

Universidade de Brasília  
Faculdade de Medicina  
Núcleo de Medicina Tropical

ANA RAQUEL LIRA VIEIRA

**DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES DE CULICÍDEOS (DIPTERA,  
CULICIDAE) EM MATA DE GALERIA NO PARQUE NACIONAL DE  
BRASÍLIA, DF.**

BRASÍLIA

2012

**DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES DE CULICÍDEOS (DIPTERA,  
CULICIDAE) EM MATA DE GALERIA NO PARQUE NACIONAL DE  
BRASÍLIA, DF.**

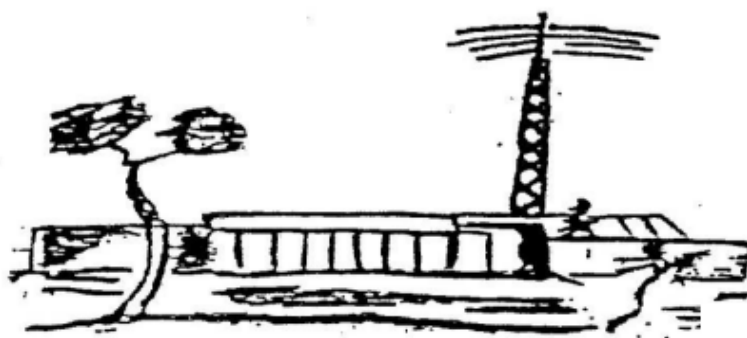
ANA RAQUEL LIRA VIEIRA

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Tropical da Universidade de  
Brasília, para a obtenção do título de  
Mestre em Medicina Tropical.

Área de concentração: Epidemiologia  
das Doenças Infecciosas e  
Parasitárias.

Orientador: Dr. Cleudson Nery de  
Castro

Co-orientador: Dr. Rodrigo Gurgel  
Gonçalves.



Brasília

2012

### III. FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília. Acervo 1001170.

V658d Vieira, Ana Raquel Lira  
Distribuição de espécies de Culicídeos (Diptera, Culicidae) em mata de galeria no Parque Nacional de Brasília, DF / Ana Raquel Lira Vieira. -- 2012.  
175 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2012.

Inclui bibliografia.

Orientação: Cleudson Nery de Castro.

Co-orientador: Rodrigo Gurgel Gonçalves.

1. Febre amarela. 2. Mosquito como transmissor de doenças - Parque Nacional de Brasília (Brasil). I. Castro, Cleudson Nery. II. Gonçalves, Rodrigo Gurgel. III. Título.

CDU 616.988.71

## **IV. COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

Ana Raquel Lira Vieira

### **DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES DE CULICÍDEOS EM MATA DE GALERIA NO PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA, DF.**

#### **UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

Medicina Tropical: Epidemiologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias

#### **DATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO**

25 de junho de 2012

#### **BANCA EXAMINADORA**

**(Em ordem alfabética)**

Dr. Cleudson Nery de Castro (Doutor)

Universidade de Brasília

Dr. Jáder da Cruz Cardoso (Doutor)

Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul

Dr. João Barberino Santos (Doutor)

Universidade de Brasília

Dr. Marcos Takashi Obara (Doutor)

Universidade de Brasília

## V. DEDICATÓRIA

À minha preciosa família pelo incentivo.

À Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal, pelo apoio e  
compreensão.

## VI. AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter-me concedido forças e determinação para concluir mais esta etapa da minha vida acadêmica.

Ao Dr. Cleudson Nery de Castro, pela cuidadosa orientação e dedicação oferecida ao longo deste trabalho.

Ao Dr. Rodrigo Gurgel Gonçalves, por ter aceitado o convite para ser meu co-orientador. Agradeço imensamente o apoio, as preciosas orientações e a paciência.

Ao Dr. João Barberino Santos, pelas lições que dele recebi. Agradeço ainda, a sua participação na banca.

Ao Dr. Jáder da Cruz Cardoso, por ter aceitado a participação na banca examinadora.

Ao Dr. Marcos Takashi Obara, por ter recebido com carinho o convite de fazer parte deste momento.

Meus sinceros agradecimentos a cada professor do Núcleo de Medicina Tropical que tive a oportunidade de conhecer nestes anos, pelos valiosos ensinamentos por eles ofertados. Agradeço em especial ao Dr. Pedro Luiz Tauil, pelo exemplo de simplicidade e sabedoria que tem sido.

À DIVAL (Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde) pelo apoio recebido, especialmente à equipe responsável pelas capturas de culicídeos, pelo empenho e dedicação na execução das atividades de campo. Ao Milton Lopes Coutinho, pela identificação taxonômica dos exemplares e pelo incomparável profissionalismo.

Aos técnicos do Núcleo de Virologia do LACEN/ DF, pelo comprometimento e empenho no isolamento viral.

Ao ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade), por autorizar a realização da pesquisa. À equipe do Parque Nacional de Brasília, pelo apoio e agradável convivência.

Aos colegas e amigos da turma, com quem compartilhei tensões e sorrisos durante esses anos.

Aos familiares e amigos pelo incentivo e compreensão. Agradeço aos meus pais (Francisco de Assis e Maria José), ao meu mano André e a minha Tia-mãe Jacira, pelos valores e ensinamentos recebidos. Com eles aprendi o verdadeiro significado do amor, do respeito e da vida. Lamento que meu pai tenha partido tão cedo, sei que me apoiaria e ficaria orgulhoso de mim. Seria tão bom compartilhar com ele esse momento! Ao meu esposo Pedro, pelo companheirismo. Amo vocês! Ao mesmo tempo em que agradeço, peço desculpas pela minha ausência durante este período.

Muito obrigada a todos!

“Somente quando for cortada a última árvore,  
pescado o último peixe e poluído o último rio,  
é que as pessoas vão perceber que não se  
pode comer dinheiro.”

Provérbio indígena



## VIII. LISTAS DE FIGURAS, TABELAS E ABREVIações

### FIGURAS

- Figura 1.** Áreas de risco para transmissão de febre amarela. Fonte da imagem: OMS. 30
- Figura 2.** Mapa do Brasil indicando as áreas de acordo com a recomendação de vacina contra FA a partir de 2008. Fonte da imagem: Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009. 37
- Figura 3.** Ciclos de transmissão de FA nos continentes africano e americano. Fonte da imagem: Barrett & Higgs, 2007. 44
- Figura 4.** *Sabethes cyaneus*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 46
- Figura 5.** *Sabethes chloropterus*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 47
- Figura 6.** *Haemagogus janthinomys*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 49
- Figura 7.** *Haemagogus leucocelaenus*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 51
- Figura 8.** *Aedes aegypti*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 52
- Figura 9.** *Aedes albopictus*. Fonte da imagem: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 54

<b>Figura 10.</b> Imagem de satélite indicando a localização do Parque Nacional de Brasília (PNB). Fonte da imagem: Google Maps.	61
<b>Figura 11.</b> Imagem de satélite indicando os pontos de captura de culicídeos no PNB. Fonte da imagem: Google Maps.	63
<b>Figura 12.</b> Capturador em solo (A) e em plataforma construída na copa de árvore (B).	65
<b>Figura 13.</b> Puçá entomológico (A) e aspirador tipo frasco (B).	66
<b>Figura 14.</b> Abundância das espécies de culicídeos que já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA ou possuem relevante importância na transmissão da doença.	76
<b>Figura 15.</b> Curva de acumulação de espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.	79
<b>Figura 16.</b> Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.	80
<b>Figura 17.</b> Número de culicídeos capturados no Parque Nacional, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011, no PNB.	81
<b>Figura 18.</b> Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante a estação intermediária. As espécies destacadas foram as mais abundantes.	83
<b>Figura 19.</b> Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante o 1º trimestre de chuva. As espécies destacadas foram as mais abundantes.	84
<b>Figura 20.</b> Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante o 2º trimestre de chuva. As espécies destacadas foram as mais abundantes.	84

- Figura 21.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante a estação seca. As espécies destacadas foram as mais abundantes. 85
- Figura 22.** Abundâncias das espécies dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* capturadas ao longo do período em solo e copa no Parque Nacional de Brasília, Brasil. 88
- Figura 23.** Número de culicídeos capturados das espécies com importância na transmissão de FA no Parque Nacional de Brasília, Brasil, em solo e copa ao longo de setembro/2010 a agosto/2011. 90

## TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Número de indivíduos nos diferentes estratos (solo e copa) e classificação de dominância e constância das espécies de culicídeos detectadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, no período de setembro/ 2010 a agosto/ 2011.	73
<b>Tabela 2</b> - Número de indivíduos nos diferentes estratos (solo e copa) nos pontos 1 e 2 das espécies de culicídeos detectadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, no período de setembro/ 2010 a agosto/ 2011.	77
<b>Tabela 3</b> – Número de Culicídeos capturados segundo a precipitação média por trimestre em nível de copa e solo.	82
<b>Tabela 4</b> – Medidas de diversidade de culicídeos em copa, solo e estações climáticas em mata de galeria do Parque Nacional de Brasília, Brasil, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011.	82
<b>Tabela 5</b> – Quantidades de lotes de culicídeos obtidos e enviados a cada mês ao LACEN/ DF e seus respectivos números.	91
<b>Tabela 6</b> – Quantidades de indivíduos e de lotes obtidos para cada espécie de culicídeo capturado em mata de galeria do Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011.	92

## ABREVIACÕES

*Ae. africanus*: *Aedes africanus*

*Ae. albopictus*: *Aedes albopictus*

*Ae. aegypti*: *Aedes aegypti*

*Ae. argyrorhox*: *Aedes argyrorhox*

*Ae. fluviatilis*: *Aedes fluviatilis*

*Ae. fulvus*: *Aedes fulvus*

*Ae. furcifer*: *Aedes furcifer*

*Ae. hortator*: *Aedes hortator*

*Ae. luteocephalus*: *Aedes luteocephalus*

*Ae. metallicus*: *Aedes metallicus*

*Ae. opok*: *Aedes opok*

*Ae. scapularis*: *Aedes scapularis*

*Ae. serratus*: *Aedes serratus*

*Ae. simpsoni*: *Aedes simpsoni*

*Ae. taylori*: *Aedes taylori*

*Ae. taeniorhynchus*: *Aedes taeniorhynchus*

*Ae. vittatus*: *Aedes vittatus*

*An. argyritarsis*: *Anopheles argyritarsis*

*An. gilesi*: *Anopheles gilesi*

*An. kompi*: *Anopheles kompi*

*An. parvus*: *Anopheles parvus*

C: graus Celsius

cm: centímetro

*Cq. arribalzagae*: *Coquillettidia arribalzagae*

DALY: Disability-adjusted life year (Anos de vida ajustados por incapacidade)

DF: Distrito Federal

DIVAL: Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde

FA: febre amarela

FAS: febre amarela silvestre

FAU: febre amarela urbana

FM: Faculdade de Medicina

GO: Goiás

GPS: Global Position System

*Hg. albomaculatus: Haemagogus albomaculatus*

*Hg. equinus: Haemagogus equinus*

*Hg. leucocelaenus: Haemagogus leucocelaenus*

*Hg. capricornii: Haemagogus capricornii*

*Hg. janthinomys: Haemagogus janthinomys*

*Hg. spegazzinii: Haemagogus spegazzinii*

*Hg. tropicalis: Haemagogus tropicalis*

IEC: Instituto Evandro Chagas

Km: quilômetro

LACEN/ DF: Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal

*Li. durhamii: Limatus durhamii*

*Li. flavisetosus: Limatus flavisetosus*

m: metro

mm: milímetro

MG: Minas Gerais

MS: Mato Grosso do Sul

n: número de indivíduos da amostra

nm: nanômetro

OPAS: Organização Pan-Americana de Saúde

PNB: Parque Nacional de Brasília

PNH: Primatas não-humanos

PR: Paraná

*Ps. albipes: Psorophora albipes*

*Ps. ferox: Psorophora ferox*

RNA: Ácido ribonucleico

*Sa. albiprivus: Sabethes albiprivus*

*Sa. belisarioi: Sabethes belisarioi*

*Sa. cyaneus: Sabethes cyaneus*

*Sa. chloropterus: Sabethes chloropterus*

*Sa. glaucodaemon: Sabethes glaucodaemon*

*Sa. soperi: Sabethes soperi*

SES/DF: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal

SHN: Setor Habitacional Noroeste

SP: São Paulo

SVS/MS: Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde

RS: Rio Grande do Sul

TO: Tocantins

UnB: Universidade de Brasília

## IX. INDICE

X. RESUMO.....	16
X. ABSTRACT.....	18
1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Aspectos históricos relacionados à febre amarela.....	23
1.2 Aspectos epidemiológicos relacionados à febre amarela.....	30
1.3 Vetores de importância na transmissão de febre amarela.....	40
2. JUSTIFICATIVA.....	57
3. OBJETIVOS.....	58
4. MÉTODOS.....	59
4.1 Área de estudo.....	59
4.2 Demarcação dos pontos de captura.....	62
4.3 Capturas entomológicas.....	64
4.4 Identificação dos mosquitos.....	67
4.5 Isolamento viral.....	68
4.6 Análise dos dados.....	69
4.7 Aspectos éticos.....	72
5. RESULTADOS.....	73
6. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94
7. CONCLUSÕES.....	102
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104
9. APÊNDICES.....	118
9.1 Artigo submetido à Revista Brasileira de Entomologia.....	118
10. ANEXOS.....	152
10.1 Nota técnica nº 59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS. ....	152
10.2 Autorização para atividades com finalidade científica.....	157
10.3 Ficha de investigação entomológica de febre amarela.....	160
10.4 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FM – UnB.....	161
10.5 Registro de encaminhamento de amostras ao LACEN/ DF.....	162
10.6 Comprovante de submissão do artigo à Revista Brasileira de Entomologia.....	173
10.7 Sequência de elementos da dissertação de acordo com a norma PPGMT – 01 de abril de 2011.....	174



## X. RESUMO

A febre amarela (FA) é uma doença infecciosa de transmissão vetorial, que se mantém endêmica ou enzoótica na África e Américas do Sul e Central. A veiculação do vírus da FA está associada a insetos hematófagos da família Culicidae. No continente americano, os principais vetores desta arbovirose pertencem aos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*. O Parque Nacional de Brasília (PNB) é um ponto turístico, situado a 10km do centro da cidade e a 2km do Setor Habitacional Noroeste. No parque estão presentes primatas não-humanos (PNH) e mosquitos *Haemagogus* e *Sabethes*. Durante o surto de FA ocorrido no Distrito Federal (DF) entre dezembro de 2007 e março de 2008 foram registradas mortes de PNH no PNB. Estes elementos sinalizam para o risco de transmissão do vírus amarelo neste local. Com isso, dá-se a importância de se conhecer as espécies de culicídeos no PNB, bem como identificar precocemente a circulação do vírus amarelo nesta unidade de conservação. Os objetivos do trabalho foram: 1) analisar a riqueza e abundância das espécies de culicídeos capturadas em diferentes estratos da mata de galeria e entre as estações climáticas no PNB, com ênfase aos potenciais vetores de FA; 2) Verificar, dentre os mosquitos capturados, o percentual de infectados pelo vírus amarelo. Entre setembro de 2010 e agosto de 2011, culicídeos foram capturados, mensalmente, durante cinco dias consecutivos, entre 9 e 15 horas em solo e copa das árvores. Os mosquitos foram examinados para verificar infecção por flavivirus pela técnica de isolamento em células de *Aedes albopictus*, seguida por imunofluorescência indireta. Foram identificados 2677 culicídeos, distribuídos em 29 espécies. A maioria dos mosquitos foi capturada ao nível do solo (69%) e na estação chuvosa (86%). Dentre as espécies identificadas neste estudo, 11 já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA. As espécies mais abundantes foram *Sabethes albiprivus*, *Limatus durhamii*, *Haemagogus leucocelaenus*, *Haemagogus janthinomys*, *Aedes scapularis*, *Psorophora ferox* e *Aedes serratus*. *Hg. janthinomys*, *Li. durhamii*, *Ps. ferox*, *Ae. scapularis* e *Ae. serratus* apresentaram

diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto ao uso do habitat. *Hg. janthinomys* foi mais capturado em copa, ao contrário das demais espécies. Na estação chuvosa, as espécies mais abundantes foram *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelanus* e *Hg. janthinomys*. Na estação seca, os potenciais vetores de FA apresentaram baixa frequência e abundância, exceto *Ae. scapularis* e *Ae. serratus*. Apesar do flavivirus não ter sido detectado nos 2677 mosquitos examinados, recomenda-se a continuação do monitoramento entomológico no parque e em outras áreas vulneráveis à transmissão da FA no DF.

**PALAVRAS-CHAVE:** Culicidae, Distribuição Mensal, Estratificação Vertical, Febre Amarela, Parque Nacional de Brasília.

## X. ABSTRACT

The yellow fever (YF) is an infectious disease transmission vector that keeps endemic or enzootic in Africa and South and Central Americas. The transmission of YF virus is associated with hematophagous insects of the family Culicidae. In the American continent, the main vectors of arbovirus belonging to the genera *Haemagogus* and *Sabethes*. The Brasilia National Park (BNP) is a tourist place, located 10km from the city center and 2km Northwest Housing Sector. Are present in the park nonhuman primates (NHP) and mosquitoes *Haemagogus* e *Sabethes*. During the outbreak of YF occurred in Distrito Federal (DF) between december 2007 and march 2008 deaths were recorded from NHP in the BNP. These elements point to the risk of transmission of YF virus in this location. Thus, there is the importance of knowing the species of mosquitoes in the park, as well as early identification of YF virus circulation in BNP. The objectives were: 1) to analyze the richness and abundance of species was captured in different strata of gallery forest and between seasons in park, with emphasis on potential vectors of YF; 2) verify, among captured mosquitoes, the percentage of mosquitoes infected with YF virus. Between september 2010 and august 2011, mosquitoes were captured monthly for five consecutive days, from 9 to 15 hours in ground and treetops. Mosquitoes were examined to verify the natural infection with flavivirus by the technique of isolation in *Aedes albopictus* cells, followed by indirect immunofluorescence. We identified 2677 culicids distributed in 29 species. Most mosquitoes were captured at ground level (69%) and in the rainy season (86%). Among the species identified in this study, 11 have been found naturally infected with YF virus. The most abundant species were *Sabethes albiprivus*, *Limatus durhamii*, *Haemagogus leucocelaenus*, *Haemagogus janthinomys*, *Aedes scapularis*, *Psorophora ferox* and *Aedes serratus*. *Hg. janthinomys*, *Li. durhamii*, *Ps. ferox*, *Ae. scapularis* and *Ae. serratus* showed significant differences ( $p < 0.05$ ) for habitat use. *Hg. janthinomys* was more caught in canopy, unlike the other species. In the rainy season the most abundant species were *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus* and *Hg. janthinomys*. In the dry season the potential vectors of YF showed a very low frequency and abundance,

except *Ae. scapularis* and *Ae. serratus*. Despite the flavivirus was not detected in 2677 mosquitoes examined, it is recommended the continuation of entomological monitoring in the park, and other areas vulnerable to the transmission of YF in DF.

KEYS-WORD: Culicidae, Monthly Distribution, Vertical Stratification, Yellow Fever, Brasilia National Park.

## 1. INTRODUÇÃO

As arboviroses constituem um amplo e importante assunto de interesse médico e veterinário. São enfermidades produzidas por uma expressiva diversidade de vírus de distribuição geográfica mundial, mas com predomínio em áreas tropicais e subtropicais (Marcondes 2011). A palavra arbovírus tem origem na expressão inglesa *arthropod-borne-viruses* que significa vírus transmitidos por artrópodes (Forattini 2002). Esses agentes virais são veiculados a hospedeiros vertebrados, mantendo o vírus em a natureza em ciclos complexos, envolvendo principalmente mosquitos e carrapatos como vetores e mamíferos e aves como hospedeiros (Figueiredo 2007).

De acordo com Wolfe et al. (2007), comparando-se as 25 principais doenças infecciosas que ocorrem no mundo, que são as principais causas de mortalidade e/ou morbidade entre humanos, observa-se que, em regiões tropicais, oito em cada dez dessas doenças são transmitidas por vetores. Em contraste, observam-se apenas duas a cada quinze nas regiões temperadas.

No Brasil já foram isolados mais de 200 diferentes arbovírus, dos quais cerca de 40 são patogênicos ao homem (Figueiredo 2007). Desses, cinco são mais importantes para a saúde pública por causarem mortes ou doenças severas. Os vírus da dengue, febre amarela, mayaro, rocio e oropouche estão associados a 95% de todos os casos de arboviroses registrados no País (Vasconcelos 2010).

O agente etiológico da febre amarela (FA) é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, família Flaviviridae (do latim flavus = amarelo) (Vasconcelos 2003). Os flavivirus são esféricos, envelopados e medem,

aproximadamente, 40 a 80nm de diâmetro. O genoma destes vírus é constituído de RNA de fita simples não segmentado, polaridade positiva, contendo cerca de 11.000 nucleotídeos (Figueiredo & Fonseca 2005).

A família Flaviviridae compreende aproximadamente 70 vírus transmitidos por mosquitos e carrapatos, e as doenças mais importantes causadas por flavivirus no mundo são FA, dengue, febre do Nilo Ocidental, encefalite japonesa e encefalite transmitida por carrapatos (Barrett & Weaver 2002; Marcondes 2009).

Na maioria dos casos a infecção pelo vírus da FA produz infecções inaparentes ou leves e que podem ser confundidas com outras infecções de menor significado epidemiológico (Vasconcelos et al. 2003). As formas graves se apresentam como um quadro infeccioso toxêmico, com icterícia, hemorragias e insuficiência renal aguda, com alta percentagem de letalidade (Marcondes 2009).

O período de incubação da doença varia de três a seis dias, após a picada do mosquito infectado. O período de transmissibilidade da doença compreende dois ciclos: um intrínseco, que ocorre no ser humano, e outro extrínseco, que ocorre no vetor (Benchimol 2001).

A viremia humana dura, no máximo, sete dias e vai desde 24 a 48 horas antes do aparecimento dos sintomas até três a cinco dias após o início da doença - período em que o homem pode infectar os mosquitos transmissores. No mosquito, após um repasto de sangue infectado, o vírus vai se localizar nas glândulas salivares do vetor, onde se multiplica depois de oito a 12 dias de incubação. A partir desse momento é capaz de transmitir o vírus amarelo até o final de sua vida, aproximadamente de seis a oito semanas (Brasil 2009; Figueiredo & Fonseca 2005).

O método mais eficaz para se prevenir a doença é a vacinação anti-amarela (Jentes et al. 2011). A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que sejam vacinados todos os indivíduos com mais de seis

meses de idade que residem nas áreas de risco ou que se dirijam a elas (OMS 2011). Uma única dose de vacina protege o indivíduo por, pelo menos 10 anos, quando então é recomendada nova vacinação. Esta vacina de vírus vivo atenuado é altamente imunogênica, segura e efetiva. A atenuação viral feita pela passagem sucessiva em ovos embrionados de galinha raramente pode causar reações alérgicas em pessoas com alergia prévia a ovos (Figueiredo & Fonseca 2005).

Esta vacina tem sido produzida em vários centros distribuídos ao redor do globo, sob supervisão da OMS. Atualmente duas subcepas são usadas na produção de vacinas: 17DD no Brasil e 17D-204 nos demais países (Barrett & Higgs 2007). A diferença é que a 17DD tem 81 passagens a mais (Vasconcelos et al. 2003). É fabricada no Brasil desde 1937, pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos, que também exporta para cerca de 70 países (FIOCRUZ 2012).

A proteção conferida pela vacina é próxima a 100%. Aproximadamente dez dias após a imunização, anticorpos contra o vírus da FA aparecerão em cerca de 95% dos vacinados, sendo a imunidade duradoura (Figueiredo & Fonseca 2005). Como a vacina é produzida com vírus vivo atenuado, não é recomendada a vacinação de pessoas com imunodeficiência, haja vista os riscos de reversão da virulência num hospedeiro com depressão do sistema imune. Portanto, pacientes com AIDS, câncer e em uso de medicação imunossupressora não devem ser vacinados, salvo em casos particulares e após cuidadosa avaliação (Vasconcelos et al. 2003). A vacina também é contraindicada para pessoas com antecedentes de alergia à proteína do ovo e indivíduos com doença infecciosa aguda em estado febril, bem como para gestantes (Brasil 2009).

Embora seja uma vacina segura, eventos adversos associados temporalmente à vacina contra FA podem ocorrer (Brasil 2009; Vasconcelos et al. 2001b). Reações adversas graves são raras e os casos mais detalhadamente estudados indicam que fatores individuais foram

responsáveis pelos eventos e não mutações ou reversões para virulência das amostras vacinais nos pacientes (Jentes et al. 2011).

Recentemente, o Instituto de tecnologia em imunobiológicos Bio-Manguinhos divulgou que, em breve desenvolverá a primeira vacina anti-amarílica produzida a partir de uma planta, sem o uso de vírus atenuado (FIOCRUZ 2012).

## **1.1 Aspectos históricos relacionados à febre amarela**

A FA foi a primeira febre hemorrágica descrita no mundo (Domingo-Carrasco & Gascón-Bustrenga 2005; Monath 1990). A FA não era conhecida entre os povos antigos. Só após a descoberta das Américas, esta enfermidade passou a figurar nos quadros nosológicos (Franco 1969). A partir do século XV, essa doença dizimou vidas em extensas epidemias na África e nas Américas (Brasil 1999 & Franco 1969). Prejudicava-se o turismo, as exportações eram reduzidas drasticamente e impunha-se quarentena aos navios oriundos destes continentes (Costa 2005; Benchimol 2001; Strode 1951).

Até recentemente desconhecia-se a origem do vírus, não se sabia se já existia na América antes do comércio de escravos vindos da África nas primeiras décadas do século XVI (Carter 1931; Monath 2001). Pesquisas recentes, baseadas em análises de sequências de nucleotídeos, indicam



que as amostras do vírus da FA oriundas da América perderam parte de uma sequência repetitiva do genoma na região não codificante 3', o que não ocorre nas amostras africanas. Estas evidências observadas em vários estudos moleculares têm fornecido suporte para encerrar a polêmica, indicando que o vírus se originou na África (Barrett & Higgs 2007; Mutebi et al. 2001; Vasconcelos 2003).

A inexistência de FA na Ásia é um fenômeno ainda pouco entendido. Uma das teorias baseia-se na existência de barreira imunológica em virtude da circulação de outros flavivirus no seio das densas populações humanas asiáticas (Monath 2001). Tal imunidade teria o poder de se opor à expansão do vírus da FA em direção ao Oriente. A outra teoria fundamenta-se na presença de populações de *Ae. aegypti* geneticamente incapacitadas para transmitir o vírus amarelo. Ao se admitir essa explicação, tais populações asiáticas desse mosquito seriam dotadas de pequena propensão para o desempenho desse papel vetor (Chastel 1998; Monath 1990).

A denominação “febre amarela”, como hoje a doença é conhecida, já possuiu vários sinônimos ao longo do tempo, como tifo icteróide, tifo amarelo, mal de Sião, vômito negro e febre das Antilhas (Haddow 1968; WHO 1985).

O jesuíta Raymond Bréton foi o primeiro a se referir à FA com relativa precisão, ao relatar a epidemia que ocorreu em 1635 entre os imigrantes franceses na ilha de Guadalupe e que, ao lado de outros sintomas, provocava dores lombares, icterícia e vômitos negros, sendo que a morte sobrevinha do terceiro ao quinto dia (Soper 1944; Figueiredo & Fonseca 2005; Franco 1969). Bréton estabeleceu, ainda, uma nítida relação entre a derrubada de árvores e a doença, ao registrar que “à medida que cortavam os bosques, a terra arrojava seu veneno” (Franco 1969).

A doença foi descrita clinicamente em 1648, na península de Yucatán, por frei Diego Lopez de Cogolludo (Franco 1969). O termo febre amarela foi sugerido por Griffin Hughes em seu livro “História Natural de Barbados”, em

1750 (Barrett & Higgs 2007). Grandes epidemias foram descritas no continente americano nos séculos XVII, XVIII e XIX e no início do século XX, com registros até o sul de Montevideu, no Uruguai, e Tocopilla, no Chile, e tão ao norte como Quebec, no Canadá (Vainio & Cutts 1998).

O primeiro registro epidêmico nos Estados Unidos teria sido em 1668, descrito como “particularmente destrutivo” nas cidades de Nova York e Filadélfia (Strode 1951). Em 1898, ocorreu uma epidemia em Nova Orleans, registrando quase 14.000 casos com 4.000 mortes, enquanto a epidemia na parte inferior do vale do Mississipi, em 1878, resultou em 20.000 mortes e prejuízos econômicos de quase 200 milhões de dólares (Barrett & Higgs 2007). O último surto nesse País ocorreu na cidade de Nova Orleans, em 1905 (Vainio & Cutts 1998).

A primeira epidemia de FA no Brasil ocorreu no estado de Pernambuco, em 1685, e foi tema de um dos três primeiros livros de medicina escritos no Brasil, intitulado *Tratado Único da Constituição Pestilencial de Pernambuco*, de autoria de João Ferreira da Rosa, publicado em Lisboa em 1694 (Franco 1969). Em 1692, o padre Antônio Vieira, se referiu a um pavoroso surto de FA na Bahia, que deixou *as casas cheias de moribundos; as igrejas, de cadáveres e as ruas, de tumbas* (Franco 1969). Seguiu-se um longo período de silêncio epidemiológico no País, sugerindo que as epidemias não teriam ocorrido pelo menos de forma significativa (Amaral & Tauil 1983; Franco 1969). Tal silêncio foi rompido em 1849, pela sua re-emergência no porto de Salvador. Iniciou-se no Brasil uma sequência de surtos da doença, começando na Bahia e chegando, via marítima, ao Rio de Janeiro, com os marinheiros doentes do navio dinamarquês *Navarre* (Benchimol 2001). Observou-se naquela época que a doença poupava os negros e matava europeus, em frequência muito maior que a observada entre os nativos, independentemente de idade, ocorrendo maior mortalidade entre os indivíduos do sexo masculino (Franco 1969). Entre 1850 e 1902, a doença ocorreu anualmente no Rio de Janeiro, com exceção de 1865, 1866

e 1867, tendo causado o impressionante número de 58.063 óbitos nesse período, numa cidade que, em 1850, contava com 166.000 habitantes (Figueiredo & Fonseca 2005).

A primeira epidemia de FA descrita na Europa ocorreu em 1730, em Cádiz, na Espanha. Porém, na Espanha existem registros do ano de 1649, quando vários tripulantes contaminados faziam a rota marítima da África para as Índias Ocidentais (Vainio & Cuttis 1998). Ainda, há relatos de 1723 em Lisboa, Portugal, conseqüentemente disseminando-se em direção a Londres, na Inglaterra. Entre 1730 e 1878, surtos importantes ocorreram em Portugal, Espanha, França, Itália e Inglaterra, dizimando populações e paralisando indústrias e comércio (Strode 1951). A primeira referência desta enfermidade na África ocorreu em 1778, sendo descrita por Schotte, durante uma epidemia da doença em São Luiz do Senegal (Franco 1969).

Por muitos anos acreditou-se que a transmissão da FA se fazia por meio dos miasmas, do desenvolvimento espontâneo da doença nos navios negreiros e outras teorias (Brasil 1999). Em 1854, na Venezuela, o Dr. Louis Beauperthuy sugeriu que mosquitos fossem os possíveis disseminadores da FA, fato que também havia sido sugerido por Josiah Nott, em 1848, no sul dos Estados Unidos, avaliando a forma como a doença avançava rapidamente de uma cidade para outra. Posteriormente, em 1881, o médico cubano Carlos Finlay defende, precisamente, que o mosquito *Culex taeniatus*, na época também conhecido como *Stegomyia fasciata* e, hoje, pelo nome de *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762, transmitiria a FA (Brasil 1999; Laval 2003). Contudo, os resultados de suas pesquisas foram insuficientes para uma confirmação absoluta (Brasil 1999).

Em 1900, seguindo as idéias de Finlay, viria esta confirmação por uma equipe de pesquisadores do exército norte-americano em Cuba, chefiada por Walter Reed. Em 1901, iniciaram-se os trabalhos de combate a *Ae. aegypti*, que confirmaram, na prática, a descoberta de seu mecanismo de transmissão, sendo então combatido, e a FA eliminada de Havana em

seis meses. As medidas de combate ao mosquito, realizadas pelo exército norte-americano eram rigorosas, sendo efetuadas sob o comando do sanitaria militar William Gorgas (Hervé et al. 1983). Por fim, a comissão médica do exército norte-americano concluiu que o agente específico da FA estaria presente no sangue, pelo menos nos três primeiros dias de doença, e que poderia ser transmitido para outras pessoas, embora neste sangue não se encontrasse qualquer microrganismo que crescesse nos meios de cultivo bacteriológico. O microrganismo era inativado pelo calor e transmissível, mesmo quando passado por filtro de bactérias Berkefeld, chegando-se assim à conclusão que se tratava de um vírus (Figueiredo & Fonseca 2005).

No Brasil, os resultados obtidos pelo pesquisador William Gorgas foram confirmados por Emílio Ribas, em 1903, ao reproduzir em São Paulo exatamente os mesmos experimentos realizados em Cuba, deixando-se picar juntamente com outros voluntários, por mosquitos infectados com o vírus e adoecendo com uma forma não-fatal de FA (Marcondes 2009).

A Fundação Rockefeller, criada em 1913, desempenhou importante papel nos países afetados pela FA, e se comprometeu a colaborar na eliminação da doença, iniciando sua atuação junto ao governo brasileiro em 1923 (Brasil 2009).

Em 1927, Bauer e Hudson demonstraram que o macaco do gênero *Rhesus* era suscetível à doença. Em 1929, Lutz aventou a possibilidade de uma forma silvestre da doença, hipótese esta confirmada em 1932 por Soper, após a ocorrência de um surto da doença no Vale do Canaã - Espírito Santo (Barrett & Higgs 2007). Nesta localidade, não existia o mosquito *Ae. aegypti*, confirmando-se a existência de um ciclo silvestre da doença, causada pelo contato humano com o ciclo enzoótico viral, envolvendo macacos e mosquitos silvestres (Soper 1944). Subsequentemente outros focos da doença foram identificados em localidades, aonde não havia registro da espécie *Ae. aegypti* (Vainio & Cutts 1998).

Durante um surto em 1938, próximo à cidade do Rio de Janeiro, o vírus da FA foi isolado de *Ae. leucocelaenus* (mais tarde redesignado *Haemagogus leucocelaenus*), *Hg. capricornii* e uma espécie de *Sabethes* não identificada (Shannon et al. 1938), mas estudos posteriores incriminaram *Hg. janthinomys* e *Sa. chloropterus* como vetores importantes na América do Sul (Barrett & Higgs 2007). Na sequência, um ciclo silvestre foi descrito na África, sendo *Ae. africanus* o principal vetor (Barrett & Monath 2003).

Foi necessário que a Fundação Rockefeller reavaliasse os conceitos vigentes sobre a epidemiologia da enfermidade, uma vez que os métodos de combate ao vetor urbano não poderiam ser utilizados no combate aos vetores silvestres (Hervé et al. 1983; Soper et al. 1932).

A última grande epidemia urbana relatada no Brasil ocorreu entre maio de 1928 e setembro de 1929 na cidade do Rio de Janeiro, com 738 casos e 478 óbitos. Durante anos foram descritos casos esporádicos em vários estados (Amaral & Tauil 1983).

No período de 1934 a 1940, foi documentado o maior surto de FAS no Brasil, com a ocorrência também de casos urbanos (Vasconcelos 2002). Portanto, para evitar epidemias urbanas provocadas por surtos silvestres seria necessário controlar o índice de infestação de *Ae. aegypti*. Sendo assim, em 1934, o Serviço Nacional de Febre Amarela passou a por em prática a estratégia de eliminação do mosquito, vindo a ser adotada oficialmente pelo Governo do Brasil somente em 1942 (OPAS 1966).

A vacina antiamarílica com a cepa viral atenuada 17D foi desenvolvida em 1937, nos laboratórios da Fundação Rockefeller, em Nova York, por Theiler e Smith. A vacina foi testada em campo pela primeira vez no Brasil, mostrando uma excelente capacidade imunogênica. Por esta razão, começou a ser produzida, ainda em 1937, no Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro (Brasil 2005; Figueiredo & Fonseca 2005).

Ocorreram surtos nos anos que seguiram a implantação da estratégia de eliminação, mas foi observada uma gradativa redução dos casos urbanos e seu posterior desaparecimento em 1939. A febre amarela urbana (FAU) reapareceu em 1942 na cidade de Sena Madureira, no Acre (Nobre et al. 1994), consequência de um surto silvestre. A partir deste episódio não se registraram casos de FAU em território brasileiro (Franco 1969; Tauil 1998).

Em 1947, tornaram-se conhecidas as propriedades inseticidas e larvicidas do DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), cuja ação residual o elegeu como arma estratégica e eficaz na luta contra *Ae. aegypti*. A OPAS promoveu e coordenou o “Programa de Erradicação de *Ae. aegypti* no Hemisfério Oeste”. Pela primeira vez, foi articulada uma estratégia única e conjunta para o continente americano. A erradicação de *Ae. aegypti* foi prescrita para toda a América. A experiência brasileira de eliminação do vetor serviu de exemplo para outros países do continente americano (OPAS 1966; Tauil 1998).

Em 1962, com exceção de poucos países, como a Venezuela, o sul dos Estados Unidos, as Guianas e algumas áreas do Caribe, o vetor urbano foi considerado eliminado das Américas (Donalísio 1999).

No Brasil, em 1967, o mosquito foi detectado na cidade de Belém. No mesmo ano, foi criada a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), a qual investiu fortemente no combate aos focos isolados do vetor (Brasil 1999). Com isso, em 1972, novamente *Ae. aegypti* foi considerado eliminado do território brasileiro (Osanaí 1984). Em 1976, entretanto, ocorreu a reinfestação de *Ae. aegypti* no Brasil; sendo reencontrado em 1976 na Bahia, em 1977, no Rio de Janeiro, em 1980, em São Paulo e Roraima. Cinco anos mais tarde, o mosquito estava presente em 2,1% dos municípios. Atualmente, este vetor se encontra distribuído em todos os estados brasileiros (Brasil 2009; Braga & Valle 2007).



Atualmente, a região endêmica de FA na África inclui 32 países da África sub-saariana e trechos da fronteira sul do deserto do Saara, ao norte de Angola. Aproximadamente 600 milhões de pessoas residem nesta região e correm o risco de se infectarem com o vírus amarelo, incluindo 230 milhões em áreas urbanas (Barrett & Higgs 2007).

A maioria dos casos de FA que ocorrem na América do Sul estão localizadas nas bacias dos rios Orinoco, Amazonas e Araguaia (Costa 2005). Em média, 160 casos de FAS são relatados na América do Sul a cada ano, com uma taxa de letalidade de 65% (Vasconcelos 2010). O Brasil possui a maior área endêmica de FA do mundo, com cerca de 5 milhões de km<sup>2</sup> (Tauil et al. 2005). Historicamente, a doença tem sido relatada em muitos países das Américas, desde o norte do Panamá, até o sul da Argentina. No entanto, a maioria dos casos são relatados na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guianas, Peru e Venezuela, contabilizando-se 90% dos casos apenas com a Bolívia, Brasil e Peru (Jentes et al. 2011). Na maior parte das situações, os casos humanos têm sido esporádicos e envolvem pessoas que adentram às áreas de florestas onde os vetores silvestres estão presentes (Barrett & Higgs 2007).

A letalidade global varia de 5% a 10%, percentual elevado quando comparado a outras arboviroses, inclusive a dengue (Barrett & Higgs 2007). Os casos graves que evoluem com síndrome íctero-hemorrágica e hepatorenal podem ultrapassar 50% (Vasconcelos 2003).

Estudos filogenéticos dos vírus da FA mostram sete genótipos virais, dos quais cinco são circulantes na África, com cada genótipo circulante em uma região geográfica distinta (Barrett & Higgs 2007). Dentre os encontrados no continente africano, dois foram localizados na África Ocidental - um no leste e centro da África, outro restrito ao leste do continente - e por fim o genótipo isolado unicamente em Angola (Mutebi et al. 2001; Onyango et al. 2004). Na América do Sul, por sua vez, foram identificados dois genótipos. O mais frequente é o sul-americano tipo I,



encontrado no Brasil, Panamá, Colômbia, Equador, Venezuela e Trinidad e Tobago (Vasconcelos et al. 2004), enquanto que o sul-americano tipo II é predominantemente encontrado no Peru, com poucos isolamentos no Brasil e Trinidad e Tobago (Barrett & Higgs 2007). Não se sabe até o momento se existe algum genótipo mais virulento que o outro (Figueiredo & Fonseca 2005).

Embora o risco de adoecer por FA seja baixo, esta enfermidade ainda é tratada de forma diferenciada pelos organismos internacionais de saúde, o que impõe pronta notificação de qualquer evento suspeito que sinalize a circulação do vírus em uma área (Costa 2005). A FA, ao lado de outros agravos de importância em saúde pública, está sujeita ao Regulamento Sanitário Internacional. A notificação internacional é compulsória para que as medidas preventivas sejam adotadas pelos países vizinhos e para proteger os turistas estrangeiros, além de alertá-los sobre a necessidade de se vacinarem (Brasil 2005; Vasconcelos 2003).

A obrigatoriedade da notificação imediata à OPAS sofreu alteração com o novo Regulamento Sanitário Internacional – 2005, que passou a vigorar em todo o mundo, em 15 de junho de 2007. Nesse novo contexto, a notificação de caso suspeito às autoridades internacionais ocorre a partir de uma avaliação por meio de um instrumento de decisão aplicado pelo nível de gestão competente. O instrumento pode classificar o evento em emergência de saúde pública de importância nacional ou internacional, o que vai determinar a necessidade, ou não, de notificar aos órgãos internacionais (Brasil 2009).

A doença tem caráter sazonal, ocorrendo com maior frequência entre os meses de dezembro a abril, quando os fatores ambientais propiciam o aumento da densidade vetorial. Verifica-se maior acometimento entre indivíduos jovens, principalmente do sexo masculino, realizando atividades agropecuárias e de extração de madeira (Vasconcelos 2003). Em geral, atinge indivíduos com faixa etária entre 14 e 35 anos, uma vez que, devido

ao tipo de ocupação e ao contato direto com a mata, apresentam maior exposição aos vetores infectados. Porém, com o aumento do ecoturismo, outras faixas etárias, além do sexo feminino, têm sido acometidas com notável frequência (Brasil 2009). Os índios constituem, sem dúvida, um grupo importante a ser considerado (Vasconcelos et al. 1997b).

Sob o ponto de vista epidemiológico, divide-se a FA em duas formas: a urbana e a silvestre. Entre elas não existem diferenças dos pontos de vista etiológico, clínico e fisiopatológico. As diferenças referem-se aos elementos que formam o ciclo de manutenção, ou seja, o tipo de hospedeiro e espécies de vetores envolvidos na transmissão, além do local de ocorrência (Brasil 2005; Monath 2001). Na África, tem sido reconhecido um ciclo intermediário. Geograficamente, este ciclo ocorre em áreas de savana onde existe alguma atividade humana. Esta área tem sido denominada como zona de emergência, pois provavelmente reflete o mecanismo pelo qual o vírus da FA evoluiu do ciclo silvestre para se tornar uma importante doença humana (Barrett & Higgs 2007).

No ciclo urbano de transmissão, a doença é uma antroponose, não se reconhecendo até o momento, hospedeiros animais de importância epidemiológica (Tauil 2010). Neste caso, o vírus é transmitido de homem a homem pela picada do mosquito previamente infectado. Assim, o próprio homem infectado, estando em fase virêmica atua como amplificador e disseminador do vírus na população. Em geral, também é o homem que introduz o vírus numa área urbana (Brasil 2005).

A forma urbana foi eliminada do continente americano em 1954, mas ainda hoje ela ocorre na África (Nobre et al. 1994), predominantemente na Nigéria, País com elevada concentração populacional em área urbana (Barrett & Higgs 2007). Contudo, no início de 2008, foram confirmados cerca de 30 casos de FAU no Paraguai, após 34 anos de ausência no País (OPAS 2008), confirmando que a infecção urbana, nas atuais circunstâncias de aumento de densidade demográfica e ampla presença do vetor, pode voltar

em qualquer país da América tropical e subtropical. Na Bolívia, ocorreram, em 1997, casos na área urbana de Santa Cruz de la Sierra (Marcondes 2009).

Por tratar-se de uma zoonose, o ciclo silvestre de transmissão é mais complexo e impossível de ser eliminado (Brasil 1999). A transmissão se processa entre primatas não-humanos (PNH) e mosquitos de hábitos silvestres (Forattini 2002). Nestas circunstâncias, a infecção do ser humano não-imunizado ocorre de forma acidental, ao entrar em contato com este ciclo natural nas áreas endêmica e de transição (Brasil 2009; Franco 1969).

Os hospedeiros primários da forma silvestre, que se definem como os vertebrados que entram no ciclo de manutenção do vírus da FA ao nível do foco natural, são os PNH. Todos os gêneros de macacos do Novo Mundo são susceptíveis ao vírus da FA e podem, portanto, atuar como hospedeiros desta arbovirose, pois são basicamente arborícolas e habitam o mesmo extrato arbóreo que o mosquito vetor. Os gêneros que mais têm sido associados com a ocorrência de epizootias no Brasil são *Alouatta*, *Cebus* e *Callithrix* (Brasil 2005). Uma diferença entre os ciclos que ocorrem no Novo e no Velho Mundo é que, enquanto nas Américas os PNH adoecem e muitas vezes morrem, no Velho Mundo, estes primatas em geral nem mostram sinais de infecção (Barrett & Higgs 2007).

Os mosquitos vetores também são reservatórios do vírus, pois uma vez infectados assim permanecem por toda a vida, ao contrário dos macacos que, como os homens, ao se infectarem, morrem ou curam-se, ficando imunes para sempre. Portanto estes PNH atuam tão somente como hospedeiros amplificadores da virose (Vasconcelos 2010).

Embora não se tenha clareza sobre a importância epidemiológica, há limitadas evidências de que outros animais, como marsupiais arborícolas e preguiças, possam também servir como hospedeiros durante ou após grandes epizootias de macacos em determinada área. Algumas espécies

podem, com efeito, desenvolver uma viremia suficiente para infectar mosquitos (Brasil 2009; Waddel & Taylor 1948), mas nenhum deles foi, até esta data, claramente implicado no decorrer de uma epizootia amarílica. Na Colômbia, por exemplo, na década de 1940, ocorreu epidemia de FA na ausência de macacos e apenas os marsupiais foram encontrados com anticorpos anti-amarílicos (Monath 1988). Deve-se assinalar, ainda, o caso de um marsupial do gênero *Caluromys*, do qual o exame sorológico para este vírus foi positiva durante a epidemia de FA ocorrida entre 1972 e 1973, no Estado de Goiás (Pinheiro et al. 1981).

A forma silvestre, em geral, apresenta-se sob a forma de surtos com intervalos de cinco a sete anos, alternados por períodos com menor número de registros. Na população humana, geralmente o aparecimento de casos é precedido de epizootias em PNH (Brasil 2009). Segundo Câmara et al. (2011), analisando-se dados retrospectivos, verifica-se que há dois ciclos dominantes na FAS, um de sete anos predominando na região Centro-Oeste, e um de 14 anos predominando na região Norte.

No Brasil, a partir do desaparecimento da forma urbana em 1942, só há ocorrência de casos de FAS e os focos endêmicos até 1999 estavam situados nos estados das regiões Norte, Centro-Oeste e área pré-amazônica do Maranhão, além de registros esporádicos na parte oeste de Minas Gerais (Brasil 2009).

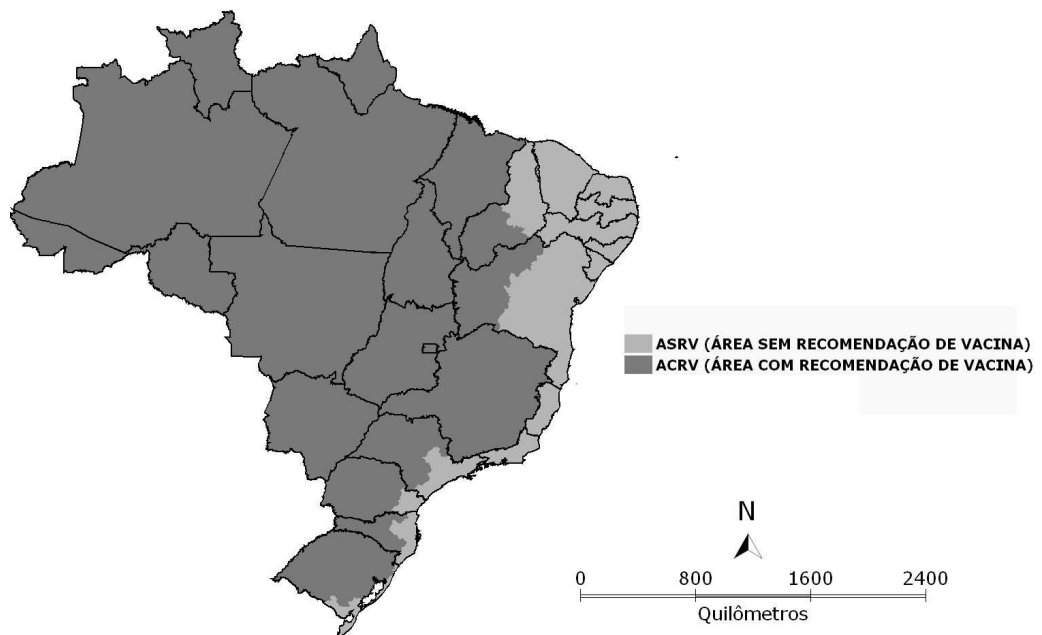
Apesar de a FA ser historicamente endêmica na Região Amazônica, verificou-se mudança no perfil epidemiológico da doença nos surtos ocorridos a partir de 2000, quando a maioria dos casos passou a ser registrada fora da referida área. Observou-se uma expansão da circulação viral no sentido leste e sul do País, detectando-se sua presença em áreas silenciosas há várias décadas (Vasconcelos 2010). Ocorreram ainda vários surtos em humanos e epizootias em PNH. Esse comportamento mostrou como é dinâmica a epidemiologia da doença, exigindo, portanto, avaliações periódicas das áreas de risco para melhor direcionar os recursos e aplicar as

medidas de prevenção e controle (Brasil 2009; Câmara et al. 2011; Marcondes 2009).

Dessa forma, em outubro de 2008, procedeu-se uma nova delimitação, a qual levou em conta vários fatores: evidências da circulação viral, ecossistemas, corredores ecológicos, trânsito de pessoas, tráficos de animais silvestres e critérios de ordem operacional e organização da rede de serviços de saúde, que facilitassem procedimentos operacionais e logísticos nos municípios. Foram redefinidas, então, duas áreas no Brasil:

- a) Área com recomendação de vacina, correspondendo àquelas anteriormente denominadas endêmica e de transição, com a inclusão do sul de Minas Gerais, até então considerado “área indene de risco potencial”;
- b) Área sem recomendação de vacina, correspondendo, basicamente, às “áreas indenadas”, incluindo também o sul da Bahia e norte do Espírito Santo, que antes eram consideradas “áreas indenadas de risco potencial”.

Mais recentemente, em 2010, verificou-se a necessidade de nova ampliação da área com recomendação de vacina (ACRV) em São Paulo e nos Estados da Região Sul do Brasil (Brasil 2012). Sendo assim, a atual ACRV integra todos os Estados das Regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil, os Estados de Minas Gerais e Maranhão e parte dos Estados do Piauí, Bahia, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa do Brasil indicando as áreas de acordo com a recomendação de vacina contra FA a partir de 2010.

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2012.

Durante os anos de 1999 e 2000, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde (MS) implantou a vigilância de epizootias em PNH em todo o território nacional. Por serem hospedeiros “sinalizadores” do vírus no ciclo natural da doença, a morte desses animais pode sinalizar a circulação viral em uma determinada área. A partir de 2006, com a publicação da Portaria Ministerial N° 5/2006, a vigilância de epizootias nestes primatas foi incluída na lista de doenças e agravos de notificação compulsória, como evento-sentinela para a FA, visando à detecção precoce da circulação do vírus e consequente aplicação das medidas de prevenção antes da ocorrência de casos humanos (Brasil 2009).

Mais recentemente, junto à vigilância de epizootias, a entomologia aplicada à vigilância da FA passou a ser considerada uma atividade estratégica para a detecção precoce da circulação viral, ainda incipiente,

embora com perspectivas de aplicações com maior potencial de contribuição aos objetivos do sistema de vigilância epidemiológica (Brasil 2009; Romano et al. 2011). Com a finalidade de aperfeiçoar o uso da entomologia aplicada à vigilância da FA, o MS elaborou a nota técnica N° 59/2011 (Anexo 10.1), contendo recomendações pertinentes às atividades entomológicas e padronização dos métodos de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial da doença. Cabe destacar que até 1999 a vigilância da FA era baseada apenas na ocorrência de casos humanos (Araújo et al. 2011).

Entre 2007 e 2009, foram confirmados surtos da doença, acompanhados de mortes de PNH nos estados de TO, RS, PR, SP, MG, MS, GO e DF, ratificando a maior incidência da doença na Região Extra-Amazonica, como observado desde 2000 (Araújo et al. 2011).

No Brasil, registram-se anualmente casos isolados de FAS em 19 estados. No período de 2000 a 2009, foram registrados 320 casos da doença, com 152 óbitos distribuídos por 15 estados, destacando-se os anos de 2007 a 2009 com 105 casos e 53 óbitos, envolvendo os estados de GO, MG, SP, PR, RS e DF. Este quadro alerta para mudanças no padrão de ocorrência temporal e espacial da FAS (Gomes et al. 2010).

Durante o período de transmissão ocorrido em 2007 e 2008, foram notificadas 596 epizootias em PNH no período de outubro de 2007 a maio de 2008, com maior número de notificações em janeiro de 2008. Foram confirmadas neste período 18 epizootias por FA, distribuídas nos estados de GO, TO, MS, MG, SP, PR e DF (Araújo et al. 2011). De acordo com Relatórios Técnicos da DIVAL, neste período, foram notificadas no DF 162 mortes de PNH, sendo três destas confirmadas laboratorialmente para FA.

No DF, durante o último surto ocorrido nos anos de 2007 e 2008, foram notificados 90 casos humanos suspeitos de FAS, com 15 (20,0%) casos laboratorialmente confirmados. Dentre estes 15 pacientes, oito evoluíram para óbito. A análise dos dados segundo a Unidade Federada de

residência mostra que dez pessoas (66,7%) residiam no DF, quatro em GO (26,7%) e uma em MG (6,7%). A taxa de letalidade geral dos casos atendidos e notificados no DF atingiu 53,3%, sendo de 60,0% entre os residentes no DF (Distrito Federal 2008). A letalidade observada no País, nesse mesmo período, foi 50,0% (Brasil 2009).

Diante do ocorrido, a SES/DF, em parceria com a SVS/MS, intensificou as ações de emergência, tais como campanhas de vacinação, vigilância de epizootias em PNH e investigação entomológica nas áreas com registro de morte de PNH e casos humanos, desde que sugestivos para FA (Distrito Federal 2008). Neste período, durante as investigações entomológicas realizadas, foram coletados exemplares de culicídeos implicados na transmissão desta arbovirose, resultando em isolamento do vírus amarelo nas espécies *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus* capturadas na Região Administrativa de São Sebastião - DF (Obara et al. 2012).



### 1.3 Vetores de importância na transmissão de febre amarela

Os mosquitos são insetos dípteros, cujo desenvolvimento pós-embrionário se faz por holometabolia, ou seja, implica metamorfose completa. Assim sendo, apresentam vários estádios que se sucedem, a saber, ovo, larva, pupa e adulto (Papavero & Guimarães 2000). Com exceção da fase adulta, que é aéreo-terrestre, todos os demais estádios são aquáticos (Forattini 2002). São também popularmente conhecidos como pernilongos, muriçocas ou carapanãs. Os adultos são alados, possuem pernas e antenas longas e na grande maioria são hematófagos (Sallum et al. 2000).

Os mosquitos formam a família Culicidae, a qual, por sua vez, admite ser dividida em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae, reunindo aproximadamente 3.550 espécies, ocorrendo no Brasil cerca de 468 (WRBU 2012).

Os anofelinos englobam as espécies vetoras dos plasmódios da malária. Os culicíneos reúnem mosquitos de grande interesse para a saúde pública por atuarem como vetores de arbovírus importantes, causadores de doenças como dengue e FA, além de encefalites severas. Neste grupo também estão as espécies que transmitem microfilárias (Forattini 2002).

A subfamília Anophelinae é constituída pelos gêneros *Anopheles* Meigen, 1818 com distribuição em todo o mundo; *Bironella* Theobald, 1905 presente apenas na Região Australiana e *Chagasia* Cruz, 1906 restrito à Região Neotropical (Forattini 2002). Foram descritas cerca de 479 espécies de Anophelinae, ocorrendo aproximadamente 68 no Brasil (WRBU 2012).

A subfamília Culicinae constitui o maior grupo de Culicidae, abrangendo em torno de 3000 espécies, distribuídas em 43 gêneros (WRBU 2012). Já foram descritas no Brasil cerca de 400 espécies (WRBU 2012).

De acordo com Relatórios Técnicos da DIVAL, no DF, as atividades de vigilância entomológica de FAS iniciaram no ano de 2007, desde então vem sendo uma atividade de rotina desta Diretoria. Foram identificadas 31 espécies de culicídeos, provenientes de capturas entomológicas em áreas de risco potencial para transmissão de FA, a saber: *Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis* Lutz, 1904; *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* Rondani, 1848; *Aedes (Ochlerotatus) serratus* Theobald, 1901; *Aedes (Ochlerotatus) hortator* Dyar & Knab, 1907; *Aedes (Protomacleaya) argyrothorax* Bonne-Wepster & Bonne, 1919; *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762; *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse, 1864; *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* Root, 1926; *Anopheles (Nyssorhynchus) galvaoi* Causey, Deane & Deane, 1943; *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi* Peryassú, 1922; *Anopheles (Nyssorhynchus) parvus* Chagas, 1907; *Anopheles (Nyssorhynchus) trianullatus* Neiva & Pinto, 1922; *Anopheles (Stethomyia) kompi* Edwards, 1930; *Coquillettidia (Rhynchotaenia) arribalzagae* Theobald, 1903; *Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis* Theobald, 1912; *Culex (Culex) coronator* Dyar & Knab, 1906; *Culex (Culex) declarator* Dyar & Knab, 1906; *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say, 1823; *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924; *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921; *Limatus durhamii* Theobald, 1901; *Limatus flavisetosus* Oliveira Castro, 1935; *Psorophora (Janthinosoma) albigena* Lutz, 1908; *Psorophora (Janthinosoma) albipes* Theobald, 1907; *Psorophora (Janthinosoma) ferox* Von Humboldt, 1819; *Sabethes (Peytonulus) soperi* Lane & Cerqueira, 1942; *Sabethes (Sabethes) albiprivus* Theobald, 1903; *Sabethes (Sabethes) belisarioi* Neiva, 1908; *Sabethes (Sabethoides) chloropterus* Von Humboldt, 1819; *Wyeomyia (Dendromyia) aporonoma* Dyar & Knab, 1906 e *Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala* Dyar & Knab, 1906.

O estudo da fauna de culicídeos é importante pelo papel que desempenham na transmissão de doenças ao homem e a outros vertebrados (Marcondes 2009; Montes 2005). De acordo com Mathers et al. (2006), a estimativa global de doenças infecciosas transmitidas por

mosquitos tem alto impacto em saúde pública, tendo atingido 47,5 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade (DALY) em 2001; representando aproximadamente 15% de todos os DALY atribuídos às doenças infecciosas e parasitárias em todo o mundo.

O conhecimento da fauna de Culicídeos também pode ser utilizado para avaliar o grau de alterações ocorridas em determinada região. Algumas espécies podem atuar como bioindicadores dessas modificações, seja pelo aumento em sua densidade ou até pela sua ausência (Dorvillé 1996; Forattini & Massad 1998).

A veiculação do vírus da FA está associada a insetos hematófagos da família Culicidae (Vasconcelos 2003). Tal papel competente foi atribuído a várias espécies neotropicais, tanto pelos achados de infecções naturais como mediante os resultados de ensaios experimentais (Monath 2001). Contudo, sob o ponto de vista epidemiológico, somente determinados representantes dos gêneros *Aedes*, *Haemagogus* e *Sabethes* têm demonstrado a capacidade vetora (Forattini 2002). Com efeito, o isolamento do agente feito em espécimes coletados em a natureza, combinado aos resultados obtidos mediante os ensaios laboratoriais, constituem indícios de valor epidemiológico. Assim, por exemplo, constatou-se refratariedade por parte de mosquitos anofelinos e, portanto, o único isolamento conseguido a partir de *Anopheles neivai*, no Panamá, não se traduziu em dado epidemiologicamente significativo (Rodaniche et al. 1957).

Cabe destacar, contudo, que na África foram feitos isolamentos do vírus amarelo a partir de um lote de flebotomos e de carrapatos da espécie *Amblyomma variegatum*. O primeiro destes isolamentos parece puramente acidental. Pelo contrário, há dois relatos de infecção natural de *Amblyomma* com o vírus da FA. A transmissão experimental de macaco a macaco foi também efetuada por meio deste artrópode que tem aptidão para transmitir o vírus por via transovariana (Germain et al. 1979; Saluzzo 1980). Deve-se ressaltar que os estágios larval e pupal dos carrapatos do gênero

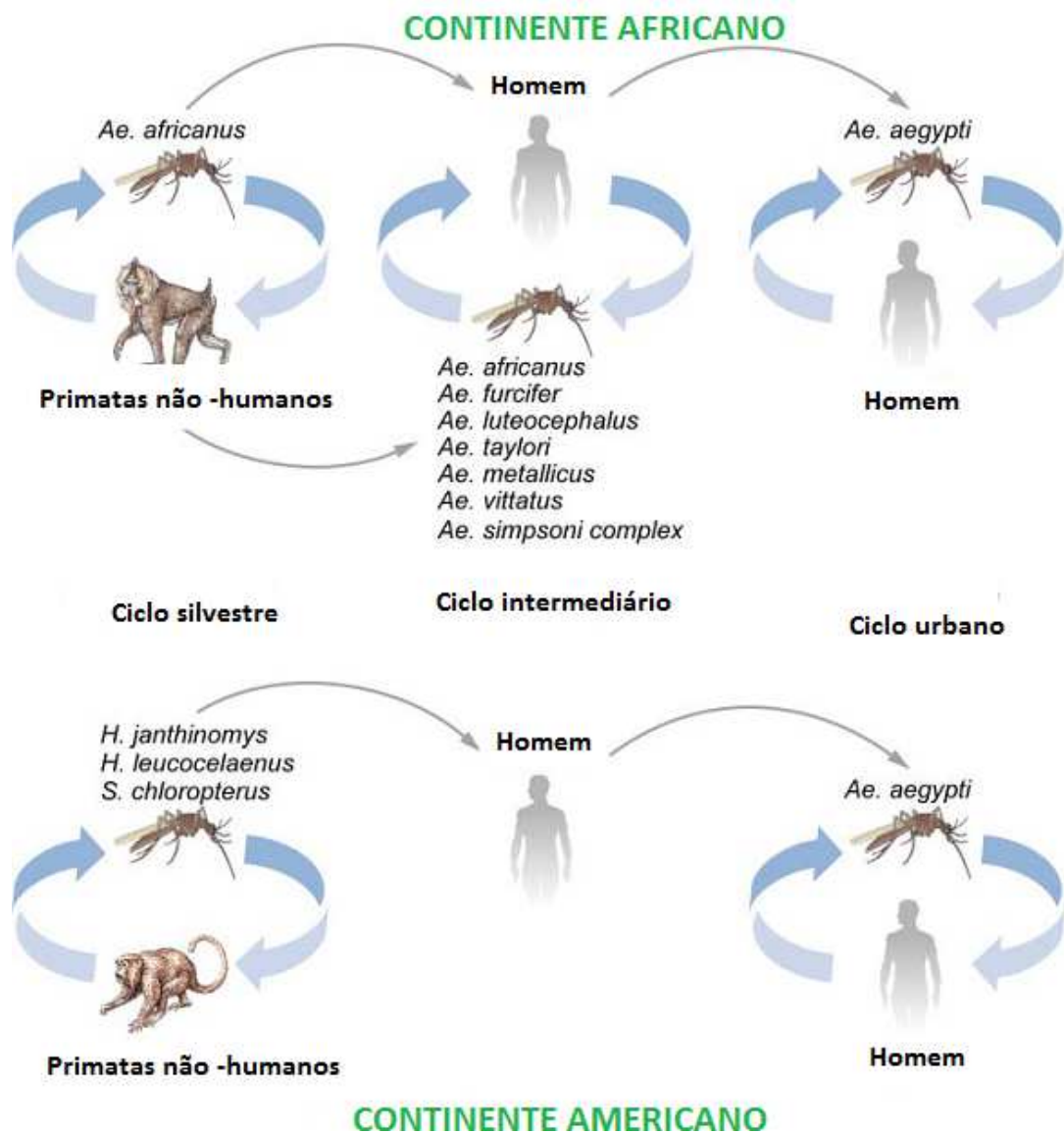
*Amblyomma* encontram-se geralmente em uma variedade de vertebrados, na maioria das vezes insensíveis ao vírus amarelo. Este fato atenua justamente a importância do papel que poderia envolver esses vetores dentro da epidemiologia da FA (Hervé et al. 1983).

Na África, várias espécies de mosquitos do gênero *Aedes* são responsáveis pela transmissão no ciclo silvestre, principalmente *Aedes (Stegomyia) africanus* Theobald 1901; *Aedes (Diceromyia) furcifer* Edwards, 1913 e *Aedes (Stegomyia) simpsoni* Theobald, 1905, sendo *Ae. africanus* o principal vetor (Dégallier et al. 1992a; Digoutte et al. 1995). Nas áreas de savana, representando o ciclo intermediário, os vetores envolvidos são *Aedes (Stegomyia) luteocephalus* Newstead, 1907; *Ae. furcifer*; *Aedes (Stegomyia) metallicus* Edwards, 1912; *Aedes (Stegomyia) opok* Corbet & Someren, 1962; *Aedes (Diceromyia) taylori* Edwards, 1936; *Aedes (Fredwardsius) vittatus* Bigot, 1861 e membros do complexo *Ae. simpsoni* (Digoutte et al. 1995; WHO 1985; WRBU 2012) (Figura 3).

Na África Oriental, observa-se que *Aedes simpsoni* comporta-se como vetor de ligação entre os ciclos urbano e silvestre, que sai da mata para realizar hematofagia em indivíduos nas periferias das cidades, podendo, além disso, manter a transmissão urbana contínua, ainda que limitada a essas áreas (Barrett & Higgs 2007).

Nas Américas, não se encontram os vetores africanos envolvidos no ciclo silvestre da doença. No entanto, outros mosquitos mostram-se responsáveis pela transmissão deste ciclo neste continente. Os principais vetores com competência de se infectar e transmitir a FA em áreas silvestres das Américas pertencem aos gêneros *Haemagogus* Williston, 1876 e *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827 (Dégallier et al. 1992b; Vasconcelos 2003), recebendo maior destaque as espécies *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1925; *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924 e *Sabethes (Sabethoides) chloropterus* Von Humboldt, 1819 (Figura 3) (Barrett & Higgs 2007). Algumas espécies pertencentes a

estes gêneros são amplamente distribuídas e capazes de manter o ciclo, principalmente em ambientes naturais (Forattini 2002).



**Figura 3.** Ciclos de transmissão de FA nos continentes africano e americano.

Fonte: Modificado de Barrett & Higgs, 2007.

Os culicídeos dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus* são essencialmente diurnos e silvestres. Estas espécies mostram marcada preferência em exercer suas atividades no nível da copa das árvores, propriedade para a qual foi proposto o nome de *acrodendrofilia* por Garnham et al. (1946). Raramente descem ao solo da floresta, a menos que sejam perturbados, como acontece, por exemplo, por ocasião da derrubada das matas, quando existe movimentação da vegetação, na presença do homem, ou devido à falta de alimentos (Dégallier et al. 1992a; Monath 2001). Os criadouros preferenciais das espécies destes gêneros, na sua grande maioria, são naturais e representados por ocos de árvores, internódios de bambu, cascas de coco e axilas de folhas. Algumas espécies mostram tendência a domiciliação, enquanto outros são encontrados preferencialmente em meios extra-antrópicos (Forattini 2002).

Os mosquitos do gênero *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827 são muito decorativos (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994) (Figura 4). Os adultos são mosquitos coloridos, de aparência metálica. As fêmeas são ativamente hematófagas, principalmente na copa das árvores, mas parecem pouco agressivas ao atacarem o homem e os animais (Forattini 2002). Em diversas ocasiões foram observadas voando, por tempo prolongado, ao redor do hospedeiro escolhido, antes de se decidirem a sugar. Por causa disso tem-lhes sido atribuída índole tímida (Forattini 2002). Pelo fato de seus ovos serem bastante sensíveis à dessecação, preferem depositá-los em criadouros grandes e que apresentem abertura pequena para o exterior, o que prolonga a existência do líquido, protegendo-os da evaporação intensa (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).



**Figura 4:** *Sabethes cyaneus*.

Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

As 39 espécies descritas para o gênero, estão distribuídas em cinco subgêneros: *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827; *Sabethoides* Theobald, 1903; *Sabethinus* Lutz, 1904; *Peytonulus* Harbach, 1991 e *Davismyia* Lane; Cerqueira, 1942 (WRBU, 2012). No entanto, a espécie que possui maior destaque é *Sabethes* (*Sabethoides*) *chloropterus* Von Humboldt (1819) (Figura 5), sendo o principal vetor secundário da FAS, além de estar associado à transmissão de outros arbovírus, como o da encefalite de Saint Louis e ilhéus (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Hervé et al. 1985). Cabe destacar ainda que, a partir das espécies *Sabethes albiprivus* Theobald (1905), *Sabethes belisarioi* Neiva (1908), *Sabethes cyaneus* Fabricius (1805), *Sabethes glaucodaemon* Dyar & Shannon (1925) e *Sabethes soperi* Lane & Cerqueira (1942), já foram obtidos isolamentos de diversos arbovírus, como mayaro, vários bunyavirus, ilhéus, wyeomyia,

encefalite de Saint Louis e FA. Ressalta-se que apenas as espécies *Sa. chloropterus*, *Sa. cyaneus*, *Sa. glaucodaemon*, *Sa. soperi* e *Sa. albiprivus* estão associadas à transmissão de FA (Argentina 2011; Dégallier et al. 1992b; Gomes et al. 2010; Vasconcelos et al. 1997b).



**Figura 5:** *Sabethes chloropterus*.

Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

Tal como as formas adultas dos mosquitos do gênero *Sabethes*, as do gênero *Haemagogus* Williston, 1876 também são representadas por mosquitos brilhantemente coloridos. Seus ovos são muito resistentes à dessecação, necessitando às vezes de seguidos contatos com a água para a eclosão. Nota-se daí a forte influência das chuvas no ciclo anual desses culicídeos (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). As 28 espécies descritas estão distribuídas nos dois subgêneros: *Haemagogus* Williston, 1896 e



*Conopostegus* Dyar, 1925 (WRBU 2012). O primeiro subgênero compreende 24 espécies, dentre as quais são apontadas as seguintes como de importância na transmissão de arboviroses: *Haemagogus janthinomys* Dyar (1921), *Haemagogus albomaculatus* Theobald (1903), *Haemagogus spegazzinii* Brèthes (1912), *Haemagogus equinus* Theobald (1903), *Haemagogus capricornii* Lutz (1904) e *Haemagogus tropicalis* Cerqueira & Antunes (1938). O subgênero *Conopostegus* possui quatro espécies (WRBU 2012), sendo *Haemagogus leucocelaenus* Dyar & Shannon (1924) seu principal representante (Forattini 2002).

No Brasil, a espécie *Haemagogus (Hag.) janthinomys* Dyar, 1925 (Figura 6) se destaca na transmissão silvestre, embora outras espécies tenham sido documentadas naturalmente infectadas com o vírus da FA, tais como: *Hg. albomaculatus*, *Hg. capricornii*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. spegazzinii*, *Hg. tropicalis*, *Sa. glaucodaemon*, *Sa. chloropterus*, *Sa. cyaneus*, *Sa. soperi*, *Sa. albiprivus*, *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ae. fulvus*, *Ps. ferox* e *Ps. albipes* (Argentina 2011; Brasil 2009; Cardoso 2010b; Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Mondet et al. 2002; Moreno et al. 2011; Segura et al. 2007; Vasconcelos et al. 2003). De acordo com Vasconcelos (2003), cerca de 98% de todos os isolamentos do vírus da FA procedentes de mosquitos, obtidos no Instituto Evandro Chagas, Laboratório de Referência Nacional em Arbovirologia, originaram-se dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, ao passo que espécies de outros gêneros foram encontradas infectadas somente em casos excepcionais.

*Hg. janthinomys* é extremamente suscetível ao vírus amarelo (Mondet et al. 2002). Exemplos desta espécie alimentam-se preferencialmente de sangue de macacos e secundariamente no homem. Apresenta atividade diurna, período em que a maioria das pessoas que adoecem com a enfermidade realiza suas atividades em áreas silvestres. Durante as epidemias de FA, frequentemente são encontrados exemplares desta espécie infectados (Dégallier et al. 1992b; Mondet et al. 2002;

Vasconcelos et al. 2001c). Tais características explicam porque *Hg. janthinomys* é o principal vetor da FA no Brasil, bem como em quase todos os países da América onde a arbovirose revela-se endêmica (Aragão et al. 2010; Dégallier et al. 1992b; Hervé et al. 1983; Vasconcelos et al. 1997b, 2000). Ademais, foi registrada nesta espécie a ocorrência de transmissão transovariana do vírus amarelo em ambiente natural, o que colabora com a manutenção do vírus em a natureza (Mondet et al. 2002).



**Figura 6.** *Haemagogus janthinomys*. Principal vetor da FAS no Brasil.  
Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

Os criadouros utilizados pela espécie *Hg. janthinomys* são, preferencialmente, buracos em árvores situados em locais altos e quase inatingíveis (Forattini 2002). Existe nítida preferência por picar nos níveis elevados da floresta, descendo para picar o homem (principalmente nos pés)

ou animais, junto ao solo, quando estes provocam distúrbios na mata (Ramírez et al. 2007). Todavia, parece que esse comportamento é um tanto variável em conformidade com a região (Alencar et al. 2005; Pinto et al. 2009; Ramírez et al. 2007). Tal seria o caso que ocorre na Guiana onde pôde-se observar atividade no solo de forma mais prolongada, ao longo do ano estudado (Pajot et al. 1985). Espécimes de *Hg. janthinomys* realizam o repasto sanguíneo durante o dia, especialmente nas horas mais claras (entre 12 e 15 horas) (Alencar et al. 2005; Dégallier et al. 1992b). É notório que, devido à sua característica de espécie silvestre, *Hg. janthinomys* é raramente encontrado em habitações humanas ou no peridomicílio (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

*Hg. janthinomys* é encontrado da Amazônia à Região Sudeste, notadamente até Minas Gerais, enquanto *Hg. leucocelaenus* se estende de Norte a Sul do Brasil (Forattini 2002). Sendo assim, a exposição humana ao vírus está assegurada pela antropofilia e capacidade vetorial por extensas áreas do território brasileiro (Gomes et al. 2010). Diante de alguns relatos sobre o registro da infecção natural de *Hg. leucocelaenus* com o vírus amarelado na região sul do Brasil, este vetor tem sido incriminado como vetor primário da doença nesta Região (Cardoso et al. 2010b; Vasconcelos et al. 2003).

*Haemagogus (Con.) leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924 (Figura 7), como os demais *Haemagogus*, é essencialmente diurno e acrodendrófilo, embora sejam comumente coletados atacando os indivíduos que se encontram em solo (Gomes et al. 2010; Pinto et al. 2009; Vasconcelos et al. 2003). Este último aspecto parece estar sujeito à influência do tipo de cobertura vegetal (Pinheiro et al. 1981). Além disso, tem sido encontrado frequentando os domicílios humanos, demonstrando uma forte tendência à domiciliação (Camargo-Neves et al. 2005; Cardoso et al. 2010b; Gomes et al. 2010).



**Figura 7.** *Haemagogus leucocelaenus*.

Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

Do ponto de vista ecológico, as espécies *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus* parecem diferenciar-se pelo grau de tolerância às ações antrópicas, uma vez que a primeira estabelece-se em matas mais úmidas e preservadas, enquanto a segunda mostra aptidão para distribuir-se por ambientes modificados (Gomes et al. 2008).

O principal vetor, tanto na América do Sul como na África, relacionado ao ciclo urbano da FA é o *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 (Figura 8) (Dégallier et al. 1992a). Este mosquito apresenta hábitos endofílico e antropofílico e realiza a transmissão do vírus amarelo diretamente ao homem (Singh & Brown 1957). *Aedes aegypti* está presente em todos os Estados do País (Braga & Valle 2007). As atividades de vigilância do *Ae. aegypti* no DF têm sido realizadas desde 1978 (Carvalho 2002). Em 1985 esta espécie foi identificada pela primeira vez no DF, sendo detectado o

primeiro foco do referido vetor na Região Administrativa do Cruzeiro. No entanto, foi em 1994 que esta espécie instalou-se definitivamente em todas as Regiões Administrativas do DF (Yoshizawa 1995).



**Figura 8.** *Aedes aegypti*. Vetor da febre amarela urbana.  
Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

Essa espécie, essencialmente urbana, desenvolve-se mais comumente em recipientes artificiais produzidos pelo homem, onde há acúmulo de água limpa e parada, tais como vasos de plantas, calhas, caixas d'água, garrafas, lixos e pneus (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Porém, tanto no Brasil quanto em outros países, *Ae. aegypti* tem sido surpreendido criando-se em recipientes naturais como bromélias, buracos em árvores, escavações em rochas e bambu (Barbosa et al. 2009). Tais encontros são muito raros em comparação com os criadouros preferenciais (Barbosa et al. 2009; Forattini 2002).

As fêmeas de *Ae. aegypti* restringem seus hábitos hematófagos aos horários diurnos. Seus picos de maior atividade acham-se, geralmente, situados no amanhecer e pouco antes do crepúsculo vespertino, mas ataca o homem e, por vezes, animais domésticos a qualquer hora do dia. É dotado de certo ecletismo em relação à fonte sanguínea para alimentação, mas o homem é sua principal fonte alimentar, sendo atacado principalmente nos pés e na parte inferior das pernas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Quanto à persistência na atividade de sugar, de acordo com o que se verifica em laboratório, o número de fontes sanguíneas oferecidas mostrou-se constante e independente das reações de defesa que elas possam manifestar. Sendo assim, a persistência em picar favorece a transmissão de agentes infecciosos. Há indícios de que os seres humanos podem apresentar variação na própria capacidade de atrair essa atividade hematófaga (Canyon et al. 1998).

No Brasil, até o momento, *Ae. aegypti* é o único vetor conhecido do vírus da FA no ciclo urbano de transmissão e da dengue. Há registros de transmissão transovariana dos vírus da dengue e da FA em exemplares desta espécie (Forattini 2002; Zeidler et al. 2008). Em condições laboratoriais, observou-se a suscetibilidade desta espécie a outros arbovírus e alguns helmintos filarídeos. No que concerne a estes, não são tidos como vetores eficientes. Todavia, em certas experiências mostraram competência para albergar e veicular a *Dirofilaria immitis* a cães. Nesta e noutras filarioses, conseguiu-se identificar os genes responsáveis pela suscetibilidade a *Brugia* e a *Wuchereria* (Wattam & Christensen 1992).

Outro importante vetor, que se instalou no território brasileiro durante a década de 1980, estando possivelmente envolvido na transmissão da FA, é o *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse, 1894 (Figura 9) (Forattini 1986). De acordo com Relatórios Técnicos da DIVAL, esta espécie foi identificada pela primeira vez no DF em 1995, sendo detectada na Região Administrativa do Núcleo Bandeirante. Atualmente encontra-se amplamente distribuído no

DF. Em condições laboratoriais, algumas populações pertencentes a esta espécie apresentaram-se capazes de se infectar com 18 arbovírus (Dégallier et al. 2001b). Um relevante dado referente a esse mosquito é a possibilidade de tornar-se “ponte” entre os ciclos silvestre e urbano da FA no Brasil, considerando-se sua facilidade de frequentar, igualmente, os ambientes silvestres, suburbanos e urbanos (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Miller & Ballinger 1988).



**Figura 9.** *Aedes albopictus*.

Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

*Ae. albopictus* desenvolve-se em recipientes naturais e artificiais. Emprega com grande frequência criadouros naturais como os internódios de bambu, buracos em árvores e cascas de frutas. Recipientes artificiais abandonados nas florestas e em plantações são focos muito utilizados por

este mosquito (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Hervé et al. 1985). É muito semelhante ao *Ae. aegypti* no tocante à biologia (Forattini 2002).

Esta espécie é oriunda de selvas asiáticas e restringia-se àquele continente até recentemente. Acredita-se que, em consequência do intenso comércio marítimo de minério de ferro, disseminou-se para as Américas, sendo inicialmente detectado nos Estados Unidos em 1985 (Gerhardt et al. 2001), já está presente em 25 Estados daquele País (Gomes et al. 2008). Logo depois, em 1986, é identificado no Brasil, já tendo se disseminado para 1.465 municípios distribuídos em 14 unidades federadas. Atualmente, está presente em mais de seis países da América Central e do Sul, na África e em algumas ilhas do Pacífico e no sul da Europa (Gomes et al. 2008). Esta espécie é vetor natural da dengue em áreas rurais, suburbanas e urbanas da Ásia. Lá, também é transmissor da encefalite japonesa (Mitchell & Miller 1990).

No que concerne a helmintos, *Ae. albopictus* é considerado vetor eficiente de *Dirofilaria immitis*. Quanto às espécies de *Brugia* e *Wuchereria*, o mosquito tem-se mostrado incapaz de se infectar e de veicular (Estrada-Franco & Craig 1995).

No Brasil, *Ae. albopictus* ainda não foi incriminado na transmissão de arboviroses. Entretanto, em experimentos laboratoriais com populações desta espécie existentes no Brasil, foi demonstrada a susceptibilidade e capacidade de veicular os quatro sorotipos do vírus da dengue (Miller & Ballinger 1988; Mitchell & Miller 1990) e, em estudos mais recentes, verificou-se laboratorialmente sua competência para infectar-se e transmitir o vírus amarelo (Dégallier et al. 2001b; Johnson et al. 2003; Lourenço-de-Oliveira et al. 2003).

Ibañez-Bernal et al. (1997) registraram pela primeira vez nas Américas a infecção natural de *Ae. albopictus* pelo vírus da dengue, em espécimes coletados durante um surto que ocorreu na cidade de Reynosa,



no México. Estes autores chamam a atenção para o fato de que os sorotipos 2 e 3 foram detectados em um pool de dez mosquitos machos, o que indica haver transmissão transovariana nesta espécie. Este achado é de grande importância epidemiológica pelo potencial de transmissão do vírus da dengue para outras áreas geográficas livres de *Ae. aegypti*, mas que estão infestadas por *Ae. albopictus*, a exemplo do sul da Europa e dos Estados Unidos (Ibañez-Bernal et al. 1997).

Além disto, na América do Norte, a competência desta espécie para com os arbovírus está ainda mais confirmada por registros de sua infecção natural com os vírus potosi e da encefalite equina do leste (Gerhardt et al. 2001; Mitchell 1991). Tais precedentes fundamentam o potencial desta espécie em desenvolver papel vetorial não desprezível para as arboviroses silvestres das Américas (Gomes et al. 2008). Como as pesquisas desenvolvidas nos Estados Unidos fortaleceram esse pensamento, foi criada a vigilância para *Ae. albopictus* (Burkett et al. 2004).

## 2. JUSTIFICATIVA

Durante o surto de FAS ocorrido no DF nos anos de 2007 e 2008, foram registradas sucessivas mortes de PNH, havendo confirmação de isolamento do vírus amarelado a partir de três destes símios investigados (Distrito Federal 2008). O PNB foi uma das localidades onde se notificaram mortes de PNH durante o referido surto (Obara et al. 2012).

Diante desses registros de mortes de PNH, surgiu a necessidade de conhecer a entomofauna de culicídeos presentes em áreas de risco potencial para a transmissão de FAS, aspectos ecológicos desses mosquitos como estratificação vertical e sazonalidade, bem como investigar a circulação do vírus amarelado nestas localidades.

O Parque Nacional de Brasília (PNB) é um ponto turístico da cidade e recebe em média 260.000 visitantes ao ano, incluindo moradores da cidade, turistas de outros estados do Brasil e de outros países. Nesta unidade de conservação estão presentes populações de PNH, os quais interagem harmonicamente com os visitantes do parque, principalmente devido à oferta de alimentos antropogênicos (ICMBIO 2012). Também é sabido que no local já foi verificada a presença de mosquitos dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus* (Obara et al. 2012; Santos et al. 2008).

As evidências de inter-relação entre PNH, vetores e visitantes do parque sinalizam para o risco de transmissão do vírus da FA nesta localidade. Cabe destacar, ainda, a construção do Setor Habitacional Noroeste (SHN), nas proximidades do PNB. Logo, dá-se a importância de se conhecer os culicídeos vetores do vírus amarelado presentes nas dependências do PNB, bem como identificar precocemente a circulação deste vírus na unidade de conservação; o que caracteriza um importante estudo de contribuição à vigilância desta arbovirose no âmbito do DF.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral:**

Conhecer e mensurar a diversidade de espécies de culicídeos no Parque Nacional de Brasília, com ênfase aos potenciais vetores de febre amarela.

#### **3.2 Específicos:**

- Analisar a riqueza e abundância das espécies de culicídeos capturadas em diferentes estratos da mata de galeria no PNB;

- Analisar a riqueza e abundância das espécies de culicídeos capturadas em diferentes estações climáticas no PNB;

- Verificar se a estratificação de habitat e a precipitação pluvial influenciam parâmetros ecológicos da comunidade de culicídeos no PNB;

- Verificar dentre os mosquitos capturados, o percentual de infectados pelo vírus amarílico.

## 4. MÉTODOS

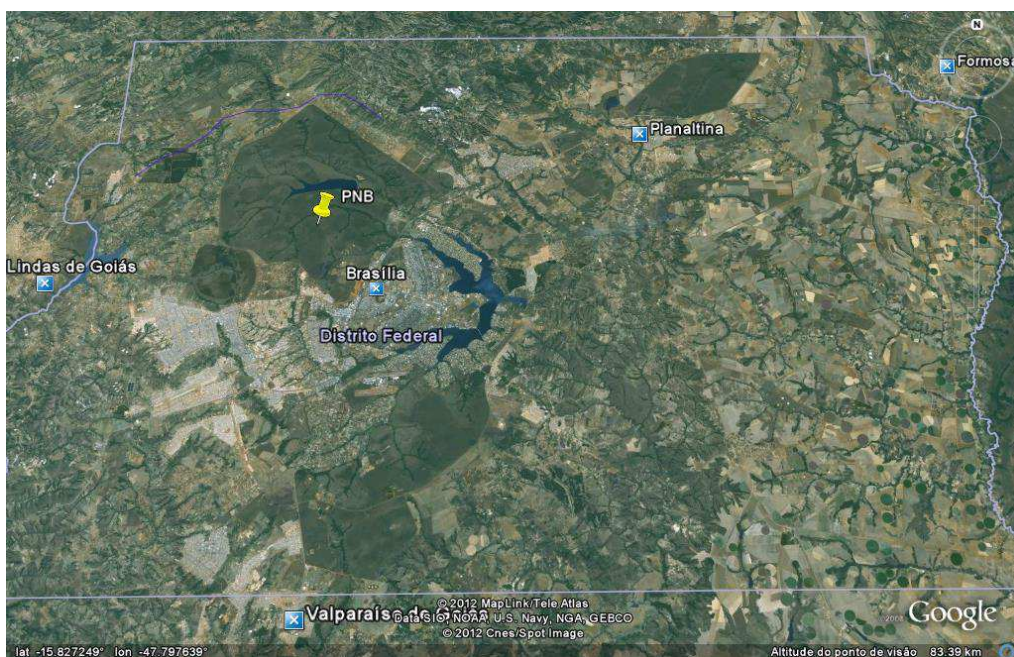
### 4.1 Área de estudo

Esse trabalho foi realizado no Distrito Federal, localizado no Planalto Central do Brasil, entre os paralelos 15°30' e 16°03' de latitude sul e os meridianos 47°25' e 48°12' de longitude oeste, na região Centro-Oeste, inserido no bioma Cerrado. A temperatura média anual varia de 18° a 22°C. A precipitação pluvial média anual varia entre 1.200mm e 1.700mm. O clima tem uma sazonalidade bem acentuada, com uma estação seca (com umidade relativa de 20% ou abaixo), abrangendo os meses de maio a setembro, representando um inverno seco e frio; e uma estação chuvosa, de outubro a abril, caracterizando um verão úmido com temperaturas mais elevadas (Silva et al. 1998). De acordo com dados do Instituto Nacional de Meteorologia a distribuição mensal da precipitação média no DF mostra-se basicamente constante ao longo dos anos, onde se verifica o agrupamento por trimestres de acordo com a precipitação acumulada no período. Nos meses de junho, julho e agosto registra-se uma precipitação média igual a zero (“período de seca”). Nos meses de abril, maio e setembro verifica-se uma média igual a 70mm (“período intermediário”). Em outubro, novembro e dezembro é registrada uma precipitação média de 216mm (“1° trimestre de chuva”). Para os meses de janeiro, fevereiro e março observa-se um valor de 220mm (“2° trimestre de chuva”) (INMET 2012).

A área estudada foi o Parque Nacional de Brasília (PNB), administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), tendo como localização longitude de 47°55'39.06”O e latitude de 15°44'13.90”S, representando uma área de conservação ambiental, com

aproximadamente 42.389,01 hectares, que constitui a bacia hidrográfica do ribeirão do Torto e Bananal, onde verifica-se grande diversidade de formações vegetais, incluindo todas as fitofisionomias do cerrado, predominantemente, o cerrado *Stricto Sensu* (ICMBIO 2012) – caracterizado pela presença de árvores baixas, com altura média de três a seis metros, inclinadas e tortuosas, de tronco fino, com ramificações irregulares e retorcidas, envolvendo uma enorme variedade florística tanto no estrato arbóreo quanto no rasteiro (Ribeiro & Walter 1998). Apresenta relevante riqueza de habitat, assim ocasionando uma abundante diversidade de fauna, incluindo desde invertebrados até mamíferos. É importante na condição de corredor ecológico para as espécies da região. Faz limite com as Áreas de Proteção Ambiental do Descoberto, da Cafuringa e com a Floresta Nacional (ICMBIO 2012).

O PNB está situado na porção noroeste do DF (Figura 10), distando aproximadamente 10km do centro da cidade, tendo como referência a Esplanada dos Ministérios (ICMBIO 2012). Ao final do ano de 2009, deu-se início à construção do Setor Habitacional Noroeste (SHN), intitulado como o primeiro bairro ecológico do Brasil, que representará a área mais nobre de Brasília, estando localizado a cerca de 2km do PNB (TERRACAP 2012).



**Figura 10.** Imagem de satélite indicando a localização do Parque Nacional de Brasília (PNB).

Fonte: Google Maps.

Esta Unidade de Conservação é também uma das principais opções da região para se conhecer os valores naturais do Cerrado e realizar práticas recreativas. Conta com duas piscinas de água corrente, trilhas interpretativas e Centro de Visitantes. A principal atração do parque é a parte das piscinas, verificando-se maior visitação na piscina velha. Elas se formaram a partir dos poços de água, que surgiram às margens do Córrego Acampamento, pela extração de areia feita antes da implantação de Brasília (ICMBIO 2012).

Foi feita uma solicitação prévia para a realização da pesquisa na referida localidade, por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO). A autorização para atividades com finalidade científica foi concedida, tendo como referência o número de protocolo 25151-2 (Anexo 10.2).

## 4.2 Demarcação dos Pontos de captura

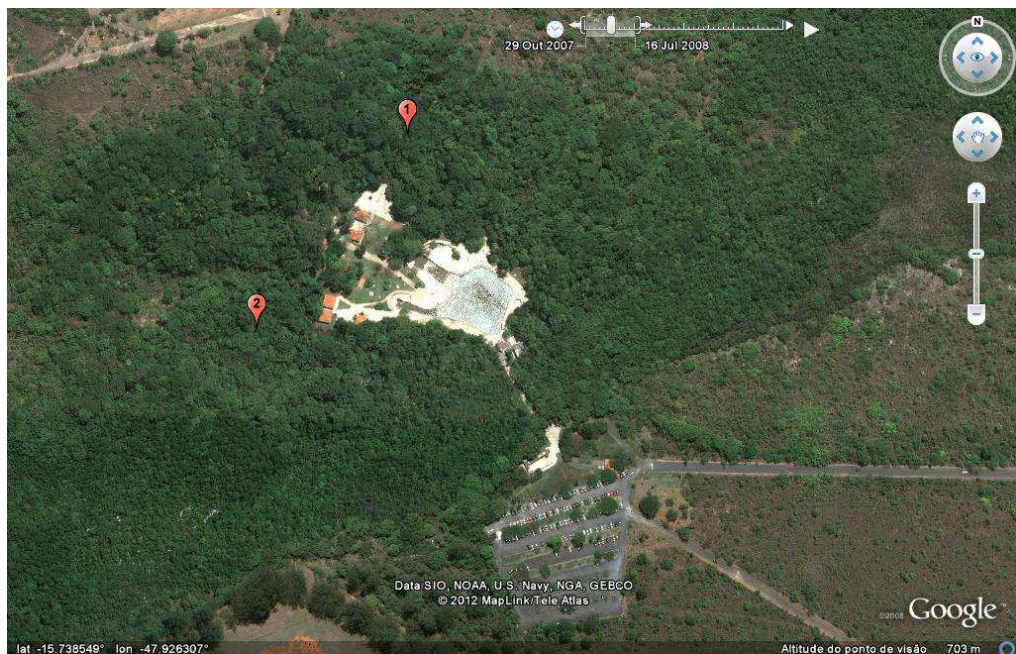
Foram escolhidos dois Pontos de captura nas proximidades da piscina velha, que representa o local de maior visitação do Parque, os quais foram georreferenciados com auxílio de um receptor de GPS (Sistema de Posicionamento Global) da marca GARMIN<sup>®</sup>. Posteriormente foi utilizado o software GPS TrackMaker<sup>®</sup> para a transferência e edição dos dados contidos no receptor de GPS. As coordenadas geográficas foram obtidas no formato “graus, minutos, segundos” e sistema geodésico (datum) SAD69. As imagens orbitais foram obtidas de mosaicos provenientes do satélite IKONOS, disponíveis no software Google Earth 4.2<sup>®</sup>.

Os Pontos 1 e 2 (Figura 11), distando 200m um do outro, estão localizados nas seguintes coordenadas: Ponto 1 (latitude 15°44'13.58"S e longitude 47°55'37.60"O) e Ponto 2 (latitude 15°44'18.68"S e longitude 47°55'41.63"O). A distância verificada de cada Ponto até a piscina é de 150m. Quanto à caracterização dos Pontos não há diferença marcante entre eles, verificando-se o predomínio da mata de galeria, representada em sua maioria por árvores com altura aproximada de 20m e troncos finos. A distância de 200m entre os Pontos de captura obedece aos critérios propostos na nota técnica nº 59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS (Anexo 10.1). Cabe destacar que para a construção de plataformas ao nível da copa das árvores é imprescindível que estas possuam altura considerável e troncos mais espessos. Cabe ressaltar que de acordo com a nota técnica nº 59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS (Anexo 10.1), recomenda-se a captura de culicídeos na copa das árvores apenas quando a altura média do dossel florestal for superior a seis metros.

Diante disto, a eleição destes Pontos de captura foi baseada no encontro de árvores propícias para a construção de plataformas, obedecendo às instruções preconizadas na nota técnica nº 59/ 2011 –



CGDT/DEVIT/SVS/MS, onde é recomendada uma distância de 100 a 200m entre os Pontos de captura. Para isso, os materiais utilizados foram pregos de diferentes tamanhos, marreta, martelo, ripas, tábuas, serrote e escada. Foram construídas duas plataformas, uma em cada Ponto, a uma altura de seis metros do solo. Tendo em vista o conhecido hábito acrodendrófilo dos mosquitos vetores de FAS, é imprescindível a realização de capturas de culicídeos ao nível da copa das árvores.



**Figura 11.** Imagem de satélite indicando os pontos de captura de culicídeos no PNB.

Fonte: Google Maps.



### 4.3 Capturas entomológicas

De setembro de 2010 a agosto de 2011 foram realizadas capturas mensais, durante cinco dias consecutivos, no período de 9 às 15 horas, havendo um intervalo para o almoço entre 12 e 13 horas, totalizando 60 dias de captura ao longo dos 12 meses de atividades de campo. O horário e a periodicidade das capturas de mosquitos foram estabelecidos conforme a nota técnica nº 59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS. As capturas foram realizadas pela equipe de servidores do Núcleo de Laboratórios de Entomologia e Peçonhentos da Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (NULEP/ DIVAL/ SES-DF). Desde 2007, a realização de capturas entomológicas em áreas com potencial risco de transmissão da FA representa uma das atividades de rotina desenvolvidas na vigilância do agravo no âmbito do DF. A equipe responsável pela realização de capturas de culicídeos é composta de 15 servidores devidamente capacitados para o desempenho destas atividades. Neste estudo, permanecia uma dupla em cada Ponto, sendo um capturador em solo (Figura 12A) e outro na plataforma construída na copa da árvore (Figura 12B). Cabe lembrar que havia um revezamento de capturadores, de forma que para cada dia de atividade eram escalados apenas quatro dentre este universo de 15 servidores.

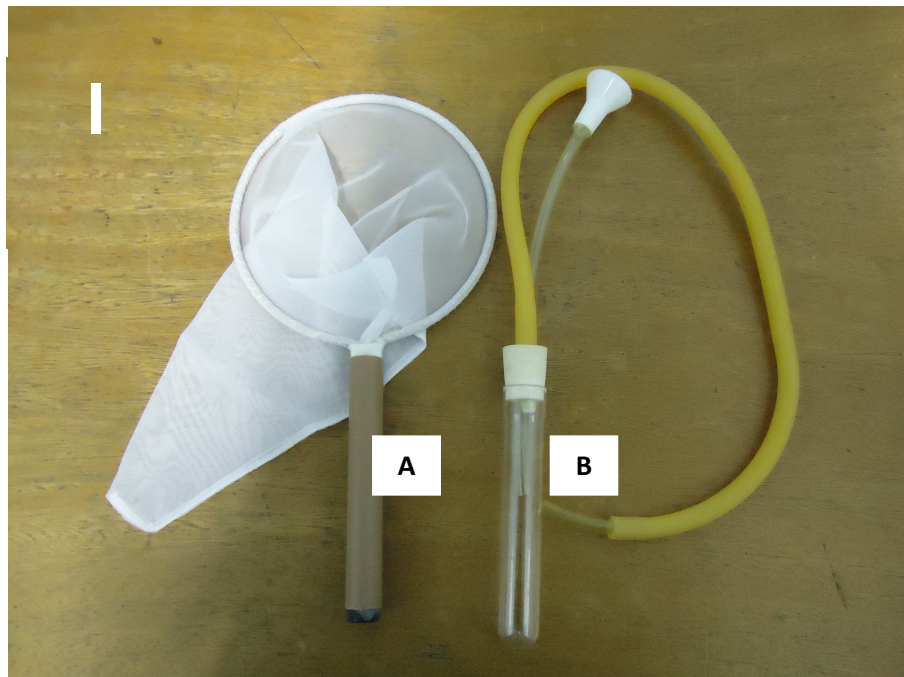


**Figura 12.** Capturador em solo (A) e em plataforma construída na copa de árvore (B).

Foram coletados espécimes apenas da forma alada (adulto) de mosquitos. Durante as atividades de campo, fez-se necessário utilizar equipamentos e procedimentos de segurança adequados, bem como proteção individual. Os técnicos já estavam, previamente, vacinados contra FA e tétano. Cada integrante da equipe responsável pelas capturas era orientado quanto à importância de utilizar os Equipamentos de Proteção Individual necessários e uniforme adequado (calças, blusas de mangas compridas e botas de cano longo) para desempenhar atividades de campo.

Conforme preconizado na Nota Técnica nº 59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS (Anexo 10.1), a metodologia utilizada consistiu em coletar o inseto por meio de puçá entomológico (Figura 13A) e sugá-lo com aparelho de sucção oral, sendo empregado o aspirador tipo frasco (Figura 13B), o qual apresenta um tubo de 15 x 2,5cm acoplado, onde os espécimes capturados permanecem armazenados. Sabendo-se que para os insetos da família Culicidae, a hematofagia fica restrita às fêmeas (Forattini 2002), esta

técnica tende a capturar apenas fêmeas, tendo em vista que estas são atraídas pelas pessoas. Diante do interesse de se conhecer as espécies, bem como suas abundâncias relativas em cada estrato (copa e solo), cada aparelho de sucção era cuidadosamente identificado.



**Figura 13.** Puçá entomológico (A) e aspirador tipo frasco (B).

Diariamente era preenchida uma Ficha de Investigação Entomológica de campo (Anexo 10.3), onde constavam informações pertinentes a cada dia de captura realizado.

#### **4.4 Identificação dos mosquitos**

Ao final das atividades diárias de capturas, os espécimes capturados foram levados ao laboratório de entomologia da DIVAL. Lá, estes foram anestesiados por refrigeração à  $-6^{\circ}\text{C}$  (freezer doméstico) durante aproximadamente 15 minutos. Os mosquitos contidos em cada tubo foram transferidos separadamente para placas de Petri, onde foi feita a contagem do número de exemplares coletados. Em seguida, com auxílio de uma pinça entomológica, estes espécimes foram acondicionados em tubos de criopreservação e armazenados em nitrogênio líquido ( $-196^{\circ}\text{C}$ ), para posterior identificação. Os tubos de criopreservação foram devidamente identificados, contendo as informações pertinentes à amostra (local de captura, data, Ponto, estrato e nome do capturador).

Os exemplares coletados foram identificados, mensalmente, com auxílio de chaves dicotômicas disponíveis em Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002). Gêneros e subgêneros de Culicidae foram abreviados de acordo com Reinert (1975). A identificação das espécies ocorreu na semana posterior às coletas, sobre mesa fria a  $-26^{\circ}\text{C}$ , com auxílio de microscópio estereoscópico. Após identificação taxonômica, os culicídeos foram separados em lotes, com no máximo 20 exemplares, de acordo com a espécie, Ponto de captura e estrato (solo ou copa) onde foi coletado. Imediatamente o material, já acondicionado em criotubos, devidamente identificado e dividido em lotes retornava ao botijão de nitrogênio líquido, e assim transportado mensalmente até o Laboratório de Virologia do Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN/DF) para isolamento de flavivirus.

## 4.5 Isolamento viral

A técnica para isolamento de flavivirus a partir de mosquitos, utilizada no LACEN/DF baseia-se na sensibilidade de células de *Ae. albopictus* (clone C6/36) a vários flavivirus, incluindo os da dengue e FA (Igarashi 1978).

No LACEN, os criotubos foram retirados do botijão de nitrogênio líquido e transferidos individualmente para uma bandeja contendo gelo seco. Cada criotubo recebeu um rótulo padrão, identificado por uma numeração específica do LACEN. Em seguida, a bandeja contendo os tubos devidamente identificados foi acondicionada em freezer -70 °C até o momento do processamento das amostras.

Previamente à inoculação das amostras, as células de *Ae. albopictus* foram cultivadas em garrafas para cultura celular, contendo meio Leibovitz L-15®. Estas garrafas foram mantidas por aproximadamente oito dias em estufa a uma temperatura entre 24 e 26°C (Igarashi 1978).

Cada lote de mosquitos continha entre um e 20 exemplares de uma única espécie. Cada lote foi macerado em eppendorf com pistilo apropriado, juntamente com uma solução de antibióticos, contendo penicilina, estreptomicina e anfotericina B, sobre recipiente com gelo.

Os lotes assim processados foram inoculados individualmente em tubos de cultura contendo células de *Ae. albopictus* (clone C6/36) e mantidas em estufa à temperatura média de 24 a 26°C, por aproximadamente oito dias. Após o quarto dia de inoculação, a cultura foi observada diariamente em microscópio invertido para verificação de possível efeito citopático. Cada inoculação teve um controle positivo (células inoculadas com vírus suscetível ao cultivo celular) e um controle negativo (células não-inoculadas).

Após o oitavo dia da inoculação foi realizada a técnica de imunofluorescência indireta com anticorpos policlonais para flavivirus. Em caso de amostras positivas, estas seriam submetidas à outra reação de imunofluorescência indireta, utilizando anticorpos monoclonais para os quatro sorotipos de dengue e FA (Gubler et al. 1984).

#### **4.6 Análise dos dados**

Os dados das identificações taxonômicas dos mosquitos e dos registros diários contidos nos boletins foram digitados em planilhas do Programa Excel.

Para mensurar a diversidade de espécies de culicídeos no Parque Nacional de Brasília, foram estimados os índices de Diversidade de Shannon-Wiener, Equitabilidade de Shannon-Wiener e Dominância de Berger Parker.

O índice mais usado para medir a diversidade de uma comunidade é o índice de Shannon – Wiener ( $H'$ ), pois se baseia na abundância relativa das espécies. Este índice assume que os indivíduos são amostrados de maneira aleatória dentro da comunidade e que todas as espécies estão amostradas (Valentin 2000). O índice de Shannon-Wiener é expresso pela fórmula:  $H' = - \sum (p_i)(\log p_i)$  onde,  $p_i$  é a abundância relativa (proporção) da espécie  $i$  na amostra ou  $n_i / N$ , onde  $n_i$  = número de indivíduos da espécie  $i$  e  $N$  = número de indivíduos total da amostra (Magurran 2004). O Índice de Equitabilidade Shannon-Wiener ( $J$ ) é obtido através da equação:  $J = H' / H_{max}'$ , onde  $H'$  é o índice de Shannon-Wiener e  $H_{max}'$  é dado pela seguinte

expressão:  $H_{max}' = \log s$ , sendo  $s$  correspondente ao número de espécies amostradas. O índice de dominância de Berger Parker é representado por  $d = N_{max}/N$ , onde  $N_{max}$  = número de indivíduos da espécie mais abundante, e  $N$  = número total de indivíduos da comunidade. A análise dos dados e as estimativas destes índices foram realizadas utilizando o programa DivEs – Diversidade de Espécies v 2.0 (Rodrigues 2005).

De acordo com Magurran (2004), o conceito de diversidade combina dois parâmetros de uma comunidade: a riqueza e a equitabilidade (também denominada equabilidade). A riqueza consiste simplesmente no número total de espécies em uma determinada comunidade ou área de interesse. A equitabilidade refere-se ao quão similar as espécies estão representadas na comunidade. Caso todas as espécies tenham a mesma representatividade, a equabilidade será máxima (Ricotta 2005). Este atributo indica se as diferentes espécies possuem abundâncias (número de indivíduos) semelhantes ou divergentes. A dominância é o inverso da equitabilidade (Rosso 1996).

Foram determinados índices faunísticos de dominância e constância. A dominância das espécies foi definida de acordo com as categorias estabelecidas por Friebe (1983), expressa pela fórmula  $D\% = (i/t)$ , onde  $i$  = total de indivíduos de uma determinada espécie e  $t$  = total de indivíduos coletados. Desta forma, as categorias de dominâncias são: Eudominante ( $D > 10\%$ ), Dominante ( $D > 5-10\%$ ), Subdominante ( $D > 2-5\%$ ), Eventual ( $D > 1-2\%$ ) e Rara ( $D < 1\%$ ).

A constância dos grupos taxonômicos, que demonstra a relação entre a proporção dos dias em que uma espécie foi coletada e o número de dias amostrados, foi categorizada segundo Silveira Neto et al. (1976), sendo representada por  $C\% = (p/N)$ , onde  $p$  = número de amostras nas quais a determinada espécie ocorreu (frequência da espécie) e  $N$  = número total de unidades amostrais coletadas (número de capturas realizadas). Assim, as espécies foram agrupadas em: constantes, acessórias e acidentais, quando

presentes respectivamente em mais de 50% das coletas, entre 25-50% das coletas, e em menos de 25% das coletas.

Para a avaliação da suficiência amostral e da abundância das espécies, foram construídas as curvas de acumulação de espécies e de distribuição de abundância, respectivamente (Cardoso et al. 2011; Gotelli & Colwell 2001), com auxílio do Programa EXCEL versão 2007.

A suficiência amostral é um conceito quantitativo utilizado em estudos de ecologia que exprime se a amostra utilizada é “representativa” da comunidade em estudo (Bentes-Gama et al. 2002; Gotelli & Colwell 2001). A idéia de representatividade nesse caso está relacionada à indicação de que a composição da fauna de culicídeos por espécie está adequadamente amostrada. A “curva de acumulação de espécies” ou “curva do coletor”, por sua vez, é uma representação gráfica com grande utilização na área de ecologia, pois é empregada como forma de definição da suficiência amostral (Colwell & Coddington 1994). Seu gráfico consiste no número de espécies (grafado no eixo das ordenadas ou eixo y) contra o esforço amostral (grafado no eixo das abscissas ou eixo x) (Gotelli & Colwell 2001). Nesta pesquisa o esforço amostral foi medido pelo número de capturas realizadas.

Tradicionalmente, o procedimento mais usado para definir a suficiência amostral a partir da curva de acumulação de espécies, é a inspeção visual da curva para identificar o ponto onde se inicia o patamar. A ideia de existência de um patamar é entendida como o ponto de estabilização, em que a inclusão de unidades amostrais não resultaria na inclusão de novas espécies na amostra (Bentes-Gama et al. 2002).

Para analisar a distribuição dos dados, foi utilizado inicialmente o teste de Kolmogorov-Smirnov, para verificar a normalidade da variável “número de indivíduos capturados”, sendo observada a distribuição não-paramétrica. Para comparar a média dos culicídeos capturados entre os Pontos 1 e 2 durante os 60 dias de amostragem, foi aplicado o teste de



Mann-Whitney. A variação do número de indivíduos capturados entre as estações climáticas (seca, intermediária, 1º trimestre de chuva e 2º trimestre de chuva) foi analisada pelo teste Kruskal-Wallis. Nessa análise, considerou-se a abundância diária das espécies como variável dependente. A ocorrência diária dessas espécies em solo e copa ao longo dos 60 dias foi comparada usando testes qui-quadrado. Nessas análises, consideraram-se apenas as espécies mais capturadas no estudo, sendo representadas por sete categorias taxonômicas. Foi utilizado esse critério de seleção pelo fato destas sete espécies terem apresentado um número representativo de exemplares coletados, sendo assim adequadas para a utilização dos testes estatísticos. Os testes foram realizados no programa Statistica®, estabelecido o nível de significância de 5%.

#### **4.7 Aspectos éticos**

O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UnB (Anexo 10.4).

## 5. RESULTADOS

Entre setembro de 2010 e agosto de 2011, foram coletadas 2.677 fêmeas de 29 espécies de culicídeos, pertencentes às subfamílias Culicinae (2.607 exemplares; 97,4%) e Anophelinae (70; 2,6%). Desta subfamília, foram identificadas as espécies *Anopheles kompi* (n=54), *An. gilesi* (n=10), *An. parvus* (n=5) e *An. argyritarsis* (n=1). Da subfamília Culicinae foram registradas 25 espécies incluídas em 10 gêneros (Tabela 1).

Do total dos culicídeos, 1.848 exemplares (69%) foram capturados no nível do solo. Em termos de predominância sobressaíram as espécies *Sabethes albiprivus* (n=688; 25,7%), *Limatus durhamii* (n=628; 23,4%) e *Haemagogus leucocelaenus* (n=338; 12,6%).

**Tabela 1** - Número de indivíduos nos diferentes habitats (solo e copa) e classificação de dominância e constância das espécies de culicídeos detectadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, no período de setembro/ 2010 a agosto/ 2011.

Espécies	Habitats		Total	%	Dom.*	Const.**
	Solo	Copa				
<i>Sabethes</i> ( <i>Sabethes</i> ) <i>albiprivus</i> Theobald, 1903	402	286	688	25,7	E	C
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	542	86	628	23,45	E	C
<i>Haemagogus</i> ( <i>Conopostegus</i> ) <i>leucocelaenus</i> Dyar & Shannon, 1924	181	157	338	12,62	E	C
<i>Haemagogus</i> ( <i>Haemagogus</i> ) <i>janthinomys</i> Dyar, 1921	64	151	215	8,03	D	C
<i>Aedes</i> ( <i>Ochlerotatus</i> ) <i>scapularis</i> Rondani, 1848	178	22	200	7,46	D	C

<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> Von Humboldt, 1819	113	24	137	5,11	D	C
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> Theobald, 1901	100	7	107	3,99	Sd	C
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) arribalzagae</i> Theobald, 1903	55	10	65	2,42	Sd	A
<i>Anopheles (Stethomyia) kompi</i> Edwards, 1930	52	2	54	2,01	Sd	A
<i>Limatus flavisetosus</i> Oliveira Castro, 1935	39	14	53	1,97	Ev	A
<i>Sabethes (Sabethes) belisarioi</i> Neiva, 1908	10	43	53	1,97	Sd	A
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar & Knab, 1906	32	2	34	1,26	Ev	A
<i>Aedes (Protomacleaya) argyrothorax</i> Bonne-Wepster & Bonne, 1919	15	4	19	0,7	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i> Dyar & Knab, 1907	12	7	19	0,7	Rr	Ac
<i>Sabethes (Peytonulus) soperi</i> Lane & Cerqueira, 1942	3	8	11	0,41	Rr	Ac
<i>Anopheles (Lophopodomyia) gilesi</i> Peryassu, 1908	9	1	10	0,37	Rr	Ac
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> Skuse, 1864	10	0	10	0,37	Rr	Ac
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	10	0	10	0,37	Rr	Ac
<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> Theobald, 1901	6	0	6	0,22	Rr	Ac
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) parvus</i> Chagas, 1907	5	0	5	0,18	Rr	Ac
<i>Sabethes (Sabethoides) chloropterus</i> Von Humboldt, 1819	2	2	4	0,14	Rr	Ac

<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	2	1	3	0,11	Rr	Ac
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	2	0	2	0,07	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> Lutz, 1904	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</i> Wiedemann, 1821	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis</i> Robineau-Desvoidy, 1827	0	1	1	0,03	Rr	Ac
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> Theobald, 1907	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala</i> Dyar & Knab, 1906	0	1	1	0,03	Rr	Ac
<i>Haemagogus (Haemagogus) tropicalis</i> Cerqueira & Antunes, 1938	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<b>TOTAL</b>	<b>1848</b>	<b>829</b>	<b>2677</b>	<b>100</b>		

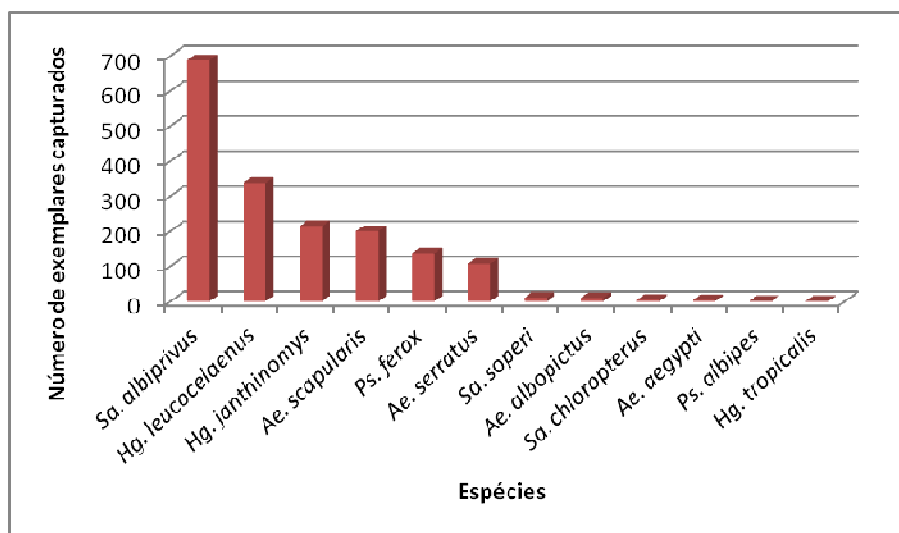
\***Dom.** (Dominância): E=Eudominante (D>10%), D=Dominante (D>5-10%), Sd=Subdominante (D>2-5%), Ev=Eventual (D>1-2%) e Rr=Rara (D<1%).

\*\***Const.** (Constância): C=Constante (C>50%), A=Acessória (C>25-50%) e Ac=Acidental (C<25%).

Dentre as espécies amostradas, seis apresentaram abundância relativa abaixo de 1%. Ou seja, entre as 29 espécies registradas, dez apresentaram até cinco indivíduos capturados.

Dentre as espécies coletadas, 12 representam categorias taxonômicas que já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA ou possuem importância na transmissão da doença. Estas espécies estão distribuídas nos gêneros *Aedes*, *Psorophora*, *Haemagogus* e *Sabethes* (Figura 14). A soma destas 12 espécies representa um total de 1.715 exemplares (64%). Dentre estas, as espécies que apresentaram maior

abundância foram *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys* e *Ae. scapularis*.



**Figura 14.** Abundância das espécies de culicídeos que já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA ou possuem importância na transmissão da doença.

No Ponto 1 foram coletados 1618 espécimes, distribuídos nos gêneros *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Limatus*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Uranotaenia*, *Wyeomyia*, *Haemagogus* e *Sabethes*, totalizando 26 espécies (Tabela 2). Dentre o quantitativo, 1126 foram capturados em solo e 492 em copa.

No Ponto 2 foram coletados 1059 exemplares dos gêneros *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Limatus*, *Psorophora*, *Uranotaenia*, *Haemagogus* e *Sabethes*, somando 23 espécies (Tabela 2). Deste total, 722 foram capturados em solo e 337 em copa.

Comparando-se os dois Pontos pesquisados, verificou-se no Ponto 1 uma maior abundância de exemplares capturados, além de uma maior riqueza de gêneros (n=11) e espécies de culicídeos (n=26). No tocante às

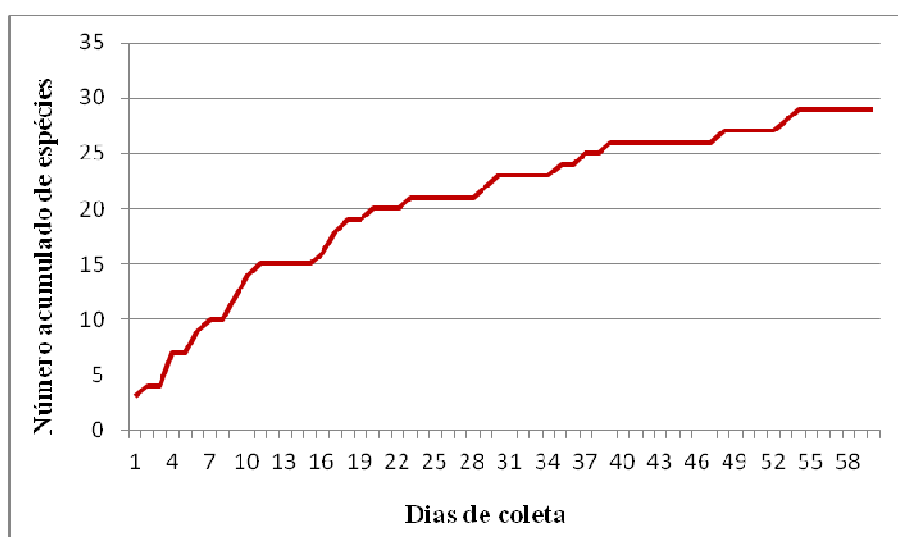
espécies de culicídeos que já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA ou possuem importância na transmissão da doença, verificou-se no Ponto 1 uma maior abundância de exemplares capturados e no Ponto 2 uma maior riqueza de espécies. Não foram observadas diferenças significativas entre as médias de indivíduos capturados entre os Pontos 1 e 2 durante os 60 dias de amostragem ( $Z=-1,73$ ;  $P>0,05$ ).

**Tabela 2** - Número de indivíduos nos diferentes estratos (solo e copa) nos Pontos 1 e 2 das espécies de culicídeos detectadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, no período de setembro/ 2010 a agosto/ 2011.

Espécies	Ponto 1		Ponto 2	
	Solo	Copa	Solo	Copa
<b>Anophelinae</b>				
<i>Anopheles (Lophopodomomyia) gilesi</i> Peryassu, 1908	4	1	5	0
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis</i> Robineau-Desvoidy, 1827	0	1	0	0
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) parvus</i> Chagas, 1907	2	0	3	0
<i>Anopheles (Stethomyia) kompi</i> Edwards, 1930	43	2	9	0
<b>Culicinae</b>				
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> Lutz, 1904	1	0	0	0
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i> Dyar & Knab, 1907	8	4	4	3
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> Rondani, 1848	129	8	49	14
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> Theobald, 1901	56	4	44	3
<i>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</i> Wiedemann, 1821	1	0	0	0
<i>Aedes (Protomacleaya) argyrothorax</i> Bonne-Wepster & Bonne, 1919	12	0	3	4
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	2	1	0	0

<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> Skuse, 1864	7	0	3	0
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) arribalzagae</i> Theobald, 1903	30	6	25	4
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar & Knab, 1906	14	1	18	1
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	0	0	10	0
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> Dyar & Shannon, 1924	119	109	62	48
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921	43	108	21	43
<i>Haemagogus (Haemagogus) tropicalis</i> Cerqueira & Antunes, 1938	0	0	1	0
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	341	40	201	46
<i>Limatus flavisetosus</i> Oliveira Castro, 1935	26	4	13	10
<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> Theobald, 1901	6	0	0	0
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> Theobald, 1907	0	0	1	0
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> Von Humboldt, 1819	58	16	55	8
<i>Sabethes (Peytonulus) soperi</i> Lane & Cerqueira, 1942	3	5	0	3
<i>Sabethes (Sabethes) albiprivus</i> Theobald, 1903	218	167	184	119
<i>Sabethes (Sabethes) belisarioi</i> Neiva, 1908	1	14	9	29
<i>Sabethes (Sabethoides) chloropterus</i> Von Humboldt, 1819	1	0	1	2
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	1	0	1	0
<i>Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala</i> Dyar & Knab, 1906	0	1	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>1126</b>	<b>492</b>	<b>722</b>	<b>337</b>

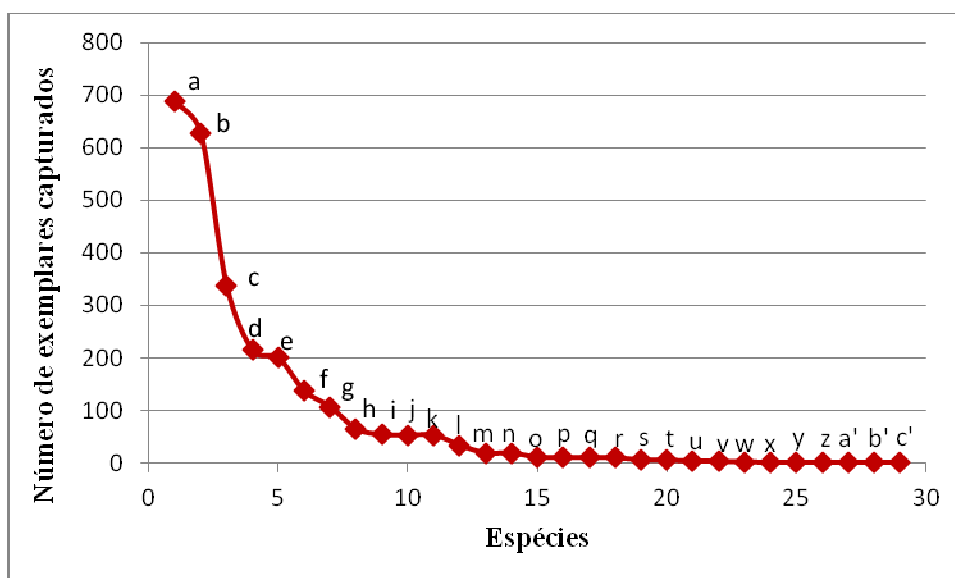
De acordo com a curva de acumulação de espécies (Figura 15), o esforço amostral total (60 dias de coleta) foi satisfatório para representar a riqueza de espécies de culicídeos, indicando uma tendência à estabilização do número acumulado de espécies a partir do 54º dia de coleta.



**Figura 15.** Curva de acumulação de espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no PNB, Distrito Federal, Brasil.

A figura 16 mostra a curva de distribuição de abundância das espécies. As mais abundantes foram *Sa. albiprivus*, *Li. durhamii*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys*, *Ae. scapularis*, *Ps. ferox* e *Ae. serratus*. Juntas, estas sete espécies representam 86,4% da abundância total. Dentre as demais, seis foram representadas por um único espécime.



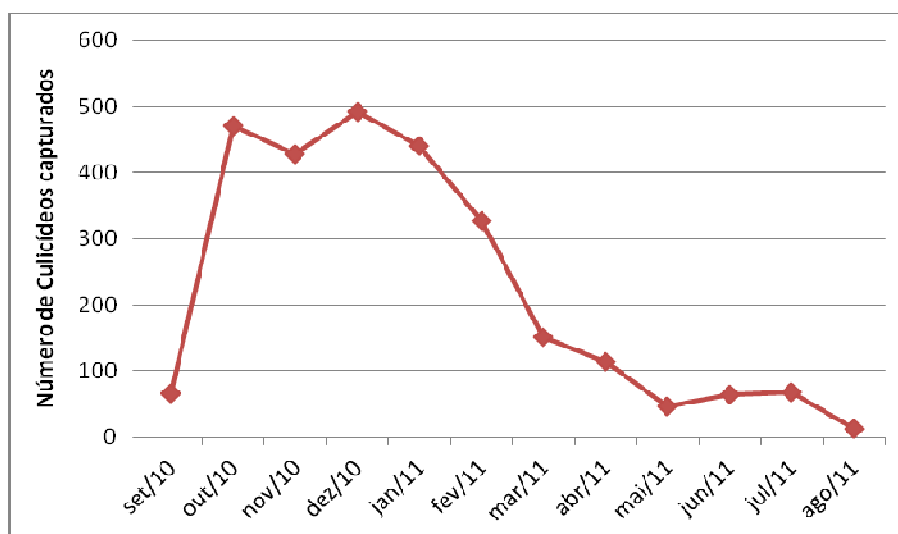


**Figura 16.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no PNB, Distrito Federal, Brasil.

**a:** *Sa. albiprivus*; **b:** *Li. durhamii*; **c:** *Hg. leucocelaenus*; **d:** *Hg. janthinomys*; **e:** *Ae. scapularis*; **f:** *Ps. ferox*; **g:** *Ae. serratus*; **h:** *Cq. arribalzagae*; **i:** *An. kompi*; **j:** *Li. flavisetosus*; **k:** *Sa. belisarioi*; **l:** *Cx. coronator*; **m:** *Ae. argyrothorax*; **n:** *Ae. hortator*; **o:** *Sa. soperi*; **p:** *An. gilesi*; **q:** *Ae. albopictus*; **r:** *Cx. quinquefasciatus*; **s:** *M. pseudotitillans*; **t:** *An. parvus*; **u:** *Sa. chloropterus*; **v:** *Ae. aegypti*; **w:** *Ur. calosomata*; **x:** *An. argyritarsis*; **y:** *Ae. fluviatilis*; **z:** *Ae. taeniorhynchus*; **a':** *Ps. albipes*; **b':** *Wy. melanocephala*; **c':** *Hg. tropicalis*.

Quanto à constância, coincidentemente, as sete espécies mais abundantes também foram as consideradas constantes. Cinco categorias taxonômicas foram consideradas acessórias e as outras dezessete acidentais. Observou-se, ainda, que, de acordo com a dominância, apenas três espécies foram classificadas como eudominantes (*Sa. albiprivus*, *Li. durhamii* e *Hg. leucocelaenus*). Outras três foram dominantes (*Hg. janthinomys*, *Ae. scapularis* e *Ps. ferox*), quatro foram consideradas subdominantes (*Ae. serratus*, *Cq. arribalzagae*, *An. kompi* e *Sa. belisarioi*), duas foram classificadas como eventuais e todas as demais foram consideradas raras (Tabela 1).

Quanto à distribuição mensal dos culicídeos capturados ao longo dos 12 meses, verificou-se, conforme esperado, maior abundância de exemplares durante o período chuvoso, de outubro a abril. O mês que apresentou maior número de exemplares coletados foi dezembro, já o mês de agosto registrou a menor abundância (Figura 17).



**Figura 17.** Número de culicídeos capturados entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011, no PNB, Distrito Federal, Brasil.

De acordo com as estações climáticas, verifica-se que no primeiro trimestre de chuva foi coletado o maior número de culicídeos, tanto em copa quanto em solo, totalizando 52% dos exemplares. Já no período de seca verificou-se a menor abundância de espécimes coletados, com apenas 5,3% dos espécimes (Tabela 3).

**Tabela 3** – Número de culicídeos capturados nas estações climáticas segundo a precipitação média do trimestre em nível de copa e solo em mata de galeria no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Estações climáticas	Meses	Precipitação média (mm)	Número de Culicídeos		
			Copa	Solo	TOTAL
Intermediária	abril, maio e setembro	70	68	156	224
1º Trimestre de chuva	outubro, novembro e dezembro	216	433	958	1391
2º Trimestre de chuva	janeiro, fevereiro e março	220	314	605	919
Seca	junho, julho e agosto	0	14	129	143
<b>TOTAL</b>			<b>829</b>	<b>1848</b>	<b>2677</b>

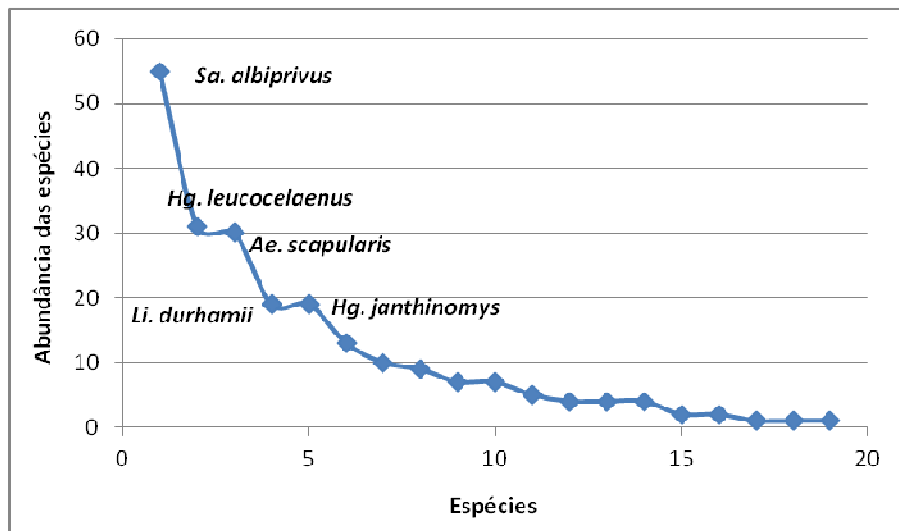
Os maiores índices de diversidade e equitabilidade, além da riqueza de espécies de culicídeos foram detectados em solo. O índice de dominância de Berger-Parker foi similar entre os dois estratos. Dentre as estações climáticas, verificou-se que no 2º trimestre de chuva, existiu a maior riqueza de espécies. Na estação intermediária foi verificada a maior equitabilidade e diversidade de espécies. No período de seca observou-se o maior índice de dominância (Tabela 4).

**Tabela 4** – Medidas de diversidade de culicídeos em copa, solo e estações climáticas em mata de galeria do Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011.

Medidas de diversidade	Habitats		Estações climáticas*			
	copa	solo	I	C1	C2	S
Índice de diversidade de Shanon-Wiener (H')	0,838	0,961	1,048	0,867	0,885	1,008
Equitabilidade Shanon-Wiener (J)	0,644	0,671	0,820	0,666	0,670	0,769
Dominância de Berger-Parker (D <sub>bp</sub> )	0,035	0,034	0,049	0,042	0,069	0,147
Riqueza	20	27	19	20	21	20

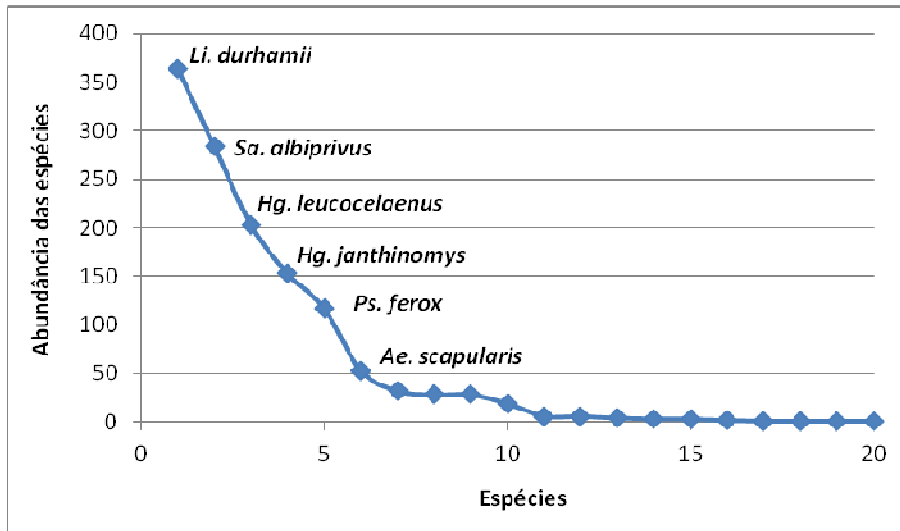
\*I= Intermediária; C1= 1º trimestre de chuva; C2= 2º trimestre de chuva; S= Seca.

Na estação climática intermediária verificou-se que as espécies mais abundantes foram *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus*, *Ae. scapularis*, *Li. durhamii* e *Hg. janthinomys* (Figura 18).



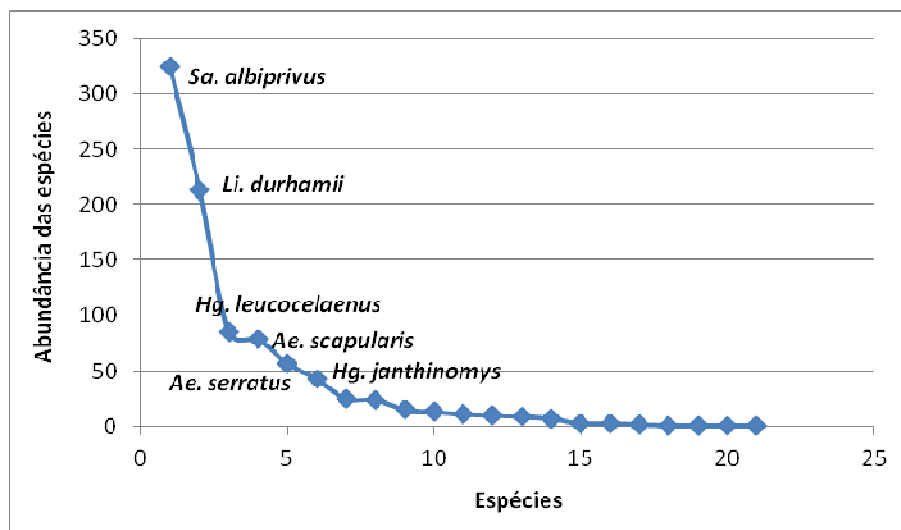
**Figura 18.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, durante a estação intermediária. As espécies destacadas foram as mais abundantes.

No primeiro trimestre de chuva, as espécies mais abundantes foram *Li. durhamii*, *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys*, *Ps. ferox* e *Ae. scapularis* (Figura 19).



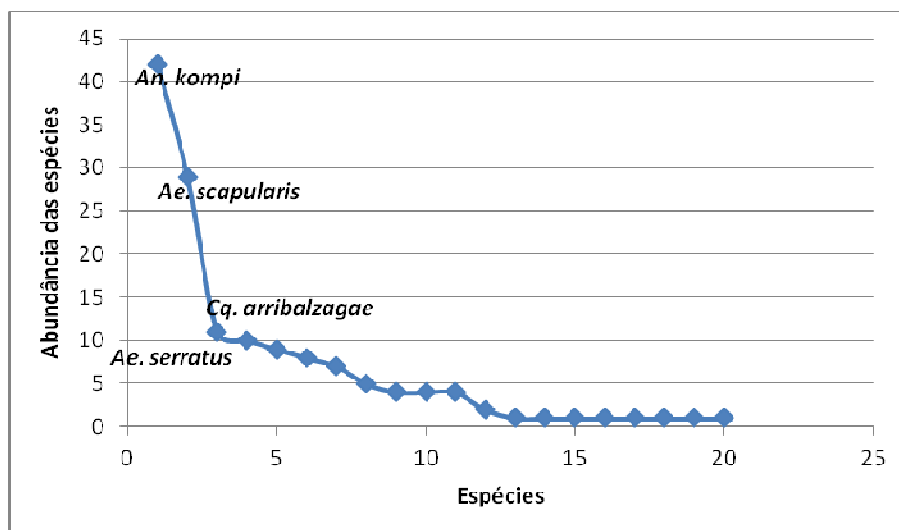
**Figura 19.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no PNB, Distrito Federal, Brasil, durante o 1º trimestre de chuva. As espécies destacadas foram as mais abundantes.

No segundo trimestre de chuva, as espécies mais abundantes foram *Sa. albiprivus*, *Li. durhamii*, *Hg. leucocelaenus*, *Ae. scapularis* e *Ae. serratus* (Figura 20).



**Figura 20.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante o 2º trimestre de chuva. As espécies destacadas foram as mais abundantes.

Na estação seca as espécies mais abundantes foram *An. kompi*, *Ae. scapularis* e *Cq. arribalzagae* e *Ae. serratus* (Figura 21).



**Figura 21.** Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturadas no Parque Nacional de Brasília, Brasil, durante a estação seca. As espécies destacadas foram as mais abundantes.

Observou-se que as espécies apresentaram abundâncias diferenciadas ao longo dos meses. Na estação seca (junho a agosto) a ocorrência das espécies do gênero *Haemagogus* mostrou-se reduzida a quase zero. Nos meses de maio a setembro não foi coletado nenhum exemplar da espécie *Hg. janthinomys*. Entre julho e setembro não foi coletado nenhum espécime de *Hg. leucocelaenus*, no mês de junho apenas um. O mês que apresentou o maior número de exemplares coletados para o gênero *Haemagogus* foi dezembro. Foi coletado apenas um exemplar de *Hg. tropicalis* em abril.

Para o gênero *Sabethes*, foram coletados exemplares em todos os meses, no entanto, verifica-se maior abundância no período chuvoso. *Sa. albiprivus* mostrou-se frequente em todos os meses, observou-se a maior

abundância em janeiro e a menor em agosto. *Sa. belisarioi* foi coletado em quase todos os meses, com exceção de maio e agosto, sendo mais abundante no mês de fevereiro. Foram coletados, ainda, 11 exemplares de *Sa. soperi* (dois em janeiro e nove em fevereiro) e apenas quatro de *Sa. chloropterus* (um em dezembro e três em março).

Quanto ao gênero *Aedes*, verificou-se a ocorrência de espécimes em todos os meses. Foram coletados 200 exemplares da espécie *Aedes scapularis*, distribuídos em todos os meses, tendo em fevereiro o maior número de indivíduos coletados. Foram registrados 107 espécimes de *Aedes serratus*, tendo o maior número de indivíduos capturados em janeiro. Nos meses de julho a setembro não foram coletados indivíduos desta espécie. Foram capturados dez exemplares de *Aedes albopictus*, sendo nove em abril e um em junho. Foram identificados três exemplares de *Aedes aegypti*, coletados nos meses de março, abril e dezembro. Foram coletados 19 exemplares de *Aedes argyrothorax*, sendo observada a maior frequência para a espécie em maio. Não foi registrada a ocorrência desta espécie nos meses de agosto, setembro, novembro e dezembro. Foram coletados 19 exemplares de *Aedes hortator*, não sendo evidenciada nos meses de abril, julho, agosto, setembro, outubro. Além destas espécies foi coletado um exemplar de *Aedes fluviatilis* e um de *Aedes taeniorhynchus*, nos meses de dezembro e março, respectivamente.

Em relação ao gênero *Culex*, foi verificada uma baixa frequência para as duas espécies identificadas. Foram coletados 34 exemplares de *Culex coronator*, não sendo evidenciada nos meses de julho, agosto, setembro, outubro e novembro. Observou-se nos meses de janeiro e fevereiro o maior número de indivíduos coletados. Foram capturados, ainda, dez espécimes de *Culex quinquefasciatus*, sendo nove em junho e um em julho.

*Coquillettidia arribalzagae* foi a única representante do gênero, sendo evidenciada em quase todos os meses, com exceção de agosto e setembro. A maior abundância para a espécie foi observada no mês de novembro.

Para o gênero *Limatus*, foram capturados 681 exemplares distribuídos em duas espécies. O único mês que não foi registrada a ocorrência de exemplares deste gênero foi maio. Foi observada a segunda maior abundância relativa para *Li. durhamii*, apresentando no mês de dezembro o maior número de exemplares capturados. Nos meses de março a setembro foi observada para esta espécie, um pequeno número de exemplares, opondo-se ao período de outubro a fevereiro. Para *Li. flavisetosus* observou-se um total de 53 indivíduos coletados, com maior abundância no mês de novembro.

Em relação ao gênero *Psorophora*, foram coletados 138 exemplares das espécies *Ps. ferox* e *Ps. albipes*, tendo sido coletado apenas um espécime desta última no mês de julho. Observou-se a maior abundância de *Ps. ferox* no mês de outubro. Não foram coletados exemplares desta espécie nos meses de fevereiro, junho, julho e agosto.

Foram coletados seis exemplares de *Mansonia pseudotitillans* (um em dezembro, três em março, um em abril e um em julho); dois de *Uranotaenia calosomata* (um em fevereiro e um em julho) e apenas um espécime de *Wyeomyia melanocephala* no mês de julho.

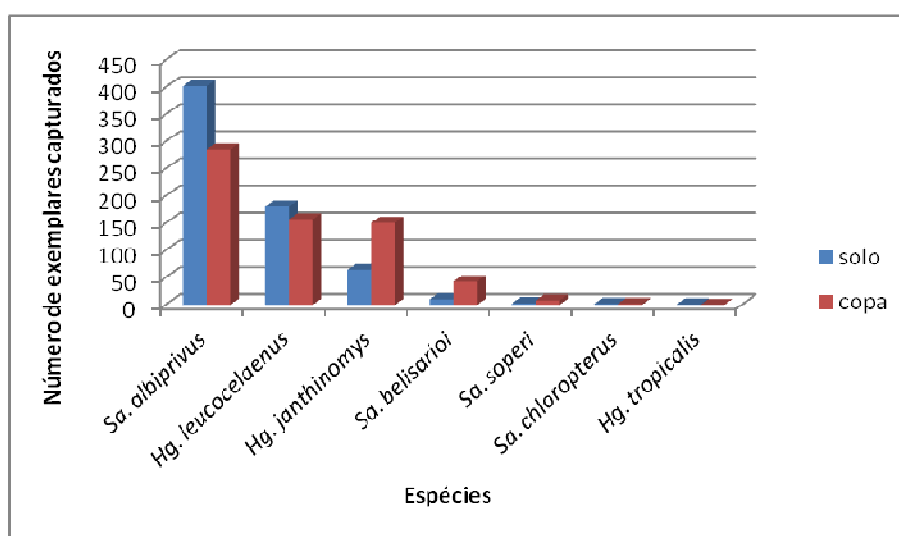
Foram coletados 70 exemplares do gênero *Anopheles* distribuídos nas espécies *An. kompi*, *An. gilesi*, *An. parvus* e *An. argyritarsis*. Verificou-se em julho a maior abundância para o gênero. Nos meses de março, abril e dezembro não foram coletados espécimes deste gênero.

O número de espécimes capturados foi estatisticamente diferente entre as quatro estações climáticas para *Li. durhamii* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 35,2$ ;  $p<0,01$ ), *Hg. leucocelaenus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 41,1$ ;  $p<0,01$ ), *Hg. janthinomys* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 37,6$ ;  $p<0,01$ ), *Sa. albiprivus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 37,4$ ;  $p<0,01$ ), *Ps. ferox* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 18,6$ ;  $p<0,01$ ) e *Ae. serratus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 17,5$ ;  $p<0,01$ ). Essas espécies foram mais abundantes nos trimestres chuvosos. Na estação seca os potenciais vetores



de FA apresentaram uma baixíssima frequência e abundância, com exceção de *Ae. scapularis* e *Ae. serratus*.

Analisando-se as espécies dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus*, quanto à estratificação vertical, verificou-se que *Hg. janthinomys*, *Sa. belisarioi* e *Sa. soperi* foram mais abundantes em copa. Para *Sa. albiprivus* e *Hg. leucocelaenus* foi observada uma maior abundância em solo. Foram coletados quatro exemplares de *Sa. chloropterus* (dois em solo e dois em copa) e apenas um espécime de *Hg. tropicalis* em solo (Figura 22).

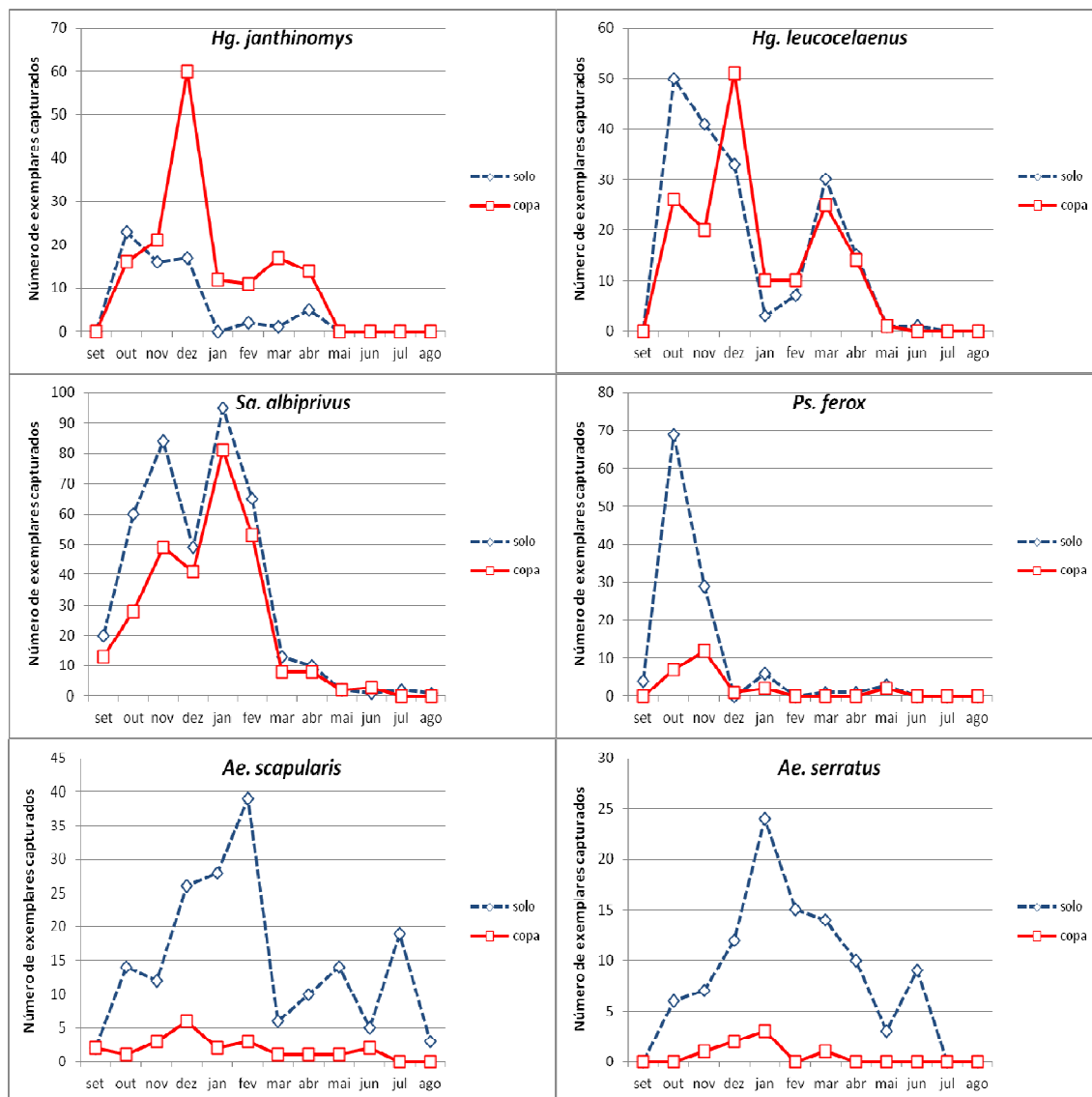


**Figura 22.** Abundâncias das espécies dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* capturadas entre setembro de 2010 e agosto de 2011, em solo e copa, no PNB, Distrito Federal, Brasil.

Quanto à estratificação vertical ao longo do período estudado, pôde-se observar que as espécies apresentaram comportamentos diferenciados. *Hg. janthinomys* apresentou nítida acrodendrofilia ao longo do período estudado, observou-se apenas no mês de outubro uma discreta predominância de espécimes capturados em solo em relação aos capturados em copa. Em geral, *Hg. leucocelaenus* apresentou maior abundância de exemplares capturados em solo em relação à copa. *Sa.*

*albiprivus* apresentou maior abundância em solo em relação à copa, sendo observada no mês de junho uma discreta inversão entre os estratos, quando foram coletados três exemplares em copa e apenas um em solo. *Sa. belisarioi* apresentou forte tendência à acrodendrofilia, tendo sido coletados 43 espécimes em copa e dez em solo. Apenas no mês de outubro, verificou-se um discreto predomínio de exemplares desta espécie em solo. *Sa. soperi* foi mais abundante em copa, ocorrendo apenas no meses de janeiro (dois em copa) e fevereiro (três em solo e seis em copa). *Sa. chloropterus* foi o menos abundante para o gênero, sendo coletado apenas em dezembro (um em solo) e março (um em solo e dois em copa). Os espécimes pertencentes aos gêneros *Aedes* e *Psorophora* demonstraram ser raros ao nível da copa em todas as estações analisadas.

Analisando-se as sete espécies de culicídeos mais abundantes quanto à estratificação vertical, foram detectadas diferenças significativas entre a ocorrência de mosquitos em solo e copa para as espécies *Hg. janthinomys* ( $\chi^2=4,9$ ;  $p=0,02$ ), *Li. durhamii* ( $\chi^2=4,0$ ;  $p=0,04$ ), *Ps. ferox* ( $\chi^2=3,9$ ;  $p=0,04$ ), *Ae. scapularis* ( $\chi^2=12,1$ ;  $p<0,01$ ) e *Ae. serratus* ( $\chi^2=24,4$ ;  $p<0,01$ ). Com exceção de *Hg. janthinomys*, essas espécies foram mais frequentes em solo. Considerando a abundância mensal desses culicídeos, observou-se que *Hg. janthinomys* foi mais abundante em copa, diferente das demais espécies (Figura 23).



**Figura 23.** Número de culicídeos capturados das espécies com importância na transmissão de FA\* no Parque Nacional de Brasília, Brasil, em solo e copa ao longo de setembro/2010 a agosto/2011.

\*Foram citadas apenas as espécies mais abundantes.

Mensalmente, após identificação taxonômica, os exemplares de culicídeos foram compartimentados em lotes e enviados ao Laboratório de Virologia – LACEN/ DF, para isolamento de flavivirus. Na Tabela 5 estão listados os lotes de culicídeos obtidos e enviados a cada mês ao LACEN/ DF para isolamento de flavivirus. Ao final dos doze meses de atividades de captura de culicídeos, todos os 2677 exemplares coletados foram compartimentados em 302 lotes (Anexo 10.5). Na Tabela 6 estão descritas as quantidades de indivíduos e de lotes obtidos para cada espécie de culicídeo capturado no estudo.

**Tabela 5** – Lotes de culicídeos obtidos e enviados a cada mês ao LACEN/ DF para isolamento de flavivirus.

<b>Mês/ ano de referência</b>	<b>Quantidade de lotes</b>	<b>Números dos lotes</b>
Setembro/ 2010	10	1 a 10
Outubro/ 2010	37	11 a 47
Novembro/ 2010	36	48 a 83
Dezembro/ 2010	43	84 a 126
Janeiro/ 2011	39	127 a 165
Fevereiro/ 2011	35	166 a 200
Março/ 2011	28	201 a 228
Abril/ 2011	20	229 a 248
Maió/ 2011	13	249 a 261
Junho/ 2011	18	262 a 279
Julho/ 2011	17	280 a 296
Agosto/ 2011	6	297 a 302
<b>TOTAL</b>	<b>302 lotes</b>	<b>1 a 302</b>

**Tabela 6** – Quantidades de indivíduos e de lotes obtidos para cada espécie de culicídeo capturado em mata de galeria do Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011.

<b>Espécies</b>	<b>Quantidade de indivíduos</b>	<b>Quantidade de lotes</b>
<i>Sabethes (Sabethes) albiprivus</i> Theobald, 1903	688	48
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	628	44
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> Dyar & Shannon, 1924	338	27
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921	215	17
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> Rondani, 1848	200	25
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> Von Humboldt, 1819	137	16
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> Theobald, 1901	107	14
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) arribalzagae</i> Theobald, 1903	65	14
<i>Anopheles (Stethomyia) kompi</i> Edwards, 1930	54	7
<i>Limatus flavisetosus</i> Oliveira Castro, 1935	53	15
<i>Sabethes (Sabethes) belisarioi</i> Neiva, 1908	53	15
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar & Knab, 1906	34	9
<i>Aedes (Protomacleaya) argyrothorax</i> Bonne-Wepster & Bonne, 1919	19	9
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i> Dyar & Knab, 1907	19	9
<i>Sabethes (Peytonulus) soperi</i> Lane & Cerqueira, 1942	11	3
<i>Anopheles (Lophopodomyia) gilesi</i> Peryassu, 1908	10	5
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> Skuse, 1864	10	2
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	10	2
<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> Theobald, 1901	6	4
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) parvus</i> Chagas, 1907	5	3
<i>Sabethes (Sabethoides) chloropterus</i> Von Humboldt, 1819	4	3

<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	3	3
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	2	2
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> Lutz, 1904	1	1
<i>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</i> Wiedemann, 1821	1	1
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis</i> Robineau-Desvoidy, 1827	1	1
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> Theobald, 1907	1	1
<i>Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala</i> Dyar & Knab, 1906	1	1
<i>Haemagogus (Haemagogus) tropicalis</i> Cerqueira & Antunes, 1938	1	1
<b>TOTAL</b>	<b>2677</b>	<b>302</b>

Nenhum dos 302 lotes de culicídeos (n=2677) apresentou resultado positivo para flavivirus.

## 6. DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a abundância e riqueza de espécies de culicídeos foram maiores em solo e nas estações chuvosas. Mesmo espécies com reconhecido hábito acrodendrófilo, como *Hg. janthinomys*, foram coletadas frequentemente em solo, concordando com os achados de Alencar et al. (2005) e Ramírez et al. (2007).

Haviam sido identificadas 31 espécies de culicídeos, provenientes das capturas entomológicas para a vigilância de FAS, realizadas em diversas áreas no âmbito do DF. Esta pesquisa contribuiu para acrescentar seis novos registros à lista de espécies identificadas nas atividades de vigilância entomológica de FAS, a saber: *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* Wiedemann, 1821; *Anopheles (Lophopodomys) gilesi* Peryassú, 1908; *Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis* Robineau-Desvoidy, 1827; *Haemagogus (Haemagogus) tropicalis* Cerqueira & Antunes, 1938; *Mansonia (Mansonia) pseudotitillans* Theobald, 1901 e *Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata* Dyar & Knab, 1907. Com isso, até o presente momento, foram identificadas 37 espécies de culicídeos, provenientes das capturas entomológicas para a vigilância de FAS em diversas áreas no âmbito do DF.

A riqueza de espécies de culicídeos, coletadas ao longo dos 12 meses no PNB, chama a atenção pela grande importância epidemiológica de algumas delas na transmissão de FA, além de outras arboviroses. Dentre as espécies identificadas neste estudo, 11 já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA: *Ae. aegypti*, *Ae. scapularis*, *Ae. serratus*, *Ps. albipes*, *Ps. ferox*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys*, *Hg. tropicalis*, *Sa. chloropterus*, *Sa. soperi* e *Sa. albiprivus* (Argentina 2011; Brasil 2009; Cardoso 2010b; Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Mondet et al. 2002; Moreno et al. 2011; Segura et al. 2007; Souza et al. 2011; Vasconcelos et al. 1997a, 2001a).

O encontro de exemplares da espécie essencialmente urbana, *Ae. aegypti*, no PNB, sinaliza quanto ao potencial risco de reurbanização da FA, tendo em vista que este é o único vetor conhecido da FAU no Continente Americano. Em 1985 e 1986 foram identificados os primeiros focos de *Ae. aegypti* no DF. Entretanto, foi a partir de 1994 que o mosquito instalou-se definitivamente em todas as Regiões Administrativas (Yoshizawa 1995). Em 1994, dentre as 19 localidades pesquisadas, 36,8% estavam infestadas por exemplares desta espécie, no ano seguinte, este percentual subiu para 78,9% (Dégallier et al. 1998). De acordo com Relatórios Técnicos da DIVAL, atualmente, este vetor está presente em todas as Regiões Administrativas do DF.

A ocorrência desta espécie em ambientes urbanos tem sido muito relatada, entretanto, fora da área antrópica as informações são escassas. Barbosa et al. (2009), no estado do Amazonas e Soares et al. (2008), no Rio de Janeiro relatam a presença da referida espécie em áreas rurais. A ocorrência de *Ae. aegypti* fora do ambiente urbano, caracteriza a possibilidade de dispersão e adaptação desta espécie a ambientes silvestres (Barbosa et al. 2008). Tauil (2010) destaca a dificuldade em identificar se alguns casos registrados são transmitidos por vetores silvestres ou urbanos, tendo em vista a proximidade de locais de ocorrência de FA humana com áreas infestadas pelo *Ae. aegypti*. Segundo Figueiredo et al. (2007), o elevado número de pessoas vacinadas, que atuam como uma barreira imunológica, seria o motivo de ainda não ter ocorrido esta reurbanização no Brasil.

Áreas de conservação ambiental são fortemente influenciadas pelo rápido processo de urbanização (Guimarães et al. 2001, 2003; Montes 2005), onde o crescimento populacional e habitacional geram modificações ambientais capazes de contribuir para o estabelecimento de espécies de mosquitos melhor adaptadas ao ambiente antrópico (Forattini et al. 1998).



O DF tem sofrido consideráveis alterações ambientais causadas pela expansão de sua área urbana. Nesse sentido, o entorno do PNB está sob constante ameaça devido à aproximação de loteamentos aos seus limites, o que pode alterar o comportamento de espécies de culicídeos presentes no parque. A ocorrência no PNB de espécies conhecidamente urbanas e bem adaptadas a ambientes antropizados, como *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* poderia ser atribuída às gradativas modificações ecológicas ocorridas nas adjacências desta unidade de conservação. Outro importante fator a ser mencionado é a grande quantidade de recipientes artificiais deixados pelos visitantes nas dependências do Parque, os quais podem ser utilizados como criadouros de culicídeos conhecidamente urbanos, favorecendo, assim, a adaptação destas espécies na unidade. Segundo Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994), *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* são as espécies de culicídeos mais domiciliadas, dentre as que ocorrem no Brasil. Cabe destacar, ainda, que durante as investigações entomológicas realizadas no PNB durante o surto de FAS ocorrido entre 2007 e 2008, as espécies *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* não foram identificadas (Santos et al. 2008).

É importante salientar, ainda, que diante do fato de *Hg. leucocelaenus* ser um importante vetor do vírus da FA e demonstrar tendência à domiciliação (Camargo-Neves et al. 2005; Cardoso et al. 2010b; Gomes et al. 2010), existe o risco potencial de envolvimento da população humana que reside nas proximidades do PNB no ciclo da doença, podendo-se citar o Setor Habitacional Noroeste, localizado a apenas 2km do Parque.

Outra espécie coletada durante a pesquisa, que apresenta relevante importância na transmissão de arboviroses é o *Ae. albopictus*. A competência desta espécie, em condições laboratoriais, para infectar-se e transmitir arbovírus, incluindo o vírus da FA já estava comprovada (Gomes et al. 2008; Johnson et al. 2003; Lourenço-de-Oliveira et al. 2003). Além disto, cabe destacar o registro de sua infecção natural com o vírus La Crosse – da encefalite equina venezuelana do leste, nos Estados Unidos

(Gerhardt et al. 2001) e com o vírus da dengue, durante um surto que ocorreu no México (Ibañez-Bernal et al. 1997). Dégallier et al. (2003) sugerem que esta espécie ainda não pode ser considerada um vetor inter-humano durante epidemias de dengue no Brasil. Até o momento, não existe comprovação do envolvimento de *Ae. albopictus* como vetor de arboviroses no Brasil, porém tais relatos alicerçam o potencial desta espécie em desenvolver papel vetorial não desprezível para arboviroses silvestres das Américas (Burkett et al. 2004; Gomes et al. 2008). Acresce ainda, a possibilidade de tal mosquito tornar-se um vetor de ligação entre os ciclos silvestre e urbano da FA no Brasil, considerando-se sua facilidade de frequentar, igualmente, os ambientes silvestres, suburbanos e urbanos (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994; Dégallier et al. 2001a; Miller & Ballinger 1988). Albuquerque et al. (2000), Alencar et al. (2008) e Gomes et al. (2008) alertam para a necessidade de monitorar essa espécie no Brasil.

Segundo Cardoso et al. (2010a), a espécie *Ae. serratus* também merece atenção especial por parte dos órgãos de saúde. Embora seu papel epidemiológico ainda seja pouco conhecido, alguns encontros de infecção natural por arbovírus sugerem a competência vetora dessa espécie para transmitir arbovírus. Em condições naturais, *Aedes serratus* já foi encontrado infectado com os vírus Aura, Trocara, além dos vírus causadores da encefalite Saint Louis, oropouche e FA (Cardoso et al. 2010b).

De acordo com Guimarães et al. (1985), o estudo de mosquitos com hábitos acrodendrófilos ganhou interesse pelo fato de muitas doenças transmissíveis ao homem terem respaldo em ciclos enzoóticos, dos quais participam, como hospedeiros, vertebrados que habitam preferencialmente a copa das árvores. No Brasil, as principais linhas de investigação que levaram a estudos sobre a estratificação vertical de mosquitos foram destinadas a esclarecer a transmissão de FAS e malária símia.

São escassos os estudos relacionados à estratificação vertical de culicídeos na região Centro-Oeste do Brasil (Pinheiro et al. 1981). No presente estudo, foi detectada uma maior ocorrência de espécimes de *Hg. janthinomys* em copa, reforçando o conhecido comportamento acrodendrófilo desta espécie (Pinto et al. 2009, Ramírez et al. 2007). Espécimes de *Hg. leucocelaenus* foram muito frequentes em solo, conforme já relatado por Cardoso et al. (2010b). Forattini et al. (1968), em São Paulo e Pinto et al. (2009), no Pará, também descrevem a predominância de *Hg. leucocelaenus* em solo. Já Guimarães et al. (1985), destacam a tendência de *Hg. leucocelaenus* a hábitos acrodendrófilos, no Parque Nacional da Serra do Órgãos, Rio de Janeiro. *Ae. scapularis* e *Ae. serratus* apresentaram diferenças significativas quanto ao uso do habitat, sendo mais abundantes em solo. A mesma preferência destas espécies por exercer sua atividade ao nível do solo também foi observada por Fé et al. (2003), Forattini et al. (1968), Guimarães et al. (1985) e Julião et al. (2010).

Há evidências indicando que a estratificação vertical pode apresentar-se com maior ou menor intensidade, de acordo com o tipo de cobertura vegetal. Forattini et al. (1968) sugerem que esta estratificação é mais evidente nas florestas tropicais úmidas, onde as copas das árvores são altas e densas. Em florestas menos densas e onde ocorrem estações secas prolongadas, tais diferenças tendem a diminuir, conforme verificado no presente estudo.

Outro importante fator a ser considerado é a mobilidade vertical. De acordo com Service (1993), os mosquitos podem ser atraídos por uma fonte alimentar, a uma distância de 7 a 30 metros. Forattini et al. (1968) e Vasconcelos et al. (2001a) afirmam que mesmo as espécies predominantemente ativas nos níveis elevados da copa das árvores, como *Hg. janthinomys*, descem comumente ao solo quando detectam a presença de fonte alimentar a fim de realizar hematofagia. Desta forma, a mobilidade vertical dos culicídeos pode enfraquecer as evidências da estratificação

vertical, e obviamente, ter uma influência sobre a dinâmica de transmissão de doenças (Julião et al. 2010).

A maior abundância de exemplares capturados foi observada nos períodos com maior precipitação média, demonstrando uma relação direta da abundância de culicídeos com as chuvas. Verificou-se a forte influência das chuvas na distribuição anual das espécies dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus*, as quais possuem ovos muito resistentes à dessecação, necessitando às vezes de seguidos contatos com a água para a eclosão (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Situações semelhantes relacionadas a estes gêneros foram descritas em Mato Grosso por Ribeiro et al. (2012), em São Paulo por Tubaki et al. (2010) e em Tocantins por Silva et al. (2010). Estudos realizados no sul do Brasil (Gomes et al. 2010) e em Trinidad (Tikasingh et al. 1990) também indicaram uma maior ocorrência de *Hg. leucocelaenus* nos meses mais chuvosos.

Segundo Dorvillé (1996) e Forattini & Massad (1998), o conhecimento da fauna de Culicídeos pode ser utilizado para avaliar o grau de alterações ocorridas em determinada região. Algumas espécies podem atuar como bioindicadores dessas modificações, seja pelo aumento em sua densidade ou até sua ausência. As espécies *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* e *Ae. scapularis* indicam ambientes com alto grau de antropização (Dorvillé 1996). Em contraste, as espécies dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus* apresentam comportamento silvestre e têm difícil adaptação às alterações no ambiente natural, com exceção de *Hg. leucocelaenus*. Dessa maneira, os resultados do presente estudo mostram que o PNB apresenta características de ambiente silvestre alterado. No entanto, esta unidade de conservação ainda mantém as condições ambientais adequadas para a manutenção de espécies que possuem caráter essencialmente silvestre.

De acordo com Cardoso et al. (2010a), o conhecimento prévio das espécies de Culicidae permite formular hipóteses sobre os possíveis vetores em casos de surtos ou epidemias causadas por agentes patogênicos

transmitidos por mosquitos. Deste modo, o presente estudo traz como relevância o acréscimo de informações sobre a ecologia de vetores de importância na transmissão de FA. Ao mesmo tempo, tais resultados contribuirão para alicerçar a sustentabilidade dos programas de imunização e de educação ambiental entre os usuários do PNB. Recomenda-se o monitoramento entomológico nesta e em outras áreas vulneráveis à transmissão do vírus da FA, não apenas para ampliar os conhecimentos ecológicos, como também avaliar o perfil de infecção natural desses vetores.

O método ideal para a determinação de arbovírus específico é o isolamento viral (Travassos da Rosa et al. 1997). De acordo com Ahmed (2005), existem quatro métodos de isolamento viral: inoculação intracerebral em camundongos recém-nascidos, inoculação em cultura de células de mamíferos, inoculação intratorácica em mosquitos adultos e inoculação em cultura de células de mosquitos. Cada método depende da disponibilidade e estrutura de cada laboratório (Samuel & Tyagi 2006).

A inoculação intracerebral em camundongos recém-nascidos possui como vantagem a detecção do vírus mesmo que esteja em pequena quantidade, baixo título viral. Porém, exige que o laboratório possua estrutura de biotério, além de ser uma técnica de alto custo e com resultados demorados (Fonseca & Fonseca 2002). O camundongo albino suíço (*Mus musculus*) é o animal de escolha para o isolamento da maioria dos arbovírus (Travassos da Rosa et al. 1997). O método de inoculação em cultura de células de mamíferos é bastante sensível, mas produz uma quantidade de vírus bastante pequena quando comparada aos outros métodos (Fonseca & Fonseca 2002). A inoculação intratorácica em mosquitos *Toxorhynchites* é uma técnica bastante sensível, porém necessita da criação em larga escala de mosquitos, portanto, é muito pouco utilizada (Dalla Bona et al. 2011).

Dentre as técnicas de isolamento viral utilizadas em laboratórios especializados, a inoculação em cultura de células de mosquitos tem sido o método mais utilizado, apresentando vantagens em relação às outras, como:

baixo custo, elevada sensibilidade e relativa facilidade de manuseio da técnica e manutenção da cultura (De Paula & Fonseca 2004; Samuel & Tyagi 2006). Para a inoculação em cultura de células de mosquitos existem diferentes tipos celulares: *Aedes pseudoscutellaris* (AP61), *Aedes albopictus* (clone C6/36), *Aedes aegypti* (CCL-125). As células de *Ae. albopictus* (clone C6/36) têm sido as mais utilizadas para isolamento de flavivirus na maioria dos laboratórios especializados, pois apresentam elevado grau de suscetibilidade para infecções com arbovírus (White 1987). Segundo Dalla Bona et al. (2011), as tentativas de detecção de vírus a partir de mosquitos, mesmo em municípios com elevado números de casos em humanos e altos índices de infestação do vetor, são pouco frequentes.

Mesmo não sendo obtido isolamento viral a partir dos espécimes capturados nesta pesquisa, a realização de estudos continuados relacionados à infecção natural de culicídeos é de suma importância, por ser um instrumento preditor de eventos relacionados à FA e outras arboviroses. Tais informações contribuirão para um melhor entendimento do verdadeiro papel vetorial das espécies que ocorrem no âmbito do DF. A única técnica de isolamento viral disponível e utilizada no Laboratório de Virologia do LACEN/DF é a inoculação em cultura de células de *Ae. albopictus* (clone C6/36). Ressalta-se a necessidade de realização de outras técnicas de detecção de flavivirus combinadas à técnica utilizada, principalmente a inoculação intracerebral em camundongos recém-nascidos, tendo em vista a vantagem de detectar o vírus mesmo que esteja presente em pequena quantidade.

Recomenda-se, ainda, atenção especial por parte dos órgãos competentes, principalmente nas ações de vigilância de mortes de PNH e nos programas de vacinação contra FA aos frequentadores do PNB e aos moradores do Setor Habitacional Noroeste.

## 7. CONCLUSÕES

Foram identificadas 29 espécies de culicídeos no Parque Nacional de Brasília, pertencentes aos gêneros *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Haemagogus*, *Limatus*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Sabethes*, *Uranotaenia* e *Wyeomyia*.

Esta pesquisa contribuiu para acrescentar seis novos registros à lista de espécies identificadas nas atividades de vigilância entomológica de FAS no DF, a saber: *Aedes taeniorhynchus*, *Anopheles argyritarsis*, *Anopheles gilesi*, *Haemagogus tropicalis*, *Mansonia pseudotitillans* e *Uranotaenia calosomata*.

Até o presente momento, foram identificadas 37 espécies de culicídeos, provenientes das capturas entomológicas para a vigilância de FAS no âmbito do DF.

Dentre as espécies identificadas neste estudo, 11 já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA: *Ae. aegypti*, *Ae. scapularis*, *Ae. serratus*, *Ps. albipes*, *Ps. ferox*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys*, *Hg. tropicalis*, *Sa. chloropterus*, *Sa. soperi* e *Sa. albiprivus*.

Ao nível do solo, existe maior riqueza e abundância de espécies de culicídeos. O índice de dominância foi similar entre os dois estratos.

Em mata de galeria, a espécie *Haemagogus janthinomys* é mais frequente ao nível da copa das árvores, e *Hg. leucocelaenus* ocorre mais em solo.

A distribuição mensal mostra que a ocorrência e abundância de culicídeos estão diretamente relacionadas com as chuvas.

Ao nível do solo existe maior diversidade de espécies de culicídeos. O índice de dominância foi similar entre os dois estratos. O maior índice de equitabilidade foi evidenciado na estação intermediária e a maior dominância na estação seca.

Nenhum dos mosquitos apresentou resultado positivo para flavivirus.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmed A. Diagnosing dengue fever. *Journal of Infectious Diseases*. Pakistan, 2005, 14: 129-132.

Albuquerque CMR, Melo-Santos AV, Bezerra MAS, Barbosa RMR, Silva DF, Silva E. Primeiro registro de *Aedes albopictus* em área da Mata Atlântica, Recife, PE, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo 2000; 314-315.

Alencar CHM, Albuquerque LM, Aquino TMF, Soares CB, Júnior ANR, Lima JWO. Potencialidades do *Aedes albopictus* como vetor de arboviroses no Brasil: um desafio para a atenção primária 2008; 11(4):459-467.

Alencar J, Lorosa ES, Degallier N, Serra-Freire NM, Pacheco JB, Guimaraes AE. Feeding patterns of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: culicidae) in different regions of Brazil. *Journal of Medical Entomology* 2005; 42(6):981-985.

Amaral R, Tauil PL. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. *A saúde no Brasil* 1983; 1(4):230-235.

Aragão NC, Muller GA, Balbino VQ, Júnior CRLC, Júnior CSF, Alencar J, Marcondes CB. A list of species of mosquitoes of the Brazilian state of Pernambuco, with first report of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae), vector of yellow fever, and other 14 species (Diptera: Culicidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*; 2010.

Araújo FAA, Ramos DG, Santos AL, Passos PHO, Elkhoury ANSM, Costa ZGA, Leal SG, Romano APM. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília; 2011.

Argentina. Ministerio de Salud y Ambiente. Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas. Informe Anual 2009 – 2010. Pergamino: Ministerio de Salud y Ambiente; Argentina; 2011.

Barbosa MGV, Fé NF, Jesus RDB, Rodriguez IC, Monteiro WM, Mourão MPG, Guerra JAO. *Aedes aegypti* e fauna associada em área rural de Manaus, na Amazônia Brasileira. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2009; 42(2):213-216.

Barbosa MGV, Fé NF, Marcião AHR, Silva APT, Monteiro WM, Guerra JAO. Registro de Culicidae de importância epidemiológica na área rural de Manaus, Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2008; 41(6):658-663.

Barrett ADT, Higgs S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. *Annu. Rev. Entomol* 2007; (52):209–29.

Barrett ADT, Monath TP. Epidemiology and ecology of yellow fever virus. *Adv. Virus Res.* 2003; (61):291–315.

Barrett ADT, Weaver SC. Arboviruses: alphaviruses flaviviruses and bunyaviruses. In *Medical Microbiology*, ed. D Greenwood, RCB Slacks, JF Peutherer, 16 ed. 2002 p. 482–94.

Benchimol JL. Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro; 2001. p.470.

Bentes-Gama MM, Scolforo JRS, Gama JRV, Oliveira AD. Estrutura e valoração de uma floresta de várzea alta na Amazônia 2002; (8):88-102.

Black FL. *Infectious Disease in Primitive Societies*. Science 1975.

Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiologia e serviços de saúde* 2007; 16(2):113-118.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância epidemiológica da Febre Amarela. Brasília 1999. P. 54.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância de epizootias em primatas não humanos. Brasília 2005. P. 55.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7ª ed. Brasília 2009. P. 816.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Mapa de áreas com e sem recomendação de vacina contra febre amarela. [cited 2012 jun 30] Available from: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=29491&janela=1](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=29491&janela=1)

Burkett D A, Kelly R, Porter CII, Wirtz RA. Commercial mosquito trap gravid, trap oviposition media evaluation, Atlanta, Georgia. *Journal American Mosquito Control Association* 2004; 20:233-238.

Canyon DV, Hii JKL, Muller R. Multiple host-feeding and biting persistence of *Aedes aegypti*. *Ann. Trop. Med. Parasitol* 1998; 92:311-6.

Câmara FP, Gomes ALBB, Carvalho LMF, Castello LGV. Dynamic behavior of sylvatic yellow fever in Brazil (1954-2008). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2011; 44(3):297-299.

Camargo-Neves VLF, Poletto DW, Rodas LAC, Pachioli ML, Cardoso RP, Scandar SAS. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2005; 21(4):1278-1286.

Cardoso JC, Paula MB, Fernandes A, Santos E, Almeida MAB, Fonseca DF, Sallum MAM. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in na Atlantic Forest área on the North coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Journal of Vector Ecology* 2011; 36(1):175-186.

Cardoso JC, Paula MB, Fernandes A, Santos E, Almeida MAB, Fonseca DF, Sallum MAM. Novos registros e potencial epidemiológico de algumas espécies de mosquitos (Diptera, Culicidae), no Estado do Rio Grande do Sul. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba 2010a; 43(5).

Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E, Fonseca DF, Sallum MAM, Noll CA, Monteiro HAO, Cruz ACR, Carvalho VL, Pinto EV, Castro FC, Neto JPN, Segura MNO, Vasconcelos PFC. Yellow fever vírus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008. *Emerging Infectious Diseases* 2010b; 16(12):1918-1924.

Carvalho MSL. Avaliação da susceptibilidade do *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal em 2000 e 2001. [Dissertação] Mestrado Acadêmico – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, Distrito Federal, 2002.

Carter HR. Yellow fever: an epidemiological and historical study of its place of origin. *American Journal of Tropical Medicine*. The Williams and Wilkins Baltimore company 1931; p.308.

Chastel C. Les origines de La fievre jaune. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1998; 58: 59-66.

Colwell R, Coddington J. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of Royal Society of London, Series B* 1994; 345:101-118.

Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz 1994; p.228.

Costa ZGA. Estudo das características epidemiológicas a febre amarela no Brasil, nas áreas fora da Amazônia legal, período de 1999 a 2003. [Dissertação] Mestrado Profissional em Vigilância em Saúde - Escola

Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Brasília, Distrito Federal, 2005.

Dalla Bona AC, Twerdochlib AL, Navarro-Silva MA. Detecção do vírus da dengue em populações naturais de mosquitos. Boletín de Malariología y Salud Ambiental, 2011, 50(2).

De Paula SO & Fonseca BAL. Dengue: A review of the laboratory tests a clinican must know to achieve a correct disgnosis. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2004, 8: 390-398.

Degallier N, Teixeira JMS, Soares SS, Pereira RD, Santuzza CFP, Chaib AJM, Vasconcelos PFC, Oliveira E. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. Rev. Saúde Pública. 2003; 37(3):386-387.

Degallier N, Travassos-da-Rosa APA, Hervé JP, Travassos-da-Rosa JFS, Vasconcelos PFC, Mangabeira-da-Silva CJ, Barros VLRS, Dias LB, Travassos-da-Rosa ES, Rodrigues SG. A comparative study of yellow fever in Africa and South America. Brazilian Journal of the Association for Advancement of Science 1992a.

Degallier N, Teixeira JMS, Chaib AJM, Barbosa HF, Carvalho MSL, Oliveira C. Avaliação do risco de transmissão silvestre da dengue no Brasil. Inf. Epidemiol. SUS 2001.

Degallier N, Teixeira JMS, Chaib AJM, Barbosa HF, Rios JA. Estudos experimentais sobre competência vetorial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* para os vírus da dengue e febre amarela. Informe epidemiológico do SUS 2001.

Degallier N, Travassos-da-Rosa APA, Vasconcelos PFC, Travassos-da-Rosa ES, Rodrigues SG, Gregório CSF, Travassos-da-Rosa JFS. New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. Ciência & Cultura. Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science 1992b.

Dégallier N, Vilarinhos PTR, Dusi RM. Aspectos ecoepidemiológicos da dengue e do *Aedes aegypti* no Distrito Federal, Brasil. Revista de Saúde do Distrito Federal 9(2): 59-63, 1998.

Digoutte JP, Cornet M, Deubel V, Downs WG. Yellow fever. In: Porterfield JS ed Exotic Viral Infections, Chapman Hall Medical, London 1995; p. 67-102.

Distrito Federal. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Subsecretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria de Vigilância

Epidemiológica. Boletim Epidemiológico do Distrito Federal, 2008. Epidemiologia da Febre Amarela Silvestre no Distrito Federal. Ailton Domicio da Silva, Adelson Guimarães da Costa, Francisca Sueli da Silva Lima. p.4-5 [cited 2011 jun 1] Available from: <http://www.saude.df.gov.br/sites/300/373/00000206.pdf>

Domingo-Carrasco C, Gascón-Bustrenga J. Dengue y otras fiebres hemorrágicas virales. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica 2005; 23(10): 615-626.

Donalisio MR. O Dengue no espaço habitado. São Paulo: Hucitec/Funcraf, 1999.

Dorvillé LFM. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. Stud Neotrop Environ 1996; 31:68-78.

Estrada-Franco JG, Craig JRGB. Biology, disease relationships, and control of *Aedes albopictus*. Washington, Pan American Health Organization, 1995; p.42.

Fé NF, Barbosa MG, Fé FAA, Guerra MVF, Alecrim WD. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do Estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36(3): 343-348.

Figueiredo LTM. Emergent arboviruses in Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop 2007; 40 (2): 224-229.

Figueiredo LTM, Fonseca BAL. Febre Amarela. In: Veronesi, R et al. Tratado de Infectologia. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2005; p. 389-397.

FIOCRUZ. Bio-Manguinhos assina acordo para produzir nova vacina contra febre amarela. [Internet]. Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); [updated 2011 jan 31, cited 2012 mar 26] Available from: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/component/content/article/45/355--bio-manguinhos-assina-acordo-para-produzir-nova-vacina-contr-febre-amarela>

Fonseca BM, Fonseca SNS. Dengue Virus Infections. Current Opinion in Pediatrics, 2002, v.14, p.67-71.

Forattini OP. Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002; p.804.

Forattini OP. Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil. Rev Saude Publica 1986; 20:5.

Forattini O.P, Massad E. Culicidae vectors and anthropic changes in a southern Brazil natural ecosystem. *Ecosystem Health* 1998; 4:9-19.

Forattini OP, Lopes OS, Rabello EX. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Públ* 1968; 2: 111-173.

Franco O. A História da febre amarela no Brasil. Brasília: Sucam, Ministério da Saúde, 1969.

Friebe B. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens. Die Käferfauna. *Carolinea* 1983; 41: 45-80.

Garham PCC, Harper JO, Highton RB. The mosquitoes of the Kaimosi forest, Kenya colony, with special reference to yellow fever. *Bull. ent. Res.* 1946; 36:473-496.

Gerhardt RR, Gottfried KL, Apperson CS, Davis BS, Erwin PC, Smith AB. First isolation of La Crosse Virus from naturally infected *Aedes albopictus*. *Emerging infectious Diseases* 2001; 7:807-811.

Germain M, Saluzzo JF, Cornet JP, Hervé JP, Sureau P, Camicas L, Robin Y, Salaun JJ, Hème G. Isolement du virus de La fièvre jaune à partir de La ponte et de larves d'une tique *Amblyomma variegatum*. *C. R. Acad. Sc., Paris* 1979; 289: 635-637.

Gomes AC, Torres MAN, Gutierrez MFC, LEMOS FL, Lima MLN, Martins JF. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizooticas de febre amarela nas Regiões Sudeste e Sul do Brasil (Diptera: Culicidae). *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2008; 17:71-76.

Gomes AC, Torres MAN, Paula MB, Fernandes A, Marassá AM. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, Brasília 2010; 19(2).

Gotelli N, Colwell R. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 2001; 4:379-391.

Gubler DJ, Kuno G, Sather E, Valez M, Olivre A. Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1984, 33: 158-165.

Guimarães AE, Arle M, Machado RNM. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil: II. Distribuição vertical. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 1985; 80(2).

Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant'anna A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina. II Frequência mensal e fatores climáticos. *Revista de Saúde Pública* 2001; 35: 392-399.

Guimarães AE, Lopes CM, Melo RP, Alencar J. Mosquito (Diptera, Culicidae) ecology in the Iguaçu National Park, Brazil. 1 – Habitat distribution. *Cad. Saúde Pública*, 2003, 19(4):1107-1116.

Haddow AJ. The Natural history of yellow fever in Africa. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 1968; 70:191-227.

Hervé JP, Dégallier N, Travassos-da-Rosa APA, Sá Filho GC. A febre amarela silvestre no Brasil e os riscos de propagação urbana. *Higéia Médica*, Belém 1985; 7:31-40.

Hervé JP, Dégallier N, Travassos-da-Rosa APA. Ecologia da Febre Amarela no Brasil. *Revista da Fundação SESP*, Belém, 1983.

Ibañez-bernal S, Briseño B, Mutebi JP, Argot E, Rodríguez G, Martínez-Campos C, Paz R, Fuente PS, Conner RT, Flisser A. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, Oxford 1997; 11(10):305-309.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Parque Nacional de Brasília. [Internet]. (ICMBio). [cited 2012 jan 10] Available from: <http://www.icmbio.gov.br/portal/o-que-fazemos/visitacao/ucs-abertas-a-visitacao/213-parque-nacional-de-brasilia>

Igarashi, A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. *Journal General Virology*, 1978, 40: 531-544.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia Gráfico das Normais Climatológicas. [Internet]. (INMET). [cited 2012 mar 26] Available from: <http://www.inmet.gov.br/html/clima/graficos/plotGraf.php?chklist=2%2C&capit a=brasilia%2C&peri=99%2C&per6190=99&precipitacao=2&brasilia=16&Enviar=Visualizar>

Jentes ES, Pomeroy G, Gershman MD, Hill DR, Lemarchand J, Rosamund FL, Staples JE, Tomori O, Wilder-Smith A, Monath TP. The revised global yellow fever risk map and recommendations for vaccination, 2010: consensus of the Informal WHO Working Group on Geographic Risk for Yellow Fever. *Lancet Infectious Disease* 2011; 11:622–32.

Johnson BW, Chambers TV, Crabtree MB, Filippis AMB, Vilarinhos PTR, Resende MC, Macoris MLG, Miller BR. Vectors competence of Brazilian

*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* for Brazilian yellow fever virus isolate. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene 2003; 96:611-613.

Julião GR, Abad-Franch R, Oliveira L, Luz SLB. Measuring Mosquito Diversity Patterns in an Amazonian Terra Firme Rain Forest. Journal of Medical Entomology 2010; 47(2):121-128.

Laval R. Epidemia de fiebre amarilla en Tocopilla: 1912. Revista chilena de infectologia, Chile 2003; (20):100-101.

Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filippis AMB, Failloux AB. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States and Cayman Islands. American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene 2003; 69:105-114.

Magurran AE. Measuring Biological Diversity. Blackwell Science Ltd, Oxford, 2004.

Marcondes CB. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. São Paulo: Atheneu, 2009:558.

Marcondes CB. Entomologia Médica e Veterinária. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2011:526.

Mathers CD, Lopez AD, Murray CJL. The burden of disease and mortality by condition: data, methods and results for 2001. In: Lopez, A. D.; C. D. Mathers; M. Ezzati; D. T. Jamison & C. J. L. Murray (ed.). Global burden of disease and risk factors. New York, Oxford University Press/The World Bank 2006.

Miller BR, Ballinger ME. *Aedes albopictus* mosquitoes introduced into Brazil: vector competence for yellow fever and dengue viruses. R. Soc. Trop. Med, 1988.

Mitchell CJ. Vector competence of North and South American strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses: a review. J. Amer. Mosq. Control. Assoc., 1991; 7:446-51.

Mitchell CJ, Miller BR. Vertical transmission of dengue viruses by strains of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil. J. Am. Mosq. Control Assoc., 1990; 6: 251-253.

Monath TP. Flavivirus. In: FIELDS, B.N.;KNIPE, D.M. (eds). *Virology*. 2.ed., New York: Raven Press,1990; 736-814.



Monath TP. Yellow fever. In Monath TP (ed) Arboviruses: ecology and epidemiology. Volume V, CRC Press, Boca Raton 1988; 139-241.

Monath TP. Yellow fever: an update. The Lancet Infectious Diseases 2001; (1):11-20.

Mondet B, Vasconcelos PFC, Travassos-da-Rosa APA, Travassos-da-Rosa ES, Rodrigues SG, Travassos-da-Rosa JF. Isolation of yellow fever virus from nulliparous *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* in western Amazonian. Vector Borne and Zoonotic Diseases 2002; 2:47-50.

Montes J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. Revista de Saúde Pública, 2005; 39(4):578-84.

Moreno ES, Rocco IM, Bergo ES, Brasil RA, Siciliano MM, Suzuki A, Silveira VR, Bisordi I, Souza RP. Reemergence of yellow fever: detection of transmission in the State of São Paulo, Brazil, 2008. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44(3): 290-296, 2011.

Mutebi JP, Wang H, Li L, Bryant JE, Barrett AD. Phylogenetic and evolutionary relationships among yellow fever virus isolates in Africa. Journal of Virology 2001; 75: 6999-7008.

Nobre A, Antezana D, Tauil PL. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 1994; 27(supl.III): 59-66.

Obara MT, Monteiro H, Gomes AC, Yoshizawa MAC, Vieira ARL. Infecção natural de *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* pelo vírus da Febre Amarela no Distrito Federal, Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde. No prelo 2012.

Onyango CO, Grobbelar AA, Gibson GVF, Sang RC, Sow A. Yellow fever outbreak, Southern Sudan, 2003. Emerg. Infect. Dis, 2004,10:1668-70.

OPAS - Organización Panamericana de la Salud. Estudio sobre la factibilidad de la erradicación de *Aedes aegypti*. CE118/16 (Esp.). Washington: Organización Mundial de la Salud, 1966.

OPAS – Organização Panamericana de Saúde. Yellow fever. 2008 ([www.paho.org](http://www.paho.org)). In: MARCONDES, Carlos Brisola. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. São Paulo: Atheneu, 2009; p.18.

OMS. Yellow fever: Geographical distribution. [Internet] Organização Mundial de Saúde (OMS) [cited 2011 dec 12] Available from: <http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/impact1/en/>

Osanai CH. A epidemia de dengue em Boa Vista, Território Federal de Roraima, 1981-1982. Rio de Janeiro. Mestrado [Dissertação em Saúde Pública] Escola Nacional de Saúde Pública, Fiocruz, 1984.

Pajot FX, Geoffroy B, Chippaux JP. Ecologie d' *Haemagogus janthinomys* Dyar (Diptera, Culicidae) em Guyane française. Cah. ORSTOM. Sér. Entomol. Méd Parasitol. 1985; 23:209-16.

Papavero N, Guimarães JH. The taxonomy of brasilian insects vectors of transmissible diseases (1900-2000) – then and now. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(1):109-118.

Pinheiro FP, Travassos-da-Rosa APA, Moraes MAP, Neto JCA, Camargo S, Filgueiras FP. An epidemic of yellow fever in Central Brazil, 1972-1973. II. Ecological studies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1981; 30: 204-211.

Pinto CS, Confalonieri UEC, Mascarenhas BM. Ecology of *Haemagogus* sp. and *Sabethes* sp. (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2009; 104(4).

Ramirez P, John E, Yanoviak, Stephen P, Lounibos L, Philip, et al. Distribución vertical de *Haemagogus janthinomys* (dyar) (diptera: culicidae) en bosques de la amazonia peruana. Rev. Perú. med. exp. salud pública, 2007; 24.

Reinert, J. F. Mosquito generic and subgeneric abbreviations (Diptera: Culicidae). Mosquito System 1975; 7:105-110.

Ribeiro ALM, Miyazaki MS, Zeilhofer P. Spatial and Temporal Abundance of Three Sylvatic Yellow Fever Vectors in the Influence Area of the Manso Hydroelectric Power Plant, Mato Grosso, Brazil. Journal of Medical Entomology, 49 (1):223-226, 2012.

Ribeiro JF, Walter BMT. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: Sano SM, Almeida SP. Cerrado: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC,1998.

Ricotta C. Through the jungle of biological diversity. Acta Biotheor 2005; 53(1):29-38.

Rodaniche E, Galindo P, Johnson CM. Isolation of yellow fever virus from *Haemagogus lucifer*, *H. equines*; *H. spegazzinii falco*; *Sabethes chloropterus* and *Anopheles neivai* captured in Panama in the fall of 1956. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1957; 6:681-5.

Rodrigues WC. Dives – Diversidade de espécies. Versão 2.0. Software e Guia do Usuário, 2005. [cited 2012 mar 25] Available from: <http://www.ebras.vbweb.com.br>

Romano APM, Ramos DG, Araújo FAA, Siqueira GAM, Ribeiro MPD, Leal SG, Elkhoury ANMS. Febre amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, 2011.

Rosso S. Amostragem, Repartição Espacial e Diversidade – Dominância de Comunidades de Costões Rochosos: uma Abordagem Metodológica. São Paulo. Labmar. 1996;p.23.

Sallum MAM, Schultz TR, Wilkerson RC. Phylogeny of Anophellinae (Diptera Culicidae) base don morphological characters. Ann Entomol Soc Am. 2000; 93(4):745-775.

Saluzzo JF. Caracteristiques des souches du virus de la fièvre jaune isolées de la ponte et des larves d'une tique *Amblyomma variegatum* récoltée à Bangui Centrafique. Ann. Virol. Inst. Pasteur 1980; 131:155-165.

Samuel PP & Tyagi BK. Diagnostic methods for detection e isolation of dengue viruses from vector mosquitoes. Indian Journal of Medical Research, 2006, 123: 615-628.

Santos JP, Obara MT, Cavalcante KRLJ, Steinke E. Culicídeos encontrados em áreas próximas à piscina velha do Parque Nacional de Brasília, DF. Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde 2008: p.157-162.

Segura, Maria de Nazaré de Oliveira; Castro, Francisco Corrêa. Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira: Características específicas de insetos hematófagos da familia Culicidae. Belém: Instituto Evandro Chagas – MS/SVS, 2007.

Service, M. W. Mosquitoes (Culicidae), p. 120-240. *In*: Lane, R. P. & R. W. Crosskey. Medical insects and arachnids. London, United Kingdom, Chapman & Hall, 1993, 744p.

Shannon RC, Whitman L, Franca M. Yellow fever virus in jungle mosquitoes. Science 1938; 88:110–11.

Silva JMC, Felfili JM, Nogueira PE, Rezende AV. Análise florística das Matas de Galeria no Distrito Federal. *In*: Jose Felipe Ribeiro (ed). Cerrado: Matas de Galeria. Brasília, Embrapa 1998; p.53-84.

Silva JS, Pacheco JB, Alencar J, Guimarães AE. Biodiversity and influence of climatic factors on mosquitoes (Diptera: Culicidae) around the Peixe

Angical hydroelectric scheme in the state of Tocantins, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2010; 105(2): 155-162.

Silveira NS, Nakano O, Barbin D, Nova NAV. Manual de ecologia dos insetos. São Paulo, CERES 1976; p.419.

Singh KRP, Brown AWA. Nutritional requirements of *Aedes aegypti*. L. J. Insect. Physiol, 1957.

Soares VARC, Rodrigues WC, Cabral MMO. Estudo de áreas e depósitos preferenciais de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) no Município de Paracambi – Rio de Janeiro, Brasil. Entomobrasilis 2008, 1: 63-68.

Soper FL, Penna E, Serafim JR, Frobisher M, Pinheiro J. Yellow fever without *Aedes aegypti*. Study of a rural epidemic in the Valle do Chanaan, Espírito Santo, Brazil. American Journal Epidemiology, 1932;18(3):555-587.

Soper FL. Yellow fever. In: Taylor, B. Z. Clinical Tropical Medicine. New York: Ed. Paul B. Hoeber 1944; p.391-420.

Souza RP, Petrella S, Coimbra TLM, Maeda AY, Rocco IM, Bisordi I. Isolation of yellow fever virus (YFV) from naturally infected *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (diptera, culicidae) in São Paulo State, Brazil, 2009. Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo 2011;53(3).

Strode GK. Yellow fever. New York: McGraw-Hill, 1951; p.427-538.

Tauil PL. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. Revista de Saúde Pública 2010;44(3):555-8.

Tauil PL. Febre amarela – risco de reemergência em áreas urbanas. Médicos, HC-FMUSP, 1998; 1(3):50-53.

Tauil PL, Santos JB, Moraes MAP. Febre Amarela. Cap. 150, PP. 1755-65. In: Coura, J. R. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Rio de Janeiro, 2005.

TERRACAP - Companhia Imobiliária de Brasília. Infraestrutura – Começa a construção do Noroeste. [Internet] (TERRACAP). [cited 2012 mar 10] Available from: <http://www.terracap.df.gov.br/internet/index.php?sccid=35&ctuid=479>

Tikasingh, E. S.; B. Hull; E. Laurent & D. D. Chadee. Entomological activities during the yellow fever epidemic in Trinidad, 1978-1980. Bulletin of the Society Vector Ecology, 1990, 15: 41-47.

Tubaki RM, Menezes RMT, Vesgueiro FT, Júnior RPC. Observations on *Haemagogus janthinomys* Dyar (Diptera: Culicidae) and other mosquito populations within tree holes in a gallery forest in the northwestern region of Sao Paulo state, Brazil. *Neotrop. entomol.*, 2010;39(4).

Valentin JL. *Ecologia Numérica – Uma Introdução à Análise Multivariada de Dados Ecológicos*. Rio de Janeiro. Interciência 2000; p.117.

Vainio J, Cutts F. *Yellow fever*. Geneva: World Health Organization. Document WHO/EPI/GEN/98 1998.

Vasconcelos P.F.C, Travassos RAPA, Pinheiro FP, Degalier N, Travassos JFS. Febre Amarela. In: LEÃO, R.N.Q. (coord.). *Doenças infecciosas e parasitárias: Enfoque Amazônico*. Belém: CEJUP: UEPA: Instituto Evandro Chagas 1997a; 17:164-184.

Vasconcelos PFC, Rodrigues SG, Dégallier N, Moraes MAP. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. *Am J Trop Med Hyg* 1997b.

Vasconcelos PFC. Febre amarela. Sociedade Brasileira de Pediatria, Rio de Janeiro, 2000.

Vasconcelos PFC, Costa ZGA, Travassos-da-Rosa ES, Luna E, Rodrigues SG, Monteiro HAO, Travassos-da-Rosa JF. Epidemic of jungle yellow fever in Brazil: implications of climatic alterations in disease spread. *J Med Virol* 2001a; 65:598-604.

Vasconcelos PFC, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Monath TP, Laval C, Costa ZGA. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. *Lancet* 2001b; 358:91-7.

Vasconcelos PFC, Travassos-da-Rosa APA, Rodrigues SG, Travassos-da-Rosa ES, Monteiro HAO, Travassos-da-Rosa JFS. Yellow fever in Pará State, Amazon Region of Brazil, 1998-1999: entomologic and epidemiologic findings. *Emerging Infectious Diseases*, 2001c.

Vasconcelos PFC. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco de reurbanização. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 2002; 5:(3):244-258.

Vasconcelos PFC. Febre Amarela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2003; 36:275-293.

Vasconcelos PFC, Sperb AF, Monteiro HAO, Torres MAN, Mardini LBFL, Rodrigues SG. Isolations of yellow fever from *Haemagogus leucocelaenus* in

Rio Grande do Sul, Brazil in the Southern Cone. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 97, 2003.

Vasconcelos PFC, Bryant JE, Rosa APAT, Tesh RB, Rodrigues SG, Barrett ADT. Genetic divergence and dispersal of yellow fever virus. Emerging Infectious Diseases 2004; 10:1578-1584.

Vasconcelos PFC. Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas. Rev. Saúde Pública, São Paulo 2010; 44(6).

Waddel MB, Taylor RM. Studies on cyclic passage of yellow fever virus in South American mammals and mosquitoes; marsupials (*Metachirus nudicaudatus* and *Marmosa*) in combination with *Aedes aegypti* as vector. Am. J. Trop. Med., 1948; 28:87-100.

Wattam AR, Christensen BM. Further evidence that the genes controlling susceptibility of *Aedes aegypti* to filarial parasites function independently. J. Parasitol. 1992; 78:1092-5.

Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. Nature 2007; 447:279-83.

White LA. Susceptibility of *Aedes albopictus* C6/36 cells to viral infection. Journal of Clinical Microbiology, 1987, 25:1221-1224.

WHO - World Health Organization. Prevention and control of yellow fever in África. Geneva: World Health Organization, 1985; p.94.

WRBU - Walter Reed Biosystematics Unit. Systematic Catalog of Culicidae. [Internet] Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU). [cited 2012 Jan 12] Available from: <http://www.mosquitocatalog.org/default.aspx>

Yoshizawa MAC. Diversidade e frequência de espécies de culicídeos em criadouros no Distrito Federal.[Monografia] Especialização em Entomologia – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1995.

Zeidler JD, Acosta POA, Barrêto PP, Cordeiro JS. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. Rev Saúde Pública 2008; 42(6): 986-91.

## 9. APÊNDICES

### 9.1 Artigo submetido à Revista Brasileira de Entomologia

Estratificação vertical e distribuição mensal de espécies de culicídeos (Diptera, Culicidae) em mata de galeria no Parque Nacional de Brasília, Brasil, com ênfase nos potenciais vetores de febre amarela

Ana Raquel Lira-Vieira<sup>1,3</sup>, Rodrigo Gurgel-Gonçalves<sup>2</sup>, Israel Martins Moreira<sup>3</sup>, Maria Amélia Cavalcanti Yoshizawa<sup>3</sup>, Milton Lopes Coutinho<sup>3</sup>, Paulo Sousa Prado<sup>4</sup>, Jorge Lopes de Souza<sup>4</sup>, Antônio Jesus de Melo Chaib<sup>4</sup>, João Suender Moreira<sup>4</sup>, Cleudson Nery de Castro<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pós-graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília (UnB). Campus Universitário Darcy Ribeiro – Asa Norte Brasília – DF. Caixa Postal 4517. CEP 70904-900. anarlira@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (UnB). Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília-DF, CEP: 70904-970, Caixa Postal: 4569. rgurgel@unb.br

<sup>3</sup>Núcleo dos Laboratórios de Entomologia e Animais Peçonhentos, Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal, Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. SAIN Estrada do Contorno do Bosque – Lote 4, Asa Norte – Brasília – DF/ CEP: 70620-000. nulep.dival@gmail.com

<sup>4</sup>Núcleo de Virologia. Gerência de Biologia Médica. Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Endereço: SGAN Qd. 601 Lotes O/P, Asa Norte – Brasília – DF/ CEP: 70830-010 nv.gbm.lacendf@gmail.com

**Autor para correspondência:** Rodrigo Gurgel Gonçalves. Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (UnB). Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília-DF, CEP: 70904-970, Caixa Postal: 4569. E mail: rgurgel@unb.br

**ABSTRACT:** Vertical stratification and monthly distribution of culicid species (Diptera, Culicidae) in gallery forest in the Brasilia National Park, Brazil, with emphasis on potential vectors of yellow fever. Between september 2010 and august 2011, mosquitoes were captured monthly for five consecutive days, from 9 to 15 hours in ground and canopy. Mosquitoes were examined to verify the natural infection with flavivirus by the technique of isolation in *Aedes albopictus* Skuse, 1864 cells, followed by indirect immunofluorescence. We identified 2677 culicids distributed in 29 species. Most mosquitoes were captured at ground level (69%) and in the rainy season (86%). The most abundant species were *Sabethes (Sabethes) albiprivus* Theobald, 1903; *Limatus durhamii* Theobald, 1901; *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar & Shanon, 1924; *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921; *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* Rondani, 1848; *Psorophora (Janthinosoma) ferox* Von Humboldt, 1819, and *Aedes (Ochlerotatus) serratus* Theobald, 1901. *Hg. janthinomys*, *Li. durhamii*, *Ps. ferox*, *Ae. scapularis* and *Ae. serratus* showed significant differences ( $p < 0.05$ ) for habitat use. *Hg. janthinomys* was more caught in canopy, unlike the other species. In the rainy season the most abundant species were *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus* and *Hg. janthinomys*. In the dry season the potential vectors of yellow fever showed a very low frequency and abundance, except *Ae. scapularis* and *Ae. serratus*. Despite the flavivirus was not detected in 2677 mosquitoes examined, it is recommended the



continuation of entomological monitoring in the park, and other areas vulnerable to the transmission of yellow fever in DF.

KEYWORDS: Flavivirus; *Haemagogus*; mosquitoes; vector ecology.

RESUMO: Estratificação vertical e distribuição mensal de espécies de culicídeos (Diptera, Culicidae) em mata de galeria no Parque Nacional de Brasília, Brasil, com ênfase nos potenciais vetores de febre amarela. Entre setembro de 2010 e agosto de 2011, mosquitos foram capturados, mensalmente, durante cinco dias consecutivos, entre 9 e 15 horas em solo e copa. Os mosquitos foram examinados para verificar infecção por flavivirus pela técnica de isolamento em células de *Aedes albopictus* Skuse, 1864, seguida por imunofluorescência indireta. Foram identificados 2677 culicídeos, distribuídos em 29 espécies. A maioria dos mosquitos foi capturada ao nível do solo (69%) e na estação chuvosa (86%). As espécies mais abundantes foram *Sabethes (Sabethes) albiprivus* Theobald, 1903; *Limatus durhamii* Theobald, 1901; *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar & Shanon, 1924; *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921; *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* Rondani, 1848; *Psorophora (Janthinosoma) ferox* Von Humboldt, 1819 e *Aedes (Ochlerotatus) serratus* Theobald, 1901. *Hg. janthinomys*, *Li. durhamii*, *Ps. ferox*, *Ae. scapularis* e *Ae. serratus* apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto ao uso do habitat. *Hg. janthinomys* foi mais capturado em copa, ao contrário das demais espécies. Na estação chuvosa, as espécies mais abundantes foram *Sa. albiprivus*, *Hg. leucocelaenus* e *Hg. janthinomys*. Na estação seca, os potenciais vetores de febre amarela apresentaram baixa frequência e abundância, exceto *Ae. scapularis* e *Ae. serratus*. Apesar do flavivirus não ter sido detectado nos 2677

mosquitos examinados, recomenda-se a continuação do monitoramento entomológico no parque e em outras áreas vulneráveis à transmissão da febre amarela no DF.

PALAVRAS-CHAVE: Ecologia de vetores; flavivirus; *Haemagogus*; mosquitos.

## INTRODUÇÃO

Os culicídeos têm sido muito estudados devido ao seu papel na transmissão de doenças tropicais como malária, dengue e febre amarela (Marcondes, 2011). De acordo com Mathers *et al.* (2006), as doenças infecciosas transmitidas por mosquitos têm alto impacto em saúde pública, representando aproximadamente 15% de todos os DALY (Anos de Vida Ajustados por Incapacidade) atribuídos às doenças infecciosas e parasitárias em todo o mundo.

A febre amarela (FA) é uma doença febril aguda resultante de uma infecção por arbovírus do gênero *Flavivirus* (Vasconcelos, 2003), que se mantém endêmica ou enzoótica na África e nas Américas Central e do Sul (Marcondes, 2011; OMS, 2011). Esta doença é um grande problema de saúde pública, por apresentar altas taxas de letalidade (Barrett & Higgs, 2007). Do ponto de vista epidemiológico, podem ser diferenciados um ciclo de transmissão urbano e um silvestre (Tauil, 2010). No ciclo da FA urbana, o homem é o único reservatório e o vetor conhecido é o *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762. A FA silvestre tem os primatas não-humanos (PNH) como os principais hospedeiros e está associada principalmente aos vetores dos gêneros *Haemagogus* Williston, 1876 e *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827, os quais possuem hábitos acrodendrófilos (Dégallier *et al.*, 1992; Forattini, 2002).

O Brasil é o país com a maior área endêmica de FA do mundo, com cerca de 5 milhões de km<sup>2</sup> (Tauil *et al.*, 2005). No período de 2000 a 2009 foram registrados 320 casos da doença, com 152 óbitos distribuídos por 15 estados brasileiros. Entre 2007 e 2009 foram confirmados surtos de FA silvestre, acompanhados de epizootias em PNH em oito unidades da federação, principalmente na região extra-amazônica (Gomes *et al.*, 2010; Araújo *et al.*, 2011).

No Distrito Federal (DF), durante o último surto ocorrido entre os anos de 2007 e 2008, foram notificados 90 casos humanos da doença, sendo 15 confirmados laboratorialmente, incluindo oito óbitos (Distrito Federal, 2008). Neste mesmo período, foram notificadas no DF sucessivas mortes de PNH, sendo três confirmadas laboratorialmente para FA (Araújo *et al.*, 2011). Durante investigações entomológicas nas localidades de ocorrência destes casos humanos e de mortes de PNH, foram coletados culicídeos relacionados à transmissão desta arbovirose, resultando em isolamento do vírus amarelo a partir de *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921 e *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar e Shannon, 1924 (Obara *et al.*, 2012).

O Parque Nacional de Brasília (PNB) é um ponto turístico da cidade e recebe em média 260.000 visitantes ao ano. Nesta unidade de conservação estão presentes populações de PNH (ICMBIO, 2012), além de mosquitos dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus* (Obara *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2008). Acresce-se ainda, que durante o surto de FA silvestre ocorrido entre 2007 e 2008 no DF, foram registradas mortes de PNH no PNB (Obara *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2008). É importante salientar, a construção do Setor Habitacional Noroeste (SHN), nas proximidades do PNB. Estes elementos sinalizam para o risco de transmissão do vírus amarelo neste local. Com

isso, dá-se a importância de se conhecer e mensurar a riqueza de espécies de culicídeos no PNB, com ênfase nos potenciais vetores de FA, bem como identificar precocemente a circulação do vírus amarelo nesta unidade de conservação; o que caracteriza um importante estudo de contribuição à vigilância desta arbovirose no âmbito do DF.

Nesse contexto, os objetivos do trabalho foram: 1) analisar a riqueza e abundância das espécies de culicídeos capturadas em diferentes estratos da mata de galeria e entre as estações climáticas no PNB, com ênfase nos potenciais vetores de FA; 2) Verificar, dentre os mosquitos capturados, o percentual de infectados pelo vírus amarelo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O DF está localizado na região Centro-Oeste do Brasil, entre os paralelos 15°30' e 16°03' de latitude sul e os meridianos 47°25' e 48°12' de longitude oeste, inserido no bioma Cerrado. A temperatura média anual varia de 18° a 22°C. A precipitação média anual varia entre 1.200 mm e 1.700 mm (Silva *et al.*, 1998), porém desigualmente distribuída ao longo dos meses, com uma estação seca bem definida. A distribuição mensal da precipitação acumulada no DF pode ser agrupada em quatro períodos trimestrais. Entre junho e agosto registra-se uma precipitação média igual a zero (período de seca). Para abril, maio e setembro verifica-se uma média igual a 70 mm (período intermediário). Entre outubro e dezembro fica registrada uma média de 216 mm (1° trimestre de chuva) e entre janeiro e março observa-se uma média de 220 mm (2° trimestre de chuva) (INMET, 2012).

O PNB, administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), é uma área de conservação ambiental, com aproximadamente 42.389,01 hectares, onde verifica-se grande diversidade de flora e fauna. Esta unidade é também uma das opções de lazer da região, tendo as piscinas como as principais atrações do parque. O PNB está situado na porção noroeste do DF, distando aproximadamente 10 km do centro da cidade (ICMBIO, 2012) e apenas 2 km do SHN, cuja construção teve início ao final de 2009 (TERRACAP, 2012).

Foram escolhidos dois pontos de captura em mata de galeria nas proximidades da piscina velha do PNB, distando 200m um do outro (coordenadas ponto 1: latitude 15°44'13.5"S e longitude 47°55'37.6"O; coordenadas ponto 2: latitude 15°44'18.6"S e longitude 47°55'41.6"O). A eleição destes pontos foi baseada no encontro de árvores propícias para a construção de plataformas. Em cada ponto foi construída uma plataforma, a uma altura de 6m do solo.

### **Capturas entomológicas**

Para a realização das capturas, foram utilizados puçá entomológico e capturador de Castro (Brasil, 2011). O capturador utilizado apresenta um tubo acoplado de 15 x 2,5cm, onde os espécimes coletados permaneciam armazenados.

De setembro de 2010 a agosto de 2011 foram realizadas, mensalmente, capturas de culicídeos adultos, durante cinco dias consecutivos, no período de 9 às 15 horas, com um intervalo entre 12 e 13 horas, totalizando 60 dias de coleta. As capturas entomológicas representam uma das atividades de rotina da Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal (DIVAL), desempenhadas por servidores, devidamente imunizados e capacitados para este fim. Utilizando adequados procedimentos de segurança e equipamentos de proteção individual, uma

dupla permanecia em cada ponto, sendo uma pessoa em solo e outra na plataforma construída na copa da árvore.

### **Identificação dos mosquitos**

Ao final das atividades diárias, os espécimes capturados foram levados ao laboratório de entomologia da DIVAL, e anestesiados por refrigeração à  $-6^{\circ}\text{C}$ . Os exemplares contidos em cada tubo foram transferidos para criotubos devidamente identificados e mantidos em nitrogênio líquido.

Os exemplares coletados foram identificados, com auxílio de chaves dicotômicas disponíveis em Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002). A identificação ocorria sobre mesa fria a  $-26^{\circ}\text{C}$ , com auxílio de microscópio estereoscópico. Todos os exemplares capturados, separados em 302 lotes de acordo com a espécie e ponto de captura, foram enviados ao Laboratório Central de Saúde Pública do DF (LACEN/DF), acondicionados em criotubos e armazenados em nitrogênio líquido, para isolamento do vírus amarílico.

### **Isolamento viral**

A técnica para isolamento de flavivirus a partir de mosquitos utilizada no LACEN/ DF é baseada na sensibilidade de células de *Aedes albopictus* Skuse, 1864 (clone C6/36) a vários flavivirus (Igarashi, 1978). Para o cultivo destas células foram utilizadas garrafas para cultura celular, contendo meio Leibovitz L-15®.

Cada lote de mosquitos continha entre um e 20 exemplares de uma única espécie. Cada lote foi macerado em eppendorf com uma solução de antibióticos, contendo penicilina, estreptomicina e anfotericina B, para serem inoculados individualmente em tubos de cultura contendo células C6/36 e mantidos em estufa entre  $24$  e  $25^{\circ}\text{C}$ , por aproximadamente oito dias. Uma vez cultivadas, as células

inoculadas com a amostra foram observadas diariamente em microscópio óptico invertido para visualização de possível efeito citopático. A confirmação da infecção viral foi realizada pela técnica de imunofluorescência indireta com anticorpos policlonais de flavivirus (Gubler *et al.*, 1984).

### **Análise dos dados**

Para a avaliação da suficiência amostral e da abundância das espécies, foram construídas as curvas de acumulação de espécies e de distribuição de abundância, respectivamente (Gotelli & Colwell, 2001; Cardoso *et al.*, 2011), com auxílio do Programa EXCEL.

A constância dos culicídeos foi avaliada pela fórmula  $C\% = (p/N)$ , onde  $p$  = número de ocasiões de amostragens em que determinada espécie foi coletada e  $N$  = número total de dias amostrados. Assim, foi categorizada em: constante (>50%), acessória (25-50%) e acidental (<25%) (Silveira Neto *et al.*, 1976). A dominância das espécies foi definida de acordo com as categorias estabelecidas por Friebe (1983), sendo expressa por  $D\% = (i/t)$ , onde  $i$  é o total de indivíduos de uma determinada espécie e  $t$  o total de indivíduos coletados. Desta forma, as categorias estabelecidas foram: eudominante ( $D > 10\%$ ), dominante ( $D > 5-10\%$ ), subdominante ( $D > 2-5\%$ ), eventual ( $D > 1-2\%$ ) e rara ( $D < 1\%$ ).

Para mensurar a diversidade de espécies de culicídeos foram estimados os índices de Diversidade de Shannon-Wiener, Equitabilidade de Shanon-Wiener e Dominância de Berger Parker. A análise dos dados e as estimativas dos índices foram realizadas utilizando o programa DivEs – Diversidade de Espécies versão 2.0 (Rodrigues, 2005).

Para analisar a abundância de culicídeos em diferentes estações climáticas foi utilizado inicialmente o teste de Kolmogorov-Smirnov, para verificar a normalidade da variável “número de indivíduos capturados”, sendo observada a distribuição não-paramétrica. A variação do número de indivíduos capturados entre as estações climáticas (seca, intermediária, 1º trimestre de chuva e 2º trimestre de chuva) foi explorada pelo teste Kruskal-Wallis. Nessa análise, considerou-se a abundância diária das sete espécies mais capturadas no estudo como variável dependente. A ocorrência diária dessas espécies em solo e copa ao longo dos 60 dias foi comparada usando testes qui-quadrado. Os testes foram realizados no programa Statistica®, estabelecido o nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Entre setembro de 2010 e agosto de 2011 foram coletados no PNB 2677 fêmeas de culicídeos, pertencentes às subfamílias Culicinae (n=2607; 97,4%) e Anophelinae (n=70; 2,6%). Da subfamília Culicinae foram registrados espécimes de dez gêneros e 25 espécies (Tabela I). No total, 1848 culicídeos (69%) foram capturados no nível do solo.

Foram coletadas 12 espécies de importância na transmissão de FA, distribuídas nos gêneros *Aedes* Meigen, 1818; *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827; *Haemagogus* e *Sabethes*, o que representa um total de 1715 exemplares (64%).

De acordo com a curva de acumulação de espécies (Fig. 1), o esforço amostral total (60 dias de coleta) foi satisfatório para representar a riqueza de espécies de culicídeos, indicando uma tendência à estabilização do número acumulado de espécies a partir do 54º dia de coleta.



A Fig. 2 mostra a curva de distribuição de abundância das espécies. As mais abundantes foram *Sabethes (Sabethes) albiprivus* Theobald, 1903; *Limatus durhamii* Theobald, 1901; *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* Dyar e Shannon, 1924; *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921; *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* Rondani, 1848; *Psorophora (Janthinosoma) ferox* Von Humboldt, 1819 e *Aedes (Ochlerotatus) serratus* Theobald, 1901. Juntas, estas sete espécies representam 86,4% da abundância total. Dentre as demais, seis foram representadas por um único espécime.

As sete espécies mais abundantes também foram as consideradas constantes. Cinco táxons foram considerados acessórios e os outros dezessete acidentais. Observou-se, ainda, que, de acordo com a dominância, apenas três espécies foram classificadas como eudominantes (*Sa. albiprivus*, *Li. durhamii* e *Hg. leucocelaenus*). Outras três foram dominantes (*Hg. janthinomys*, *Ae. scapularis* e *Ps. ferox*), quatro foram consideradas subdominantes (*Ae. serratus*, *Cq. arribalzagae*, *An. kompi* e *Sa. belisarioi*), duas foram classificadas como eventuais e todas as demais foram consideradas raras (Tabela I).

Quanto à distribuição mensal dos culicídeos capturados, verificou-se maior abundância durante o 1º e 2º trimestres de chuva, sendo coletados 86,2% dos culicídeos neste período. Verifica-se que no 1º trimestre de chuva foi coletado o maior número de culicídeos, tanto em copa quanto em solo (Tabela II).

Os maiores índices de diversidade, equitabilidade e riqueza de espécies de culicídeos foram detectados em solo (Tabela III). O Índice de Dominância de Berger-Parker foi similar entre os dois estratos. Dentre as estações climáticas, foi observada uma maior riqueza de espécies no 2º trimestre de chuva. O maior índice de

equitabilidade foi evidenciado na estação intermediária e o maior índice de dominância na estação seca (Tabela III).

O número de espécimes capturados foi estatisticamente diferente entre as quatro estações climáticas para *Li. durhamii* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 35,2$ ;  $p<0,01$ ), *Hg. leucocelaenus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 41,1$ ;  $p<0,01$ ), *Hg. janthinomys* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 37,6$ ;  $p<0,01$ ), *Sa. albiprivus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 37,4$ ;  $p<0,01$ ), *Ps. ferox* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 18,6$ ;  $p<0,01$ ) e *Ae. serratus* (Kruskal-Wallis  $H_{3,60}= 17,5$ ;  $p<0,01$ ). Essas espécies foram mais abundantes nos trimestres chuvosos. Na estação seca os potenciais vetores de FA apresentaram uma baixíssima frequência e abundância, com exceção de *Ae. scapularis* e *Ae. serratus*.

Analisando-se as sete espécies de culicídeos mais abundantes quanto à estratificação vertical, foram detectadas diferenças significativas entre a ocorrência de mosquitos em solo e copa para as espécies *Hg. janthinomys* ( $\chi^2=4,9$ ;  $p=0,02$ ), *Li. durhamii* ( $\chi^2=4,0$ ;  $p=0,04$ ), *Ps. ferox* ( $\chi^2=3,9$ ;  $p=0,04$ ), *Ae. scapularis* ( $\chi^2=12,1$ ;  $p<0,01$ ) e *Ae. serratus* ( $\chi^2=24,4$ ;  $p<0,01$ ). Com exceção de *Hg. janthinomys*, essas espécies foram mais frequentes em solo. Considerando a abundância mensal desses culicídeos, observou-se que *Hg. janthinomys* foi mais abundante em copa, diferente das demais espécies (Fig. 3).

Nenhum dos 302 lotes de mosquitos ( $n=2677$ ) enviados ao Laboratório de Virologia – LACEN/ DF para isolamento de arbovírus apresentou resultado positivo para flavivirus.

## **DISCUSSÃO**

Os resultados do presente estudo mostram que a abundância e riqueza de espécies de culicídeos em mata de galeria no PNB são maiores em solo e na estação

chuvosa. Mesmo espécies com reconhecido hábito acrodendrófilo, como *Hg. janthinomys*, foram coletadas frequentemente em solo, conforme os achados de Alencar *et al.* (2005) e Ramírez *et al.* (2007). Os resultados indicam que a sazonalidade é um fator crucial para explicar a riqueza e abundância de fauna de culicídeos em matas de galeria no Cerrado, assim como já observado em outros biomas brasileiros (Forattini, 2002; Julião *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2012).

Dentre as espécies identificadas neste estudo, 11 já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da FA: *Ae. aegypti*, *Ae. scapularis*, *Ae. serratus*, *Ps. albipes*, *Ps. ferox*, *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys*, *Hg. tropicalis*, *Sa. chloropterus*, *Sa. soperi* e *Sa. albiprivus* (Argentina, 2011; Brasil, 2009; Cardoso *et al.*, 2010b; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994; Mondet *et al.*, 2002; Obara *et al.*, 2012; Vasconcelos *et al.*, 2003).

O encontro de três exemplares da espécie essencialmente urbana, *Ae. aegypti*, sinaliza quanto ao risco potencial de reurbanização da FA no DF, tendo em vista que este vetor encontra-se amplamente distribuído no DF e em todos os estados do País (Braga & Valle, 2007). A ocorrência desta espécie em ambientes urbanos tem sido muito relatada, entretanto, fora da área antrópica as informações são escassas. Barbosa *et al.* (2008) e Soares *et al.* (2008) relatam a presença da espécie em área rural no estado do Amazonas e no Rio de Janeiro. Tauil (2010) salienta a dificuldade em identificar se alguns casos de FA são transmitidos por vetores silvestres ou urbanos, tendo em vista a proximidade de locais de ocorrência da doença com áreas infestadas pelo *Ae. aegypti*.

Ambientes ainda considerados silvestres são fortemente influenciados pelo rápido processo de urbanização, onde o crescimento populacional e habitacional

geram modificações ambientais capazes de contribuir para o estabelecimento de espécies de mosquitos melhor adaptadas ao ambiente antrópico (Forattini *et al.*, 1998). O DF tem sofrido consideráveis alterações ambientais causadas pela expansão de sua área urbana, que pode alterar o comportamento de espécies de culicídeos presentes no PNB. A ocorrência no PNB de espécies conhecidamente urbanas e bem adaptadas a ambientes antropizados, como *Ae. aegypti* e *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say, 1823 poderia ser atribuída às modificações ecológicas ocorridas com a construção do SHN.

Outra espécie detectada durante a pesquisa, que apresenta relevante importância na transmissão de arboviroses é o *Ae. albopictus*. A competência desta espécie, em condições laboratoriais, para infectar-se e transmitir arbovírus, incluindo o vírus da FA já está comprovada (Gomes *et al.*, 2008; Johnson *et al.*, 2003; Lourenço-de-Oliveira *et al.*, 2003). Destaca-se ainda o registro de sua infecção natural com os vírus da encefalite equina do leste (Gerhardt *et al.*, 2001; Mitchell, 1991) e com o vírus da dengue, durante um surto que ocorreu no México (Ibañez-Bernal *et al.*, 1997). Alguns autores admitem a possibilidade de *Ae. albopictus* tornar-se um vetor de ligação entre os ciclos de transmissão silvestre e urbano da FA no Brasil, considerando-se sua facilidade de frequentar, igualmente, os ambientes silvestres, suburbanos e urbanos (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994; Miller & Ballinger, 1988; Soares *et al.*, 2008). Gomes *et al.* (2008) e Albuquerque *et al.* (2000) alertam para a necessidade de monitorar essa espécie no Brasil.

São escassos os estudos relacionados à estratificação vertical de culicídeos na região Centro-Oeste do Brasil (Pinheiro *et al.*, 1981). No presente estudo, foi detectada uma maior ocorrência de espécimes de *Hg. janthinomys* em copa,

reforçando o conhecido comportamento acrodendrófilo desta espécie (Pinto *et al.* 2009, Ramírez *et al.* 2007). Espécimes de *Hg. leucocelaenus* foram muito frequentes em solo. Forattini *et al.* (1968), em São Paulo e Pinto *et al.* (2009), no Pará, também relataram a predominância de *Hg. leucocelaenus* em solo. Já Guimarães *et al.* (1985) destacam a tendência de *Hg. leucocelaenus* a hábitos acrodendrófilos, no Parque Nacional da Serra do Órgãos, Rio de Janeiro. *Ae. scapularis* e *Ae. serratus* apresentaram diferenças significativas quanto ao uso do habitat, sendo mais abundantes em solo. A mesma preferência destas espécies por exercer sua atividade ao nível do solo também foi observada por Fé *et al.* (2003), Forattini *et al.* (1968), Guimarães *et al.* (1985) e Julião *et al.* (2010).

Há evidências indicando que a estratificação vertical pode apresentar-se com maior ou menor intensidade, de acordo com o tipo de cobertura vegetal. Forattini *et al.* (1968) sugerem que esta estratificação é mais evidente nas florestas tropicais úmidas, onde as copas das árvores são altas e densas. Em florestas menos densas e onde ocorrem estações secas prolongadas, tais diferenças tendem a diminuir, conforme verificado no presente estudo.

Outro importante fator a ser considerado é a mobilidade vertical. De acordo com Service (1993), os mosquitos podem ser atraídos por uma fonte alimentar, a uma distância de sete a 30 metros. Forattini *et al.* (1968) e Vasconcelos *et al.* (2001) afirmam que mesmo as espécies predominantemente ativas nos níveis elevados da copa das árvores, como *Hg. janthinomys*, descem comumente ao solo quando detectam a presença de fonte alimentar a fim de realizar hematofagia. Desta forma, a mobilidade vertical dos culicídeos pode enfraquecer as evidências da estratificação

vertical, e obviamente, ter uma influência sobre a dinâmica de transmissão de patógenos (Julião *et al.*, 2010).

Os efeitos da precipitação sobre a abundância total de mosquitos coletados foram evidentes. Verificou-se a forte influência das chuvas no ciclo anual das espécies dos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus*, as quais possuem ovos muito resistentes à dessecação, necessitando às vezes de seguidos contatos com a água para a eclosão (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Situações semelhantes relacionadas a estes gêneros foram descritas em Mato Grosso por Ribeiro *et al.* (2012) e em Tocantins por Silva *et al.* (2010). Estudos realizados no sul do Brasil (Gomes *et al.*, 2010) e em Trinidad (Tikasingh *et al.*, 1990) também indicaram uma maior ocorrência de *Hg. leucocelaenus* nos meses mais chuvosos.

De acordo com Cardoso *et al.* (2010a), o conhecimento prévio das espécies de Culicidae permite formular hipóteses sobre os possíveis vetores em casos de surtos ou epidemias causadas por agentes patogênicos transmitidos por mosquitos. Deste modo, o presente estudo traz como relevância o acréscimo de informações sobre a ecologia de vetores de importância na transmissão de FA. Ao mesmo tempo, tais resultados contribuirão para alicerçar a sustentabilidade dos programas de imunização e de educação ambiental entre os usuários do PNB.

Recomenda-se o monitoramento entomológico nesta e em outras áreas vulneráveis à transmissão do vírus da FA, não apenas para ampliar os conhecimentos ecológicos, como também avaliar o perfil de infecção natural desses vetores. Mesmo não sendo obtidos isolamentos virais a partir dos espécimes capturados neste estudo, a realização de estudos continuados relacionados à infecção natural de culicídeos é de suma importância, por ser um instrumento preditor de eventos relacionados à FA

e outras arboviroses. Tais informações contribuirão para um melhor entendimento do verdadeiro papel vetorial das espécies que ocorrem no âmbito do DF. Recomenda-se, ainda, atenção especial por parte dos órgãos competentes, principalmente nas ações de vigilância de mortes de PNH e nos programas de vacinação contra FA aos frequentadores do PNB.

### **AGRADECIMENTOS**

Aos técnicos da DIVAL, pela dedicação e empenho na execução das capturas, em especial a Crispim Carvalho da Silva, pelo esmero na construção das plataformas e a Deusédimo Coelho Mesquita pela realização do georreferenciamento dos pontos de captura. Ao ICMBio e por toda a Equipe de servidores do PNB, pelo apoio e por ter autorizado a realização desta pesquisa. Ao Dr. Pedro Tauil pela revisão do manuscrito.

### **REFERÊNCIAS**

- Albuquerque, C. M. R.; M. A. V. Melo-Santos; M. A. S. Bezerra; R. M. R. Barbosa; D. F. Silva & E. Silva. 2000. Primeiro registro de *Aedes albopictus* em área da Mata Atlântica, Recife, PE, Brasil. **Revista de Saúde Pública** **34**: 314-315.
- Alencar, J.; E. S. Lorosa; N. Dégallier; N. M. Serra-Freire; J. B. Pacheco & A. E. Guimarães. 2005. Feeding patterns of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. **Journal of Medical Entomology** **42**: 981-985.
- Araújo, F. A. A.; D. G. Ramos; A. L. Santos; P. H. O. Passos; A. N. S. M. Elkhoury; Z. G. A. Costa; S. G. Leal & A. P. M. Romano. 2011. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** **20**: 527-536.

- Argentina. Ministerio de Salud y Ambiente. Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas. **Informe Anual 2009 – 2010**. 2011. Pergamino: Ministerio de Salud y Ambiente, 31p.
- Barbosa, M. das G. V.; N. F. Fé; A. H. R. Marcião; A. P. T. da Silva; W. M. Monteiro; M. V. de F. Guerra & J. A. de O. Guerra. 2008. Registro de Culicidae de importância epidemiológica na área rural de Manaus, Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **41**: 658–663.
- Barrett, A. D. T. & S. Higgs. 2007. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. **Annual Review of Entomology** **52**: 209-229.
- Braga, I. A. & D. Valle. 2007. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde** **16**: 113-118.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2009. **Guia de vigilância epidemiológica**. Ministério da Saúde. 7 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 816p.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011. Nota técnica Nº 59/2011. Recomendações de priorização das atividades de investigação entomológica e padronização dos métodos de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial de Febre Amarela. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt\\_59\\_2011\\_in\\_entm\\_fbr\\_amarl\\_corr\\_02\\_01\\_2012.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt_59_2011_in_entm_fbr_amarl_corr_02_01_2012.pdf) (acessado em 28 de maio de 2012).
- Cardoso, J. C.; M. B. Paula; A. Fernandes; E. Santos; M. A. B. Almeida; D. F. Fonseca; M. A. M. Sallum. 2010a. Novos registros e potencial epidemiológico de algumas espécies de mosquitos (Diptera, Culicidae), no Estado do Rio



Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **43**: 552-556.

Cardoso, J. C.; M. A. B. Almeida; E. Santos; D. F. Fonseca; M. A. M. Sallum; C. A. Noll; H. A. O. Monteiro; A. C. R. Cruz; V. L. Carvalho; E. V. Pinto; F. C. Castro; J. P. N. Neto; M. N. O. Segura; P. F. C. Vasconcelos. 2010b. Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008. **Emerging Infectious Diseases** **16**: 1918-1924.

Cardoso, J. C.; M. B. Paula; A. Fernandes; E. Santos; M. A. B. Almeida; D. F. Fonseca; M. A. M. Sallum. 2011. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic Forest área on the North coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. **Journal of Vector Ecology** **36**: 175-186.

Consoli, R. A. G. B. & R. Lourenço-de-Oliveira. 1994. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, Fiocruz, 228p.

Dégallier, N.; A. P. A. Travassos-da-Rosa; J. P. Hervé; J. F. S. Travassos-da-Rosa; P. F. C. Vasconcelos; C. J. Mangabeira-da-Silva; V. L. R. S. Barros; L. B. Dias; E. S. Travassos-da-Rosa & S. G. Rodrigues. 1992. A comparative study of yellow fever in Africa and South America. **Brazilian Journal of the Association for Advancement of Science** **44**: 143-161.

Dégallier, N.; J. M. S. Teixeira; S. S. Soares; R. D. Pereira; C. F. P. Santuzza; A. J. M. Chaib; P. F. C. Vasconcelos & E. Oliveira. 2003. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. **Revista de Saúde Pública** **37**: 386-387.

Distrito Federal. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Boletim Epidemiológico – 2008. Epidemiologia da

Febre Amarela. Disponível em:

<http://www.saude.df.gov.br/sites/300/373/00000206.pdf> (acessado em 01 de julho de 2011).

- Fé, N. F.; M. G. V. Barbosa; F. A. A. Fé; M. V. F. Guerra & W. D. Alecrim. 2003. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do Estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36(3):** 343-348.
- Forattini O. P.; O. S. Lopes & E. X. Rabello. 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública 2:** 111-173.
- Forattini, O. P.; L. Kakitani; G. R. A. A. Marques & M. Brito. 1998. Formas imaturas de anofelineos em recipientes artificiais. **Revista de Saúde Pública 32:** 189- 191.
- Forattini, O. P. 2002. **Culicidologia Médica: identificação, biologia e epidemiologia.** vol. 2, São Paulo, EDUSP, 864p.
- Friebe, B. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens. Die Käferfauna. 1983. **Carolinea 41:** 45-80.
- Gerhardt, R. R.; K. L. Gottfried; C. S. Apperson. 2001. First isolation of La Crosse Virus from Naturally infected *Aedes albopictus*. **Emerging infectious Diseases 7:** 807-811.
- Gomes, A. C.; M. A. N. Torres; M. F. C. Gutierrez; F. L. Lemos; M. L. N. Lima; J. F. Martins & Z. G. A. Costa. 2008. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizoóticas de febre amarela nas Regiões Sudeste e Sul do Brasil (Diptera: Culicidae). **Epidemiologia e Serviços de Saúde 17:** 71-76.

- Gomes, A. C.; M. A. N. Torres; M. B. Paula; A. Fernandes; A. M. Marassá; C. A. Consales & D. F. Fonseca. 2010. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** **19**: 101-113.
- Gotelli, N. & R. Colwell. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology Letters** **4**: 379-391.
- Gubler, D. J.; G. Kuno; E. Sather; M. Valez & A. Olivre. 1984. Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **33**: 158-165.
- Guimarães, A. E.; M. Arle & R. N. M. Machado. 1985. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil: II. Distribuição vertical. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**: 171-185.
- Ibañez-Bernal, S.; B. Briseño; J. P. Mutebi; E. Argot; G. Rodríguez; C. Martínez-Campos; R. Paz; P. S. Fuente; R. T. Conver & A. Flisser. 1997. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. **Medical and Veterinary Entomology** **11**: 305-309.
- ICMBio-Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2012. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/o-que-fazemos/visitacao/ucs-abertas-a-visitacao/213-parque-nacional-de-brasilia> (acessado em 10 de janeiro de 2012).
- Igarashi, A. 1978. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. **Journal General Virology** **40**: 531-544.

- INMET-Instituto Nacional de Meteorologia. 2012. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/clima/graficos/plotGraf.php?chklist=2%2C&capit a=brasil%2C&peri=99%2C&per6190=99&precipitacao=2&brasil%2C=16&Enviar=Visualizar> (acessado em 26 de março de 2012).
- Johson, B. W; T. V. Chambers; M. B. Crabtree; A. M. B. Filippis; P. T. R. Vilarinhos; M. C. Resende; M. L. G. Macoris & B. R. Miller. 2003. Vector competence of Brazilian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* for Brazilian yellow fever virus isolate. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene** **96**: 611-613.
- Julião, G. R.; R. Abad-Franch; R. Lourenço-de-Oliveira & S. L. B. Luz. 2010. Measuring Mosquito Diversity Patterns in an Amazonian Terra Firme Rain Forest. **Journal of Medical Entomology** **47**: 121-128.
- Lourenço-de-Oliveira, R.; M. Vazeille; A. M. B. Filippis & A. B. Failloux. 2003. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States and Cayman Islands. **American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene** **69**: 105-114.
- Marcondes, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. 2011. São Paulo, Atheneu, 526p.
- Mathers, C. D.; A. D. Lopez & C. J. L. Murray. 2006. The burden of disease and mortality by condition: data, methods and results for 2001, 45-240 p. In: Lopez, A. D.; C. D. Mathers; M. Ezzati; D. T. Jamison & C. J. L. Murray (ed.). **Global burden of disease and risk factors**. New York, Oxford University Press/The World Bank, 475p.

- Miller, B. R. & M. E. Ballinger. 1988. *Aedes albopictus* mosquitoes introduced into Brazil: vector competence for yellow fever and dengue viruses. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** **82**: 476-477.
- Mitchell, C. J. 1991. Vector competence of North and South American strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses: a review. **Journal of the American Mosquito Control Association** **7**: 446-51.
- Mondet, B.; P. F. C. Vasconcelos; A. P. A. Travassos-da-Rosa; S. G. Rodrigues; J. F. S. Travassos-da-Rosa & D. J. Bicout. 2002. Isolation of yellow fever virus from nulliparous *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* in western Amazonian. **Vector Borne and Zoonotic Diseases** **2**: 47-50.
- Obara M. T.; H. Monteiro; M. B. Paula; A. C. Gomes; M. A. C. Yoshizawa; A. R. Lira-Vieira; M. I. Rao-Boffil & M. S. L. Carvalho. 2012. Infecção natural de *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* pelo vírus da Febre Amarela no Distrito Federal, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. No prelo.
- Organização Mundial de Saúde (OMS) 2011. Yellow fever: Geographical distribution. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/impact1/en/> (acessado em 12 de dezembro de 2011).
- Pinheiro FP, Travassos da Rosa APA, Moraes MAP. 1981. An epidemic of yellow fever in Central Brazil, 1972-1973. II. Ecological studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **30**: 204-211.

- Pinto, C. S.; U. E. C. Confalonieri & B. M. Mascarenhas. 2009. Ecology of *Haemagogus* sp. and *Sabethes* sp. (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 592-598.
- Ramírez, P.; E. John; S. P. Yanoviak & L. P. Lounibos. 2007. Distribución vertical de *Haemagogus janthinomys* (dyar) (diptera: culicidae) en bosques de la amazonía peruana. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica** **24**: 40-45.
- Ribeiro, A. L. M.; M. S. Miyazaki; P. Zeilhofer. 2012. Spatial and Temporal Abundance of Three Sylvatic Yellow Fever Vectors in the Influence Area of the Manso Hydroelectric Power Plant, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Medical Entomology** **49**: 223-226.
- Rodrigues, W.C. 2005. DivES – Diversidade de espécies. Versão 2.0. Software e Guia do Usuário. Disponível em: <http://www.ebras.vbweb.com.br> (acessado em 25 de março de 2012).
- Santos, J. P.; M. T. Obara; K. R. L. J. Cavalcante & E. Steinke. 2008. Culicídeos encontrados em áreas próximas à piscina velha do Parque Nacional de Brasília, DF. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde** **3**: 157-162.
- Service, M. W. 1993. Mosquitoes (Culicidae), p. 120-240. *In*: Lane, R. P. & R. W. Crosskey. **Medical insects and arachnids**. London, United Kingdom, Chapman & Hall, 744p.
- Silva, J. M. C.; J. M. Felfili; P. E. Nogueira & A. V. Rezende. 1998. Análise florística das Matas de Galeria no Distrito Federal, p. 53-84. *In*: Ribeiro, J. F. **Cerrado: Matas de Galeria**. Brasília, Embrapa, 164p.

- Silva, J. S.; J. B. Pacheco; J. Alencar & A. E. Guimarães. 2010. Biodiversity and influence of climatic factors on mosquitoes (Diptera: Culicidae) around the Peixe Angical hydroelectric scheme in the state of Tocantins, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **105**: 155-162.
- Silveira Neto, S.; O. Nakano; D. Barbin & N. A. V. Nova. 1976. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo, CERES, 419 p.
- Soares, V. A. R. C.; W. C. Rodrigues & M. M. O. Cabral. 2008. Estudo de áreas e depósitos preferenciais de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) no Município de Paracambi – Rio de Janeiro, Brasil. **Entomobrasilis** **1**: 63-68.
- Tauil, P. L.; J. B. Santos & M. A. P. Moraes. Febre Amarela. Cap. 150. *In*: Coura, J. R. 2005. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, 2020p.
- Tauil, P. L. 2010. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. **Revista de Saúde Pública** **44**: 555-8.
- TERRACAP-Companhia Imobiliária de Brasília. 2012. Disponível em: <http://www.terracap.df.gov.br/internet/index.php?sccid=35&ctuid=479> (acessado em 10 de março de 2012).
- Tikasinh, E. S.; B. Hull; E. Laurent & D. D. Chadee. 1990. Entomological activities during the yellow fever epidemic in Trinidad, 1978-1980. **Bulletin of the Society Vector Ecology** **15**: 41-47.
- Vasconcelos, P. F. C. 2002. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco de reurbanização. **Revista Brasileira de Epidemiologia** **5**: 244-258.

Vasconcelos, P. F. C.; A. F. Sperb; H. A. O. Monteiro; M. A. N. Torres; M. R. S. Souza; H. B. Vasconcelos; L. B. L. F. Mardini & S. G. Rodrigues. 2003. Isolations of yellow fever from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul, Brazil in the Southern Cone. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** **97**: 60-62.

Vasconcelos, P. F. C.; A. P. A. Travassos-da-Rosa; S. G. Rodrigues; E. S. Travassos-da-Rosa; H. A. O. Monteiro; A. C. R. Cruz; V. L. R. Barros & M. R. S. Travassos-da-Rosa. 2001. Yellow fever in Pará State, Amazon Region of Brazil, 1998-1999: entomologic and epidemiologic findings. **Emerging Infectious Diseases** **7**: 565-569.



Tabela I. Número de indivíduos nos diferentes estratos (solo e copa) e classificação de dominância e constância das espécies de culicídeos detectadas no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, no período de setembro/ 2010 a agosto/ 2011.

Espécies	Habitats		Total	%	Dom.*	Const.**
	Solo	Copa				
<b>Anophelinae</b>						
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis</i> Robineau-Desvoidy, 1827	0	1	1	0,03	Rr	Ac
<i>Anopheles (Lophopodomyia) gilesi</i> Peryassu, 1908	9	1	10	0,37	Rr	Ac
<i>Anopheles (Stethomyia) kompi</i> Edwards, 1930	52	2	54	2,01	Sd	A
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) parvus</i> Chagas, 1907	5	0	5	0,18	Rr	Ac
<b>Culicinae</b>						
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	2	1	3	0,11	Rr	Ac
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> Skuse, 1864	10	0	10	0,37	Rr	Ac
<i>Aedes (Protomacleaya) argyrothorax</i> Bonner & Wepster, 1919	15	4	19	0,70	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> Lutz, 1904	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i> Dyar & Knab, 1907	12	7	19	0,70	Rr	Ac
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> Rondani, 1848	178	22	200	7,46	D	C
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> Theobald, 1901	100	7	107	3,99	Sd	C
<i>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</i> Wiedemann, 1821	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) arribalzagae</i> Theobald, 1903	55	10	65	2,42	Sd	A
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar & Knab, 1906	32	2	34	1,26	Ev	A
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say, 1823	10	0	10	0,37	Rr	Ac
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	542	86	628	23,45	E	C
<i>Limatus flavisetosus</i> de Oliveira Castro, 1935	39	14	53	1,97	Ev	A

<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> Theobald, 1901	6	0	6	0,22	Rr	Ac
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> Theobald, 1907	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> Von Humboldt, 1819	113	24	137	5,11	D	C
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	2	0	2	0,07	Rr	Ac
<i>Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala</i> Dyar & Knab, 1906	0	1	1	0,03	Rr	Ac
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> Dyar & Shannon, 1924	181	157	338	12,62	E	C
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921	64	151	215	8,03	D	C
<i>Haemagogus (Haemagogus) tropicalis</i> Cerqueira & Antunes, 1938	1	0	1	0,03	Rr	Ac
<i>Sabethes (Sabethes) albiprivus</i> Theobald, 1903	402	286	688	25,70	E	C
<i>Sabethes (Sabethes) belisarioi</i> Neiva, 1908	10	43	53	1,97	Sd	A
<i>Sabethes (Sabethoides) chloropterus</i> Von Humboldt, 1819	2	2	4	0,14	Rr	Ac
<i>Sabethes (Peytonulus) soperi</i> Lane & Cerqueira, 1942	3	8	11	0,41	Rr	Ac
TOTAL	1848	829	2677	100		

\*Dom. (Dominância): E=Eudominante (D>10%), D=Dominante (D> 5-10%), Sd=Subdominante (D> 2-5%), Ev=Eventual (D> 1-2%) e Rr=Rara (D<1%).

\*\*Const. (Constância): C=Constante (C>50%), A=Acessória (C> 25-50%) e Ac=Acidental (C<25%).

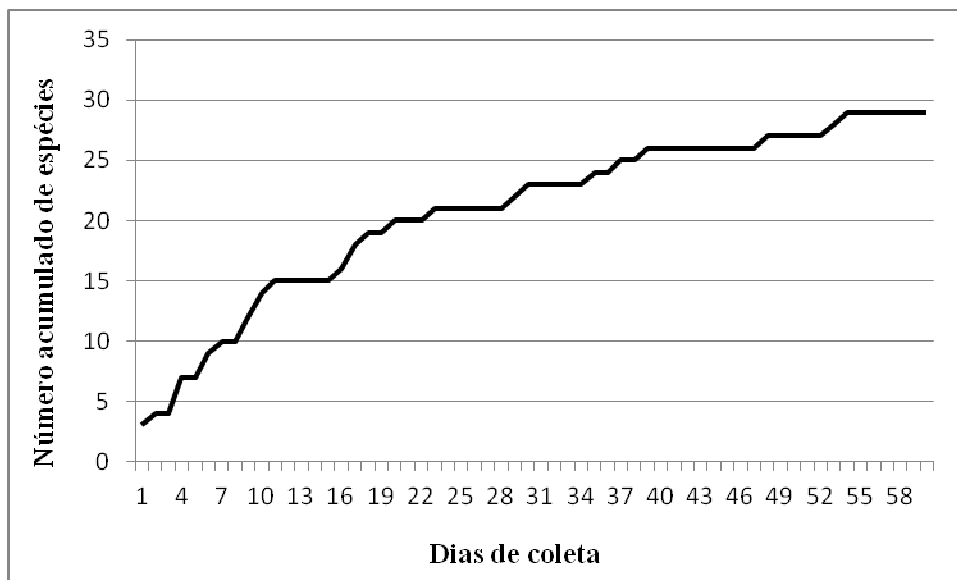
Tabela II. Número de culicídeos capturados nas estações climáticas segundo a precipitação média do trimestre em nível de copa e solo em mata de galeria no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Estações climáticas	Meses	Precipitação média (mm)	Número de Culicídeos		
			Copa	Solo	Total
Intermediária	abril, maio e setembro	70	68	156	224
1° Trimestre de chuva	outubro, novembro e dezembro	216	433	958	1391
2° Trimestre de chuva	janeiro, fevereiro e março	220	314	605	919
Seca	junho, julho e agosto	0	14	129	143
<b>TOTAL</b>			<b>829</b>	<b>1848</b>	<b>2677</b>

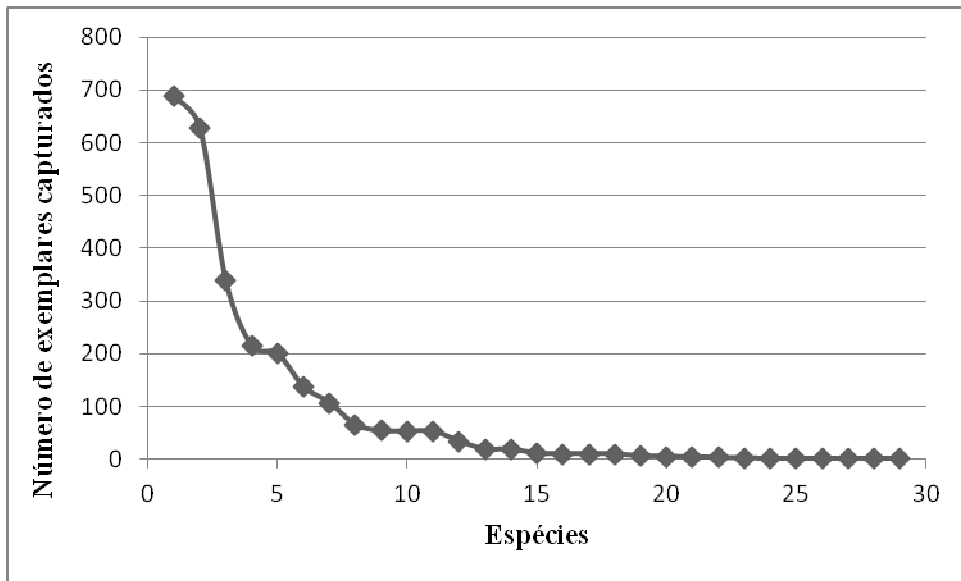
Tabela III. Medidas de diversidade de culicídeos na copa, solo e estações climáticas em mata de galeria do Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, entre setembro/ 2010 e agosto/ 2011.

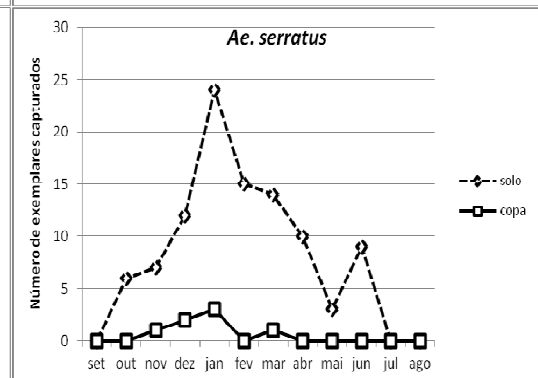
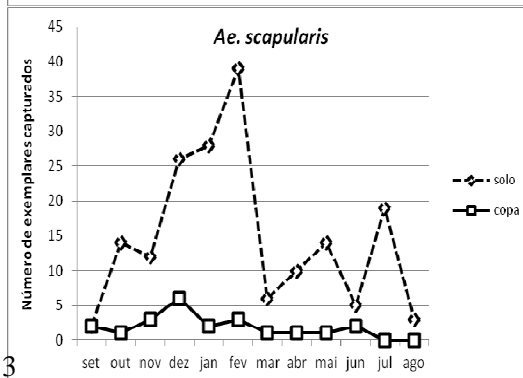
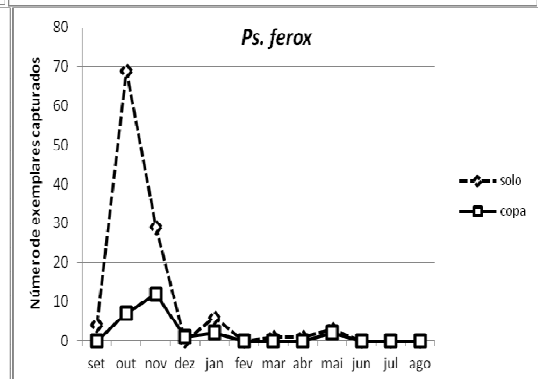
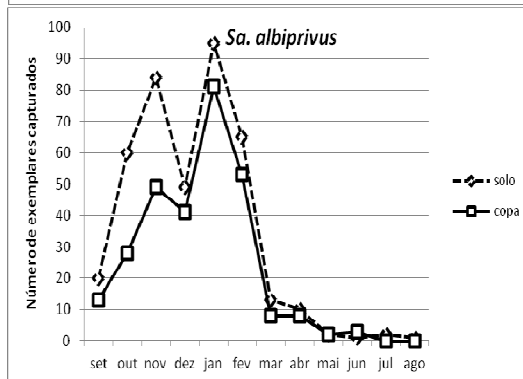
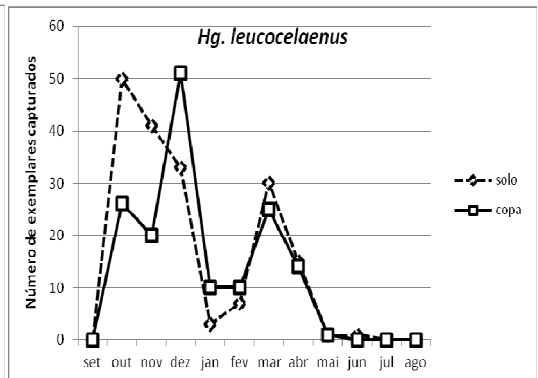
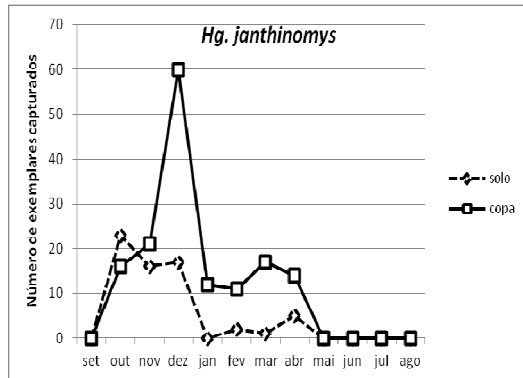
Medidas de diversidade	Habitats		Estações climáticas*			
	copa	solo	I	C1	C2	S
Índice de diversidade de Shanon-Wiener ( $H'$ )	0,838	0,961	1,048	0,867	0,885	1,008
Equitabilidade Shanon-Wiener (J)	0,644	0,671	0,820	0,666	0,670	0,769
Dominância de Berger-Parker ( $D_{bp}$ )	0,035	0,034	0,049	0,042	0,069	0,147
Riqueza	20	27	19	20	21	20

\*I= Intermediária; C1= 1º trimestre de chuva; C2= 2º trimestre de chuva; S= Seca.



1





3

## **Legendas das figuras**

Fig. 1. Curva de acumulação de espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Fig. 2. Curva de distribuição de abundância das espécies de culicídeos capturados entre setembro de 2010 e agosto de 2011, no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Fig. 3. Número de culicídeos capturados das espécies com importância na transmissão de FA no Parque Nacional de Brasília, Distrito Federal, Brasil, em solo e copa ao longo do período (setembro/ 2010 a agosto/ 2011). Foram citadas apenas as espécies mais abundantes, com mais de 100 indivíduos.



## 10. ANEXOS

### 10.1 Nota técnica n°59/ 2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS



MINISTERIO DA SAUDE  
SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAUDE  
DEPARTAMENTO DE VIGILANCIA DAS DOENÇAS TRANSMISSIVEIS  
COORDENAÇÃO-GERAL DE DOENÇAS TRANSMISSIVEIS  
SCS – Quadra 4 Bloco A – 2º Andar – Ed Principal  
CEP 70.304-000 - Brasília/DF  
Tel. (061) 3213-8172/8183/8294

#### NOTA TÉCNICA Nº 59 /2011 – CGDT/DEVIT/SVS/MS

**Assunto: Recomendações de priorização das atividades de investigação entomológica e padronização dos métodos de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial de Febre Amarela**

1. Em função da atual estrutura da rede de entomologia aplicada à vigilância da Febre Amarela (FA) e das limitações existentes no que se refere à operacionalização das ações de campo e à capacidade de processamento das amostras pela rede laboratorial, é necessário priorizar determinadas ações de vigilância entomológica, destacando-se aquelas de investigação de eventos suspeitos, dada sua contribuição na atribuição de causa e na avaliação de risco, principalmente em períodos sazonais de transmissão.

2. Com a finalidade de aperfeiçoar o uso da entomologia aplicada à vigilância da FA, sobretudo da investigação entomológica, e adequar os fluxos à capacidade operacional da rede, esta nota técnica tem como objetivos:

- Definir situações prioritárias para realização da investigação entomológica;
- Padronizar os métodos de investigação relacionados à coleta de amostras de vetores para pesquisa de arbovírus, principalmente o da FA;
- Incentivar o uso dessa ferramenta em situações de suspeita de FA, considerando sua contribuição para a investigação e tomada de decisão.

3. Para tanto, em detrimento das ações sistematizadas de monitoramento entomológico, mesmo que considerado seu potencial preditivo, a investigação entomológica de eventos suspeitos de FA e outras arboviroses é recomendada quando essa ferramenta se apresentar como alternativa para a investigação da causa desses eventos (vínculo epidemiológico). Assim, considerando as capacidades e limitações da rede laboratorial, é necessário priorizar a execução dessa atividade no campo e ponderar em que situações essa ferramenta se mostra mais útil, ainda que não esteja limitada às descritas, a saber:

- Investigação de casos humanos suspeitos de FA:
  - o sem coleta de amostras;

- o com coleta inoportuna de amostras;
  - o com coleta de amostras e resultado não conclusivo para FA ou diferencial.
- Investigação de epizootias em primatas não humanos suspeitas de FA:
    - o sem coleta de amostras;
    - o com coleta inoportuna de amostras;
    - o com coleta de amostras para diagnóstico laboratorial e resultado não conclusivo para FA.
  - Outras situações de relevância epidemiológica não contempladas acima em que a investigação entomológica possa contribuir na determinação da causa, na identificação das espécies vetoras envolvidas e na avaliação do risco de transmissão, sem prejuízo das prioridades estabelecidas.

4. Para o desenvolvimento das atividades de investigação entomológica, é necessária a padronização dos métodos empregados com vistas à comparação dos dados gerados nas diversas unidades federativas, o que contribuirá na estratificação do risco de transmissão (receptividade), com implicações na análise e definição das áreas de risco e das Áreas Com Recomendação de Vacina (ACRV).

5. Assim, nas situações em que a investigação entomológica apresentar potencial para produzir respostas à investigação, deve-se conduzi-la de acordo com os procedimentos descritos:

- i. A investigação entomológica deverá ser realizada no LPI dos casos humanos e epizootias, definido a partir da investigação epidemiológica, considerando o período de incubação, a data de início dos sintomas e o histórico de deslocamentos (exposição a situações de risco);
- ii. A equipe de investigação entomológica deverá ser composta por no mínimo dois profissionais capacitados, devidamente imunizados contra FA, assim como outras vacinas recomendadas para a execução de atividades de campo, os quais deverão exercer as atividades de acordo com as recomendações de biossegurança vigentes. Recomenda-se ampliar para quatro o número de profissionais para aumentar o tamanho amostral, principalmente em localidades com notificação de mais de um caso e/ou epizootia;
- iii. As capturas de mosquitos deverão ocorrer durante pelo menos três dias consecutivos, com início às 9:00h e estendendo-se até as 16:00h, a fim de reunir amostra suficiente, aumentando as chances de isolamento viral;
- iv. Deverão ser selecionados pelo menos dois pontos de captura, definidos a partir de um ponto de referência (LPI), distando de 100 a 200 metros um do outro;



- v. Quando o LPI for próximo de áreas com adensamento populacional, deverá ser realizada a investigação também no ambiente habitado, utilizando a mesma metodologia descrita;
- vi. As coletas deverão ser realizadas utilizando puçá entomológico e aparelho de sucção oral (com ou sem reservatório). Em áreas de mata fechada com dossel florestal elevado, as amostras de mosquitos adultos deverão ser obtidas tanto no nível do solo quanto no nível da copa das árvores;
- vii. Para vetores do vírus FA, as capturas no nível da copa das árvores geralmente têm maior rendimento. Contudo, tal modalidade só deverá ser realizada quando a altura média do dossel florestal for superior a seis metros. Além disso, só é recomendada quando todos os critérios de biossegurança forem atendidos, os quais dependem do método de acesso vertical utilizado. Na impossibilidade de realizar capturas em nível de copa, seja por falta de profissionais capacitados ou de equipamentos adequados, deverá ser desenvolvida a investigação entomológica com capturas apenas no nível do solo;
- viii. As amostras<sup>1</sup> deverão ser separadas por modalidade (solo ou copa, interior da mata ou borda) e local de captura, os quais deverão ser georreferenciados (GPS), preferencialmente no formato "graus, minutos, segundos" (gg° mm' ss.s") e sistema geodésico (*datum*) SAD69. Caso a notação das coordenadas geográficas seja realizada em formato diferente do especificado, o mesmo deverá ser informado na Ficha de Investigação Entomológica de Febre Amarela (ANEXO).
- ix. Os mosquitos capturados deverão ser acondicionados em criotubos (resistentes a ultrabaixa temperatura) e armazenados em nitrogênio líquido (ou gelo seco), ainda vivos, sob risco de inviabilização do isolamento viral. Os tubos deverão ser adequadamente rotulados e envoltos com fita adesiva transparente, de modo que permita a visualização do rótulo, o qual deve conter no mínimo o número de identificação da amostra<sup>1</sup>, acompanhado ou não das seguintes informações: local, data, modalidade e horário de captura; desde que estejam devidamente registradas na Ficha de Investigação Entomológica de Febre Amarela (ANEXO).
- x. A Ficha de Investigação Entomológica de Febre Amarela (ANEXO) deverá ser devidamente preenchida com as informações especificadas acima e, obrigatoriamente, ser encaminhada junto com as amostras, por meio de ofício, do LACEN para o Laboratório de Referência Nacional (LRN). No LACEN, os criotubos deverão permanecer armazenados em nitrogênio líquido ou em freezer a -70°C até o envio ao LRN, que deverá ser feito em embalagem

<sup>1</sup> Entenda-se por amostra os mosquitos capturados no mesmo dia, lugar e intervalo horário, utilizando o mesmo método de coleta e a mesma modalidade (solo ou copa, interior da mata ou borda), mesmo que sejam acondicionados em vários criotubos.

apropriada (isopor), utilizando gelo seco em quantidade suficiente para que as amostras cheguem ao destino em condições adequadas de refrigeração. Não é recomendável enviar a remessa no fim da semana, sob risco de demora no transporte e conseqüente perda das amostras pelo esgotamento do gelo seco;

- xi. Cabe ressaltar que, aos laboratórios estaduais, regionais e municipais de entomologia, não compete a identificação taxonômica dos exemplares capturados quando o objetivo da investigação for o isolamento viral. Tal prática pode inviabilizar o diagnóstico laboratorial, e descaracterizará a prioridade da amostra para processamento e pesquisa de vírus, mesmo que realizada em laboratórios que dispõem de “mesa fria”, salvo no caso de adesão oficial à rede de laboratórios de entomologia (taxonomia e pesquisa de vírus), mediada pelo GT-Arboviroses, em acordo com a Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/SVS/MS);
- xii. A investigação entomológica de eventos relacionados à FA e outras arboviroses deverá ser planejada de forma integrada entre o Laboratório de Entomologia, as Vigilâncias Epidemiológica/Ambiental e o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN), a fim de viabilizar fluxos e encaminhamentos de amostras para diagnóstico adequado e oportuno. Caberá aos serviços de vigilância estaduais informar à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), representada pelo GT-Arboviroses<sup>2</sup> (UVTV/CGDT/DEVIT), sobre as ações de investigação entomológica, preferencialmente no seu planejamento, para acompanhamento da investigação. Cópias dos boletins de campo devem ser remetidas junto com as amostras ao laboratório de referência, assim como ao Programa Nacional de Vigilância da Febre Amarela/SVS/MS, para que sejam realizados o rastreamento das amostras, monitoramento dos testes e encaminhamento dos resultados laboratoriais.

6. A priorização da investigação entomológica de eventos em detrimento do monitoramento entomológico visa conciliar capacidades e limitações, as quais estão sendo avaliadas e serão desenvolvidas em etapas subseqüentes do planejamento, incluindo a ampliação da capacidade operacional e a descentralização da rede laboratorial para taxonomia e diagnóstico, com posterior padronização de metodologias para levantamento de fauna culicídea, monitoramento de populações de mosquitos vetores e predição de risco. Apesar disso, o monitoramento entomológico poderá ser realizado, desde que não prejudique as ações de investigação entomológica, sobretudo em eventos suspeitos de FA.

7. Por fim, ressaltamos que essa iniciativa compõe um planejamento para o desenvolvimento, expansão e consolidação da rede de vigilância entomológica aplicada à vigilância da Febre Amarela e outras arboviroses, cujo escopo é desenvolver e tornar factível o monitoramento

entomológico como instrumento preditor de eventos relacionados à FA e outras arboviroses, considerando as capacidades operacional, laboratorial e técnica, visando subsidiar a tomada de decisão gerencial e a aplicação de medidas de prevenção e controle.

§. Outras informações sobre FA estão disponíveis nos sites oficiais do Ministério da Saúde (<http://www.saude.gov.br/svs>; [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1552](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1552)), ou por meio do Disque Saúde (0800-61-1997).

Brasília, 10 de novembro de 2011

OSÉ RICARDO PIO MARINS  
Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis

Aprovo Nota Técnica,

MARIANA PASTORELLO VEROTTI  
Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis



## 10.2 Autorização para atividades com finalidade científica



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 25151-2	Data da Emissão: 26/10/2010 18:00
<b>Dados do titular</b>	
Nome: ANA RAQUEL LIRA VIEIRA	CPF: 007.470.284-00
Título do Projeto: Levantamento da Entomofauna Vetora de Febre Amarela no Parque Nacional de Brasília	
Nome da Instituição : SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL	CNPJ: 00.394.700/0001-08

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	COLETAS ENTOMOLÓGICAS	09/2010	08/2011

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos, e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, biosspecção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	EDNA DA MOTA BASTOS	CAPTURADOR	329.951.641-87	759659 SSP-DF	Brasileira
2	JOSE MARIA DE QUEIROS E SILVA	CAPTURADOR	247.725.771-49	265657 SJS-PI	Brasileira
3	MARIA DE LOURDES DE MORAES OLIVEIRA	CAPTURADOR	225.110.911-00	1661249 SSP-DF	Brasileira
4	MARIA CRISTINA FARIAS DO NASCIMENTO	CAPTURADOR	221.325.111-87	685718 SSP-DF	Brasileira
5	LEONORA MACEDO DA SILVA	CAPTURADOR	343.297.221-00	893466 SSP-DF	Brasileira
6	MARIA RODRIGUES PINTO LANDIM	CAPTURADOR	221.493.251-87	747119 SSP-DF	Brasileira
7	CRISPIM CARVALHO DA SILVA	CAPTURADOR	271.066.591-34	3151023 SSP-DF	Brasileira
8	SEBASTIÃO PEREIRA DOS SANTOS	CAPTURADOR	146.099.591-00	447957 SSP-DF	Brasileira
9	MILTON LOPES COUTINHO	LABORATORISTA E CAPTURADOR	324.704.871-53	713587 SSP-DF	Brasileira
10	MARIA ELISABETH VENANCIO AIRES	CAPTURADOR	399.260.101-30	1012364 SSP-DF	Brasileira
11	ADENALDO PEREIRA DE CASTRO	CAPTURADOR	179.716.401-53	358187 SSP-DF	Brasileira
12	PEDRO AMERICO BARROSO DA SILVA	CAPTURADOR	005.430.621-39	2217295 SSP-DF	Brasileira
13	Adelmo Carvalho Sobrinho	COORDENADOR DE CAMPO	057.005.231-91	222442 SSP-DF	Brasileira
14	MARIA DO CARMO A. DA SILVA	CAPTURADOR	214.990.711-91	613599 SSP-DF	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 11463679



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 25151-2	Data da Emissão: 26/10/2010 18:00
-----------------	-----------------------------------

#### Dados do titular

Nome: ANA RAQUEL LIRA VIEIRA	CPF: 007.470.284-00
Título do Projeto: Levantamento da Entomofauna Vetora de Febre Amarela no Parque Nacional de Brasília	
Nome da Instituição: SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL	CNPJ: 00.394.700/0001-08

15	MARIA DE FÁTIMA DOS SANTOS	CAPTURADOR	314.708.401-97	792720 SSP-DF	Brasileira
16	FRANCISCA FERNANDES MOTA	CAPTURADOR	233.976.671-00	1537051 SSP-GO	Brasileira
17	SERGIO RICARDO DE MEDEIROS	CAPTURADOR	340.600.061-49	1344732 SSP-DF	Brasileira
18	MIRIAN FELIPE DE OLIVEIRA	CAPTURADOR	379.517.771-53	921818 SSP-DF	Brasileira
19	VALBER ALVES CABRAL	CAPTURADOR	386.242.221-68	888896 SSP-DF	Brasileira
20	EZEQUIAS OLIVEIRA DA SILVA	CAPTURADOR	064.592.343-53	214051 SSP-MA	Brasileira
21	MAURICIO LEYENDECKER DE LIMA	CAPTURADOR	296.661.801-97	713099 SSP-DF	Brasileira
22	MIRIAN FERREIRA ALVES LEAL	CAPTURADOR	493.136.901-44	1227849 SSP-DF	Brasileira
23	SOLANGE RIBEIRO ALVES SANTOS	CAPTURADOR	334.949.671-72	060690 SSP-DF	Brasileira
24	EDVAR YURI PACHECO SCHUBACH	CAPTURADOR	093.436.317-07	8867 CRMV-RJ	Brasileira
25	Cristiane Ribeiro da Silva	Capturadora	942.489.151-20	3999896 dgpc-GO	Brasileira
26	FRANCISCO ROGERIO DE SOUSA PEREIRA	CAPTURADOR	483.112.191-68	1060601 SSP-DF	Brasileira
27	Mauro Maciel de Arruda	CAPTURADOR	460.630.649-15	635749 SSP-SC	Brasileira
28	MARIA CONSTANCIA DA MOTA LEITAO	CAPTURADOR	168.291.405-44	1529210 SSP-BA	Brasileira
29	ENILCE DE OLIVEIRA	CAPTURADOR	098.752.121-72	378491 SSP/DF-DF	Brasileira
30	FRANCISCA MARGARIDA DE CARVALHO BEM	CAPTURADOR	098.312.821-91	361744 SSP-DF	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	BRASÍLIA	DF	PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA	UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Culicidae (*Qtde: 1000)

\* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Captura manual, Rede entomológica, Outros métodos de captura/coleta(Capturador de Castro)
---	---	---

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	SECRETARIA DE ESTADO DE SAUDE DO DISTRITO FEDERAL	TENTATIVA DE ISOLAMENTO VIRAL

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 11463679



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número: 25151-2</b>	<b>Data da Emissão: 26/10/2010 18:00</b>
<b>Dados do titular</b>	
Nome: ANA RAQUEL LIRA VIEIRA	CPF: 007.470.284-00
Título do Projeto: Levantamento da Entomofauna Vetora de Febre Amarela no Parque Nacional de Brasília	
Nome da Instituição : SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL	CNPJ: 00.394.700/0001-08

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 11463679**



Página 3/3



### 10.3 Ficha de investigação entomológica de febre amarela

#### FICHA DE INVESTIGAÇÃO ENTOMOLÓGICA DE FEBRE AMARELA

N° /

<b>1</b> Motivo da captura		Investigação		Outros	
<input type="checkbox"/>	Caso humano suspeito de FA	<input type="checkbox"/>	Caso humano suspeito de outra arbovirose. Especificar: _____	<input type="checkbox"/>	Treinamento
<input type="checkbox"/>	Epizootia em PNH - suspeito FA	<input type="checkbox"/>	Outra epizootia. Animal _____ ; Arbovirose susp. _____	<input type="checkbox"/>	Levantamento de fauna
				<input type="checkbox"/>	Monitoramento
				<input type="checkbox"/>	Pesquisa científica
				<input type="checkbox"/>	Outro: _____
Número da notificação do evento (SINAN) que motivou a investigação entomológica N°					
<b>2</b> Município da captura		Código (IBGE)		<b>3</b> UF	<b>4</b> Zona
					<input type="checkbox"/> Urbana <input type="checkbox"/> Periurbana <input type="checkbox"/> Rural <input type="checkbox"/> Silvestre
<b>5</b> Endereço		<b>6</b> Bairro		<b>7</b> Localidade da coleta	
<b>8</b> Nome do responsável pela investigação		<b>9</b> Órgão responsável		<b>10</b> (DDD) Telefone	
				<b>11</b> e-mail	

#### DADOS DAS CAPTURAS

ID amostra	Data	Horário	Local	Método	Modalidade (solo; copa)	Número de tubos	Latitude *	Longitude *	Temp. mínima (°C)	Temp. máxima (°C)	U.R.A. mínima (%)	U.R.A. máxima (%)

\* As coordenadas geográficas devem ser obtidas no formato "graus, minutos, segundos" (gg°mm'ss.s") e sistema geodésico (datum) SAD69.

**DEVERÁ SER PREENCHIDO UM BOLETIM POR LOCALIDADE**

Os tubos de cada amostra devem ser rotulados com esparadrapo contendo ID, data, horário, local e modalidade da captura.

## 10.4 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina – UnB

Brasília, 28 de julho de 2010

Despacho



À Dr<sup>a</sup> Ana Raquel Lira Vieira

Pesquisadora Principal

Assunto: Dispensa de análise do processo N° 072/2010.

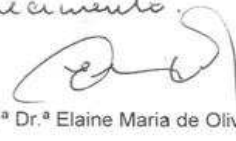
Recebemos  
EM 02 / 08 / 2010  
*Ana Raquel Lira Vieira*  
Assinatura do CEP

O projeto intitulado "Levantamento da entomofauna vetora de febre amarela do Parque Nacional de Brasília" de autoria de Ana Raquel Lira Vieira tem como objetivo conhecer a fauna de mosquitos potenciais vetores da febre amarela no Parque Nacional de Brasília, não envolvendo seres humanos como sujeitos de pesquisa. Por esse motivo não acho que o comitê de ética em pesquisa da FM deva avaliar o mesmo.

*De acordo*

Atenciosamente,

*Do Pesquisador Responsável, para  
conhecimento.*



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elaine Maria de Oliveira Alves

Coordenadora do CEP-FM/UnB

## 10.5 Registro de encaminhamento de amostras ao LACEN/ DF

### REGISTRO DE ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS

**Material:** Culicídeos (mosquitos).

**Origem:** Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde.

**Destino:** Laboratório de Virologia – LACEN/DF.

**Local de realização das coletas:** Parque Nacional de Brasília.

**Período de realização das coletas:** setembro/ 2010 a agosto/ 2011.

**Mês de referência:** setembro/ 2010.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
1	<i>Aedes scapularis</i>	♀	2
2	<i>Aedes scapularis</i>	♀	1
3	<i>Limatus durhamii</i>	♀	13
4	<i>Limatus durhamii</i>	♀	5
5	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	3
6	<i>Psorophora ferox</i>	♀	4
7	<i>Psorophora ferox</i>	♀	2
8	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
9	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	13
10	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	1

**Mês de referência:** outubro/ 2010.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
11	<i>Aedes scapularis</i>	♀	14
12	<i>Aedes scapularis</i>	♀	1
13	<i>Aedes serratus</i>	♀	6
14	<i>Aedes argyrorhox</i>	♀	3

15	<i>Anopheles gilesi</i>	♀	4
16	<i>Anopheles kompi</i>	♀	3
17	<i>Anopheles parvus</i>	♀	2
18	<i>Psorophora ferox</i>	♀	20
19	<i>Psorophora ferox</i>	♀	20
20	<i>Psorophora ferox</i>	♀	20
21	<i>Psorophora ferox</i>	♀	9
22	<i>Psorophora ferox</i>	♀	7
23	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	8
24	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	9
25	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
26	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
27	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
28	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
29	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
30	<i>Limatus durhamii</i>	♀	11
31	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
32	<i>Limatus durhamii</i>	♀	4
33	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
34	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
35	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
36	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
37	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	8
38	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	4
39	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	3
40	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
41	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
42	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	10
43	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
44	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	6
45	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	20
46	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	3
47	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	16

Mês de referência: novembro/ 2010.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
48	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	10
49	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	6
50	<i>Psorophora ferox</i>	♀	20
51	<i>Psorophora ferox</i>	♀	9
52	<i>Psorophora ferox</i>	♀	12
53	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
54	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
55	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
56	<i>Limatus durhamii</i>	♀	8
57	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
58	<i>Limatus durhamii</i>	♀	8
59	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	7
60	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	3
61	<i>Aedes hortator</i>	♀	2
62	<i>Aedes scapularis</i>	♀	12
63	<i>Aedes scapularis</i>	♀	4
64	<i>Aedes serratus</i>	♀	7
65	<i>Aedes serratus</i>	♀	1
66	<i>Anopheles gilesi</i>	♀	2
67	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
68	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
69	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	1
70	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
71	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	16
72	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	20
73	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	1
74	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
75	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
76	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
77	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20

78	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	4
79	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
80	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
81	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	9
82	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	3
83	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	3

**Mês de referência:** dezembro/ 2010.

<b>Nº Lote</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Quantidade</b>
84	<i>Aedes aegypti</i>	♀	1
85	<i>Aedes scapularis</i>	♀	20
86	<i>Aedes scapularis</i>	♀	6
87	<i>Aedes scapularis</i>	♀	6
88	<i>Aedes serratus</i>	♀	12
89	<i>Aedes serratus</i>	♀	2
90	<i>Aedes fluviatilis</i>	♀	1
91	<i>Aedes hortator</i>	♀	2
92	<i>Aedes hortator</i>	♀	1
93	<i>Culex coronator</i>	♀	4
94	<i>Psorophora ferox</i>	♀	1
95	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	5
96	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	3
97	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	2
98	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	7
99	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
100	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
101	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
102	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
103	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
104	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
105	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
106	<i>Limatus durhamii</i>	♀	14

107	<i>Limatus durhamii</i>	♀	6
108	<i>Mansonia pseudotittillans</i>	♀	1
109	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
110	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
111	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	9
112	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
113	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
114	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	1
115	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	1
116	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	5
117	<i>Sabethes chloropterus</i>	♀	1
118	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
119	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	13
120	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
121	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
122	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	11
123	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	17
124	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	20
125	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	20
126	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	20

**Mês de referência:** janeiro/ 2011.

<b>Nº Lote</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Quantidade</b>
127	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	6
128	<i>Culex coronator</i>	♀	10
129	<i>Culex coronator</i>	♀	1
130	<i>Psorophora ferox</i>	♀	6
131	<i>Psorophora ferox</i>	♀	2
132	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
133	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
134	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
135	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20

136	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
137	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
138	<i>Limatus durhamii</i>	♀	6
139	<i>Limatus durhamii</i>	♀	8
140	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	5
141	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	2
142	<i>Aedes hortator</i>	♀	1
143	<i>Aedes hortator</i>	♀	5
144	<i>Aedes scapularis</i>	♀	20
145	<i>Aedes scapularis</i>	♀	8
146	<i>Aedes scapularis</i>	♀	2
147	<i>Aedes serratus</i>	♀	20
148	<i>Aedes serratus</i>	♀	4
149	<i>Aedes serratus</i>	♀	3
150	<i>Anopheles kompii</i>	♀	1
151	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	3
152	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	10
153	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	12
154	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
155	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
156	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
157	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
158	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	15
159	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
160	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
161	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
162	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
163	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	1
164	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	8
165	<i>Sabethes soperi</i>	♀	2



Mês de referência: fevereiro/ 2011.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
166	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	3
167	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	1
168	<i>Culex coronator</i>	♀	1
169	<i>Culex coronator</i>	♀	10
170	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
171	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
172	<i>Limatus durhamii</i>	♀	20
173	<i>Limatus durhamii</i>	♀	1
174	<i>Limatus durhamii</i>	♀	13
175	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	4
176	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	2
177	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	1
178	<i>Aedes hortator</i>	♀	3
179	<i>Aedes scapularis</i>	♀	20
180	<i>Aedes scapularis</i>	♀	19
181	<i>Aedes scapularis</i>	♀	3
182	<i>Aedes serratus</i>	♀	15
183	<i>Anopheles kompii</i>	♀	1
184	<i>Anopheles argyritarsis</i>	♀	1
185	<i>Uranotaenia calosomata</i>	♀	1
186	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	7
187	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	10
188	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	11
189	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	2
190	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
191	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
192	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
193	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	5
194	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
195	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	20
196	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	13
197	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	1

198	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	10
199	<i>Sabethes soperi</i>	♀	3
200	<i>Sabethes soperi</i>	♀	6

**Mês de referência:** março/ 2011.

<b>Nº Lote</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Quantidade</b>
201	<i>Aedes aegypti</i>	♀	1
202	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	2
203	<i>Aedes hortator</i>	♀	1
204	<i>Aedes scapularis</i>	♀	6
205	<i>Aedes scapularis</i>	♀	1
206	<i>Aedes serratus</i>	♀	14
207	<i>Aedes serratus</i>	♀	1
208	<i>Aedes taeniorhynchus</i>	♀	1
209	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	5
210	<i>Culex coronator</i>	♀	2
211	<i>Limatus durhamii</i>	♀	3
212	<i>Limatus durhamii</i>	♀	2
213	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	3
214	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	1
215	<i>Mansonia pseudotittillans</i>	♀	3
216	<i>Psorophora ferox</i>	♀	1
217	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
218	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	10
219	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	20
220	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	5
221	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	17
222	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	1
223	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	13
224	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	8
225	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	1

226	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	5
227	<i>Sabethes chloropterus</i>	♀	1
228	<i>Sabethes chloropterus</i>	♀	2

**Mês de referência:** abril/ 2011.

<b>Nº Lote</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Quantidade</b>
229	<i>Aedes aegypti</i>	♀	1
230	<i>Aedes albopictus</i>	♀	9
231	<i>Aedes argyrorhox</i>	♀	1
232	<i>Aedes scapularis</i>	♀	10
233	<i>Aedes scapularis</i>	♀	2
234	<i>Aedes serratus</i>	♀	10
235	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	3
236	<i>Culex coronator</i>	♀	2
237	<i>Limatus durhamii</i>	♀	1
238	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	1
239	<i>Mansonia pseudotitillans</i>	♀	1
240	<i>Psorophora ferox</i>	♀	1
241	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	15
242	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	14
243	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	4
244	<i>Haemagogus janthinomys</i>	♀	14
245	<i>Haemagogus tropicalis</i>	♀	1
246	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	11
247	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	7
248	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	3

**Mês de referência:** maio/ 2011.

<b>Nº Lote</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Quantidade</b>
249	<i>Aedes scapularis</i>	♀	14
250	<i>Aedes scapularis</i>	♀	1
251	<i>Aedes serratus</i>	♀	3

252	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	4
253	<i>Aedes hortator</i>	♀	2
254	<i>Culex coronator</i>	♀	2
255	<i>Anopheles parvus</i>	♀	2
256	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	4
257	<i>Psorophora ferox</i>	♀	3
258	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	1
259	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	4
260	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	1
261	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	1

Mês de referência: junho/ 2011.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
262	<i>Aedes albopictus</i>	♀	1
263	<i>Aedes scapularis</i>	♀	5
264	<i>Aedes scapularis</i>	♀	2
265	<i>Aedes serratus</i>	♀	9
266	<i>Aedes argyrothorax</i>	♀	3
267	<i>Aedes hortator</i>	♀	1
268	<i>Anopheles gilesi</i>	♀	1
269	<i>Anopheles gilesi</i>	♀	1
270	<i>Anopheles kompii</i>	♀	8
271	<i>Culex coronator</i>	♀	2
272	<i>Culex quinquefasciatus</i>	♀	9
273	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	7
274	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	3
275	<i>Limatus durhamii</i>	♀	1
276	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	♀	1
277	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	1
278	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	3
279	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	4

Mês de referência: julho/ 2011.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
280	<i>Aedes scapularis</i>	♀	19
281	<i>Aedes argyrorhox</i>	♀	1
282	<i>Anopheles gilesi</i>	♀	2
283	<i>Anopheles parvus</i>	♀	1
284	<i>Anopheles kompii</i>	♀	20
285	<i>Anopheles kompii</i>	♀	10
286	<i>Culex quinquefasciatus</i>	♀	1
287	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	5
288	<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	♀	1
289	<i>Mansonia pseudotittillans</i>	♀	2
290	<i>Limatus durhamii</i>	♀	1
291	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	1
292	<i>Psorophora albipes</i>	♀	1
293	<i>Uranotaenia calosomata</i>	♀	1
294	<i>Wyeomyia melanocephala</i>	♀	1
295	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	2
296	<i>Sabethes belisarioi</i>	♀	1

Mês de referência: agosto/ 2011.

Nº Lote	Espécie	Sexo	Quantidade
297	<i>Aedes scapularis</i>	♀	3
298	<i>Anopheles kompii</i>	♀	2
299	<i>Limatus durhamii</i>	♀	3
300	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	3
301	<i>Limatus flavisetosus</i>	♀	1
302	<i>Sabethes albiprivus</i>	♀	1

## 10.6 Comprovante de submissão do artigo à Revista Brasileira de Entomologia

The screenshot shows the user interface for submitting an article to the Brazilian Journal of Entomology. At the top left is the SciELO logo. The journal title 'Revista Brasileira de Entomologia' is prominently displayed in the center, with 'SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENTOMOLOGIA' underneath. A navigation menu includes 'PÁGINA INICIAL', 'SOBRE', 'PÁGINA DO USUÁRIO', and 'INSTRUÇÕES AOS AUTORES'. The user is logged in as 'rgurgel', with options to view their profile or log out. The 'AUTOR' section shows 'Submissões' with counts for 'Ativo (1)', 'Arquivado (3)', and 'Nova submissão'. A language dropdown is set to 'Português (Brasil)'. The main content area is titled 'Submissões Ativas' and contains a table with one submission entry. Below the table, there is a link to 'Iniciar nova submissão' and a note about the submission process. At the bottom, contact information for the Sociedade Brasileira de Entomologia (SBE) is provided.

**SciELO**

**Revista Brasileira de Entomologia**  
SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENTOMOLOGIA

PÁGINA INICIAL   SOBRE   PÁGINA DO USUÁRIO   INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Página inicial > Usuário > Autor > Submissões Ativas

**Submissões Ativas**

ATIVO | ARQUIVADO

ID	MM-DD ENVIO	SEÇÃO	AUTORES	TÍTULO	SITUAÇÃO
RBENT-1240	06-04	ENT	Lira-Vieira, Gurgel-Gonçalves,...	ESTRATIFICAÇÃO VERTICAL E DISTRIBUIÇÃO MENSAL DE...	Aguardando designação

1 a 1 de 1 itens

**Iniciar nova submissão**  
CLIQUE AQUI para iniciar os cinco passos do processo de submissão.

Sociedade Brasileira de Entomologia (SBE), Departamento de Zoologia, UFPR, Caixa Postal 19030, 81531-980 Curitiba, PR.  
E-mail: rbe@ufpr.br

## 10.7 Sequência de elementos da dissertação de acordo com a norma PPGMT 01 de abril de 2011

### Elementos pré-textuais

- i. Capa
- ii. Página de rosto
- iii. Ficha Catalográfica (no verso da página de rosto)
- iv. Composição da banca examinadora
- v. Dedicatória (Opcional)
- vi. Agradecimentos
- vii. Listas de quadros, tabelas, figuras e abreviações
- viii. Financiamento (inclui qualquer tipo de financiamento de agências de fomento, bolsas, etc.)
- ix. Índice
- x. Resumo e Abstract

**Elementos textuais:** os elementos textuais do capítulo de resultados poderão ser apresentados em dois tipos de formato; na forma de publicações e na forma tradicional.

- i. Capítulo: Introdução (Revisão de literatura)
- ii. Capítulo: Justificativa
- iii. Capítulo: Objetivos
- iv. Capítulo: Métodos
- v. Resultados
  1. Formato de publicações: incluir um capítulo para cada artigo. Incluir **no mínimo um artigo para Dissertação (mestrado) e dois para Tese (doutorado)**. Os artigos devem seguir a formatação exigida por uma revista indexada escolhida pelos autores, e deverá conter título, autores e filiação institucional, resumo, palavras-chave, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, agradecimentos e referências no padrão indicado pela revista escolhida
- vi. Capítulo: Discussão e considerações finais
- vii. Capítulo: Conclusões
- viii. Capítulo: Referências Bibliográficas: deverá conter todas as referências bibliográficas utilizadas na dissertação ou tese, listadas na ordem alfabética e citadas no texto no formato “author – ano” próprio do estilo de citação de Harvard. Na lista de referências deve ser utilizado o formato sugerido pelo *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts*

*Submitted to Biomedical Journals* que é mais simples, fazendo opção pela forma que exclui da citação o número e o mês da publicação. Recomenda-se a consulta dos documentos citados nas referências utilizadas para a elaboração da presente norma.

### **Elementos pós-textuais**

- i. Apêndices
- ii. Anexos