-07

Ananindeua/PA, 16 de outubro de 2007.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto: "Avaliação de transmissão de malária humana na área de abrangência do projeto PIATAM MAR II".

Pesquisador Responsável: MARINETE MARINS POVOA

Conforme tramitação junto ao CEP/IEC, o projeto em questão foi considerado **aprovado**.

Recomenda-se ao coordenador que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto, inclusive, as fichas preenchidas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Relatório Final - deverá ser elaborado um consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da mesma.


 MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES
 Coordenador do CEP/IEC

ANEXO III

A importância dos *Anopheles darlingi* Root 1926, e *Anopheles marajoara* Galvao e Damasceno 1942, na transmissão de malária no município de Macapá/AP - Brasil

PROGRAMAÇÃO DOS CAPTURADORES

Comunidade: Lagoa dos Índios

Ponto de Coleta	1° Dia	2° Dia	3° Dia	4° Dia
	/ /	/ /	/ /	/ /
1 Intra				
1 Peri				
2 Intra				
2 Peri				

ANEXO IV**PROJETO PIATAM – MAR II**
Termo de Compromisso de Trabalho (TCT)**COLETA DE MOSQUITOS ADULTOS**

TÍTULO DO PROJETO: Avaliação da transmissão de malária humana na área de abrangência do projeto PIATAM MAR II

Iniciais: _____ Indivíduo _____ Testemunha: _____

1. PROPOSTA DO ESTUDO: Você está sendo convidado a participar como coletor de mosquitos adultos do estudo de caracterização dos *Anopheles* vetores malária, coletados nas áreas de estudo nos estados do Amapá, Maranhão e Pará, Brasil. Este trabalho requer coletas em campo de exemplares fêmeas vivas de mosquitos para subsequente identificação, dissecação e análises de fonte alimentícia e infectividade por espécie(s) de *Plasmodium*. Nestas áreas (onde resistência às drogas ainda não foi registrada), serão realizadas capturas de espécimes adultos hematófagos pelo método de atração humana

2. PROTOCOLO DE COLETA: Somente profissionais treinados e pertencentes aos quadros de pessoal do IEC (Instituto Evandro Chagas), do IEPA (Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá) e da UEMA (Universidade Estadual do Maranhão) executarão este tipo de coleta. Você coletará mosquitos, em media, 5 dias ao mês. Estas coletas terão duração de 12 (das 18 às 6 horas) ou 3 (das 18 às 21 horas) horas. Nenhum coletor ficará mais do que 4 horas consecutivas fazendo coletas nestas 12 horas. Durante o período de coleta, você usará camisas de mangas compridas e um boné ou chapéu protetor, sapatos ou tênis e meias. Você levantará sua calça e cada coletor usará sua própria perna (parte exposta) para a coleta de atração. Quando os mosquitos repousarem na parte exposta da perna você deverá capturá-los com um aspirador (capturador de Castro) que será fornecido a você. Depois de aspirar os insetos, você os colocará em recipientes apropriados e devidamente identificados. Ao fim de cada hora de coleta, você colocará o recipiente numa caixa de isopor.

Somente para coleta de mosquitos para identificação de fonte alimentícia, que não será conduzida no mesmo horário da coleta noturna. Os *Anopheles* mosquitos em repouso e ingurgitados serão aspirados da vegetação, tocas de animais, currais e do ambiente intradomiciliar. Coletores usarão roupas protetoras (camisas de mangas e calças compridas e boné protetor).

O estudo está sendo sob a coordenação da investigadora principal, Marinete Marins Póvoa, Ph.D, Seção de Parasitologia, Instituto Evandro Chagas, SVS/MS e será conduzido em colaboração com órgãos regionais ou estaduais de saúde acima citados.

3. CRITERIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO PARA COLETORES: de ambos os sexos, de idade entre 18-60 anos, sem histórico alérgico a picadas de insetos, se mulher não estar grávida ou amamentando e não ser portador de hepatite, malária ou outra

qualquer doença febril. Fumar não é permitido durante as coletas de mosquitos. Não poderão usar perfumes, talco, repelente ou desodorante durante o período de coleta, exceto quando da coleta dos for de mosquitos em repouso e ingurgitado.

4. RISCOS PARA OS COLETORES: Para a maioria das pessoas o desconforto pela picada de mosquitos é brando e temporário. Reações locais severas (inchaço extrema) às picadas de mosquitos são muito raras e choque anafilático é extremamente raro. Durante as coleções com atração humana o risco de contrair doenças (ex., malária ou viroses transmitidas por mosquitos) aumenta devido à exposição a mosquitos que podem estar infectados. Estas doenças são sérias, e, em formas mais severas, podem ser fatais. Malária pode ocorrer novamente mesmo após tratamento apropriado (medicação) e as viroses não têm tratamento específico. Se você apresentar reações severas ou aumento da severidade das reações às picadas de qualquer mosquito durante o estudo, você deverá se ausentar do trabalho e o pessoal e serviços médicos locais deverão ser notificados.

Se febre alta sugestiva de malária ou de virose aparecer de forma abrupta em um dos coletores durante o trabalho de campo, ela/ele será levado a clínica mais próxima ou posto de saúde para atendimento imediato, e, se necessário, ser tratado. É obrigação de todos os coletores de informar sobre picadas de animais ou contato direto com morcegos com o fim de receber atenção médica imediata.

5. PRECAUÇÕES FUTURAS PARA MINIMIZAR OU ELIMINAR RISCOS: Os coletores deverão utilizar mosquiteiros protetores quando estiverem dormindo para protegê-los de picadas de insetos.

6. BENEFÍCIOS POTENCIAIS: Você não receberá nenhum benefício pessoal por fazer parte deste estudo.

7. CUIDADO MÉDICO PARA INJÚRIAS RELACIONADAS À PESQUISA: Você poderá sofrer injúria como resultado direto por estar fazendo parte deste projeto de pesquisa, e se acontecer, você receberá cuidados médicos, sem custo para você por este dano. Você deverá entender que isto não elimina seus direitos legais. Assim, você deverá discutir este assunto com o investigador principal, Dra. Marinete Póvoa, antes de se envolver neste estudo.

8. COMPENSAÇÃO: Você receberá para cada período de coleta e por cada dia de trabalho a diária padrão segundo legislação federal e no caso de haver garantia de pouso e alimentação será pago somente meia diária. Todo cuidado médico dado a você, será totalmente grátis. Você não receberá nenhuma compensação por sua participação neste estudo. Não há nenhum custo para você participar deste estudo.

9. PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: Sua participação como coletor neste estudo é inteiramente voluntário e você pode desistir dele a qualquer hora sem nenhuma penalidade ou perda de benefícios a que você faz jus. Se você decidir não ficar no estudo ou desistir dele, lhe será sempre garantido os mesmos cuidados médicos nos postos de saúde. Você receberá uma cópia deste formulário.

10. PONTOS DE CONTATO: Se você necessitar ou quiser falar com alguém sobre este estudo ou se você sofreu alguma injúria por ter tomado parte neste estudo, você deverá telefonar para Dr. Marinete Póvoa do Instituto Evandro Chagas, Belém, (5591 3214 2148). Se você tem alguma dúvida sobre seus direitos como profissional treinado

para coletar mosquito, favor contactar Dr. Manoel do Carmo Pereira Soares, Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Instituto Evandro Chagas, Belém, Para, Brasil, telefone (091) 3202-4618.

Se você concorda em participar deste estudo, por favor assinar seu nome abaixo.

Nome do Coletor (Letra de Forma)	Assinatura do Coletor
----------------------------------	-----------------------

Data:

Nome da Testemunha (Letra de forma)	Assinatura da Testemunha
-------------------------------------	--------------------------

Data:

Assinatura do Investigador

Data:

Nota: Cópias assinadas deste termo de consentimento devem ser: a) guardada em arquivo pelo Investigador Principal, b) entregue ao participante, e c) colocada no prontuário médico (quando aplicável).

ANEXO V

Informações Ambientais**Comunidade:** Lagos dos Índios**Data:** ____/____/____

Lua: () Minguante () Nova () Crescente () Cheia

Horário	Temperatura	URA	Cond. do Céu	Vel. do vento
18:00				
19:00				
20:00				
21:00				
22:00				
23:00				
00:00				
01:00				
02:00				
03:00				
04:00				
05:00				
06:00				

Condições do Céu: (1) Limpo (2) Encoberto (3) Chuva Forte (4) Chuva Fraca**Velocidade do Vento:** (1) Forte (2) Fraco (3) Nulo**Observações:**

ANEXO VI

FICHA PARA IDENTIFICAÇÃO E DISSECAÇÃO DE OVÁRIOS

Comunidade: Lagoa dos Índios

Captura de: ____ a ____ / ____ / ____

Espécies		<i>Anopheles darlingi</i>	<i>Anopheles marajoara</i>	<i>Anopheles nuneztovari</i>	<i>Anopheles</i>	<i>Anopheles</i>
Horário						
18:00 a 19:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
19:00 a 20:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
20:00 a 21:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
21:00 a 22:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
22:00 a 23:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
23:00 a 00:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
00:00 a 01:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
01:00 a 02:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					

FICHA PARA IDENTIFICAÇÃO E DISSECAÇÃO DE OVÁRIOS

Comunidade: Lagoa dos Índios

Captura de: ____ a ____ / ____ / ____

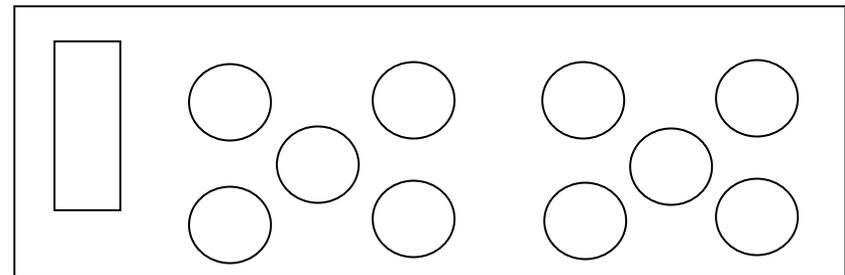
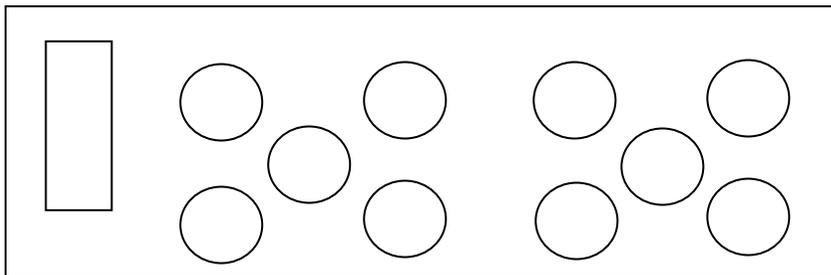
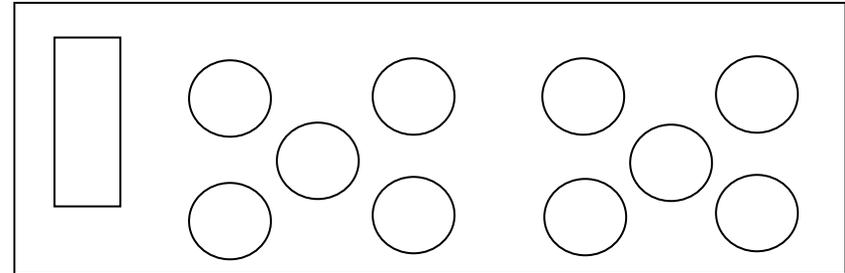
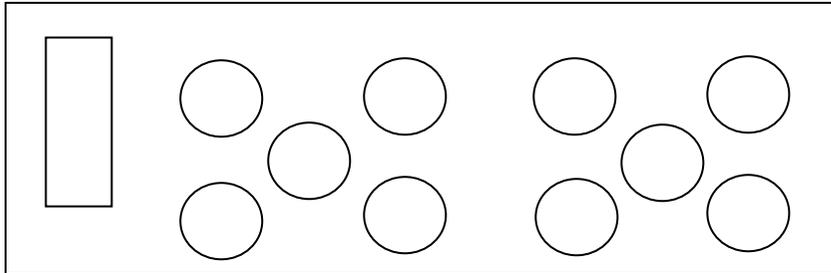
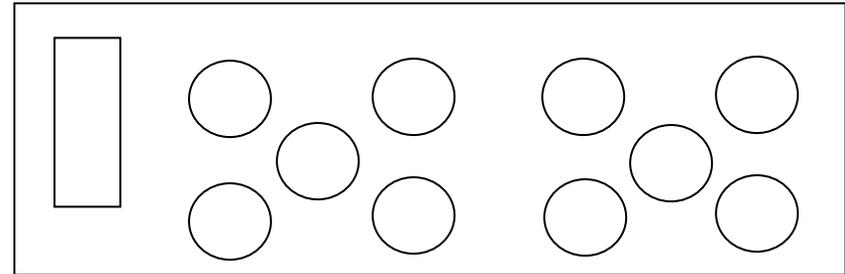
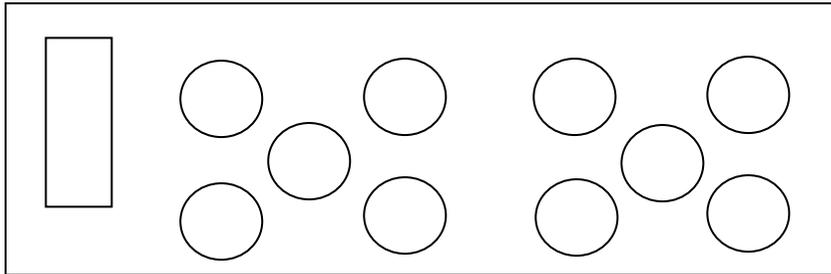
Espécies		<i>Anopheles darlingi</i>	<i>Anopheles marajoara</i>	<i>Anopheles nuneztovari</i>	<i>Anopheles</i>	<i>Anopheles</i>
Horário						
02:00 a 03:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
03:00 a 04:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
04:00 a 05:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
05:00 a 06:00	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					
Total	Captur.					
	Dissec.					
	Nulip.					
	Paridas					

ANEXO VIII

A importância dos *Anopheles darlingi* Root 1926, e *Anopheles marajoara* Galvao e Damasceno 1942, na transmissão de malária no município de Macapá/AP- Brasil.

Comunidade: Lagoa dos Índios

Data: _____ / _____ / _____



ANEXO X

LISTA DE MOSQUITOS ENCAMINHADOS PARA ELISA

DATA	ESPÉCIE	NÚMERO	LOCAL	HORA	CAPT.	PONTO	DISSEC	ELISA
		LI 0001	L. dos Índios					
		LI 0002	L. dos Índios					
		LI 0003	L. dos Índios					
		LI 0004	L. dos Índios					
		LI 0005	L. dos Índios					
		LI 0006	L. dos Índios					
		LI 0007	L. dos Índios					
		LI 0008	L. dos Índios					
		LI 0009	L. dos Índios					
		LI 0010	L. dos Índios					
		LI 0011	L. dos Índios					
		LI 0012	L. dos Índios					
		LI 0013	L. dos Índios					
		LI 0014	L. dos Índios					
		LI 0015	L. dos Índios					
		LI 0016	L. dos Índios					
		LI 0017	L. dos Índios					
		LI 0018	L. dos Índios					
		LI 0019	L. dos Índios					
		LI 0020	L. dos Índios					
		LI 0021	L. dos Índios					
		LI 0022	L. dos Índios					
		LI 0023	L. dos Índios					
		LI 0024	L. dos Índios					
		LI 0025	L. dos Índios					
		LI 0026	L. dos Índios					

