

Entomologia do paludismo e controlo dos vetores



GUIA DO PARTICIPANTE



Organização
Mundial da Saúde

Entomologia do paludismo e controlo dos vetores



GUIA DO PARTICIPANTE



Catálogo-na-fonte: Biblioteca da OMS:

Entomologia do paludismo e controlo dos vetores.

Conteúdo: Guia do tutor – Guia do participante

1.Malaria – prevenção e controlo. 2.Controlo de Mosquitos. 3.*Anopheles* – crescimento e desenvolvimento. 4.Materiais de Ensino. I.Organização Mundial da Saúde.

ISBN 978 92 4 850580 5 (Guia do tutor)

(Classificação NLM: WC 765)

ISBN 978 92 4 850581 2 (Guia do participante)

A revisão do presente documento só foi possível graças a um subsídio da Federação Russa para a formação de capacidades na área do paludismo em África.

© Organização Mundial da Saúde 2015

Todos os direitos reservados. As publicações da Organização Mundial da Saúde estão disponíveis no sitio web da OMS (www.who.int) ou podem ser compradas a Publicações da OMS, Organização Mundial da Saúde, 20 Avenue Appia, 1211 Genebra 27, Suíça (Tel: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; e-mail: bookorder@who.int). Os pedidos de autorização para reproduzir ou traduzir as publicações da OMS – seja para venda ou para distribuição sem fins comerciais - devem ser endereçados a Publicações da OMS através do sitio web da OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

As denominações utilizadas nesta publicação e a apresentação do material nela contido não significam, por parte da Organização Mundial da Saúde, nenhum julgamento sobre o estatuto jurídico ou as autoridades de qualquer país, território, cidade ou zona, nem tampouco sobre a demarcação das suas fronteiras ou limites. As linhas ponteadas nos mapas representam de modo aproximativo fronteiras sobre as quais pode não existir ainda acordo total.

A menção de determinadas companhias ou do nome comercial de certos produtos não implica que a Organização Mundial da Saúde os aprove ou recomende, dando-lhes preferência a outros análogos não mencionados. Salvo erros ou omissões, uma letra maiúscula inicial indica que se trata dum produto de marca registado.

A OMS tomou todas as precauções razoáveis para verificar a informação contida nesta publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, nem expressa nem implícita. A responsabilidade pela interpretação e utilização deste material recai sobre o leitor. Em nenhum caso se poderá responsabilizar a OMS por qualquer prejuízo resultante da sua utilização.

Queira consultar o *website* do Programa Mundial do Paludismo da OMS para aceder à versão mais actualizada de todos os documentos (www.who.int/malaria).

Glóbulos vermelhos: ©Ingram Publishing

Desenho da capa por Paprika-Annecy.com

Impresso em Malta

Índice

Prefácio	v
Siglas e acrónimos.....	vi
Agradecimentos	vii
Elaboração do módulo	viii
Introdução	1
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 1: Introdução à entomologia do paludismo	5
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 2: Identificação dos vetores do paludismo.....	13
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 3: Colheita de vetores do paludismo	25
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 4: Incriminação de vetores e controlo do paludismo	45
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 5: Controlo dos vetores do paludismo	73
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 6: Monitorização e gestão da resistência aos insecticidas	117
UNIDADE DE APRENDIZAGEM 7: Controlo dos vetores em diferentes estratos epidemiológicos do paludismo	133
Anexo 1 Protocolo para a criação de mosquitos	142
Anexo 2 Tratamento de mosquiteiros com insecticida	149
Anexo 3 Reconhecimento geográfico.....	153
Anexo 4 Protocolo para determinar a suscetibilidade dos mosquitos adultos aos insecticidas: Ensaio biológico da OMS	164
Anexo 5 Protocolo para determinar a suscetibilidade das larvas de mosquitos a insecticidas.....	175
Anexo 6 Procedimentos de teste para determinar o efeito residual dos insecticidas nas superfícies das paredes	182
Anexo 7 Procedimentos de teste para determinar a eficácia residual dos insecticidas nos mosquiteiros tratados	188

Prefácio

O paludismo é um dos principais problemas de saúde pública, à nível mundial, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade em muitos países. Por estimativa, o paludismo foi responsável, em 2010, por 219 milhões de casos (intervalo 154–289) e 660 000 óbitos (intervalo 490 000–836 000). Aproximadamente, 80% dos casos e 90% das mortes ocorrem em África, enquanto os restantes casos e mortes ocorrem, principalmente, nas Regiões do Sudeste Asiático e do Mediterrâneo Oriental.¹ Para os dados mais recentes sobre o fardo do paludismo, procure o “World Malaria Report” disponível em sites da OMS / GMP (<http://www.who.int/malaria/en/>).

As metas da Assembleia Mundial da Saúde e da iniciativa Fazer Recuar o Paludismo (FRP) para o controlo e eliminação da doença são de atingir, pelo menos, uma redução de 75% da incidência e das mortes por paludismo até 2015.

A eliminação do paludismo é definida como a redução a zero da incidência da infeção localmente adquirida, através de parasitas do paludismo humano, numa determinada zona geográfica, como resultados de esforços desenvolvidos nesse sentido. Os programas de eliminação requerem conhecimentos mais técnicos sobre o paludismo do que os programas normais de luta contra o paludismo e são dirigidos por especialistas nacionais em epidemiologia e entomologia do paludismo.

Para se atingirem os objectivos dos programas de controlo e eliminação do paludismo, é fundamental levar a cabo intervenções devidamente planeadas e orientadas, incluindo: testes de diagnóstico para todos os casos suspeitos de paludismo e o rápido tratamento dos casos confirmados com uma eficaz combinação terapêutica à base de artemisinina (ACT); quimioprevenção do paludismo em mulheres grávidas (tratamento preventivo intermitente durante a gravidez – IPTp), em bebés (tratamento preventivo intermitente em bebés – IPTi) e crianças (quimioprevenção sazonal do paludismo – SMC), quando indicado; e aplicação de intervenções adequadas de controlo dos vetores, em particular o uso de mosquiteiros tratados com insecticidas (MTI/MILD) e pulverização residual intradomiciliar (PRI).

O presente módulo de formação sobre a entomologia do paludismo e controlo dos vetores foi elaborado para dar apoio a dois grupos principais: (i) entomologistas e pessoal de controlo dos vetores, incluindo técnicos e (ii) diretores de programas/responsáveis superiores de saúde envolvidos nos programas de controlo e eliminação do paludismo.

¹ WHO (2012). *World malaria report*. Geneva, World Health Organization. http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/en/index.html

Siglas e acrónimos

ABER	Taxa anual de exame sanguíneo
ACT	Combinação terapêutica à base de artemisinina
API	Taxa anual de parasitas
CSP	Proteína circumesporozoíta
DALY	Anos de vida ajustados por incapacidade
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
GPS	Sistema Mundial de Localização
GR	Reconhecimento geográfico
GST	Glutathione-S-transferase
HBI	Índice de sangue humano
IEC	Informação, educação e comunicação
GIV	Gestão integrada dos vetores
CAP	Conhecimentos, atitudes e práticas
MCQ	Questionário de escolha múltipla
MILD	Mosquiteiros com insecticida de longa duração
MTI	Mosquiteiros tratados com insecticida
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
POP	Poluentes orgânicos persistentes
PRI	Pulverização residual intradomiciliar
SIG	Sistema de informação geográfica
SPR	Taxa de positividade em lâmina
TIE	Taxa de inoculação entomológica
WHOPES	Esquema de avaliação de pesticidas da OMS

Agradecimentos

O presente módulo foi produzido pelo Programa Mundial do Paludismo da OMS (GMP), com a participação dos antigos e actuais funcionários da Sede da OMS e dos Escritórios Regionais. A OMS agradece também reconhecidamente aos seguintes peritos, que contribuíram para a elaboração deste documento:

- ▶ T. A. Abeku e P. Herath prepararam inicialmente o módulo, com o apoio técnico de M. Aregawi, E. Renganathan e M.C. Thuriaux. Y. Ye-ebiyo contribuiu para a elaboração da Unidade de Aprendizagem sobre estratificação do paludismo. M. Zaim forneceu documentos da OMS (não publicados) sobre contributos e contexto do uso criterioso de insecticidas e R. H. Zimmerman contribuiu para a finalização desta versão original do módulo.
- ▶ H. Vatandoost, que liderou a actualização da corrente versão do módulo e S. Lindsay, que fez a sua revisão como perito independente. Também Y. Rassi, M.A. Oshaghi, M.R Abai, da Universidade de Ciências Médicas de Teerão, pelos seus contributos para o módulo.
- ▶ Os peritos técnicos que orientaram o processo de revisão e actualização da corrente versão do módulo: A.A.A. Adeel (King Saud University, Arábia Saudita), M. Sh. Al-Zedjali (Epidemiologia do Paludismo, Ministério da Saúde, Oman), B. Ayivi (Hospital Universitário Nacional, Benim), C. Hugo (Fundação ACT para o Paludismo Inc., Filipinas), A. Baranova (Instituto Martzinovsky de Parasitologia Médica e Medicina Tropical, Federação Russa), P. Beales (antigo funcionário da OMS, Reino Unido), A. Beljaev (Academia Médica Russa de Moscovo, Federação Russa), S. Elbushra (Universidade de Gezira, Sudão), K. Kolaczinski (Consórcio Africano do Paludismo, Uganda), A. Kondrashin (antigo funcionário da OMS, Federação Russa), S. Lutalo (Hospital Central de Harare, Zimbábue), R. Majdzadeh (Universidade de Ciências Médicas de Teerão, Irão), E. M. Malik (Ministério Federal da Saúde, Sudão), P.S. Mapunda (Centro para o Reforço de Intervenções Eficazes contra o Paludismo, Tanzânia), R. Mintcheva (Centro de Doenças Infecciosas e Parasíticas, Bulgária), O. Mokuolu (Hospital Universitário de Ilorin, Nigéria), E. Morozov (Instituto Martzinovsky de Parasitologia Médica e Medicina, Federação Russa), A. Mwakilasa (Consultor, Tanzânia), J. B. Ouedraogo (Direcção Regional do Oeste, Burkina Faso), V. Sergiev (Instituto Martzinovsky de Parasitologia Médica e Medicina Tropical, Federação Russa) and H. Vatandoost (Escola de Saúde Pública, Irão).
- ▶ Funcionários da OMS que contribuíram para o conteúdo técnico do módulo durante a sua elaboração: B. Ameneshewa, Hoda Y. Atta, K. Carter, K. Cham, C. Delacollette, P. Guillet, G. A. Ki-Zerbo, J. Lines, L. Manga, A. Mnzava, B. Mulenda, S. Murugasampillary, M. Nathan, R. Newman, M. Warsame, W. Weree G. Zamani.
- ▶ L. Tuseo e S. Casimiro fizeram a revisão da tradução de Inglês para Português do documento.

A OMS também agradece aos participantes, tutores e facilitadores de vários cursos nacionais e internacionais pelos comentários que apresentaram durante os testes do módulo no terreno.

O processo de revisão foi coordenado por M. Warsame; a edição técnica do módulo foi de L.J. Martinez.

A revisão e a actualização só foram possíveis, graças a um subsídio da Federação Russa para a formação de capacidades na área do paludismo em África.

Elaboração do módulo

O conteúdo do módulo inspira-se nas actuais orientações da OMS e em outros documentos técnicos baseados em evidências.

Este módulo de formação em entomologia do paludismo e controlo dos vetores baseia-se numa anterior versão provisória, que foi actualizada, de modo a reflectir os actuais instrumentos, estratégias e políticas de controlo do paludismo. O módulo foi revisto sob a orientação de peritos técnicos representando instituições académicas de formação em paludismo, investigadores na área do paludismo, directores de programas nacionais e funcionários da Sede e dos Escritórios Regionais da OMS, que orientaram o processo de revisão e actualização do módulo. O processo incluiu os seguintes passos:

- ▶ Realização de três reuniões consultivas de peritos técnicos (7–9 de Abril de 2008, 14–16 de Outubro de 2008 e 15–17 de Abril de 2009), para rever os actuais materiais de formação da OMS sobre a entomologia do paludismo e controlo dos vectores e para identificar áreas que necessitavam de actualização, em vista do desenvolvimento de novos instrumentos, tecnologias e estratégias de controlo dos vectores do paludismo.
- ▶ Incorporação no módulo das actualizações recomendadas, levada a cabo por peritos técnicos.
- ▶ Revisão do conteúdo e abrangência do módulo actualizado, efectuada por peritos técnicos, funcionários técnicos da OMS e outros especialistas externos em entomologia e controlo dos vectores do paludismo.
- ▶ O módulo actualizado foi testado no terreno em vários cursos nacionais e internacionais.
- ▶ Com base na experiência dos testes no terreno, e em consulta com peritos técnicos, o texto foi finalizado para publicação.

Introdução

Este módulo abrange aspectos essenciais da entomologia do paludismo e do controlo dos vetores. Pode ser adaptado a várias necessidades específicas de formação, uma vez que a profundidade e a selecção das Unidades de Aprendizagem dependem do nível de formação dos participantes e dos seus objectivos da aprendizagem. Pode ser usado para formar agentes de controlo dos vetores no terreno, técnicos de laboratório ou agentes de saúde que trabalhem nos programas de controlo dos vetores do paludismo a diferentes níveis. Relativamente aos agentes de saúde, que poderão não necessitar de muitos pormenores sobre as técnicas usadas no terreno e nos laboratórios, a formação deverá incidir sobre as unidades que tratem da aplicação epidemiológica de opções e estratégias selectivas de controlo dos vetores. O pessoal de campo e os técnicos de laboratório poderão necessitar de outros materiais de recurso, se um curso for inteiramente dedicado às técnicas usadas em laboratórios e no terreno.

O módulo pode ser usado para formar pessoal que tenha responsabilidades na área do planeamento, implementação, monitorização e avaliação das actividades de controlo dos vetores do paludismo, a nível nacional e distrital. Deverá pedir-se aos participantes que se façam acompanhar de dados sobre o paludismo nos países onde trabalham, para serem debatidos durante o curso.

O módulo está dividido em duas partes, o *Guia do Participante* e o *Guia do Tutor*. O *Guia do Participante* abrange conceitos e dados básicos e inclui uma série de exercícios a realizar pelos participantes. O *Guia do Tutor* destaca os principais pontos a aprender e fornece as respostas aos exercícios, as quais poderão ser mais indicativas do que definitivas; desta forma, pretende-se incentivar uma aprendizagem activa.

Potenciais utilizadores do módulo de formação

O módulo visa dois grupos principais: (i) técnicos de entomologia e controlo dos vetores e (ii) diretores de programas/responsáveis pela saúde. O tempo destinado ao primeiro grupo é de 120,5 horas num dia de formação de 7 horas = 17 dias e ao segundo grupo é de 30 h num dia de formação de 7 horas = 4,5 dias. No *Guia do Tutor* apresenta-se uma sugestão de calendário para o segundo grupo.

Objectivos

No final do programa de formação baseado neste módulo, os participantes deverão ter adquirido as capacidades e competências necessárias para:

- compreender o papel da entomologia no controlo do paludismo;
- identificar todas as fases do ciclo de vida dos vetores do paludismo;
- descrever os procedimentos para a colheita dos vetores do paludismo;
- descrever a incriminação de vetores e controlo do paludismo;
- definir medidas de controlo do paludismo;
- compreender os princípios básicos da monitorização e gestão da resistência aos insecticidas;
- descrever a estratificação epidemiológica do paludismo e o papel do controlo dos vetores nos diferentes estratos epidemiológicos.

Uso do *Guia do Participante*

Este guia é constituído por materiais educativos destinados a habilitar os participantes no curso a atingirem os objectivos da aprendizagem deste módulo. O guia está dividido em Unidades de Aprendizagem. Para progredir para a Unidade de Aprendizagem seguinte, é preciso adquirir as competências e os conhecimentos de cada unidade, na respectiva sequência; caso contrário, poderá ser difícil atingir os objectivos das unidades seguintes. Cada Unidade de Aprendizagem inclui exercícios a resolver, individualmente ou em grupo, conforme for determinado pelo tutor. Os debates durante o trabalho em pequenos grupos e durante as sessões plenárias com a participação dos facilitadores e tutores serão um bom auxiliar para o processo de aprendizagem.

Durante o curso, o *Guia do Tutor* apenas estará disponível para o tutor e facilitadores. No final do curso/módulo, todos os participantes receberão uma cópia do *Guia do Tutor*, para que o possam usar nas formações futuras e para consulta.

Avaliação

Avaliação dos participantes

Os progressos e o aproveitamento dos participantes são avaliados pelo tutor, facilitadores e pelos próprios participantes. Isso faz-se através de questionários de escolha múltipla (QEM).

Nos QEM, fornece-se, para cada pergunta, uma lista de respostas possíveis, das quais o participante deve escolher uma que considere ser a correcta. No final destas sessões, o tutor analisará os resultados, para identificar assuntos que não tenham sido bem compreendidos. O tutor deverá explicar a cada um dos participantes quais os erros que cometeram e que áreas terão de ser melhoradas.

Esta parte da avaliação destina-se a ajudar os participantes e o tutor a determinarem até que ponto os aspectos teóricos do curso foram devidamente aprendidos. Os testes de escolha múltipla serão feitos no início e no final desta formação.

A avaliação dos progressos do participante também inclui a avaliação das actividades desenvolvidas na sala de aula, bem como as actividades práticas e no terreno, grau de participação no grupo, etc., incluindo o modo como o trabalho de grupo foi apresentado nas sessões plenárias e o grau de clareza.

O tutor é encorajado a desenvolver uma série de perguntas que poderão ser usadas nos testes iniciais e finais das sessões de formação seguintes. As respostas são pontuadas igualmente, porque cada pergunta é considerada, neste caso, de igual valor. Fornecem-se as respostas preferidas, mas, em alguns casos, são aceitáveis respostas alternativas, que serão registadas.

Avaliação da formação pelos participantes

Toda a actividade de formação, incluindo a organização e o conteúdo do curso, a adequação dos métodos de aprendizagem e a qualidade dos materiais de ensino e formação, assim como a competência dos tutores e facilitadores, serão objecto de avaliação. A avaliação far-se-á no final do período de formação, para se obter tanto *feedback* dos participantes quanto possível. Os questionários poderão ser assinados voluntariamente (ao critério de cada um dos participantes). Todos os participantes são encorajados a apresentar sugestões de aperfeiçoamento por parte do tutor e facilitadores, assim como do conteúdo do curso e das instalações da formação.

O *feedback* recebido através deste exercício permitirá ao tutor avaliar até que ponto a formação foi bem recebida e fazer eventuais alterações que se afigurem necessárias, para melhorar futuros programas.

Nota: os participantes deverão fazer-se acompanhar dos dados relativos ao paludismo (peso da doença, dados entomológicos, etc.) do seu país/local de trabalho, se possível, abrangendo os últimos 5 anos. Esses dados serão discutidos durante o curso de formação.

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 1

Introdução à entomologia do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Descrever o modo de transmissão do paludismo
- Descrever o ciclo de vida do parasita e do mosquito do paludismo
- Descrever a finalidade e o papel da monitorização entomológica no controlo do paludismo

Introdução

A entomologia do paludismo é o estudo da biologia e ecologia dos mosquitos que transmitem o paludismo. O objectivo é compreender as relações entre o vetor, sua ecologia e comportamento, o parasita e o hospedeiro, com a finalidade de formular e implementar estratégias eficazes de controlo dos vetores. Nesta unidade, far-se-á uma breve introdução à transmissão do paludismo e ciclo de vida do parasita e dos mosquitos vetores. A importância e a finalidade da monitorização entomológica nos programas de luta contra paludismo será também discutida em pormenor.

1.1 Transmissão do paludismo

O paludismo é causado pelo protozoário parasita *Plasmodium*, que passa parte do seu ciclo de vida em seres humanos e parte em certas espécies de mosquitos. Existem cinco espécies de *Plasmodium* que provocam paludismo nos seres humanos: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. Ovale* e o parasita do paludismo do macaco *P. knowlesi*. De todos estes, o *P. falciparum* é o mais importante na maioria das regiões tropicais, sendo responsável pela forma mais grave da doença e pelas mortes causadas pelo paludismo.

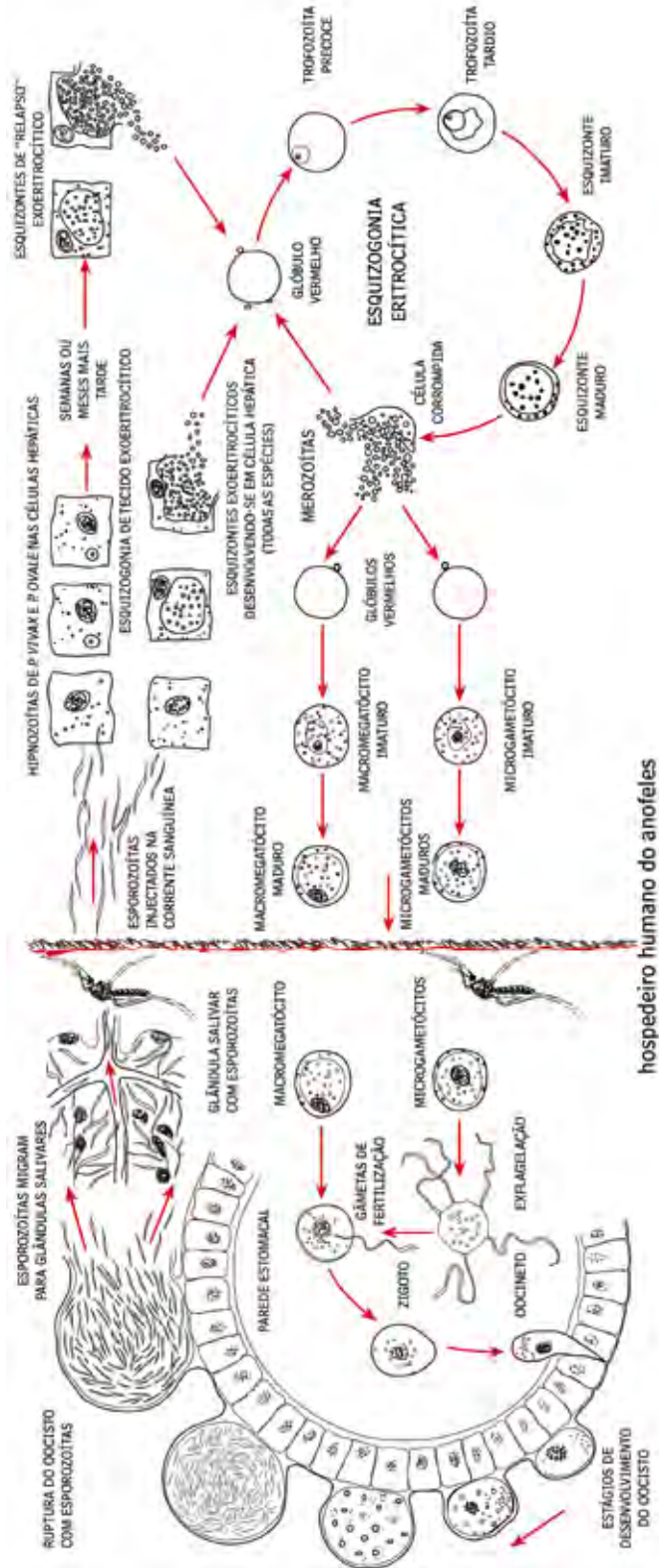
Os parasitas do paludismo são transmitidos pelos mosquitos fêmeas pertencentes ao género *Anopheles*. Os *Anopheles* machos só se alimentam do suco e néctar das plantas e não podem transmitir o paludismo. O ciclo de vida do parasita do paludismo divide-se em três fases diferentes: uma no mosquito, o ciclo esporogónico; e dois no hospedeiro humano – o ciclo eritrocítico (nos glóbulos vermelhos dos seres humanos) e o ciclo exo-eritrocítico (fora dos glóbulos vermelhos) (Fig. 1.1).

1.1.1 Ciclo de vida dos parasitas do paludismo

Quando um mosquito pica um ser humano infectado, os gametócitos são ingeridos com a refeição de sangue. No intestino do mosquito, as células sanguíneas humanas infectadas rompem-se, libertando os gametócitos, que se desenvolvem em células sexuais maduras chamadas gâmetas. Os gâmetas masculinos e femininos unem-se e formam um zigoto, que se desenvolve num oocineto activo em movimento. O oocineto penetra na parede do intestino médio do mosquito e transforma-se num oocisto redondo. Dentro do oocisto, o núcleo divide-se várias vezes, com formação de um grande número de esporozoítos e alargamento do oocisto. Quando os esporozoítos estão completamente formados, o oocisto rebenta, libertando os esporozoítos na cavidade corporal do mosquito (hemocele). Os esporozoítos migram para as glândulas salivares. O tempo necessário para o desenvolvimento dos esporozoítos varia com a temperatura e, em menor grau, com a espécie de parasita do paludismo e com a humidade, mas, geralmente, é de 8–15 dias.

Os esporozoítos (fase infecciosa do *Plasmodium*), misturados com a saliva, são injectados num hospedeiro humano, quando o mosquito se alimenta. Os parasitas entram no sistema sanguíneo do hospedeiro e migram para o fígado, onde se multiplicam dentro dos hepatócitos. Durante um período de 7–12 dias, o parasita continua a multiplicar-se, até que a célula hepática infectada rebente. Os parasitas são então libertados como merozoítos na corrente sanguínea, onde invadem os glóbulos vermelhos e se voltam a multiplicar. Os glóbulos infectados são destruídos, os parasitas invadem os novos glóbulos vermelhos e o ciclo eritrocítico é repetido.

Figura 1.2 Ciclo de vida de um mosquito *Anopheles*



1.1.2 Ciclo de vida dos mosquitos *Anopheles*

O ciclo de vida dos mosquitos tem quatro fases distintas: ovo, larva, pupa e adulto (Fig. 1.2). O tempo necessário para que as várias fases se desenvolvam depende da temperatura e de factores nutricionais, sendo o desenvolvimento mais rápido quanto mais elevada for a temperatura.

Existem cerca de 490 espécies de mosquitos *Anopheles*, incluindo espécies gêmeas. Aproximadamente 60–70 espécies em todo o mundo podem transmitir o paludismo e dessas, cerca de 30 são vetores da maior importância (Fig. 1.3). Alguns anofelíneos preferem picar animais e apenas raramente transmitem os parasitas do paludismo aos seres humanos. Outros não vivem o tempo suficiente para permitir o desenvolvimento do parasita ou o parasita não consegue desenvolver-se no mosquito.



Figura 1.2 Ciclo de vida de um mosquito *Anopheles*

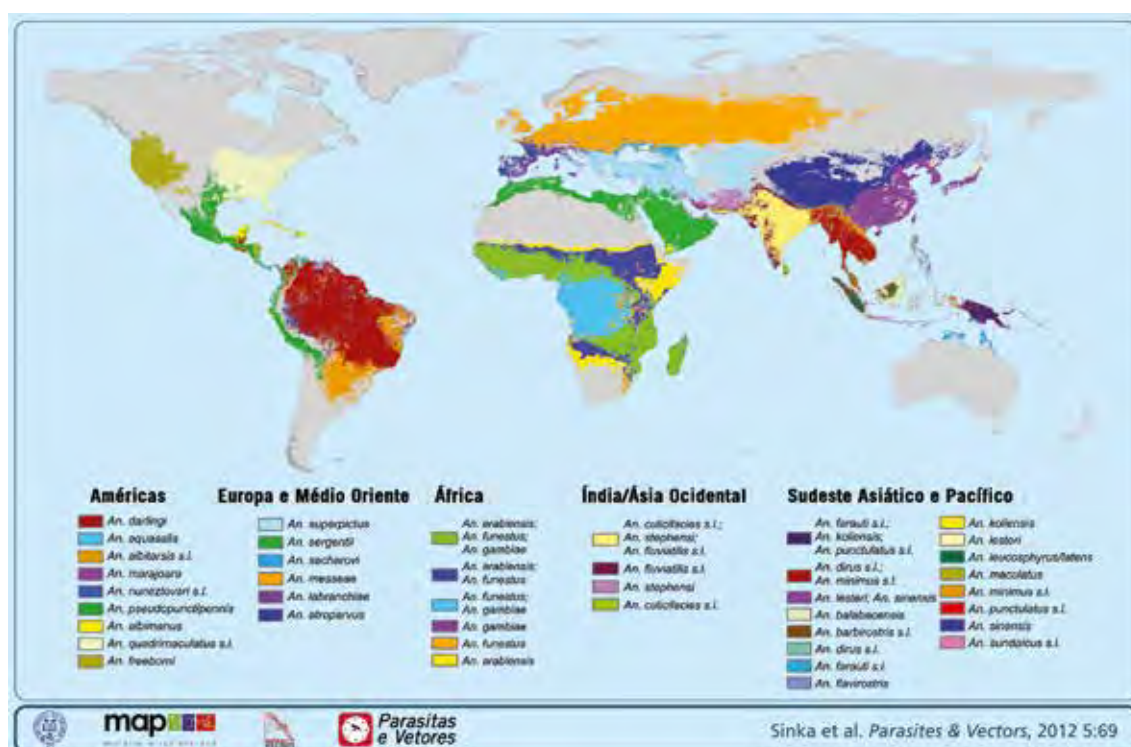


Figura 1.3 Distribuição mundial dos vetores do paludismo dominantes ou potencialmente importantes

Ovos

As fêmeas de *Anopheles*, normalmente, acasalam apenas uma única vez na vida e, habitualmente, precisam de uma refeição de sangue depois do acasalamento, para que os ovos se possam desenvolver. As refeições de sangue são tomadas, geralmente, de 2 em 2 ou 3 em 3 dias, antes de nova postura de ovos. Durante a oviposição, são depositados na superfície da água cerca de 100–150 ovos. Os locais da oviposição variam, desde pequenas pegadas e poças de água da chuva, até cursos de água, pântanos, canais, rios, charcos, lagos, campos de arroz e, por vezes, mesmo água suja. Cada espécie de mosquito prefere um determinado tipo de habitat para a oviposição.

Nas condições mais favoráveis dos trópicos, o tempo de vida médio dos *Anopheles* fêmeas é de 3–4 semanas. Um mosquito fêmea continua a pôr ovos durante toda a vida e a maioria põe 1–3 posturas de ovos, embora alguns possam pôr até 7 posturas.

Larva

Ao fim de 1-2 dias sai uma larva do ovo, a qual geralmente flutua por baixo e paralelamente à superfície da água, para poder respirar. Alimenta-se filtrando partículas de alimentos da água. Se houver alguma perturbação, a larva nada rapidamente para baixo mas depressa tem de voltar à superfície para respirar.

Existem quatro estágios ou ínstars larvais. A pequena larva que emerge do ovo chama-se o primeiro ínstar. Um ou dois dias depois, muda a pele e passa a segundo ínstar, seguido do terceiro e quarto ínstars, em pequenos intervalos de cerca de dois dias cada. A larva permanece no estágio do quarto ínstar durante mais 3–4 dias, antes de se tornar pupa. O tempo total passado no estágio larval é, geralmente, de 8–10 dias às temperaturas de água normais nas regiões tropicais. Com temperaturas mais baixas, os estágios aquáticos levam mais tempo a desenvolver. Dependendo da espécie, as larvas podem ser encontradas em pequenas poças de água, água doce, arrozais, esgotos, valas, água corrente à sombra, água salobra, água salgada, cursos de água, charcos, lagos, pântanos, poços, recipientes de água, latas de bebida ou pneus deitados fora e pegadas de animais.

Pupa

A pupa sofre uma grande transformação, passando da vida na água a mosquito adulto. A pupa tem a forma de uma vírgula. Fica perto da superfície da água mas desce quando é perturbada. As pupas não comem. A fase de pupa dura 2–3 dias. Depois disso, a pele muda e o mosquito adulto emerge e fica temporariamente à superfície da água até conseguir voar.

Adulto

O acasalamento ocorre pouco depois de o adulto sair da pupa. A fêmea, normalmente, acasala só uma vez, porque recebe esperma suficiente de um único acasalamento para todas as posturas posteriores de ovos. Normalmente, só depois de acasalar é que a fêmea toma a sua primeira refeição de sangue, mas, por vezes, a primeira refeição de sangue é tomada pelas jovens fêmeas virgens. A primeira postura de ovos desenvolve-se depois de uma ou duas refeições de sangue (conforme a espécie), enquanto que as posturas seguintes, geralmente, só precisam de uma refeição de sangue.

Os hábitos de alimentação e repouso dos mosquitos são de grande importância para os programas de controlo dos vetores e deverão ser bem compreendidos. A maioria dos *Anopheles* só pica à noite.

Alguns picam pouco depois do pôr do sol e outros picam mais tarde, por volta da meia-noite ou de madrugada. Alguns mosquitos entram nas casas para picar e são descritos como endofágicos; outros picam, sobretudo, no exterior e chamam-se exofágicos.

Depois de tomar uma refeição de sangue, o mosquito normalmente repousa durante um curto período de tempo. Os mosquitos que entram nas casas, normalmente repousam na parede, por baixo da mobília ou em roupas que estejam penduradas dentro de casa e chamam-se endofílicos. Os mosquitos que picam no exterior, normalmente repousam em plantas, em buracos, em árvores ou no chão ou outros locais frescos e escuros e são designados de exofílicos.

As preferências de hospedeiro são diferentes para as diferentes espécies de mosquitos. Alguns mosquitos preferem picar humanos e não a animais e são descritos como antropofágicos, enquanto outros preferem sangue animal e são denominados como zoofágicos. Os que preferem sangue humano são os mais perigosos, pois são capazes de transmitir infecções a populações humanas. Os adultos podem encontrar-se na vegetação, em superfícies sólidas de locais sombreados, nas margens de rios ou em valas, buracos nas rochas, galerias, fendas, grutas, tocas de animais, troncos de árvores e morros de térmitas.

1.2 Controlo dos vetores do paludismo

O controlo do paludismo envolve o diagnóstico e tratamento dos casos de paludismo, evitando as picadas dos mosquitos e matando-os. Os métodos primários para controlo dos vetores, na maioria dos cenários, são mosquiteiros impregnados com insecticida ou a pulverização residual intradomiciliar; o uso de larvicidas, peixes larvívoros, pulverização de espaços, repelentes e desinfestação das casas, para evitar que os mosquitos entrem, é também útil em determinadas áreas.

A eliminação dos focos de reprodução e a morte das larvas, pupas e adultos ajudarão a reduzir o número e, no caso dos adultos, a longevidade dos vetores. Os focos de reprodução podem ser eliminados esgotando ou tapando as áreas em que a água se acumula ou modificando os habitats preferidos de determinadas espécies de vetores, por exemplo, limpando cursos de água, para que esta corra mais rapidamente. A alimentação das larvas pode ser reduzida ou evitada:

- ▶ tratando a água com larvicidas, para matar as larvas;
- ▶ colocando peixes ou outros predadores que comam larvas de mosquitos nos criadouros.

O melhor método de controlo dos mosquitos em cada local depende de um bom conhecimento do comportamento e ecologia dos vetores locais.

Em muitas zonas, o paludismo transmitido por vetores que repousam no interior das casas pode ser evitado ou controlado pela distribuição em larga escala de mosquiteiros tratados com insecticidas ou pela pulverização do interior das casas, com um insecticida residual. Antes e, mais normalmente, depois de picar, um mosquito endofílico repousa numa parede, tecto ou em outras zonas escuras da casa. Se as superfícies em que ele repousa tiverem sido pulverizadas com insecticida residual, o mosquito poderá, eventualmente, receber uma dose letal e ficar impedido de transmitir o parasita. A finalidade dos mosquiteiros tratados com insecticida ou da pulverização residual é encurtar a vida dos mosquitos para menos do que o período necessário para que os esporozoítos do paludismo se desenvolvam e para reduzir a densidade dos mosquitos.

Infelizmente, os mosquitos podem desenvolver resistência a uma grande variedade de insecticidas. É importante saber quando uma espécie de vetor desenvolve resistência, para decidir qual a medida de gestão da resistência mais indicada a adoptar, tal como a interrupção da pulverização, mudança de insecticida para outra classe de insecticida ou por outros meios.

A capacidade vetorial dos mosquitos (ver Unidade 4) pode ser reduzida por diferentes métodos de controlo dos vetores, que afectem a densidade e a sobrevivência dos mosquitos adultos e as taxas de picada em seres humanos. O controlo das larvas, incluindo a redução das fontes, uso de peixes larvívoros e larvicidas, afecta, principalmente, a densidade de adultos. O uso de medidas de melhoria nas casas e de repelentes de mosquitos reduz as densidades de picadas em humanos. Muito importante é que o uso em larga escala de mosquiteiros tratados com insecticidas e da pulverização residual intradomiciliar é ainda mais eficaz, porque pode reduzir a sobrevivência dos mosquitos adultos, assim como a taxa de picadas nas pessoas.

As descrições matemáticas da capacidade vetorial salientam como pequenas reduções do tempo de vida dos mosquitos podem reduzir substancialmente a sua capacidade vetorial. É por isso que os MILD e a PRI são consideradas as principais estratégias de controlo dos vetores.

1.3 Papel da monitorização entomológica no controlo do paludismo

A monitorização entomológica e parasitológica fornece informações sobre as características da transmissão do paludismo numa determinada zona, assim como sobre o comportamento e habitats de espécies de vetores específicas. Esta informação é uma componente essencial dos programas de controlo e eliminação do paludismo.

A monitorização entomológica tem vários papéis importantes a desempenhar no controlo do paludismo, incluindo os seguintes:

- ▶ identificação dos vetores responsáveis pela transmissão do parasita;
- ▶ fornecimento de informação básica sobre o comportamento e habitats das espécies de vetores, para fins de planeamento de medidas eficazes de controlo;
- ▶ monitorização do impacto das medidas de controlo (por exemplo, determinando alterações na densidade da população de vetores, taxas de infecção, susceptibilidade dos vetores aos insecticidas, e efeitos residuais dos insecticidas sobre as superfícies tratadas);
- ▶ contribuição para a investigação das áreas problemáticas, quando as medidas de controlo se revelarem ineficazes.

Os programas de controlo dos vetores deverão ser planeados com base na monitorização entomológica. Os estudos entomológicos e outros estudos epidemiológicos podem fornecer respostas às questões que a seguir se apresentam. As competências necessárias para resolver estas questões serão ensinadas nas unidades seguintes.

- ▶ Existe transmissão do paludismo na zona? Em caso afirmativo, em que situação específica e quais os limites geográficos da doença?
- ▶ Para além do paludismo, existem outras doenças importantes transmitidas por mosquitos? Em caso afirmativo, quais?

- ▶ Que espécies de *Anopheles* existem na zona? Quais destas são importantes vetores do paludismo?
- ▶ Que percentagem das espécies de vetores se alimentam em seres humanos? Entre os vetores que se alimentam de sangue humano, que percentagem repousa no interior?
- ▶ Onde é que a maioria dos mosquitos vetores prefere picar as pessoas e onde é que se verifica a maior parte dos contactos ser humano-vetor, no interior ou no exterior das habitações? Qual é a hora do pico da picada do vetor?
- ▶ Quantas picadas infecciosas se registam, em média, por noite e por pessoa?
- ▶ Como é que se pode determinar a duração da eficácia de um insecticida depositado numa superfície (por ex., num mosquiteiro ou numa parede pulverizada)?
- ▶ Que tipo de coleção de água uma determinada espécie de vetor da zona prefere como criadouro?
- ▶ Em que situações epidemiológicas e económicas é recomendável ou não uma estratégia de controlo dos vetores, para reduzir a transmissão?
- ▶ Que percentagem da população de vetores é suscetível ou resistente aos insecticidas?
- ▶ Como é que as várias opções de controlo dos vetores afectam a transmissão do paludismo, a morbidade e a mortalidade por paludismo?
- ▶ Que opções de controlo dos vetores são mais indicadas contra os hábitos específicos e habitats das espécies de vetores?
- ▶ Como é que a eficácia a curto e longo prazo de uma estratégia de controlo dos vetores pode ser avaliada?

A entomologia do paludismo não se limita ao controlo dos vetores. Qualquer estratégia de controlo do paludismo deve basear-se num conhecimento profundo das características de transmissão da doença. Compreender as características da transmissão do paludismo envolverá, tanto estudos teóricos (por ex., usando modelos matemáticos) como observações empíricas. Os parâmetros entomológicos constituem a base desses estudos. A monitorização entomológica é também importante para estimar o impacto das várias medidas de controlo. Os dados permitem decidir se algumas medidas são mais úteis do que outras e se algumas medidas de controlo podem ser perigosas de implementar.

Demonstração do ciclo de vida do Anopheles

O tutor demonstrará o ciclo de vida dos mosquitos *Anopheles* num insectário. Os participantes visitarão o insectário em grupos de 10 e observarão as espécies vivas de cada um dos estágios do ciclo de vida do *Anopheles*. Para informação sobre a criação de um insectário, consultar o Anexo 1.

Exercício 1.1

Qual é o papel da monitorização entomológica no controlo do paludismo?

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 2

Identificação dos vetores do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Diferenciar entre mosquitos outros insectos, com base na morfologia externa
- Descrever a anatomia dos adultos e larvas dos vetores do paludismo
- Descrever as principais características morfológicas externas do adulto e larvas de anofelíneos usadas na identificação da espécie
- Diferenciar entre mosquitos machos e fêmeas
- Diferenciar os ovos, larvas, pupas e adultos de anofelíneos e culicíneos
- Usar uma chave de identificação das espécies
- Descrever os principais métodos bioquímicos e moleculares usados na identificação dos mosquitos vetores

2.1 Distinção entre mosquitos e outros insectos

Os mosquitos pertencem ao filo dos Artrópodes e classe dos Insectos, ordem dos Díptera. Os artrópodes incluem (entre muitos outros) aranhas, escaravelhos, carraças, borboletas, moscas domésticas e mosquitos. Podem ser reconhecidos pelas características que a seguir se indicam.

Corpo:

- ▶ é constituído por várias partes ou segmentos, alguns dos quais podem ser articulados;
- ▶ é coberto por uma pele dura chamada exoesqueleto;
- ▶ normalmente tem duas patas articuladas e antenas.

Dentro dos artrópodes, existem várias classes, incluindo a classe dos Insectos – os mosquitos pertencem a este grupo. Os insectos têm as seguintes características:

- ▶ o corpo está dividido em três secções – cabeça, tórax e abdómen;
- ▶ a cabeça tem um par de antenas e um par de olhos compostos;
- ▶ o tórax tem três pares de patas.

A classe dos Insectos inclui várias ordens; os mosquitos pertencem à ordem Díptera. Os insectos desta ordem têm as seguintes características:

- ▶ o tórax tem um par de asas visíveis;
- ▶ as asas posteriores, que são minúsculas, são pequenos filamentos móveis conhecidos como halteres, que são usados, principalmente, para manter o equilíbrio;

A Figura 2.1 mostra as principais partes do mosquito adulto.

O corpo, como em todos os insectos, está dividido em cabeça, tórax e abdómen. Podem usar-se quatro características para identificar os mosquitos adultos: apenas um par de asas; uma probóscide longa; palpos maxilares; corpo coberto com escamas; e asas com veios que apresentam um padrão definido.

Complexos de espécies (espécies gêmeas)

Muitos insectos vetores são membros de complexos de espécies constituídos por espécies gêmeas, que são, muitas vezes, morfologicamente idênticas, mas diferem no comportamento e ecologia. Pelo menos, metade dos vetores importantes do paludismo pertence aos complexos da espécie gêmea (ou críptica), cujos membros são isomórficos ou semelhantes. O reconhecimento de que os

membros dos complexos da espécie críptica diferem muitas vezes na sua capacidade de transmitir o paludismo tem sido, e continua a ser, uma força motriz no desenvolvimento de métodos de

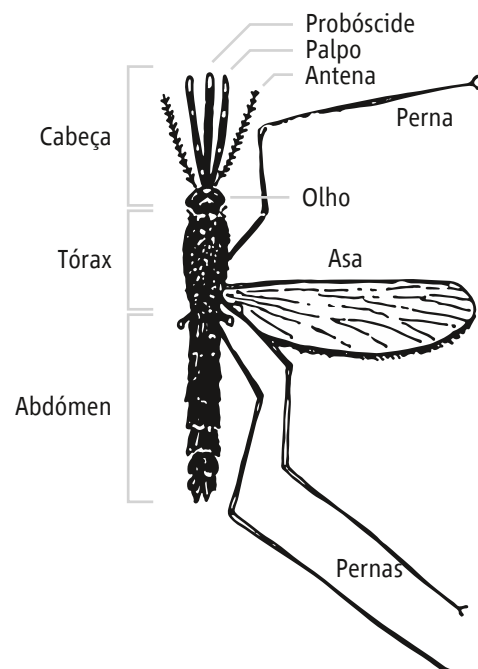


Figura 2.1 Principais partes do mosquito adulto

identificação, para além dos critérios morfológicos. Um método ideal deverá ser rápido, ter um custo acessível, ser fácil de implementar e poder aplicar-se a ambos os sexos e a todos os estágios de desenvolvimento.

2.2 Distinção entre anofelíneos e culicíneos

As características distintivas dos anofelíneos e culicíneos estão ilustradas nas Figuras 2.2 e 2.3.

Ovos

Os ovos dos culicíneos agrupam-se numa “jangada” (*Culex*) ou flutuam separadamente (*Aedes*); os ovos dos anofelíneos flutuam separadamente e cada um deles tem “flutuadores”.

Larvas

As larvas dos culicíneos têm um tubo de respiração (sifão), que também usam para se pendurarem na superfície da água, enquanto as larvas dos anofelíneos não têm sifão e permanecem paralelamente ou imediatamente abaixo da superfície da água. Nas larvas *Culex*, o sifão é mais comprido do que nas larvas *Aedes*.

Pupas

As pupas, tanto dos anofelíneos como dos culicíneos, têm a forma de vírgula e penduram-se logo abaixo da superfície da água, nadando para o fundo quando são incomodadas. A tromba respiratória da pupa do anofelíneo é curta e tem uma abertura larga, enquanto a da pupa do culicíneo é comprida e mais fina e tem uma abertura estreita. Contudo, como é difícil distinguir as pupas dos anofelíneos e dos culicíneos no terreno, é preferível criá-las num insectário, para que os mosquitos adultos que delas emergem possam ser identificados.

Adultos

Com mosquitos vivos, os anofelíneos e culicíneos adultos podem distinguir-se observando as suas posturas de repouso. Os anofelíneos repousam num ângulo entre 50° e 90° em relação à superfície e os culicíneos repousam mais ou menos paralelamente à superfície (Fig. 2.2).

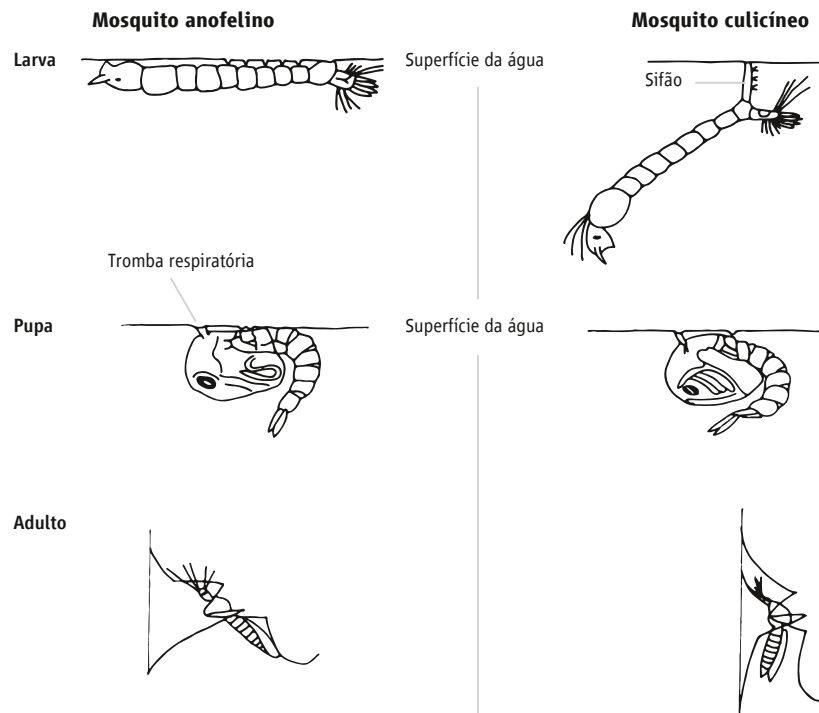


Figura 2.2 Comparação entre os mosquitos anofelíneos e culicíneos

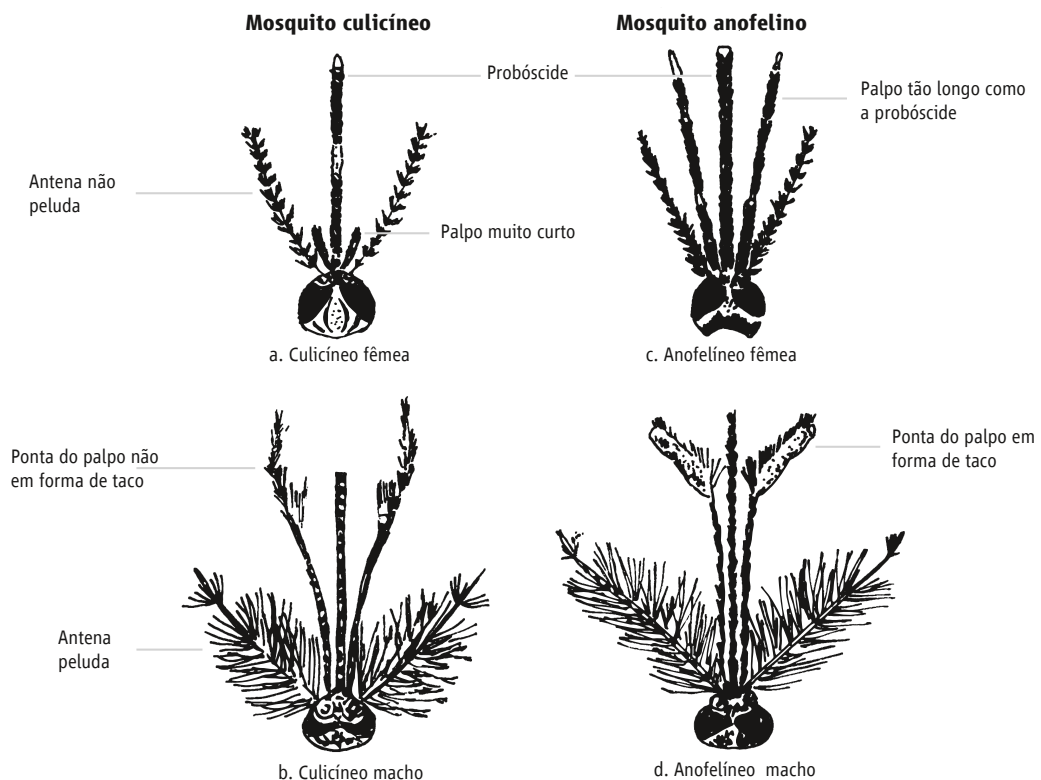


Figura 2.3 Cabeças de culicíneos (a, c) e anofelíneos (b, d) fêmeas e machos

Os mosquitos anofelíneos podem também distinguir-se dos culicíneos pelo comprimento e forma dos palpos. As diferenças são (Fig. 2.3):

- ▶ nos culicíneos fêmeas, os palpos são muito mais curtos do que a probóscide (Fig. 2.3a);
- ▶ nos anofelíneos fêmeas, os palpos são tão longos como a probóscide (Fig. 2.3b);

- ▶ nos culicíneos machos, os palpos são mais longos do que a probóscide, com pontas afiadas (Fig. 2.3c);
- ▶ nos anofelíneos machos, os palpos são tão longos como a probóscide e têm a forma de um bastão (Fig. 2.3d).

2.3 Distinção entre *Anopheles* fêmeas e machos

É importante saber diferenciar entre fêmeas e machos, porque apenas os *Anopheles* fêmeas tomam refeições de sangue e transmitem paludismo.

Nas antenas da fêmea há relativamente poucos pêlos, que são curtos (Fig. 2.3b). Pelo contrário, o macho tem pêlos muito longos nas antenas, que parecem um espesso “bigode” (Fig. 3d).

2.4 Identificação da espécie anofelínea

Os participantes irão aprender como identificar as espécies mais comuns de vetores na sua zona, usando chaves de identificação (secção 2.4.3). A informação recolhida durante os inquéritos sobre mosquitos apenas será útil, se os mosquitos forem rigorosamente identificados. É, por isso, essencial que os participantes consigam identificar as espécies de adultos e larvas. A identificação das pupas é muito difícil e, quando são recolhidas no terreno devem ser mantidas vivas, para que possam emergir como adultos, visto que os adultos podem ser mais facilmente identificados. Serão descritas algumas características externas de larvas e anofelíneos adultos que são úteis para a identificação da espécie.

2.4.1 Anatomia externa do *Anopheles* adulto

Cabeça

A cabeça tem um par de grandes olhos compostos. Entre os olhos está implantado um par de antenas (Fig. 2.3). O par de palpos que se encontra por baixo das antenas é constituído por cinco partes no mosquito anofelíneo. Os palpos estão cobertos por escamas, que podem ser de cores diferentes e usadas para identificar a espécie. Da parte ventral da cabeça, sai uma probóscide que se alonga para a frente.

Tórax

O tórax tem um par de asas e um par de halteres na superfície superior e três pares de patas na superfície inferior ou ventral.

As asas têm várias veias; a cada veia é atribuído um número e/ou um nome (Fig. 2.4). A veia ao longo da extremidade frontal da asa chama-se costa e a pequena veia traseiro chama-se subcosta. Existem seis outras veias numerados de 1 a 6, dos quais as veias 2, 4 e 5 são bifurcados. Estas veias estão cobertos com escamas. As escamas são, normalmente, de cor castanha, preta, branca ou creme. A extremidade traseira da asa tem escamas finas. Muitos anofelíneos têm asas com manchas escuras e claras, as quais, juntamente com outras características, são usadas para a identificação da espécie.

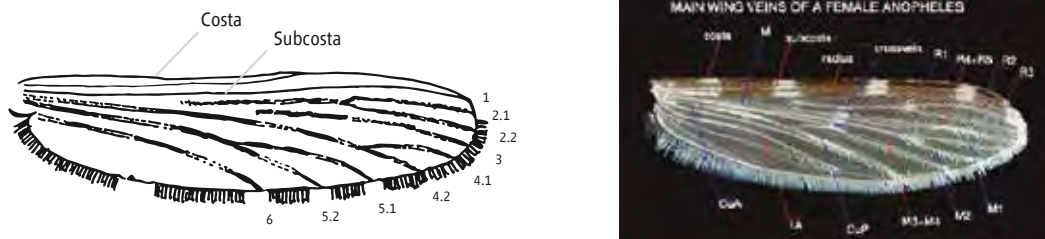


Figura 2.4 Asa de *Anopheles* (veias principais)

As patas são longas e constituídas por uma pequena coxa articulada com o corpo, seguida de um curto trocânter, depois um longo fémur, uma tibia comprida e um longo tarso, que é constituído por cinco partes (Fig. 2.5). As cinco partes estão numeradas de 1 a 5, sendo o segmento 1 o mais próximo do corpo. Na extremidade da pata existe um par de garras. As patas também estão cobertas com escamas, que podem ter cores diferentes e são usadas para identificar a espécie.

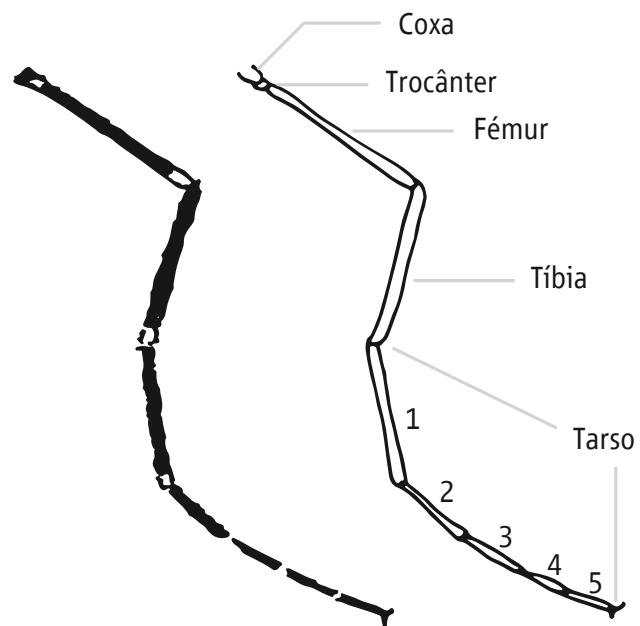


Figura 2.5 Patas de *Anopheles*

Abdómen

O abdómen tem oito segmentos visíveis (Fig. 2.6). As placas superiores chamam-se tergitos e as placas inferiores chamam-se esternitos. São ligados por uma membrana que permite a distensão do abdómen quando a fêmea suga o sangue.

2.4.2 Anatomia externa da larva do *Anopheles*

O corpo da larva está dividido em três segmentos: a cabeça, o tórax e o abdómen (Fig. 2.6a). Todas as partes do corpo têm pêlos.

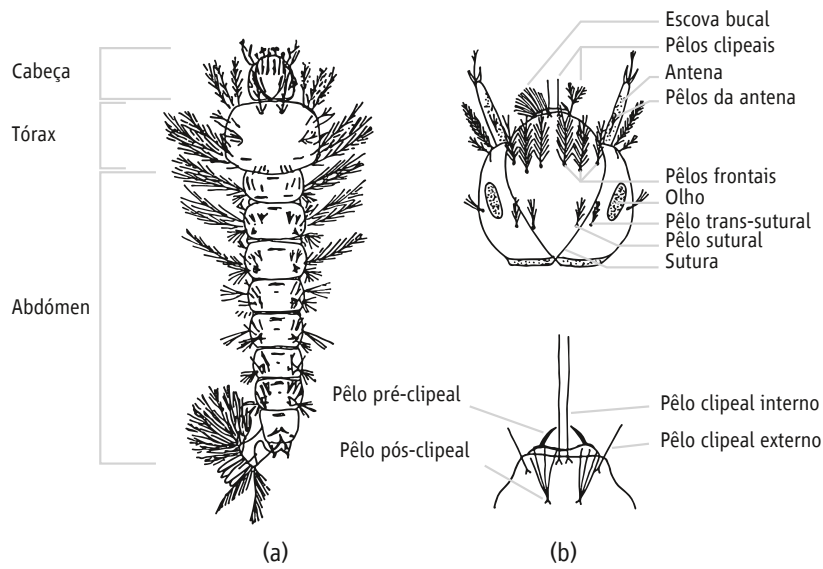


Figura 2.6 a) partes do corpo e b) cabeça de uma larva de anofelíneo

Cabeça

A cabeça tem um par de antenas, uma de cada lado. As hastes das antenas têm pêlos na extremidade e nos lados (Fig. 2.6b). Na frente da cabeça há um par de escovas bucais. A superfície superior da cabeça tem vários pêlos; a posição e a forma desses pêlos são importantes como meio de identificação.

Tórax

O tórax é constituído por três partes: o protórax, o mesotórax e o metatórax (Fig. 2.7). Os pêlos nestas partes do tórax chamam-se protorácicos, mesotorácicos e metatorácicos (Fig. 2.7a). Tanto a superfície superior como inferior têm pêlos. Na superfície inferior da parte ventral do tórax, existem vários pêlos, incluindo três grupos de cada lado, com quatro pêlos em cada grupo. Estes grupos são o grupo pleural protorácico, o grupo pleural mesotorácico e o grupo pleural metatorácico (Fig. 2.7b). Estes pêlos também são importantes para a identificação da espécie.

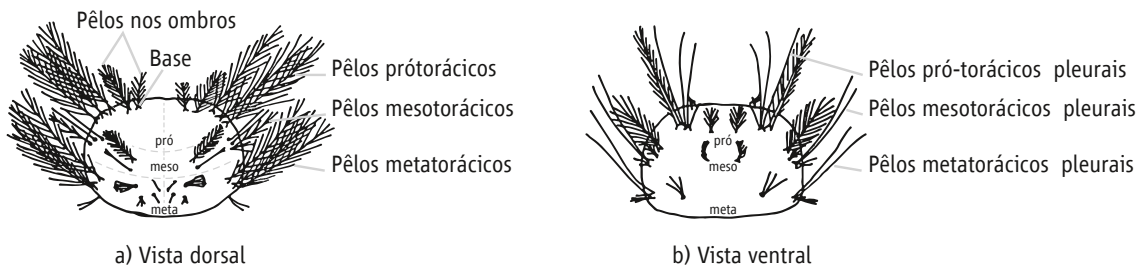


Figura 2.7 Tórax de uma larva de anofelíneo (vista a. dorsal e vista b. ventral)

Abdómen

O abdómen tem oito segmentos semelhantes e dois segmentos modificados (Fig. 2.8a): o 9º segmento tem um par de espiráculos e o 10º é a parte anal. Nos segmentos 4-6, e por vezes também nos segmentos 1-3, encontram-se pêlos bem desenvolvidos, em forma de leque, chamados pêlos palmados. Cada segmento tem até quatro placas terçais no lado dorsal. Normalmente, existe um par na parte anterior e um segundo par na parte posterior de cada segmento, existindo também duas placas acessórias (Fig. 2.8b). O 9º segmento abdominal está articulado com o 8º segmento e transporta os espiráculos através dos quais a larva respira. De cada lado do 9º segmento há um pécten (Fig. 2.8c), que é uma placa triangular com dentes como os de um pente. A maior parte da superfície superior do segmento anal é ocupada por uma grande placa terçal, chamada sela (Fig. 2.8c). Da sela ou do segmento anal podem emergir cerdas. Na superfície inferior do segmento anal há uma série de cerdas chamadas escova ventral. Há quatro guelras anais que se estendem do segmento anal.

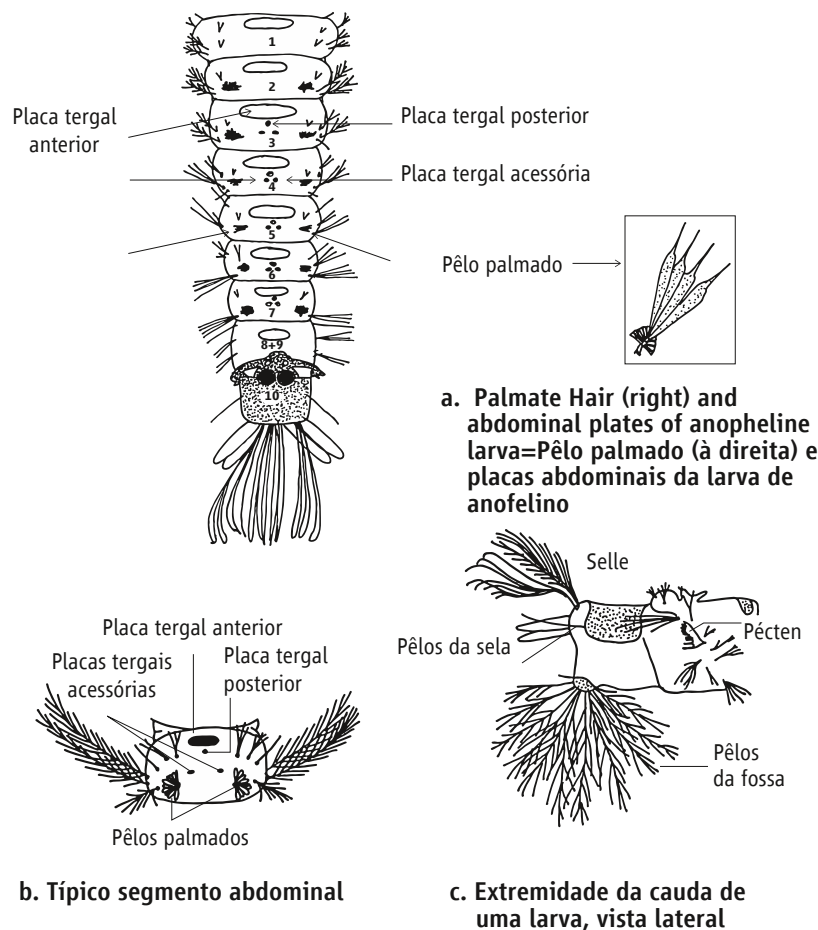


Figura 2.8 Abdómen de uma larva anofelínea

2.4.3 Chaves para a identificação morfológica dos *Anopheles* adultos

As chaves para a identificação dos anofelíneos adultos e das larvas foram desenvolvidas para quase todas as partes do mundo. Os participantes devem, em primeiro lugar, escolher uma chave taxonómica, que tenha sido desenvolvida para a área geográfica em causa ou tão perto dela quanto possível.

O tipo de chave de identificação mais habitualmente usada compreende pares de afirmações e chama-se chave dicotómica. Neste tipo de chave, só um de cada par de afirmações descreve

correctamente a espécie. Os participantes terão de decidir qual a afirmação correcta para o seu espécime. No final da afirmação, estará um número indicando que a chave dicotómica usar a seguir ou o nome correcto do espécime. Quando se passa para outra chave dicotómica, deverá escolher-se a resposta correcta nessa chave e continuar a trabalhar com a chave, até se identificar o nome do espécime.

Exemplo

Um espécime cujas asas tenham escamas claras ou escuras, patas matizadas e metade da probóscide clara, seria identificado na seguinte chave como espécie E.

1. As escamas das asas são escuras2
 Asas com escamas claras e escuras3
2. Patas apenas com escamas escurasEspécie A
 Patas com escamas claras e escurasEspécie B
3. Patas apenas com escamas escuras Espécie C
 Patas com escamas claras e escuras (matizadas)4
4. Probóscide toda escura.....Espécie D
 Probóscide com escamas claras na metade apicalEspécie E

2.4.4 Outras técnicas para a identificação da espécie

Algumas espécies dos anofelíneos são semelhantes na morfologia externa, mas pertencem a uma espécie diferente. Tratam-se de espécies gémeas geneticamente relacionadas e estão morfologicamente agrupadas sob o mesmo complexo. Por exemplo, no complexo *An. gambiae* (também conhecido como *An. gambiae* sensu lato ou s.l.), existem sete espécies diferentes: *An. gambiae* sensu stricto (s.s.), *An. arabiensis*, *An. quadriannulatus* espécie A, *An. Quadriannulatus* espécie B, *An. bwambae*, *An. merus* e *An. melas*. Não é possível estabelecer a diferença entre estas espécies usando uma chave de identificação com base na morfologia externa. Quando uma determinada espécie não pode ser identificada pela morfologia externa, deve registar-se o nome do complexo, por exemplo, *An. gambiae* s.l.

Nota: A identificação correcta da espécie é essencial para os estudos epidemiológicos e para os programas de controlo. Os problemas na taxonomia clássica dos *Anopheles* incluem não apenas uma forte semelhança morfológica entre as espécies, mas também uma acentuada variação morfológica dentro da espécie. Uma identificação rigorosa da espécie normalmente requer criação, para permitir a correlação da morfologia adulta e imatura.

2.4.4.1 Visão geral dos métodos e marcadores mais vulgarmente usados na identificação dos *Anopheles*

Citogenética

A citogenética, envolvendo a cariotipagem dos cromossomas politenos, foi um dos primeiros instrumentos no estudo da genética dos anofelíneos. Uma das desvantagens dessa técnica na identificação dos mosquitos *Anopheles* é que as preparações de cromossomas politenos devem ser

feitas a partir de tecido dos ovários ou larvas de quarto ínstar. Isso limita as amostras a mosquitos fêmeas adultos que sugaram sangue ou a larvas do último ínstar. Além da escassez de pessoal formado e experiente para ler as preparações de cromossomas politenos, os marcadores também não são abundantes, nem particularmente informativos em algumas espécies. Apesar das suas limitações, este método continua a integrar grande parte do trabalho que se faz actualmente. A citogenética tem-se revelado bastante útil na diferenciação dos táxons simpátricos e das formas dos cromossomas. Na realidade, a citogenética continua a ser o único instrumento que estabelece uma diferença segura entre todas as formas de cromossomas do *An. gambiae* s.s. e, até recentemente, era o único instrumento que permitia diferenciar com segurança entre os nove membros do grupo *An. funestus*.

Também têm sido usadas as inversões cromossómicas para resolver questões filogenéticas relativamente à origem, manutenção e introgressão de inversões entre populações e táxons simpátricos, em muitos grupos da espécie anofelíneos. Essa informação tem sido usada como evidência para a introgressão genética das variações cromossómicas adaptáveis entre as duas espécies gémeas, *An. gambiae* s.s. e *An. arabiensis*.

Análise de isoenzimas

A análise das isoenzimas é uma técnica tradicional de utilidade comprovada, mas, em grande parte, tem cedido o lugar às tecnologias baseadas na PCR. Uma das desvantagens da análise das isoenzimas é que as amostras têm de estar frescas ou ser mantidas congeladas, até se fazer a análise, e que o próprio processo exige uma quantidade relativamente grande de amostras, quando comparado com os poucos nanogramas de ADN necessários para a PCR. Apesar disso, as isoenzimas têm fornecido dados valiosos em que se baseia muito do trabalho actual sobre os anofelíneos.

O baixo polimorfismo das aloenzimas e a aparente estabilidade da frequência de alelos entre as populações de *An. gambiae* s.s. levaram à observação de discrepâncias entre os dados aloenzimáticos e as designações de cariótipos.

Marcadores genéticos clássicos

Esta classe de marcadores é muito frequentemente tipificada, visando um gene definido ou fragmento genético para análise, usando uma variedade de técnicas de avaliação da variabilidade genética até à resolução de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP). As técnicas mais usadas para avaliar o polimorfismo destes alvos genéticos são o sequenciamento, o polimorfismo de conformação de filamento único (SSCP) e o polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição (RFLP).

ADN mitocondrial

O genoma mitocondrial é frequentemente usado nos estudos filogenéticos e de genética das populações. A sequência e organização do genoma mitocondrial do *An. gambiae* foi publicada em 2002. Esta informação foi rapidamente aplicada no terreno e em estudos laboratoriais em que, tanto as regiões codificadoras [i.e. NADH desidrogenase subunidade 5 (*NDS*) e citocromo oxidase subunidades I e II (*COI* e *COII*)], como as não codificadoras (ARN 16S e 12S) são alvos frequentes destas análises. O ADN mitocondrial tem igualmente sido usado em investigações de uma grande variedade de anofelíneos e complexos de espécies de anofelíneos.

ADN ribossômico (rDNA)

O espaçador intergênico (IGS) e os espaçadores transcritos internos (ITS1 e ITS2) dentro do genoma nuclear ribossômico tornaram-se alvos populares na resolução de questões taxonômicas entre os anofelíneos. Os investigadores descobriram que a sequência nucleotídica destas regiões espaçadoras são, frequentemente, muito mais polimórficas entre espécies do que no seio das espécies. Esta região do genoma é, portanto, útil para delinear diferenças moleculares entre espécies crípticas por polimorfismos de comprimento ou sequência. À medida que aumenta o número de espécies reconhecidas de anofelíneos, a informação sobre a sequência desenvolve-se em instrumentos de diagnóstico baseados no PCR que diferenciam entre os táxons crípticos. A maioria destes diagnósticos moleculares recai em três categorias: (i) testes baseados em conjuntos de iniciadores de PCR específicos da espécie que geram produtos de PCR diferencial, (ii) diagnóstico de rDNA baseado em padrões únicos de RFLP resultantes da digestão enzimática de um produto de PCR conservado e (iii) testes baseados em hibridização específica de ADN para uma sequência específica da espécie. Dot blots específicos da espécie deste tipo foram construídos para táxons que são crípticos ou difíceis de diferenciar de outros vetores e não vetores.

ADN microssatélite

Sequências repetitivas simples de ADN, mais vulgarmente conhecidas como ADN microssatélite, têm-se tornado um instrumento popular nos estudos genéticos dos anofelíneos. Os microssatélites, que têm sido descritos tanto nos anofelíneos do Velho como do Novo Continente, revelaram-se especialmente úteis no exame da genética das populações e no mapeamento genético. O elevado polimorfismo destes marcadores presta-se ao estudo da estrutura das populações no seio deste complexo de mosquitos, tanto ao nível microgeográfico como macrogeográfico. A maior parte deste trabalho continua a incidir sobre os *An. gambiae* s.s. e as formas cromossômicas deste complexo de espécies, mas há um trabalho cada vez maior a fazer sobre a estruturação genética, estabilidade das populações e fluxo de genes entre as populações de *An. arabiensis*.

Amplificação aleatória de ADN polimórfico (RAPD)

Os marcadores de amplificação aleatória de ADN polimórfico (RAPD) têm sido usados para distinguir entre *An. gambiae* e *An. arabiensis*. Trata-se de um potencial instrumento para diferenciar as espécies crípticas de mosquitos. Há algumas limitações ao uso da RAPD para a identificação das espécies gémeas.

Demonstração

No laboratório, serão demonstradas espécies vivas e conservadas de mosquitos anofelíneos e culicíneos nos vários estágios do seu ciclo de vida. Os participantes terão tempo para examinar os espécimes conservados ou fixadas com alfinetes e para observar as diferenças em cada estágio do ciclo de vida.

Exercício 2.1

Descrever as características dos anofelíneos que os distinguem dos culicíneos.

O participante receberá um microscópio composto e de dissecação, pinças, agulhas de dissecação e anofelíneos fêmeas adultos recentemente fixadas por alfinetes e espécimes larvares em lâminas. Identificar os espécimes ao nível da espécie (ou complexos de espécie).

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 3

Colheita de vetores do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Explicar a importância de estabelecer perfis para inquéritos entomológicos
- Identificar os locais de repouso dos mosquitos adultos
- Descrever os métodos de colheita de mosquitos adultos
- Aplicar as diferentes componentes de cada método de colheita de mosquitos adultos
- Identificar os potenciais criadouros dos vetores do paludismo
- Recolher larvas e pupas usando uma concha e uma rede apropriada
- Manusear e transportar para o laboratório as larvas e pupas recolhidas no terreno
- Matar e conservar os mosquitos

3.1 Vigilância entomológica

Os inquéritos entomológicos são uma componente essencial dos programas de luta contra os vetores do paludismo, das actividades operacionais e da investigação. Nos estudos dos vetores utilizam-se quatro tipos principais de inquéritos: (i) inquéritos preliminares, (ii) observações de rotina ou de tendências, (iii) verificações no local e (iv) investigações focais.

A principal finalidade da vigilância entomológica é recolher dados iniciais para planear medidas anti-vetoriais, incluindo:

- ▶ Distinção entre os *Anopheles* e outros insectos;
- ▶ Identificação das espécies vetores do paludismo;
- ▶ Densidade da população de vetores;
- ▶ Taxa de infecção (taxa esporozóitica, taxa de oocistos);
- ▶ Longevidade do vetor (parus, nulíparos);
- ▶ Hábitos alimentares (zoofílicos, antropofílicos);
- ▶ Comportamento (exofílico, endofílico, exofágico, endofágico);
- ▶ Actividades sazonais;
- ▶ Habitat das larvas;
- ▶ Tipo de água nos criadouros;
- ▶ Suscetibilidade aos insecticidas;
- ▶ Efeito residual dos insecticidas.

3.1.1 Inquéritos preliminares

Os inquéritos preliminares são originais, básicos e curtos, sendo usados para recolher dados iniciais para o planeamento das medidas de controlo dos vetores. Eles fornecem informação sobre a identificação específica da espécie de vetores, os seus hábitos de repouso e de alimentação, densidades sazonais e longevidade, tipos de coleções de água utilizadas como criadouros e sua suscetibilidade aos insecticidas existentes.

3.1.2 Observações regulares ou de tendências

Trata-se de observações a longo prazo, efectuadas com regularidade, isto é, mensalmente ou semestralmente, com o propósito de monitorizar e avaliar o impacto das medidas de controlo. Fornecem informação sobre as alterações na densidade dos vetores, taxas de infecção, comportamento e suscetibilidade dos vetores aos insecticidas.

3.1.3 Verificações no local

As verificações no local são realizadas em localidades escolhidas aleatoriamente. Como os postos fixos muitas vezes usados para monitorizar as populações de mosquitos podem não ser representativos para todas as zonas, podem realizar-se aleatoriamente verificações no local em zonas selecionadas, para complementar as observações de rotina ou obter uma indicação mais clara dos efeitos das medidas de controlo.

3.1.4 Investigações focais

As investigações focais realizam-se em zonas de transmissão nova ou persistente do paludismo, para determinar por que motivo existe transmissão ou por que razão a doença não está a responder às medidas aplicadas e para identificar as melhores abordagens de controlo.

3.2 Métodos de colheita de mosquitos adultos

3.2.1 Colheita manual de mosquitos em repouso no interior das habitações

Muitas das espécies de anofélineos que são vetores do paludismo repousam no interior das habitações. A colheita manual fornece informação sobre os seus locais habituais de repouso, densidade de repouso e alterações sazonais na densidade. Também disponibiliza espécimes vivos para testes de suscetibilidade e bioensaios e para observações sobre a mortalidade entre os mosquitos nas casas em que há insecticida nos mosquiteiros de cama ou nas paredes.

Equipamento

Tubo de sucção, lanterna, copos de papel cobertos com rede, algodão em rama, elásticos, gaiolas para mosquitos, recipiente de cartão ou caixa de piquenique hermética, clorofórmio e toalhas (Fig. 3.1).

Como usar um tubo de sucção:

- ▶ Com o bocal na boca, segurar o tubo de sucção com a abertura a 1–2 cm de distância do mosquito.
- ▶ Mover a extremidade do tubo de sucção para mais perto do mosquito e, ao mesmo tempo, aspire suavemente mas rapidamente, para puxar o mosquito para dentro do tubo.
- ▶ Colocar um dedo sobre o tubo, para evitar que o mosquito fuja.
- ▶ Colocar a extremidade do tubo, com o dedo ainda na mesma posição, perto do furo na rede que cobre o copo de papel. Retirar o dedo e colocar rapidamente o tubo no furo.
- ▶ Soprar suavemente para dentro do bocal, para transferir o mosquito para o interior do copo de papel; ao mesmo tempo, bater no tubo com o dedo indicador para acordar os mosquitos que estejam em repouso.

Não capturar mais de cinco mosquitos num tubo de sucção, antes de os transferir para o copo de papel.



Figura 3.1 Tubo de sucção (ou aspirador) e copo de papel para a colheita manual de mosquitos adultos

Colheita manual de mosquitos em repouso no interior das habitações

Os mosquitos devem ser capturados, preferencialmente, de manhã cedo, depois de os ocupantes da casa se terem levantado e vestido. Em qualquer aldeia, devem ser revistadas, pelo menos, 10 casas, para se obter uma amostra representativa. O consentimento dos ocupantes deve ser obtida muito antes da busca, por exemplo na noite anterior. Os moradores não devem abrir as janelas.

Os mosquitos capturados vivos nas casas podem ser guardados durante 24 horas. Isso permitirá verificar a taxa de mortalidade de 24 horas entre os mosquitos nas habitações com mosquiteiros tratados com insecticida ou apanhados em habitações pulverizadas.

Toda a casa deve ser revista ou, se for demasiado grande, dedicar 15 minutos a revistar quarto por quarto. Prestar especial atenção aos quartos onde as pessoas dormiram na noite anterior. Com ajuda da lanterna, procurar mosquitos nas paredes, tecto, por detrás ou por baixo da mobília, dentro de potes e jarros grandes e por baixo das camas (Fig. 3.2). Fazer uma busca sistemática da habitação, começando na porta de entrada e circular pela esquerda, deslocando-se pela casa no sentido dos ponteiros do relógio.

Usar um copo diferente para cada casa. Os copos devem ser claramente rotulados, escrevendo-se a lápis, pelo menos, a seguinte informação: localidade; data e hora da captura; minutos passados na captura; número da casa ou nome do morador; tipo de estrutura (casa, abrigo de animais, armazém, etc.); se o local foi pulverizado e, em caso afirmativo, quando; número de pessoas e/ou animais no quarto durante a noite anterior; e o nome da pessoa que fez a captura.

Alternativamente, o rótulo pode incluir apenas a localidade, data, número da casa e nome da pessoa que fez a captura, devendo usar-se um formulário de captura (que deve acompanhar o copo de papel), para registrar toda a informação.



Figura 3.2 Captura manual de mosquitos

Manter os mosquitos vivos no terreno

Se for necessário guardar os mosquitos durante algum tempo no terreno e durante o transporte, devem tomar-se as seguintes precauções, para os conservar em boas condições:

- ▶ Embeber pedaços de algodão em rama em 5–8% de solução de açúcar, espremer o excesso de solução e colocar o algodão sobre o topo dos copos.
- ▶ Colocar os copos com mosquitos verticalmente numa caixa de cartão ou, de preferência, numa caixa frigorífica hermética, para que os mosquitos não aqueçam.
- ▶ Cobrir os copos com uma toalha húmida, mantendo-a húmida até que os mosquitos cheguem ao laboratório.
- ▶ Certificar que os mosquitos são guardados em locais livres de contaminação por insecticidas e longe de formigas.
- ▶ Antes do transporte, colocar papel de jornal ou outro entre os copos, para minimizar os movimentos e conduzir lentamente e cuidadosamente.

Matar mosquitos

Deitar algumas gotas de clorofórmio (ou acetato de etilo) num bocado de algodão e colocá-lo por cima da rede do copo de papel. Cobrir o copo com uma placa de Petri de vidro, para evitar que o clorofórmio se evapore. Não usar uma placa de Petri de plástico, porque o clorofórmio pode dissolvê-lo. Quando manusear o clorofórmio, tomar as medidas de precaução normais, como para qualquer químico perigoso.

3.2.2 Colheita com lençol e piretrina, de mosquitos que repousam no interior das habitações

A colheita com lençol e piretrina implica usar um pulverizador de ambiente de piretrina, derrubar “Knock down” os mosquitos que estão em repouso dentro de uma casa e apanhá-los em lençóis brancos estendidos no chão e em outras superfícies planas da casa.

Não é provável que todos os mosquitos que repousam numa casa sejam capturados usando o método de colheita manual. Usando o método dos lençóis com piretrina, será possível capturar quase todos os mosquitos de quarto bem fechado, pulverizado com uma ligeira nuvem de solução de piretrina. Este método permite realizar estudos quantitativos, incluindo a medição de:

- ▶ densidade de mosquitos que repousam no interior (número de mosquitos que repousam no interior durante o dia);
- ▶ densidade de picadas em humanos (indirectamente);
- ▶ alterações sazonais na densidade de mosquitos que repousam no interior;
- ▶ número de mosquitos que ficam num determinado quarto, após uma colheita manual.

Equipamento

Lençóis brancos de algodão (medidas: 2 x 1 m, 2 x 2 m e 2 x 3 m); pulverizadores manuais; insecticidas em aerossol; solução de piretrina; querosene; pequenas placas de Petri; copos de papel; lupas manuais; pinças; contentor (ou, de preferência uma caixa frigorífica) para transportar mosquitos; algodão em rama; papel de filtro e uma tocha.

Os pulverizadores manuais devem ser do tipo dupla ação com uma válvula de ar (Fig. 3.3). A solução de piretrina deve ser preparada a uma concentração de 0,2%–0,3% em querosene. É preciso tomar as devidas precauções quando se usa piretrina e mantê-la sempre fora do alcance das crianças.



Figura 3.3 Pulverizador manual

Preparação dos quartos da casa para a colheita com lençóis e piretrina

Normalmente, o trabalho é efectuado por uma equipa de três a quatro pessoas, para que as colheitas possam ser feitas em 8–10 quartos em cada localidade.

Assegurando que os mosquitos em repouso serão incomodados o menos possível, preparar um quarto da casa para pulverizar, do seguinte modo:

- ▶ Retirar todas as pessoas e animais.
- ▶ Retirar ou cobrir todos os alimentos, água e equipamentos.
- ▶ Retirar todas as pequenas peças de mobiliário.
- ▶ Cobrir todas as aberturas e goteiras com roupa ou redes mosquiteiras.
- ▶ Estender os lençóis pela casa de modo a cobrirem completamente o chão e todas as superfícies planas do mobiliário; colocar lençóis também por baixo das mesas, camas e outros locais onde os mosquitos se possam esconder.
- ▶ Fechar todas as janelas e portas.

Pulverização de espaços e colheita de mosquitos

Um dos membros da equipa deve dar a volta à casa pelo lado de fora e pulverizar os espaços abertos ou buracos nas paredes e alpendres. A mesma pessoa ou outro membro da equipa deve depois entrar, fechar a porta e, deslocando-se no sentido dos ponteiros do relógio, aplicar a pulverização em direcção ao tecto, até encher a divisão da casa com uma nuvem do produto. O operador deve sair rapidamente do quarto e certificar-se de que a porta fica bem fechada durante, pelo menos, 10 minutos.

Começando na entrada, recolher os lençóis um a um, pegando-lhes pelos cantos. Levar os lençóis para fora. Apanhar os mosquitos que caíram, no exterior da casa, à luz do dia, usando pinças. Colocar os mosquitos capturados numa placa de Petri com rótulo, com uma camada de algodão humedecido e filtro de papel por cima do algodão. Usar placas de Petri separadas para cada casa e rotular as placas com toda a informação essencial (Fig. 3.4).



Figura 3.4 Colheita com lençol e piretrina para amostragem de mosquitos de interior

3.2.3 Colheita com armadilhas de janela (armadilhas de saída)

Algumas espécies de mosquitos picam no interior das casas, mas saem logo depois de picarem (endofágicos e exofílicos). As armadilhas de saída ou de janela são geralmente usadas para capturar os mosquitos quando estes saem das casas. Estas armadilhas são usadas para determinar:

- ▶ a espécie de mosquito que pica no interior mas repousa no exterior;
- ▶ o efeito da pulverização residual intradomiciliar e dos mosquiteiros impregnados com insecticida sobre o movimento normal e os hábitos alimentares dos mosquitos;
- ▶ os efeitos residuais dos insecticidas, a partir do número de mosquitos mortos capturados e da taxa de mortalidade de 24 horas dos mosquitos encontrados vivos nas armadilhas.

Equipamento

Armadilhas de janela, aspiradores bucais, copos de papel cobertos com rede, toalhas, caixa de piquenique herméticas e pano ou rede de cor escura, para bloquear as aberturas existentes nas divisões da casa.

Colocação de armadilhas nas janelas

As armadilhas de janela (saída) são apenas adequadas para serem colocadas em quartos que estejam bem isoladas e que tenham poucos pontos de saída para os mosquitos. Se houver outras aberturas para além das janelas onde se colocam as armadilhas, devem ser cobertas ou bloqueadas com panos escuros. Normalmente, deve-se seleccionar um quarto e as armadilhas devem ser colocadas nas janelas. As partes das janelas que não ficam cobertas pela armadilha devem ser cobertas com panos escuros ou painéis duros. A armadilha deve ser colocada de modo a que a manga de captura fique apontada para a parte de fora. É também importante colocar as armadilhas muito antes do pôr-do-sol.



Figura 3.5 Armadilha de janela (saída)

3.2.4 Colheita de mosquitos adultos no exterior

Algumas espécies de mosquitos não entram nas casas mas picam no exterior e repousam na vegetação ou em superfícies sólidas de locais sombreados, tais como margens de rios e represas, buracos nas rochas, pontões, fendas em paredes de pedra, grutas, tocas de animais, nos troncos ou caules de árvores grandes e em morros de térmitas abandonados.

Os dados obtidos na captura no exterior são importantes para avaliar o impacto das medidas de controlo dos vetores, porque fornecem informação sobre:

- ▶ as espécies que repousam no exterior;
- ▶ o número relativo de mosquitos que repousam no exterior;
- ▶ alterações sazonais dos hábitos de repouso no exterior;
- ▶ qualquer alteração do número relativo de mosquitos que repousam no exterior, depois da aplicação de insecticidas nas casas e outro edifícios.

A colheita no exterior é efectuada, quer nos locais de repouso na natureza acima descritos, quer em abrigos especialmente construídos para esse fim. Os abrigos artificiais têm a vantagem de proporcionar locais concentrados para a colheita e amostras mais representativas, que podem ser usadas para trabalho quantitativo.

Equipamento

O equipamento necessário para a colheita no exterior é o mesmo que se utiliza para a colheita manual dos mosquitos que repousam no interior. Além desse, pode usar-se também uma rede manual e uma rede suspensa. Uma vez que a preparação ou a construção de abrigos artificiais são feitas durante a prática no terreno, são também necessários: um cano, duas enxadas, uma picareta e um machado.

Métodos de colheita no exterior

Os métodos mais comuns usados para a colheita de mosquitos que repousam na vegetação envolvem o uso de um tubo de sucção, uma rede de mão ou uma rede suspensa. As espécies de anofelíneos que normalmente repousam em superfícies sólidas são capturadas com o auxílio de um tubo de sucção em abrigos naturais ou artificiais. Os abrigos artificiais podem consistir em grandes barris ou caixas, colocados, por exemplo, nas margens dos rios ou poderão ser fossos cavados no chão (Fig. 3.6, a e b). Os abrigos bem colocados, normalmente, fornecem mais mosquitos do que os ambientes naturais.

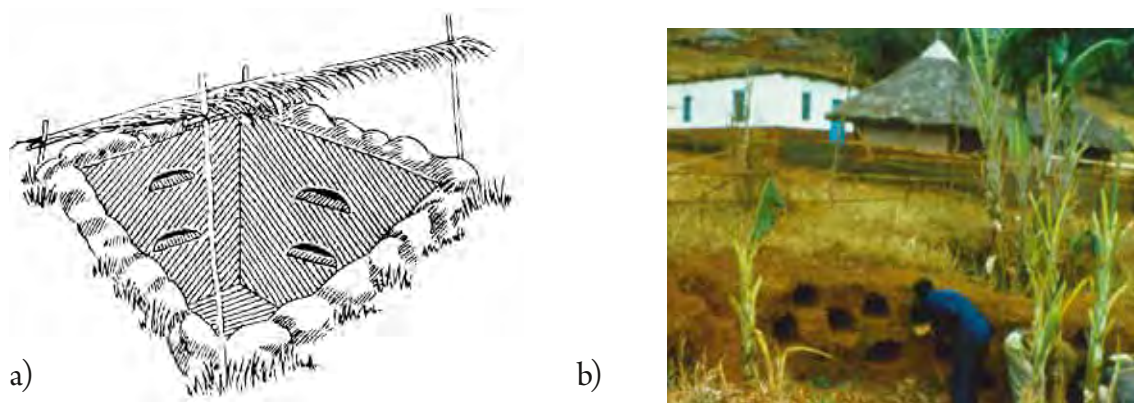


Figura 3.6 a) Abrigo artificial com tecto e b) Abrigo natural

Uma rede de mão ou de arrasto é usada para capturar os mosquitos que repousam na vegetação (Fig. 3.7). O método correcto de utilização é passar a rede manual rapidamente sobre o topo da erva alta ou perto do chão em volta dos arbustos. Deve-se registar o tipo de abrigo, o número de colheitas e o tempo total gasto na colheita.



Figura 3.7 Rede manual

3.2.5 Colheita directa de mosquitos com iscos

Os mosquitos fêmea são atraídos pelas pessoas e/ou animais para se alimentarem. O número de vetores que picam as pessoas é, por isso, um importante determinante da transmissão do paludismo, sendo importante conhecer:

- ▶ que espécie de anofelíneo pica os seres humanos e qual prefere picar os animais;
- ▶ quais daqueles que picam as pessoas são vetores do paludismo;
- ▶ quantas vezes uma pessoa é picada por um vetor;
- ▶ se os vetores picam no interior ou no exterior das casas;
- ▶ a hora de pico das picadas;
- ▶ as variações sazonais do número de mosquitos que picam os seres humanos.

Equipamento

Tubo de sucção, lanterna, copos de papel cobertos com rede, despertador, cercas de madeira e uma corda (para prender o animal usado como isco), estacas de madeira (para a corda), martelo, algodão em rama, toalhas, recipiente de cartão ou uma caixa de piquenique hermética.

Iscos humanos

Embora a colheita de mosquitos em iscos humanos seja útil como medida directa das taxas de picadas em humanos, existem preocupações de natureza ética, porque as pessoas envolvidas correm risco de infecção. Estas preocupações devem ser levadas a sério, devendo obter-se uma autorização das autoridades éticas, antes de se usar a técnica. Recomenda-se evitar o uso desta técnica, a menos que ela seja absolutamente essencial, especialmente se estiverem disponíveis

outras técnicas mais seguras, para se obterem estimativas próximas das taxas de picadas em humanos. Essas técnicas alternativas serão descritas nas secções seguintes. Todos os participantes na colheita devem receber formação sobre comunicação apropriada e métodos de colheita de mosquitos.

As pessoas que irão servir como iscos humanos devem fazer a devida profilaxia do paludismo, para evitar contrair a doença durante a captura dos mosquitos que picam. Não é necessário permitir que os mosquitos se alimentem; devem ser capturados logo que pousem na pele, uma vez que se pode presumir que, normalmente, se seguirá a picada. Por isso, em vez das taxas de picadas, devem medir-se as taxas de pouso.

Se possível, deve escolher-se uma casa da aldeia com o maior número de casos de paludismo. Um coletor humano deve sentar-se no interior e outro no exterior. Em algumas situações, será preferível ter dois coletores no interior e dois no exterior, para reduzir a possibilidade dos coletores adormecerem durante a noite. Os coletores devem mudar de lugar de hora a hora. As colheitas são frequentemente feitas durante toda a noite (se necessário) ou durante parte da noite. Os coletores poderão também trabalhar em turnos durante a noite.

A pessoa que serve como isco humano deve usar vestuário que lhe permita ter as pernas expostas até aos joelhos e ficar sentada sem se mexer. Quando sentir um mosquito, deve ligar rapidamente a lanterna, capturar o mosquito com o tubo de sucção e transferi-lo para um copo de papel. Usar um copo para cada hora de colheita. Não fumar durante a colheita.

Alternativamente, uma pessoa pode servir como isco e outra como coletor. A pessoa que serve de isco senta-se ou deita-se, sem se mexer, dentro ou fora da casa, conforme fôr mais indicado, com o vestuário colocado de modo a deixar exposta tanta pele quanto aceitável. O coletor procura e captura anofelíneos que piquem de dois em dois ou três em três minutos. Anotar o tempo de sono habitual das pessoas residentes no local; esta informação será usada para estudar se a maioria dos contactos dos vetores com as pessoas ocorre no interior ou no exterior e o número médio de picadas que os habitantes da aldeia recebem em cada local, durante a noite (Fig. 3.8).

Iscos animais

As colheitas em iscos animais são, normalmente, efectuadas no mesmo local e ao mesmo tempo que a colheita em iscos humanos. Antes do pôr-do-sol, escolher um animal doméstico da aldeia, geralmente uma vaca. O local de colheita deve ser perto do local onde o animal habitualmente passa a noite. Prender bem o animal. Examinar o animal de 2 em 2 ou 3 em 3 minutos e capturar



Figura 3.8 Captura de mosquitos em isco humano



Figura 3.9 Captura de mosquitos em isco animal

todos os mosquitos encontrados. Colocar as capturas de cada hora em copos de papel separados (Fig. 3.9).

3.2.6 Colheita de mosquitos em armadilhas de rede com isco

Nesta secção, os participantes irão aprender como usar as armadilhas de rede; a finalidade da colheita por este método é a mesma que a da colheita directa.

As armadilhas de rede com isco animal fornecem, geralmente, mais mosquitos do que a colheita directa em animais; contudo, o contrário é verdadeiro para armadilhas de rede com isco humano. Por essa razão, a colheita nocturna padrão com isco, normalmente, envolve a colheita directa em humanos, tanto no interior como no exterior, ocorrendo a colheita com armadilhas de rede em animais no exterior.

Equipamento

Tubo de sucção, lanterna, copos de papel cobertos com rede, algodão em rama, toalhas, caixa de piquenique hermética, despertador, camas de campanha, duas pequenas redes mosquiteiras com armação que se adapte às camas, duas armadilhas de rede para isco humano, uma armadilha de rede para isco animal, cercas de madeira e uma corda (para prender o animal), martelo, estacas e fio (para segurar as redes) e uma agulha e linha (para reparar as redes).

Colheita por meio de armadilhas de rede com isco humano

Como anteriormente se referiu, a colheita directa de mosquitos usando iscos humanos não é, geralmente, recomendada, por preocupações de natureza ética com a exposição dos coletores ao paludismo. Neste caso, deve usar-se um método alternativo de captura, que forneça uma amostra representativa da população de vetores que ataca os seres humanos.

Uma das técnicas usa duas redes, de modo a que uma cubra a área de dormir e a outra seja a rede-armadilha externa. A rede interior é colocada em volta de uma cama de campanha, para proteger a pessoa que vai servir de isco (Fig. 3.10). O fundo da rede exterior deve ser esticado e atado a estacas espetadas no chão, deixando 15–20 cm entre o chão e a extremidade inferior da rede. Ao pôr-do-sol, o coletor entra na armadilha e deita-se na cama, regulando o despertador para tocar uma hora depois. Quando o despertador tocar, todos os anofelíneos na armadilha são capturados. O período de colheita não deve exceder 10 minutos. O coletor regressa então à cama e regula o despertador como anteriormente. Este procedimento é repetido durante toda a noite.

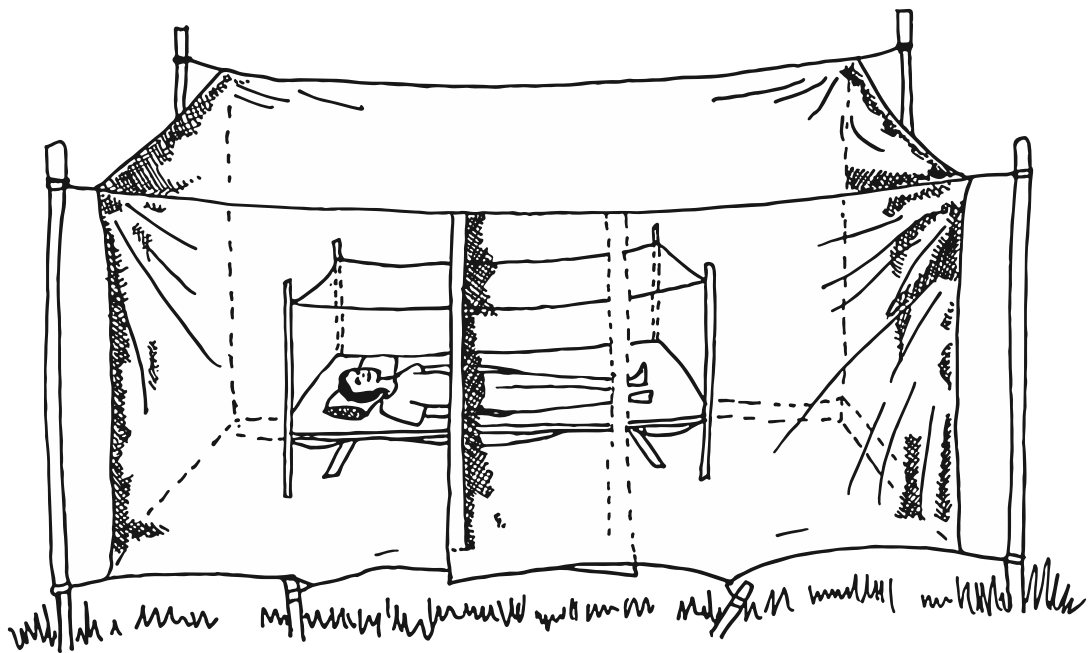


Figura 3.10 Armadilha de rede com isco humano

Colheita por meio de armadilhas luminosas CDC com isco humano

Instala-se no quarto uma armadilha luminosa CDC¹, ao lado de uma cama com mosquiteiro. O isco humano dorme sob o mosquiteiro, enquanto a armadilha luminosa atrai anofelíneos fêmeas, que entram no quarto para picar a pessoa que está sob o mosquiteiro. Os mosquitos apanhados podem ser usados como amostra para estimar a taxa de picadas. Na casa, um voluntário que serve de isco humano dorme sozinho durante a noite. Dentro do quarto, coloca-se uma armadilha luminosa CDC, munida de lâmpadas incandescentes, perto do voluntário que dorme sob o mosquiteiro não impregnado, no seu local de dormir habitual. A luz deve ser colocada a cerca de 1,5 m acima do chão, perto dos pés da cama. Os mosquitos apanhados são retirados na manhã seguinte (Fig. 3.11).



Figura 3.11 Armadilha luminosa, colocada próximo de um isco humano, sob um mosquiteiro não tratado

¹ US Centers for Disease Control and Prevention

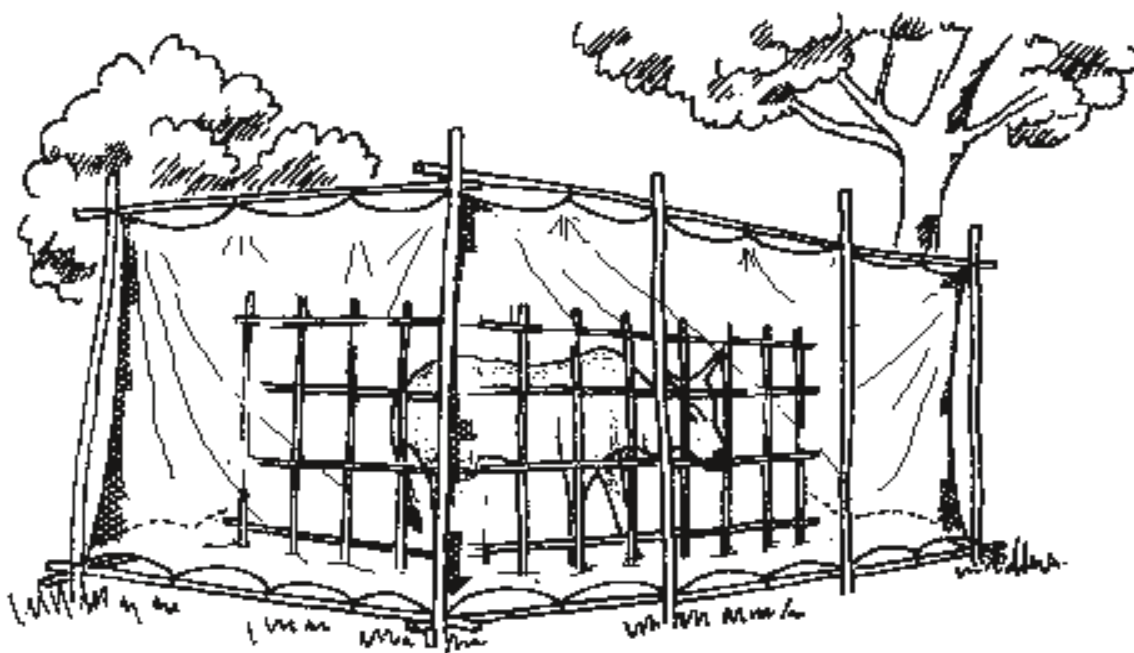


Figura 3.12 Armadilha de rede com isco animal

Colheita por meio de armadilhas de rede com isco animal

Coloca-se uma armadilha de rede com isco animal perto do local onde o animal costuma ser guardado durante a noite. Estas armadilhas são, normalmente, usadas no exterior. A rede (Fig. 3.12) é semelhante à usada para a colheita de mosquitos atraídos pelo isco humano. O animal deve estar bem preso, para que não se possa libertar e danificar a rede ou magoar-se.

Se for preciso repetir a colheita no mesmo local, pode construir-se uma pequena vedação, para confinar o animal. Colocar o animal na armadilha ao pôr-do-sol e capturar os mosquitos de três em três horas.

3.3 Métodos de colheita de larvas e pupas

3.3.1 Onde procurar larvas e pupas de anofelíneos

Cada tipo de mosquito prefere pôr ovos num determinado tipo de água. Alguns põem ovos apenas em água doce e transparente, com alguma sombra; outros apenas em água salobra; alguns podem pôr ovos em quantidades muito pequenas, tais como a água estagnada numa pegada de animal.

O mais importante é saber quais os criadouros preferidos dos mosquitos anofelíneos, que transmitem o paludismo na área e as densidades de larvas e pupas nesses locais. A colheita em diferentes criadouros numa determinada zona permitirá:

- ▶ determinar a espécie presente;
- ▶ determinar os criadouros preferidos de cada espécie de vetor;
- ▶ fazer uma avaliação da eficácia de um programa de controlo dos vetores.

Para identificar os criadouros preferidos, é fundamental ser sistemático e verificar todos esses possíveis locais, mesmo os que são difíceis de alcançar. Isso contribuirá para indicar o tipo de local que mais provavelmente abrigará as larvas dos mosquitos anofelíneos.

3.3.2.1 Potenciais criadouros

Entre estes contam-se:

- ▶ Pequenas poças de água da chuva, pegadas de animais, esgotos e valas, onde se deve examinar toda a superfície da água.
- ▶ Água salobra (mistura de água doce e água salgada).
- ▶ Cursos de água, que devem ser revistados nas margens onde há vegetação e a água corre lentamente.
- ▶ Charcos, lagos e pântanos, onde, geralmente, há larvas na vegetação circundante, podendo, por vezes, ser encontradas longe das margens, entre a vegetação flutuante.
- ▶ Locais especiais, tais como poços e reservatórios de água feitos de cimento, onde se deverá examinar toda a superfície da água.

Seja qual for o método de colheita utilizado, a aproximação ao criadouro deve ser sempre feita com cuidado, de frente para o sol: se as larvas forem perturbadas por sombras e movimentos, muitas mergulharão, desaparecendo da vista do coletor. Depois, será preciso esperar em silêncio durante vários minutos, até que elas regressem à superfície. É preciso ter especial atenção às pequenas quantidades de resíduos à superfície da água ou onde a vegetação emerge da água. Deve procurar-se, tanto na água limpa como na poluída, visto que os anofelíneos podem estar presentes na água poluída.

Equipamento

Concha, redes para larvas, tabuleiro grande, pipeta, tubos de amostras (frascos), solução de álcool a 70%, algodão em rama, lápis e fósforos de segurança ou isqueiro. Se forem necessárias amostras vivas para testes de insecticidas, também será preciso ter garrafas maiores ou um frasco de vácuo de boca larga.

Uso da concha

É preferível uma concha de plástico ou de esmalte branco, porque isso permite que as larvas sejam vistas mais facilmente (Fig. 3.13).

- ▶ Mergulhar a concha suavemente na água a um ângulo de cerca de 45°, até que um dos bordos fique um pouco abaixo da superfície.
- ▶ Ao introduzir a concha na água, é preciso ter cuidado para não perturbar as larvas, fazendo-as mergulhar para mais fundo – se isso acontecer, esperar um minuto ou dois, para que regressem à superfície e então continuar a colheita.
- ▶ Movimentar-se ao longo do criadouro, arrasta-se a superfície da água com a concha.
- ▶ Retirar a concha da água com cuidado, para não derramar a água que contém as larvas e as pupas.
- ▶ Segurar a concha com firmeza, até que as larvas e as pupas venham à superfície da água.

- ▶ Recolher as larvas e as pupas por meio de uma pipeta e transferi-las para uma garrafa ou frasco.
- ▶ Não atirar a água que sobra de volta para o criadouro, porque isso pode voltar a perturbar as larvas e as pupas.
- ▶ Verifique se as larvas são imaturas (1.º e 2.º ínstaes) ou maduras (3.º e 4.º ínstaes), visto que as larvas maduras são mais importantes para os programas sobre o uso de larvicidas.



Figura 3.13 Concha

Estimativa da densidade de larvas

Contar o número de vezes que a concha é mergulhada em cada tipo de criadouro – isso ajuda a calcular a densidade de larvas em cada tipo de coleção de água. A densidade de larvas em cada criadouro pode ser calculada por ínstar ou número de larvas do 3.º e 4.º ínstar de cada espécie, apanhadas por concha ou 10 conchas (ou por 100 conchas, se a densidade for demasiado baixa). Registrar também os minutos gastos na colheita em cada tipo de criadouro (ver Fig. 3.14).



Figura 3.14 Colheita de larvas nos criadouros

Uso da rede para larvas

Uma rede para recolher larvas e pupas em charcos e lagos consiste numa fina malha montada num cabo de madeira e uma garrafa ou tubo de plástico preso a uma das extremidades (Fig. 3.15). Para recolher larvas e pupas, arrastar a superfície da água com a rede em ângulo e deslocando-a

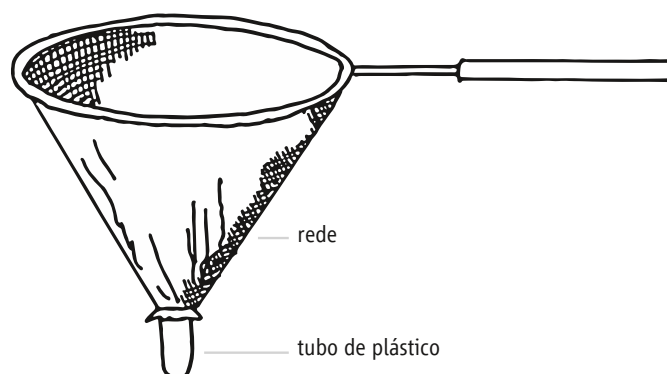


Figura 3.15 Rede para larvas netting=rede

pela água. As larvas e pupas à superfície da água serão apanhadas pela rede e transferidas para a garrafa ou tubo de plástico.

Pode também usar-se uma rede simples, sem garrafa nem tubo. Depois da arrastagem, a rede deve ser invertida para uma taça de água, deitando nela o seu conteúdo. Em seguida, procuram-se as larvas e pupas na água da taça, apanhando-as e transferindo-as para uma garrafa ou frasco, usando uma pipeta.

A rede usada para recolher amostras em poços é semelhante à rede para larvas, mas não tem um cabo de madeira; em vez disso, é pendurada com inclinação por quatro fios e controlada por um fio comprido ou por uma corda.

Colheita de larvas por pipeta

Em algumas circunstâncias, quando os criadouros são raros e baixos, pode usar-se uma pipeta para a captura das larvas.

3.4 Transporte de larvas e pupas vivas

Colocar todos os espécimes de um determinado criadouro numa garrafa ou frasco e colocar um rótulo. Esse rótulo deve ser escrito a lápis e deitado para dentro da garrafa com os espécimes. Não usar uma esferográfica, porque a tinta se dissolve na água.

As larvas e pupas capturadas devem chegar vivas ao laboratório. Tapar bem cada garrafa ou frasco, para que a água não seja derramada. É preciso deixar 1-2 cm de ar no topo da garrafa, para que as larvas e pupas possam respirar durante algumas horas. Se for deixado um espaço de ar maior, a água agitar-se-á durante o transporte e os espécimes sofrerão danos, em especial perda de pêlo.

Se a viagem para o laboratório durar mais de 2–3 horas, retirar as tampas de 2 em 2 horas, para substituir o ar na garrafa. Embalar as garrafas e os frascos com cuidado, para que não sejam agitados durante o transporte. Se as larvas se destinarem a ser usadas em testes de suscetibilidade aos insecticidas, deverão ser transportadas em água, num frasco de vácuo grande ou noutro recipiente grande. Relativamente à colonização de larvas, consultar o Anexo 1.

3.5 Morte e conservação de larvas e pupas

Segurar o frasco com as larvas sobre a chama de um bocado de algodão embebido em álcool (colocado sobre uma pedra), durante cerca de 30–60 segundos. Alternativamente, as larvas podem ser transferidas para água quente (50°C–70°C), usando uma pipeta.

- ▶ Despejar a água com cuidado, até que saia tanta quanto possível do frasco, mantendo neste as larvas mortas;
- ▶ Adicionar ao frasco álcool a 70% (etanol);
- ▶ Adicionar ao frasco um bocado de algodão em rama solto;

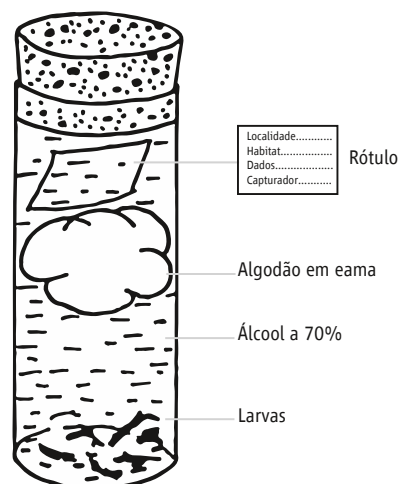


Figura 3.16 Conservação de larvas em frascos

- ▶ Preparar um rótulo com todas as informações que se seguem escritas a lápis (não usar caneta): localidade, tipo de local de reprodução, número de conchas usadas, tempo gasto em minutos, data da captura e nome do coletor;
- ▶ Colocar o rótulo dentro do frasco, por cima do algodão;
- ▶ Fechar bem o frasco (Fig. 3.16).

Exercício 3.1

Trabalhando em pequenos grupos, os participantes discutirão os diferentes métodos de colheita de mosquitos. Usando a representação esquemática do ciclo de vida do vetor do paludismo que abaixo se apresenta (Fig. 3.17), indicar os elementos dos diferentes métodos de colheita de mosquitos.

Exercício 3.2

No laboratório, os participantes devem praticar o seguinte:

- ▶ Retirar mosquitos adultos de uma gaiola e colocá-los em copos de papel.
- ▶ Retirar larvas e pupas vivas, usando pipetas e colocá-las em frascos.

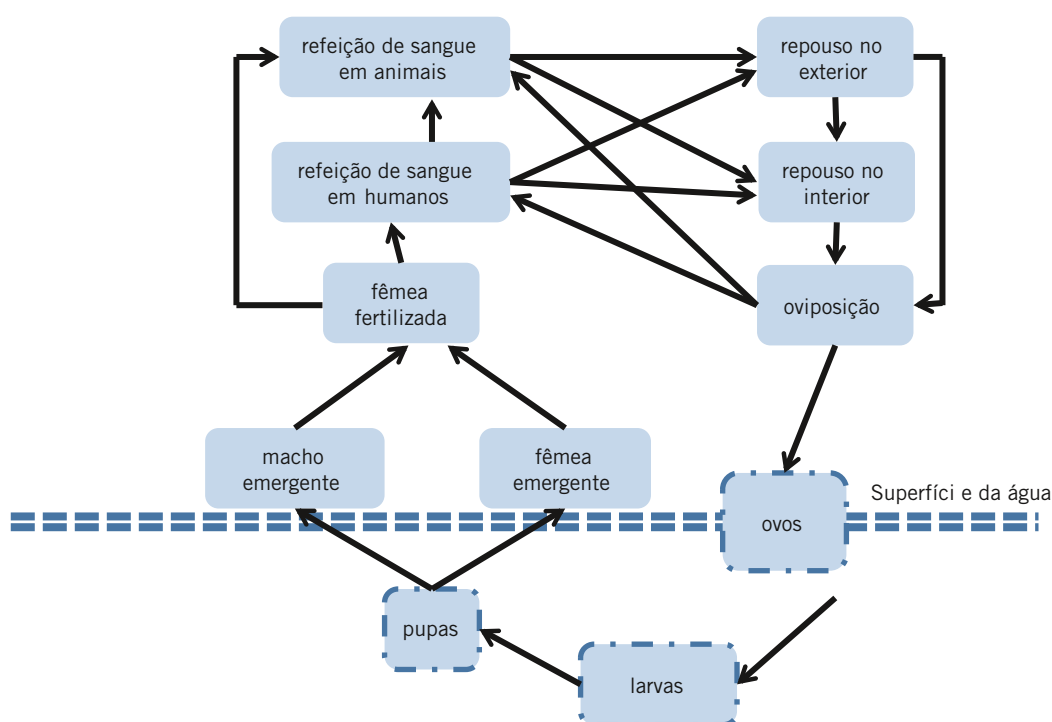


Figura 3.17 Representação esquemática do ciclo de vida do vetor do paludismo

- ▶ Matar e conservar adultos, larvas e pupas.

A aplicação dos diferentes métodos para os inquéritos entomológicos são apresentados no Quadro 3.1.

Exercício 3.3

No terreno, os participantes trabalharão individualmente e em grupos, para levarem a cabo as seguintes actividades:

- ▶ Cada participante procurará mosquitos que repousem no interior de três casas.
- ▶ Cada participante passará, pelo menos, 20 minutos à procura de mosquitos que repousem no exterior.
- ▶ Em grupos de quatro, os participantes efectuarão colheitas com lençol e piretrina, numa casa por grupo.
- ▶ Antes do pôr-do-sol, será colocada uma armadilha luminosa perto de uma pessoa que durma sob um mosquiteiro não tratado, 1–2 m acima do chão, junto aos pés da cama.
- ▶ Cada participante irá recolher larvas e pupas em criadouros naturais, durante, pelo menos, 30 minutos.
- ▶ Os participantes praticarão as formas correctas de se sentarem com pernas expostas, tanto no interior como no exterior, durante a colheita nocturna (devido à escassez de tempo, isso será feito durante o dia, só por uma questão de prática e demonstração).
- ▶ Os participantes transportarão espécimes vivos para o laboratório.
- ▶ Colocação de armadilhas nas janelas e colheita de mosquitos.

Quadro 3.1 Aplicação dos diferentes métodos para os inquéritos entomológicos

Método de captura	Densidade de mosquitos	Identificação da espécie	Hora da picada	Comportamento do mosquito (exofílico, endofílico, exofágico, endofágico)	Taxa de paridade	Índice de sangue humano	Taxa de esporozoítas	Teste de susceptibilidade aos insecticidas	Irritação por insecticidas
Colheita manual de mosquitos que repousam no interior	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Colheita com lençol e piretrina de mosquitos que repousam no interior	+	+	-	+	+	+	+	-	-
Colheita de mosquitos adultos no exterior (fossos)	+	+	-	+	+	+/-	+	+	+
Colheita ra em isco humano	+/-	+	+	+/-	+	-	+	+	-
Colheita em isco animal	+/-	+	+	+	+	-	+	+	-
Armadilha de rede com isco humano	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Armadilha de rede com isco animal	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Armadilha luminosa	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Colheita de larvas	+	+	-	-	-	-	-	+	-

+ apropriado

- não apropriado

+/- em algumas circunstâncias

Exercício 3.4

Trabalhando em pares, os participantes aprenderão a (i) matar anofelíneos e (ii) determinar as suas condições abdominais.

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 4

Incriminação de vetores e controlo do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Descrever os métodos usados para incriminar vetores do paludismo
- Descrever os métodos e aplicações para a classificação da idade dos mosquitos e da dissecção das glândulas salivares
- Identificar os indicadores entomológicos da transmissão do paludismo
- Calcular os indicadores entomológicos associados aos hábitos de repouso e alimentares, contactos homem-vetor e taxas de inoculação entomológica para o paludismo
- Medir as componentes do modelo da capacidade vetorial e compreender o seu valor na transmissão e controlo do paludismo
- Interpretar os indicadores entomológicos e suas implicações no controlo dos vetores do paludismo

Introdução

A entomologia do paludismo é o estudo da biologia e ecologia dos mosquitos que transmitem o paludismo. O objectivo é compreender as relações entre o vetor, sua ecologia e comportamento, o parasita e o hospedeiro, com a finalidade de formular e implementar estratégias eficazes de controlo dos vetores. Nesta unidade, far-se-á uma breve introdução à transmissão do paludismo e ciclo de vida dos mosquitos vetores. A importância e a finalidade da monitorização entomológica nos programas de luta contra o paludismo será também discutida em pormenor.

4.1 Incriminação de vetores

Os dados entomológicos usados para incriminar um vetor incluem:

- ▶ Presença, abundância e proporção de mosquitos de uma determinada espécie infectados com esporozoítos.
- ▶ Idade ou paridade do vetor.
- ▶ Hábito alimentar do vetor:
 1. Onde é que o mosquito pica
 2. Quando é que um mosquito pica
 3. Que hospedeiro é preferido

Com estes dados, é possível calcular e comparar vários indicadores entomológicos relativos ao vetor:

- ▶ taxa de picadas do vetor em humanos;
- ▶ seus hábitos de repouso;
- ▶ longevidade da população de vetores;
- ▶ sua infecciosidade;
- ▶ percentagem de refeições de sangue sugadas de pessoas (índice de sangue humano);
- ▶ taxa de inoculação entomológica;
- ▶ capacidade vetorial.

4.2 Técnicas de incriminação dos vetores

Para calcular a capacidade do vetor de transmitir o paludismo, é importante medir alguns parâmetros-chave que requerem um exame cuidadoso dos vetores. Entre eles contam-se a determinação da condição abdominal ou das fases de digestão de sangue dos vetores, que podem ser usados para determinar a frequência com que os mosquitos se alimentam. É necessário fazer a dissecação e o exame dos ovários, para determinar a longevidade e a idade de uma população de vetores. Ambos os parâmetros são importantes para calcular a capacidade vetorial (ver em baixo).

Outro parâmetro importante que pode ser medido no terreno é a percentagem de vetores infecciosos (taxa de infecção dos vetores). Para tal, é necessário dissecar as glândulas salivares e examiná-las, para verificar se têm esporozoítos ou usar um método imunológico (por ex., ELISA) ou um método baseado no ADN, para a detecção de esporozoítos.

Nesta Unidade de Aprendizagem, os participantes aprenderão a usar estas técnicas.

Estruturas importantes dentro de um mosquito fêmea

Antes de dissecar um mosquito adulto, é essencial conhecer a posição dos diferentes órgãos do seu corpo. A Figura 4.1 mostra as estruturas no interior de um mosquito fêmea, como se o mosquito estivesse cortado ao meio, verticalmente, pela parte média do corpo. As posições das várias estruturas são as seguintes:

- ▶ As glândulas salivares estão dentro do tórax, mas estão ligadas à cabeça por tubos salivares.
- ▶ O estômago ou intestino médio fica no abdómen e os túbulos de Malpighi ficam na extremidade inferior do intestino médio.
- ▶ Os ovários ficam de cada lado do intestino, na parte posterior do abdómen e juntam-se na ampola, para formar um oviducto comum.
- ▶ Uma única espermateca onde o esperma do macho é armazenado está ligada ao oviducto comum.

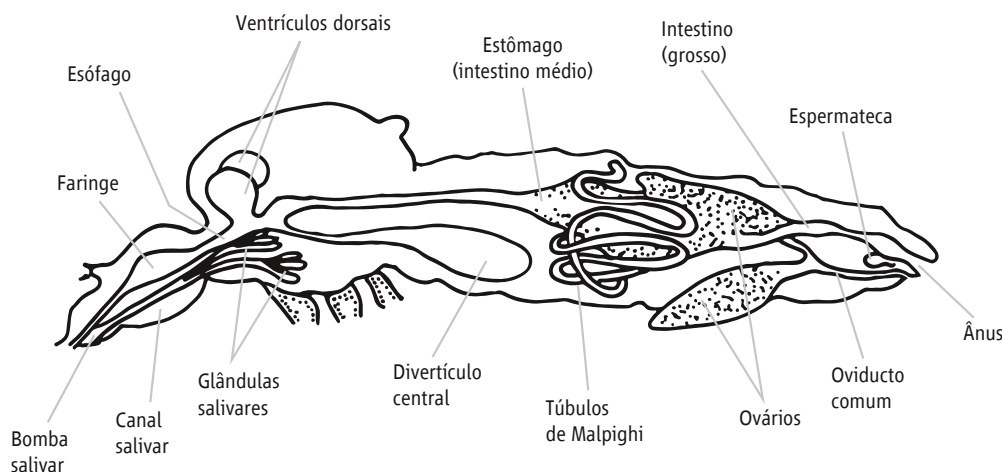


Figura 4.1 Anatomia interna de um mosquito fêmea

Determinação das fases da digestão do sangue

A fase de digestão do sangue refere-se ao aparecimento do abdómen do *Anopheles* fêmea, como consequência da digestão do sangue e do desenvolvimento dos ovários. Nos anofelíneos, a maturação dos ovários (desenvolvimento de ovos) ocorre ao mesmo tempo que a digestão do sangue. Com base na sua fase de digestão do sangue ou condição abdominal, os anofelíneos podem ser agrupados como não alimentados, recém-alimentados, semi-grávidas e grávidas (Fig. 4.2).

1. *Não alimentados* – o abdómen está achatado.
2. *Recém-alimentados* – o abdómen tem um aspecto brilhante ou vermelho escuro que lhe é dado pelo sangue que está no intestino médio. Os ovários ocupam apenas uma pequena área na extremidade do abdómen e essa parte não fica vermelha; inclui apenas dois segmentos na superfície ventral e a maioria dos cinco segmentos na superfície dorsal.
3. *Semi-grávidas* – o sangue é de cor escura, quase preto, e ocupa três a quatro segmentos na superfície dorsal e seis a sete na superfície ventral do abdómen. Os ovários ocupam a maioria do abdómen.
4. *Grávida* – o sangue é reduzido a uma pequena mancha preta na superfície ventral ou pode ter sido completamente digerido. Os ovários ocupam todo o resto do abdómen.

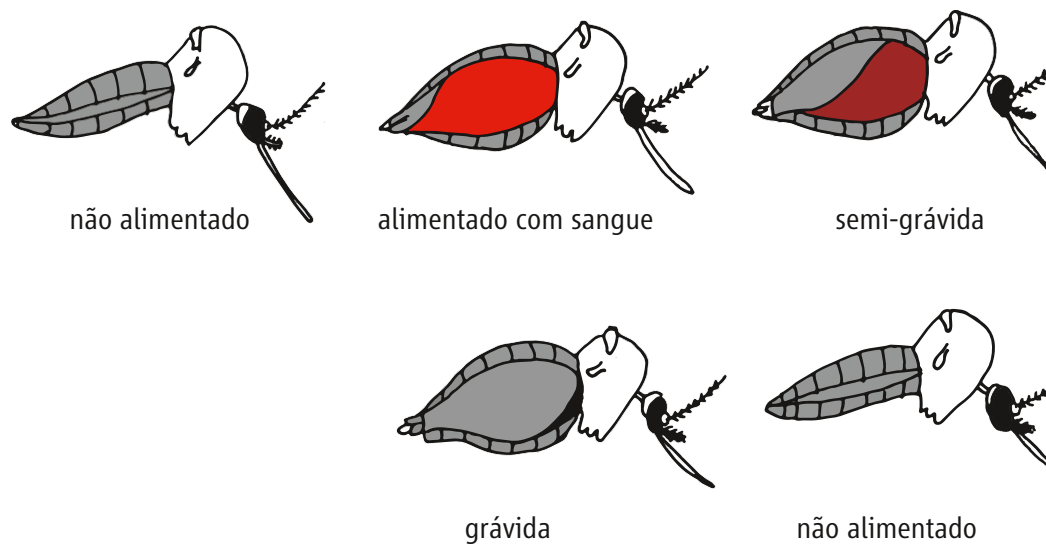


Figura 4.2 Condições abdominais de uma fêmea

Dissecção dos ovários e determinação da paridade

Equipamento necessário para dissecar ovários: microscópio de dissecção (ou estereoscópio), microscópio composto, agulhas de dissecção, pinças finas, lâminas, pipeta e água destilada.

Dissecção do mosquito fêmea para obter ovários para determinação da paridade

A determinação da paridade é feita dissecando os ovários e examinando-os, para verificar se são parus (os que sugaram sangue, pelo menos, uma vez e puseram ovos, pelo menos, uma vez) ou nulíparos (mosquitos que não sugaram sangue nem puseram ovos).

Apenas as fêmeas não alimentadas ou recém-alimentadas servem para este método de determinação da paridade. Para dissecar os ovários, proceder do seguinte modo:

- ▶ Matar a fêmea e retirar os ovos e asas.
- ▶ Colocar o mosquito numa lâmina e adicionar uma gota de água destilada (Fig. 4.3).
- ▶ Segurando o tórax com uma agulha, puxar, com outra agulha na mão direita, a ponta do abdómen para o separar do resto do corpo. Os ovários sairão do abdómen.
- ▶ Cortar o oviducto comum e separar os ovários do resto do espécime.
- ▶ Transferir os ovários para uma gota de água destilada numa outra lâmina e deixar secar.

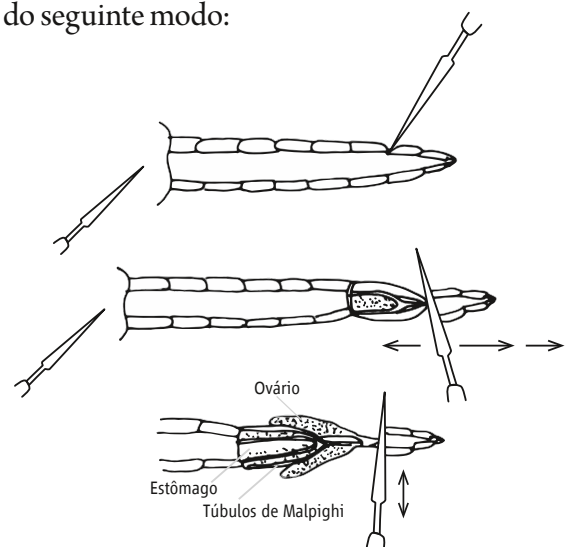


Figura 4.3 Dissecção dos ovários

Diferenciação entre ovários nulíparos e parus

- ▶ Examinar os ovários secos com um microscópio composto, usando uma lente 10x e, se necessário, confirmar com uma objectiva 40x.

- ▶ As fêmeas em que os ovários se enrolaram em meadas traqueolares são nulíparas (Fig. 4.4a).
- ▶ Os ovários em que os filamentos traqueolares se apresentam esticados são parus (Fig. 4.4b). A Fig. 4.4c mostra ovários recém-dissecados.
- ▶ Em algumas fêmeas nem todos os ovos gerados são postos; se alguns ovos (normalmente, menos de cinco) ficarem retidos nos ovários, a fêmea é parípara.

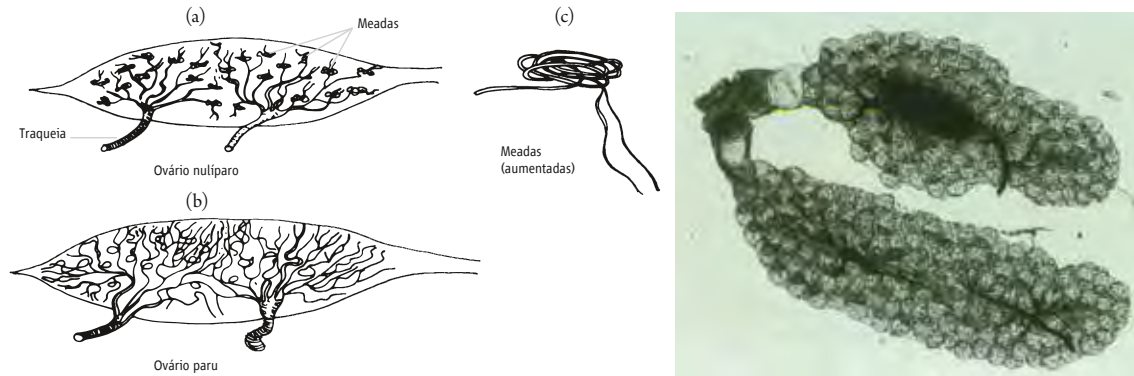


Figura 4.4 Aparecimento de ovários nulíparos (a), parú (b) e recém-dissecados (c)

Paridade como indicador de longevidade

Medindo a percentagem de mosquitos paríparos numa população de vetores, é possível monitorizar alterações nessas populações e avaliar o impacto de uma intervenção. Por exemplo, se uma população estiver a aumentar, é porque estão a surgir mais adultos nulíparos e, por isso, a taxa de paridade diminui. Pelo contrário, à medida que uma população envelhece e surgem menos mosquitos, a taxa de paridade aumenta.

O objectivo da pulverização residual com insecticidas é reduzir a transmissão do paludismo, matando os mosquitos que entram nas habitações para repousar, antes ou depois de se alimentarem, e assim reduzir a sua longevidade e a sua capacidade de transmitir o paludismo. Se a pulverização residual for eficaz, haverá menos mosquitos parus do que nulíparos depois da pulverização do que antes da pulverização ou comparando com zonas que não foram pulverizadas. A paridade é um indicador entomológico usado para determinar se a transmissão do paludismo foi reduzida.

Um mosquito nulíparo não pode transmitir o paludismo, porque ainda não adquiriu o parasita *Plasmodium*. Mesmo uma fêmea que tenha posto ovos uma ou duas vezes pode não ter idade suficiente para transmitir os parasitas do paludismo, porque o ciclo gonotrófico – o tempo entre a primeira busca de sangue e a segunda – é, em média, de apenas três dias, enquanto o desenvolvimento de esporozoítas dura 10–12 dias. Um mosquito poderá, portanto, precisar de três ciclos gonotróficos, antes de poder transmitir o paludismo.

A dissecção dos ovários e o seu exame são instrumentos essenciais na análise entomológica e na avaliação do impacto das intervenções de controlo dos vetores.

Nota: Em algumas espécies de anofelíneos, é possível observar as cicatrizes que se formam no oviducto comum depois de cada oviposição. Por isso, a idade do mosquito pode ser estimada contando o número de cicatrizes e multiplicando esse número pelo ciclo gonotrófico. Este método é difícil e, normalmente, só se utiliza em projectos de investigação especiais.

$$\text{Taxa de paridade} = \frac{\text{Número de fêmeas parus}}{\text{Número de fêmeas examinadas}} \times 100$$

Pesquisa de esporozoítos por dissecção e exame das glândulas salivares

A pesquisa de esporozoítos é feita através de um exame das glândulas salivares, para determinar que espécie de mosquito transporta os parasitas do paludismo e a percentagem de cada espécie que é infectada. A determinação das taxas de esporozoítas é necessária para confirmar o papel de uma determinada espécie de mosquito como vetor, para determinar a intensidade da transmissão do paludismo (taxa de inoculação) e para avaliar o impacto das intervenções de controlo do paludismo. A técnica de dissecção indica se o mosquito está ou não infectado com o *Plasmodium*, mas não distingue a espécie de parasita.

Equipamento necessário para dissecar as glândulas salivares: microscópio de dissecção, microscópio composto, agulhas de dissecção, pinças finas, lâminas, pipeta e solução salina a 0,65%.

Procedimento para dissecar as glândulas salivares:

- ▶ Matar o mosquito, identificar a espécie e remover as patas e as asas. As glândulas salivares das fêmeas nulíparas não precisam de ser dissecadas porque não estão infectadas.
- ▶ Colocar o mosquito sobre uma lâmina, de lado, com a cabeça virada para a direita (Fig. 4.5) para os participantes destros, ou para a esquerda para os participantes esquerdinos.
- ▶ Colocar uma pequena gota de solução salina perto da frente do tórax.
- ▶ Segurar bem o tórax, com uma agulha de dissecção romba na mão esquerda, para os participantes destros, ou na mão direita, para os participantes esquerdinos.
- ▶ Colocar a agulha na mão direita (ou esquerda para os esquerdinos) sobre o pescoço do mosquito, sem cortar o pescoço.
- ▶ Afastar lentamente a cabeça do tórax – as glândulas sairão do tórax agarradas à cabeça.
- ▶ Se as glândulas não saírem com a cabeça, podem ser retiradas espremendo ligeiramente o tórax.
- ▶ Separar as glândulas com a outra agulha e colocá-las numa gota de solução salina.
- ▶ Cobrir a glândula salivar com uma lamela de 18 x 18 mm.

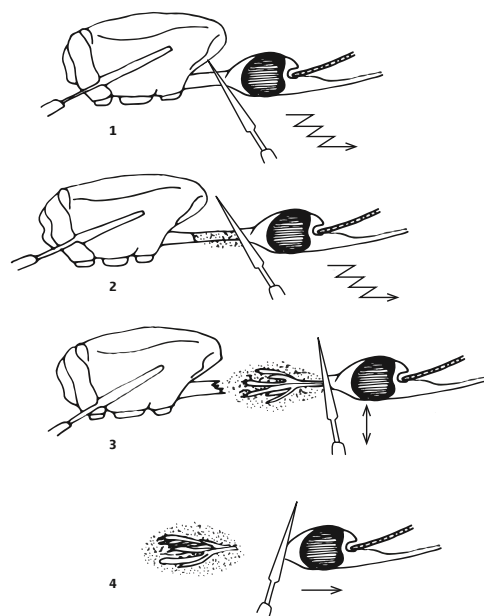


Figura 4.5 Pesquisa de esporozoítas por dissecção do mosquito fêmea

Pesquisa de esporozoítos por exame de glândulas salivares recém-dissecadas

Se as glândulas não tiverem sido esmagadas pela lamela, pressionar esta suavemente com uma agulha de dissecção, para que as glândulas se quebrem e os esporozoítos sejam libertados. As glândulas devem ser examinadas com o auxílio de uma objectiva 40x de grande potência, para se poder observar o movimento dos esporozoítos não coloridos. Reduzir a iluminação, baixando o condensador ou fechando parcialmente o diafragma da íris, para se obter um melhor contraste e assim se detectarem mais facilmente os esporozoítos.

Coloração dos esporozoítos:

- ▶ Colocar uma gota de cola na parte de cima da lamela, retirá-la cuidadosamente, usando a ponta de uma agulha de dissecção, e virá-la com a parte húmida para cima; fixá-la temporariamente a uma das extremidades da lâmina. Dessa forma, os esporozoítos que ficarem colados à lamela podem ser salvos e coloridos.
- ▶ Desenhar um círculo em torno das glândulas salivares e dos esporozoítos, com um lápis de cera, na parte de trás da lâmina (isso facilita a localização do espécime mais tarde).
- ▶ Deixar a preparação secar e protegê-la de formigas e moscas.
- ▶ Fixá-la, imergindo toda a lâmina durante alguns segundos em metanol.
- ▶ Colorir durante 30 minutos com corante de Giemsa a 5% em solução-tampão. A lâmina pode ser deixada virada para cima e a cor pode ser aplicada com um conta-gotas para cobrir a amostra e a lamela.
- ▶ Lavar bem com uma solução-tampão e examinar sob a elevada potência de um microscópio composto.

Teste de imunoabsorção enzimática (ELISA) para esporozoítos

Presentemente, é comum usar o método ELISA em vez da dissecção, para detectar esporozoítos nos mosquitos. Os testes baseiam-se em anticorpos monoclonais para proteínas circum-esporozoítas (CSP) e uma reacção enzimática formadora de cor; o uso de um anticorpo específico de espécie permite identificar a espécie de *Plasmodium*. Quando se pretende testar um grande número de espécimes, é este o método preferido.

$$\text{Taxa de esporozoítas} = \frac{\text{Número de mosquitos com esporozoítas}}{\text{Número de fêmeas examinadas}} \times 100$$

Preparação de refeições de sangue para identificação (índice antropofílico)

Para que um mosquito possa transmitir o paludismo, terá de picar seres humanos, pelo menos, duas vezes, durante o seu tempo de vida: uma primeira vez, para colher gametócitos e uma segunda vez, para injectar os esporozoítos. Alguns mosquitos (tanto grupos como indivíduos) preferem alimentar-se em seres humanos, outros em animais e outros ainda, em graus diferentes, em ambos. Assim, todos os mosquitos de um grupo podem não se alimentar em pessoas e não ser potenciais transmissores do paludismo. Nos inquéritos sobre o paludismo é, por isso, muitas vezes necessário conhecer as fontes das refeições dos mosquitos. Os mosquitos mais antropofágicos são os vetores mais eficientes.

Equipamento

Uma câmara de morte, papel de filtro (10–15 cm de diâmetro), papel liso, varetas de vidro ou lâminas ou agulhas e um formulário para registo.

Preparação de papel de filtro para o esmagamento de refeições de sangue (ver Fig. 4.6)

- ▶ Dobrar o papel de filtro ao meio, voltar a dobrar e dobrar mais duas vezes.
- ▶ Desdobrar o papel, que passa a ter marcas de 16 dobras.
- ▶ Desenhar linhas a lápis ao longo das dobras, desde a extremidade do papel de filtro até ao centro, mas deixar em branco as 5 dobras centrais.
- ▶ Na extremidade interior do papel, numerar as divisões de 1 a 16.
- ▶ Quando usar o papel, escrever um número no centro de cada papel e registar a espécie de mosquito do qual se retirou o sangue, onde e quando.

Esmagamento de refeições de sangue

O sangue está em boas condições de identificação quando o mosquito se alimentou há pouco tempo, para a maioria das espécies de anofelíneos dos trópicos, nas 24 horas seguintes a uma refeição de sangue. A condição abdominal do mosquito nessa altura é de meio grávido. As refeições tomadas há mais tempo não são adequadas.

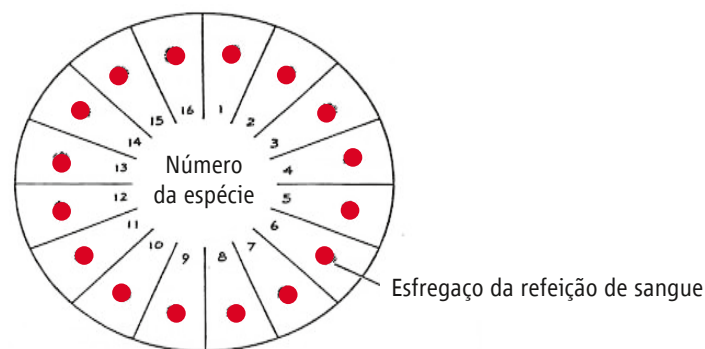


Figura 4.6 Papel de filtro contendo refeições de sangue para identificação

- ▶ Cada papel de filtro deverá ser usado apenas para uma espécie de mosquito que tenha sido capturado no mesmo tipo de local de repouso, por exemplo no interior das habitações, no interior dos abrigos de animais, de preferência, em locais exteriores de repouso na natureza. Usar um papel de filtro para cada espécime de uma única captura, porque isso reduz a possibilidade de erro na realização do teste.
- ▶ Rotular o papel de filtro com um número no centro e escrever o nome da espécie de mosquito, local de captura, data e hora.
- ▶ Matar ou anestésias os mosquitos recém-alimentados.
- ▶ Colocar um mosquito fêmea sobre o papel de filtro, a cerca de 1 cm de distância da extremidade e dentro da área rotulada com o número 1.
- ▶ Pressionar o abdómen usando uma agulha romba ou o canto de uma lâmina ou vareta de vidro.

- ▶ Certificar-se de que o abdómen pressionado permanece dentro da área rotulada com o número 1.
- ▶ Colocar um segundo mosquito fêmea na área rotulada com o número 2 e esmagá-lo.
- ▶ Cada fêmea deve ser esmagada com uma agulha limpa, o canto de uma lâmina ou uma vareta de vidro. Se usar uma lâmina, usar um canto de cada vez e, depois de quatro utilizações, descartar a lâmina. Certificar-se de que o sangue de um espécime não é transferido para outro (contaminação) a partir da vareta ou da lâmina. Alternativamente, esmagar as refeições de sangue, usando a extremidade redonda de um par de pinças, cobertas com fita adesiva transparente. Para evitar a contaminação, a fita pode ser mudada para cada esmagamento.
- ▶ Continuar desta forma até que as 16 áreas do papel de filtro tenham sido usadas.
- ▶ Escrever as informações pedidas no formulário de registo e fazer duas cópias.
- ▶ Deixar que as refeições de sangue esmagadas sequem, colocando os papéis ao abrigo de formigas e humidade.
- ▶ Guardar os papéis de filtro, colocando-os uns em cima dos outros, com um papel liso entre cada conjunto de papéis em que há mosquitos esmagados.
- ▶ Colocar os papéis de filtro num dissecador ou frigorífico.
- ▶ Depois de se fazerem os esmagamentos necessários, colocar os papéis de filtro dentro de um envelope de plástico auto-colante. Se não tiver envelopes auto-colantes, pode colocar os papéis num saco de plástico selando-os com um ferro quente.
- ▶ Enviar uma cópia do formulário de registo para o laboratório.

Cálculo do índice de sangue humano (HBI)

$$\text{Índice de sangue humano} = \frac{\text{Número de mosquitos que se alimentaram em humanos}}{\text{Número total de mosquitos com refeições de sangue identificadas}}$$

Técnica ELISA para detectar fonte da refeição de sangue

A técnica ELISA para detecção de esporozoítos é o método mais comumente usado para determinar as taxas de infecção em mosquitos. Nesta técnica, o tórax e partes da cabeça dos mosquitos desidratados de espécies conhecidas são colocados numa solução específica. As amostras são depois colocadas nos alvéolos das placas de microtitulação revestidas com anticorpos específicos da espécie *Plasmodium*. Se o antigénio correspondente da mesma espécie estiver presente na amostra, ligar-se-á aos alvéolos. Usam-se em seguida enzimas e substratos, que formam reacções de cor, para reconhecer alvéolos positivos. Esta técnica poupa tempo, particularmente no caso de um grande número de amostras, e permite a identificação da espécie particular de *Plasmodium* que causou a infecção no mosquito.

Uma técnica de ELISA semelhante é usada para identificar a fonte das refeições de sangue dos mosquitos. Neste caso, as amostras de sangue, recolhidas em papéis de filtro por esmagamento de mosquitos recém-alimentados, são testadas usando anticorpos preparados de vários hospedeiros animais conhecidos. A Figura 4.7 mostra os diferentes passos do teste ELISA.

Técnica baseada em PCR para identificação da refeição de sangue

Progressos recentes dos métodos baseados no ADN para a identificação da espécie de mosquito têm também sido aplicados com utilidade para melhorar a eficiência e a fiabilidade da identificação das refeições de sangue em artrópodes. Um dos métodos indicados é o ensaio de Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição (RFLP-PCR).

Exercício 4.1

Em trabalho de pares, os participantes: (i) aprenderão a matar anofelíneos e determinar as suas condições abdominais e (ii) praticarão a dissecação de ovários e glândulas salivares dos mosquitos.

Exercício 4.2

Em trabalho de pares, os participantes farão a dissecação de ovários de fêmeas não alimentadas e recém-alimentadas. Esse trabalho deve repetir-se, até que seja possível estabelecer com segurança a distinção entre mosquitos parus e nulíparos.

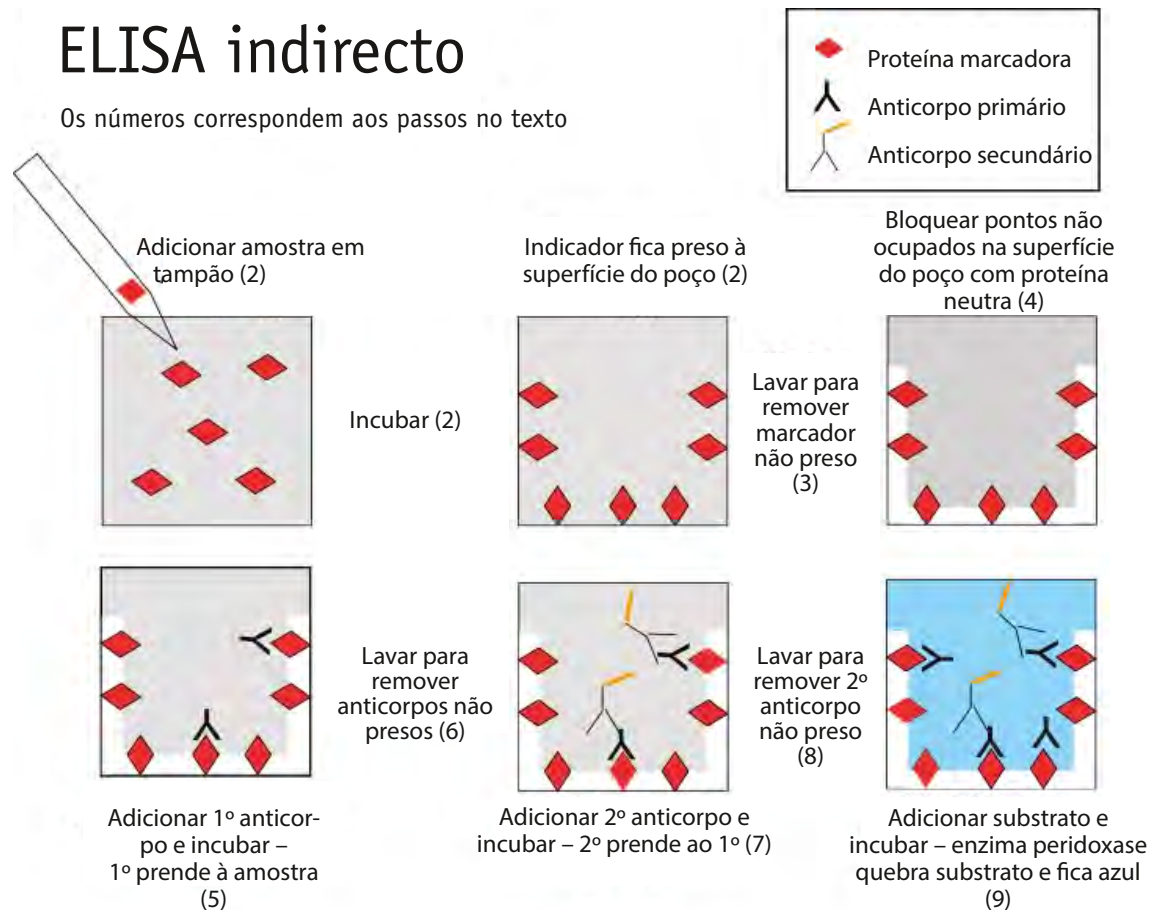


Figura 4.7 Diferentes passos para o teste ELISA

Exercício 4.3

Depois da demonstração do tutor sobre a dissecação das glândulas salivares, os participantes irão praticar a técnica e examinar as glândulas num microscópio composto.

Exercício 4.4

Será organizada uma visita de estudo, para permitir que os participantes pratiquem as várias técnicas de colheita de mosquitos ensinadas na Unidade de Aprendizagem 3 e as técnicas de dissecação demonstradas nesta Unidade. No terreno, os participantes trabalharão individualmente e em grupos para realizar as seguintes actividades:

- ▶ Procurar mosquitos que repousem no interior de três casas.
- ▶ Passar, pelo menos, 20 minutos à procura de mosquitos que repousem no exterior.
- ▶ Em grupos de quatro, fazer colheitas com lençóis e piretrinas, numa casa por grupo.
- ▶ Capturar larvas e pupas em criadouros naturais, durante, pelo menos, 30 minutos.
- ▶ Sentar-se com as pernas expostas no interior e no exterior durante a colheita nocturna (como o tempo é escasso, isso far-se-á durante o dia, para permitir a prática e a demonstração). Se isso for feito de noite, é preciso certificar-se de que os participantes estão a tomar antipalúdicos.
- ▶ Transportar espécimes vivos para o laboratório.

Exercício 4.5

Os participantes (trabalhando em pares) matarão os mosquitos que foram capturados durante a visita de estudo e identificarão as condições abdominais e as espécies, praticando depois a dissecação dos ovários e glândulas salivares dos mosquitos.

Exercício 4.6

Os participantes (trabalhando em pares) irão preparar o papel de filtro para o teste ELISA.

4.3 Indicadores entomológicos da transmissão

Esta secção trata do uso das técnicas acima mencionadas para obter informação sobre a importância do controlo do paludismo. Os participantes adquirirão as competências necessárias para interpretarem correctamente a informação entomológica.

Para ilustrar a maior parte dos conceitos mais importantes, retirou-se um exemplo de um estudo entomológico realizado para recolher dados iniciais sobre os anofelíneos locais, num vale de montanha da Etiópia, em 1964–1965.¹ O estudo pretendia investigar as características da transmissão do paludismo e os hábitos e habitats das espécies locais de vetores, a fim de se planificar um programa de controlo eficaz.

Alguns dos resultados do estudo foram reanalisados à luz dos actuais conhecimentos e dos novos instrumentos de controlo. O objectivo é ilustrar o modo como a informação entomológica é usada no controlo dos vetores.

¹ Rishikesh N (1966). Observations on anopheline vectors of malaria in an upland valley in Ethiopia. Documento não publicado da Organização Mundial da Saúde, WHO/Mal/66.554.

4.3.1 Desenho do estudo e técnicas de colheita

Seleção de aldeias para o estudo e descrição da zona

A zona fica na Etiópia Central no seio do Vale do Grande Rift. O terreno é relativamente plano e a altitude é de 1600–1800 metros. A população (cerca de 420 000) é maioritariamente rural. As pessoas dedicam-se à agricultura e à criação de gado, vivendo em agrupamentos dispersos de “tukuls”, o tipo mais comum de habitação rural. O gado pasta em recintos abertos, perto das habitações e é guardado durante a noite numa secção separada do resto da casa por uma frágil vedação de paus e galhos de árvores.

A principal estação das chuvas, normalmente, vai de Junho até ao final de Outubro, havendo também uma curta estação de chuvas em Março e Abril. Os meses mais quentes são Março, Abril e Maio. Os meses mais frios são Novembro e Dezembro.

Seleccionaram-se seis aldeias como postos de observação, três no sector de Awasa e três no sector de Adamitulu (actualmente sector de Zway). Um sector é uma área delimitada para fins de controlo do paludismo. Os sectores foram escolhidos, em primeiro lugar, por motivos entomológicos, mas a endemicidade do paludismo e a acessibilidade durante todo o ano também foram factores considerados. A zona nunca tinha sido pulverizada com insecticidas, quando o estudo se realizou. O Quadro 4.1 e a Figura 4.8 mostram taxas de parasitas e taxas de esplenomegalia em aldeias seleccionadas. Das infecções registadas, 6,6% eram infecções mistas de *P. Vivax* e *P. falciparum*, 61,8% de *P. falciparum*, 25,0% de *P. Vivax* e 6,6% de *P. malariae*.

Quadro 4.1 Taxas de parasitas e taxas de esplenomegalia em aldeias seleccionadas

Aldeia	Mês e ano	Amostras de sangue examinadas	Taxa de parasitas (%)	Exames do baço	Taxa de esplenomegalia (%)
Abella Wondo	Jun. 1964	59	0	55	13.0
Galle	Maio 1964	49	4.1	37	35.1
	Out. 1964	194	13.4	-	-
	Maio 1965	92	5.4	-	-
Awasa Tabor	Maio 1964	52	13.5	45	26.7
	Nov. 1964	37	8.1	-	-
Bulbula	Maio 1964	40	15.0	30	50.0
Woldia	Nov. 1964	181	2.6	-	-
	Dez. 1964	206	2.1	-	-
Ajiti Washgula	Nov. 1964	47	31.9	-	-
	Maio 1964	75	4.0	-	-

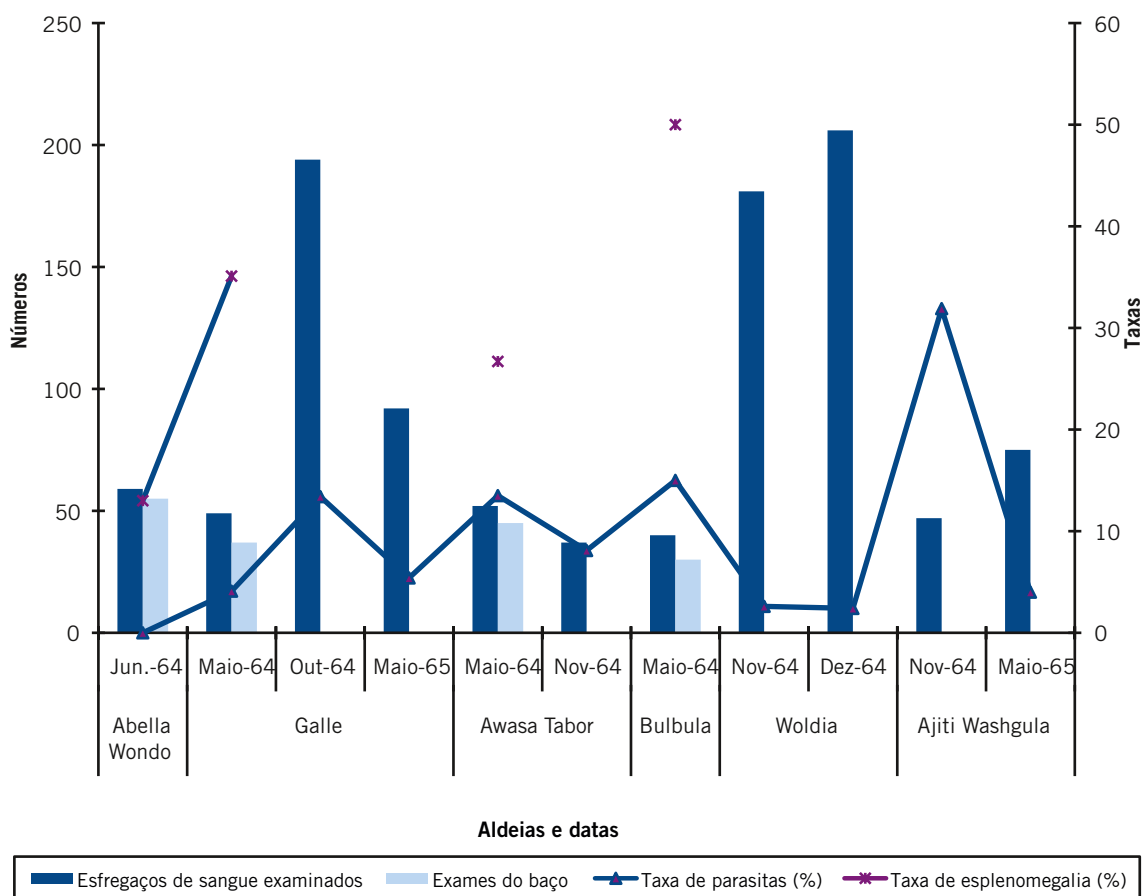


Figura 4.8 Taxas de parasitas e taxas de esplenomegalia em aldeias seleccionadas

4.3.2 Técnicas de amostragem entomológica

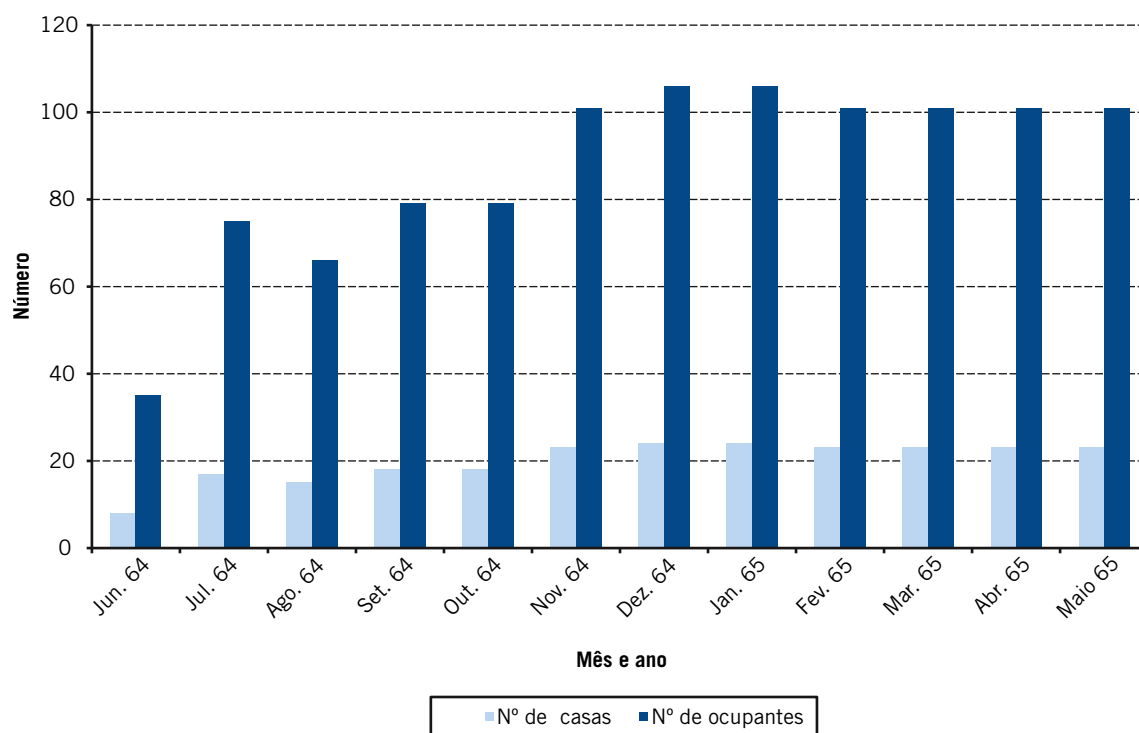
Colheitas de mosquitos que repousam no interior

Nas seis aldeias foram recolhidas, uma vez por mês, amostras de mosquitos que repousam no interior, usando o método de colheita com lençóis e piretrinas. As colheitas foram analisadas de acordo com a espécie e a condição abdominal (ver Quadro 4.2 e Figura 4.9 a, b, c, d). As glândulas salivares foram dissecadas para determinar as taxas de infecção.

Quadro 4.2 Resultados da colheita de mosquitos no interior, no Sector de Awasa (1964-1965)

Mês e ano	Nº de casas	Nº de ocupantes	<i>An. arabiensis</i>				<i>An. pharoensis</i>				<i>An. funestus</i>			
			Não alimentados	Alimentados	Semi grávidos	Grávidos	Não alimentados	Alimentados	Semi grávidos	Grávidos	Não alimentados	Alimentados	Semi grávidos	Grávidos
Jun. 64	8	35	11	135	59	96	0	36	21	21	1	0	0	0
Jul. 64	17	75	91	904	378	141	4	102	46	43	7	18	12	11
Ago. 64	15	66	458	1041	459	678	11	60	19	14	2	26	7	14
Set. 64	18	79	149	586	270	236	8	101	45	45	1	25	8	5
Out. 64	18	79	185	802	438	340	14	46	16	15	3	80	9	9
Nov. 64	23	101	8	65	51	38	0	10	9	7	3	47	13	34
Dez. 64	24	106	2	25	13	9	2	13	4	4	3	43	2	4
Jan. 65	24	106	1	9	6	4	1	3	3	4	0	4	1	2
Fev. 65	23	101	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0	2
Mar. 65	23	101	0	1	0	0	0	5	6	3	1	0	0	0
Abr. 65	23	101	1	5	3	6	5	28	8	12	0	17	2	2
Mai. 65	23	101	2	34	19	22	2	29	13	15	1	12	1	0

^a Estudos posteriores estabeleceram que a espécie aqui referida como *An. gambiae* s.l. é *An. arabiensis*

**Figura 4.9a Resultados de casas e ocupantes no Sector de Awasa (1964-1965)**

U4

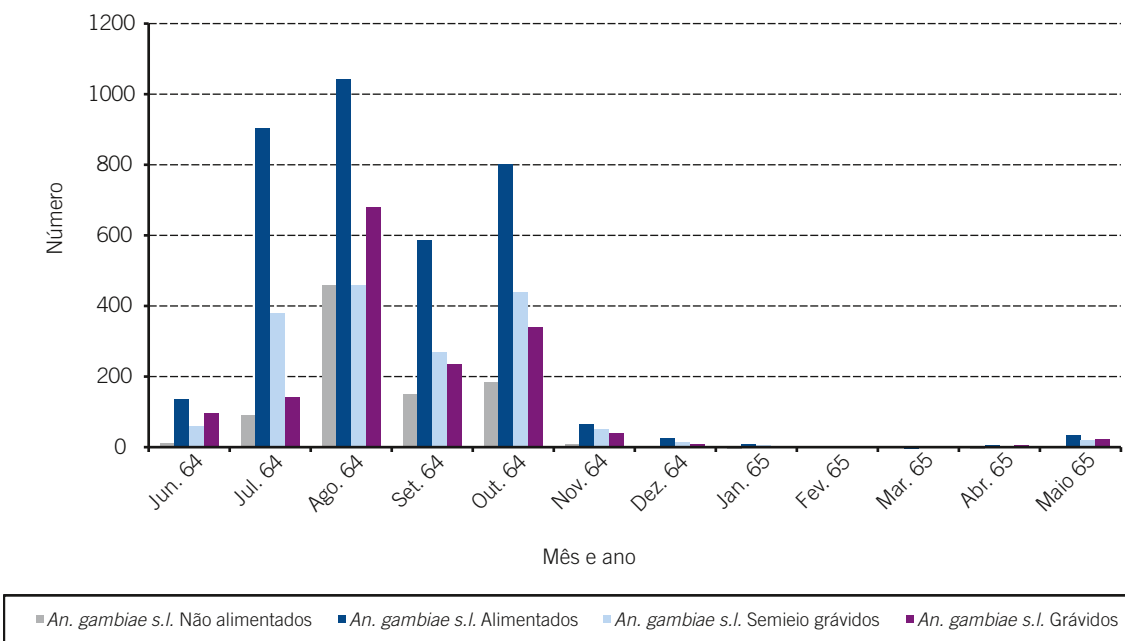


Figura 4.9b Fases abdominais do *An. gambiae* s.l. na zona do estudo

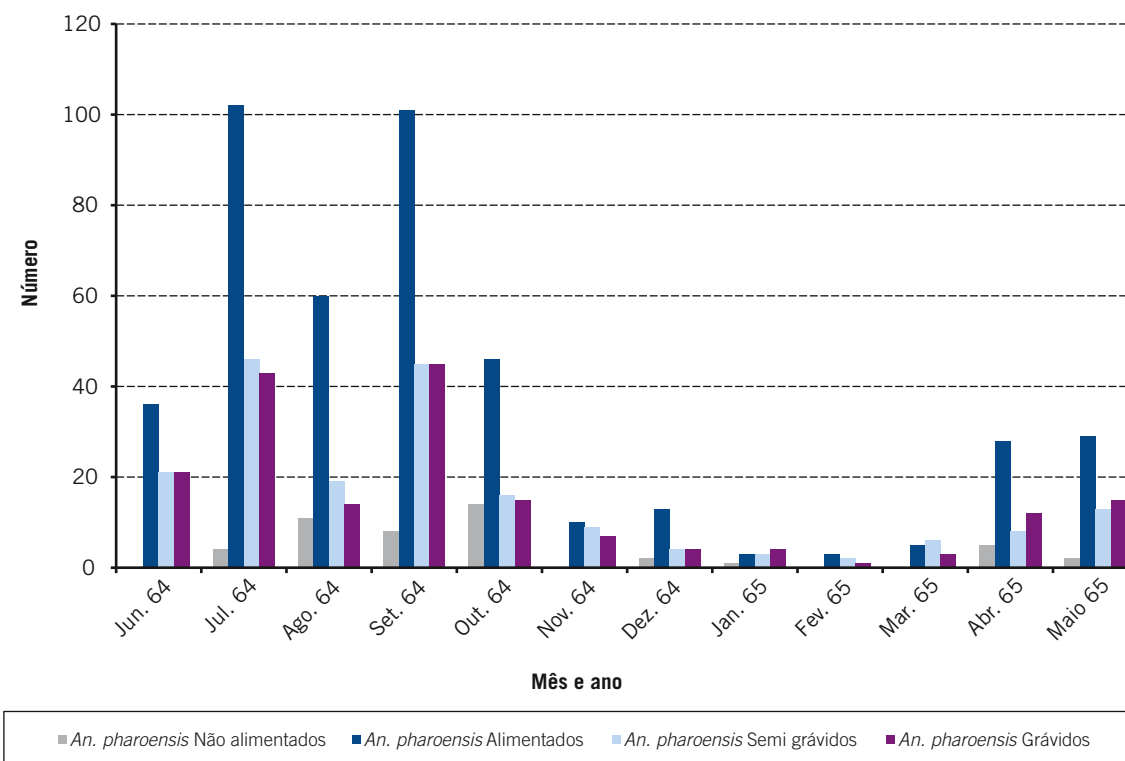


Figura 4.9c Fases abdominais do *An. pharoensis* na zona do estudo

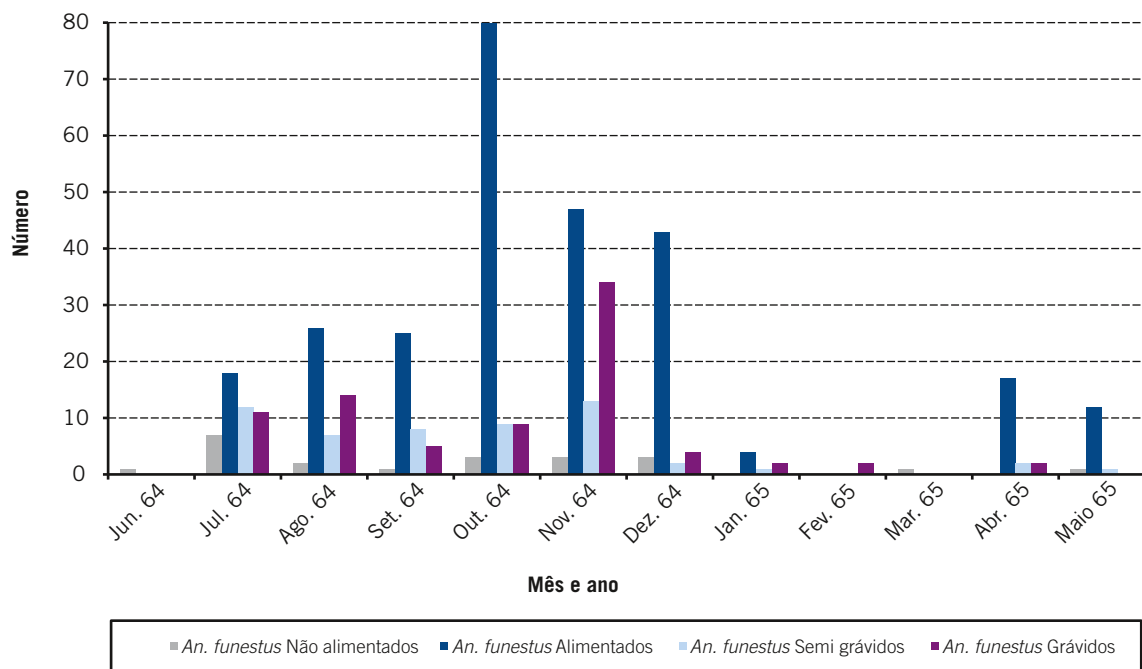


Figura 4.9d Fases abdominais do *An. funestus* na zona do estudo

Colheitas nocturnas

As colheitas nocturnas foram feitas, em regra geral, duas vezes por mês (em Abella Wondo). Usaram-se iscos humanos para apanhar os anofelíneos que pousavam nas suas pernas. As colheitas no interior das casas foram feitas durante a noite, das 18h00 às 06h00, e as colheitas no exterior foram limitadas ao período entre as 18h00 e as 22h00, uma vez que, habitualmente, nenhum dos moradores saía depois das 22h00; a excepção foi um conjunto de colheitas simultâneas no interior e no exterior, que se realizaram para compreender os hábitos de alimentação dos vetores, se lhes forem dadas oportunidades iguais durante a noite, em ambos os locais (Quadro 4.3 e Figura. 10). Colocaram-se dois coletores no interior e outros dois no exterior, os quais trabalharam em turnos de 4 horas. Os postos de colheita interior também continham os seus ocupantes normais, às horas relevantes. As amostras coletadas eram identificadas de manhã e dissecadas, para se examinarem os esporozoítos nas glândulas salivares. Os ovários também foram dissecados, para determinar as taxas de paridade.

Instalaram-se e inspeccionaram-se mensalmente abrigos artificiais no exterior, para os mosquitos que repousam no exterior.

Resultados

O Quadro 4.2 mostra as colheitas de interior relativas a cada espécie de anofelíneo por casa e por dia.

Exercício 4.7a

Usando o Quadro 4.2, os participantes terão de calcular a densidade de mosquitos que repousavam no interior, por casa e por dia, relativamente ao *An. gambiae* s.l. e *An. pharoensis*, durante o mês de Outubro de 1964.

4.3.3 Hábitos alimentares

Hábito alimentar refere-se à preferência dos vetores quanto ao local de alimentação, se preferem alimentar-se no interior (endofagia) ou no exterior (exofagia) e à hora de alimentação durante a noite (ciclo de picada nocturna).

$$IRD = \frac{\text{N.º de fêmeas de uma determinada espécie}}{\text{N.º de casas inspeccionadas}}$$

IRD: densidade de repouso no interior

O grau de endofagia/exofagia e o ciclo de picada nocturna foram estimados por colheitas simultâneas no interior e no exterior durante toda a noite (Quadro 4.3 e Figura 4.10).

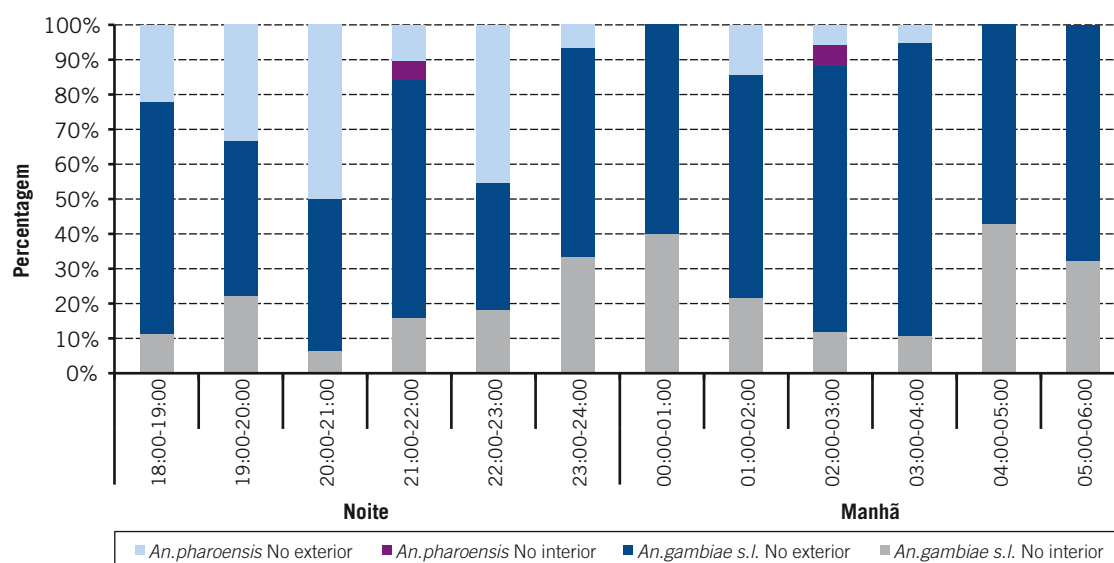


Figura 4.10 Colheitas nocturnas simultâneas no interior e no exterior

Quadro 4.3 Colheitas nocturnas simultâneas no interior e no exterior

Hora		<i>An. gambiae s.l.</i>		<i>An. pharoensis</i>	
		No interior	No exterior	No interior	No exterior
Noite	18:00-19:00	1	6	0	2
	19:00-20:00	2	4	0	3
	20:00-21:00	1	7	0	8
	21:00-22:00	3	13	1	2
	22:00-23:00	4	8	0	10
	23:00-24:00	5	9	0	1
Manhã	00:00-01:00	6	9	0	0
	01:00-02:00	3	9	0	2
	02:00-03:00	2	13	1	1
	03:00-04:00	2	16	0	1
	04:00-05:00	3	4	0	0
	05:00-06:00	18	38	0	0
Total		50	136	2	30

U4

Exercício 4.7b

Os participantes terão de calcular o rácio de picadas no interior versus picadas no exterior, para cada espécie, usando o Quadro 4.3. Que espécie é exofílica? Que espécie é endofílica?

4.3.4 Taxa de picadas em humanos

A taxa de picadas em humanos refere-se ao número médio de picadas por pessoa e por noite, por uma determinada espécie de vetor, e depende tanto dos hábitos alimentares do vetor como dos hábitos nocturnos das pessoas locais. A taxa de picadas em humanos (por noite) obtém-se dividindo o número total de mosquitos alimentados pelo número total de ocupantes humanos que passaram a noite nas casas usadas para a colheita:

$$M = \frac{F}{w}$$

em que F = número total de mosquitos recém-alimentados de determinada espécie
 w = número total de ocupantes humanos das casas usadas para a colheita

Cálculo directo da taxa de picadas em humanos

Para calcular a taxa de picadas em humanos, é preciso tomar em consideração os hábitos nocturnos da população local. No presente inquérito, em média, passou-se uma hora no exterior, entre as 18h00 e as 22h00 e o resto da noite foi passada no interior. Quase todas as pessoas da aldeia estavam no interior das suas casas às 22h00. As colheitas nocturnas foram feitas entre as 18h00 e as 06h00 no interior, enquanto as colheitas no exterior foram limitadas ao período entre as 18h00 e as 22h00 (Quadro 4.4).

O Quadro 4.4 também mostra alguns dos valores calculados das taxas de picadas em humanos. As componentes relativas ao interior e ao exterior da taxa de picadas em humanos são calculadas separadamente e a taxa total de picadas obtém-se somando as duas taxas.

Quadro 4.4 Resultados das capturas nocturna no Sector de Awasa (estação Abella Wondo), 1964-1965(a) *An. gambiae* s.l.

Mês e ano	Nº de Noites de colheita	Nº de iscos		Total de colheitas no interior		Total de colheitas no exterior	Taxa de picada em humanos		
		No interior	No exterior	18:00 – 22:00	22:00 – 06:00	18:00 – 22:00	No interior (3+8 hrs)	No exterior (1 hr)	Total (12 hrs)
Jul. 64	2	2	2	12	84	16	23,3	1,0	24,3
Ago. 64	2	2	2	81	340	76			
Set. 64	1	2	2	5	7	12			
Out. 64	2	2	2	4	21	34			
Nov. 64	2	2	2	2	1	9	0,6	0,6	1,2
Dez. 64	2	2	2	0	0	4	0,0	0,3	0,3
Jan. 65	2	2	2	0	0	2	0,0	0,1	0,1
Fev. 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Mar. 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Abr 65	1	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Mai 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0

(b) *An. pharoensis*

Mês e ano	Nº de Noites de colheitas	Nº de iscos		Total de colheitas no interior		Total de colheitas no exterior	Taxa de picada em humanos		
		No interior	No exterior	18:00 – 22:00	22:00 – 06:00	18:00 – 22:00	No interior (3+8 hrs)	No exterior (1 hr)	Total (12 hrs)
Jul. 64	2	2	2	19	17	92	7,8	5,8	13,6
Ago. 64	2	2	2	37	83	74	27,7	4,6	32,3
Set. 64	1	2	2	23	31	143	24,1	17,9	42,0
Out. 64	2	2	2	12	12	105	5,3	6,6	11,9
Nov. 64	2	2	2	2	1	33	0,6	2,1	2,7
Dez. 64	2	2	2	0	1	42	0,3	2,6	2,9
Jan. 65	2	2	2	3	7	44	2,3	2,8	5,1
Fev. 65	2	2	2	7	0	9	0,3	0,6	1,9
Mar. 65	2	2	2	0	1	8	0,0	0,5	0,8
Abr 65	1	2	2	0	0	11	2,6	1,4	1,4
Mai 65	2	2	2	11	2	19	2,6	1,2	3,8

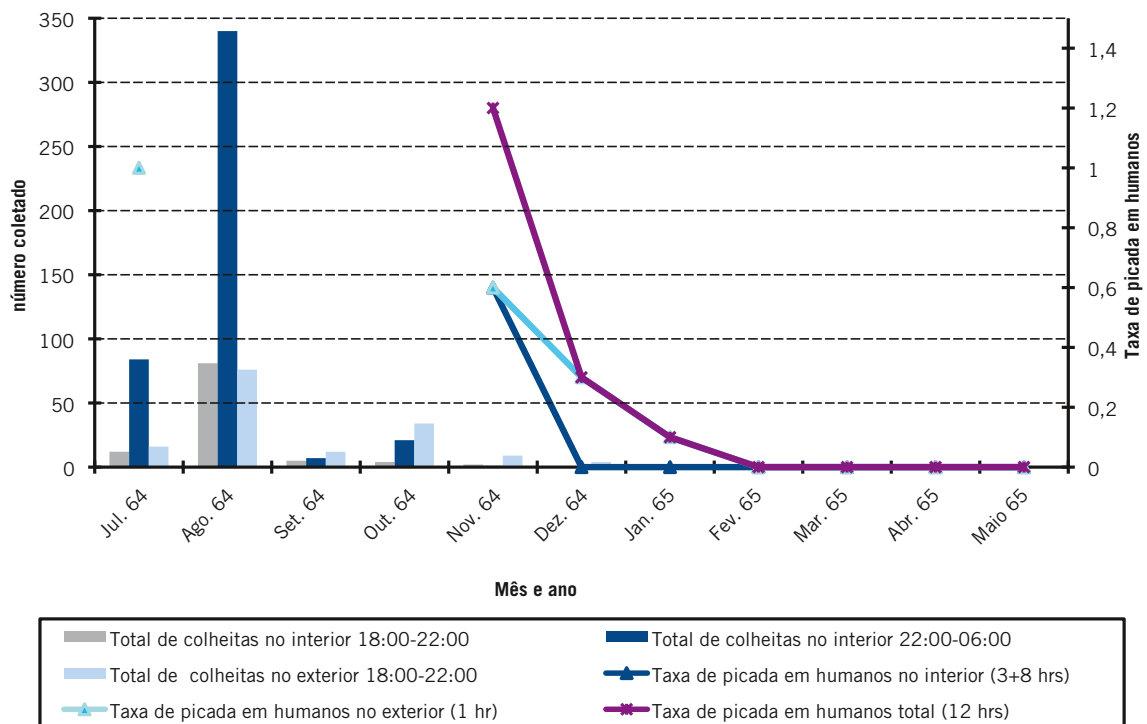


Figura 4.11a Resultados das capturas nocturnas de *An. gambiae s.l.*, no Sector de Awasa (estação de Abella Wondo), 1964-1965

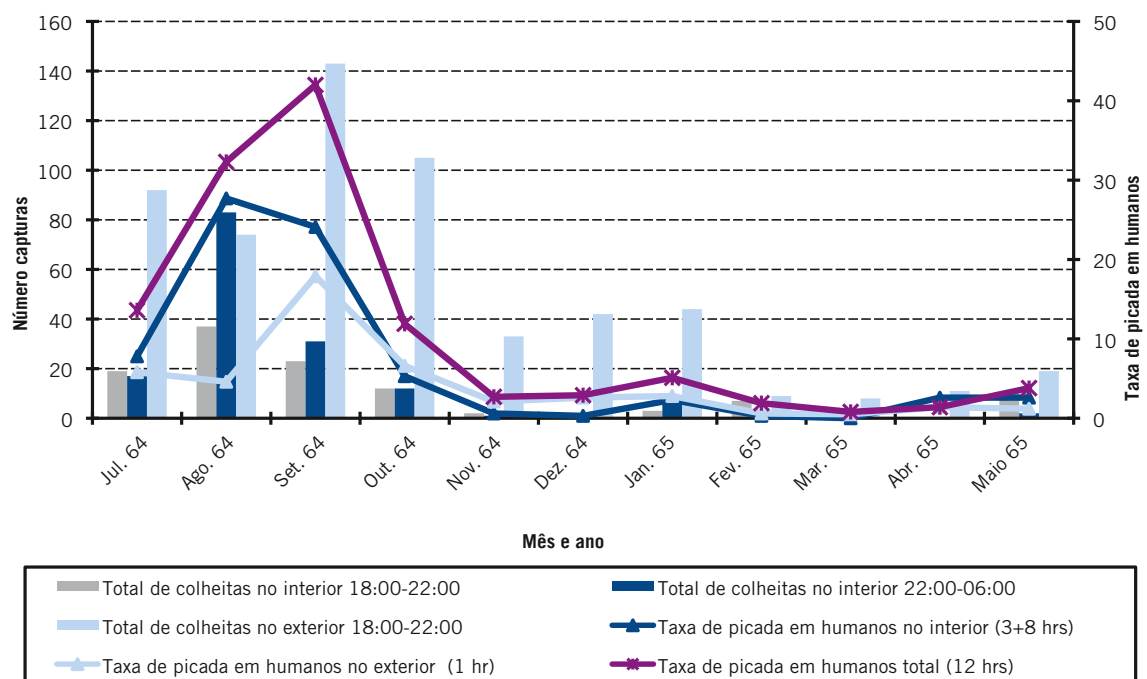


Figura 4.11b Resultados das colheitas nocturnas de *An. pharoensis* no Sector de Awasa (estação de Abella Wondo), 1964-1965

A componente relativa ao exterior M_y é o número médio de picadas por isco e por hora, durante o período 18h00–22h00.

$$M_y = \frac{ty}{uTc_y}$$

em que $T =$ número de horas entre as 18h00 e a última hora em que todos os habitantes passaram a estar no interior da casa (aqui $T = 4$)
 $t =$ número médio de horas passadas por cada habitante no exterior, depois das 18h00 (aqui $t = 1$)
 $y =$ número de colheitas no exterior durante o período T
 $c_y =$ número de coletores no exterior
 $u =$ número de noites de colheita

Relativamente a Julho de 1964, por exemplo, o denominador da taxa de picadas em humanos no exterior M_y é 16 (duas noites para dois coletores $\times T$); o numerador é $(t)(y)$, com $t=1$ e y número de colheitas no exterior = 16; M_y é, portanto, $16 / 16 = 1$

A componente relativa ao interior (M_x) é o número médio de picadas por isco em 4 horas, entre as 18h00 e as 22h00, mais o número médio de picadas por isco em 8 horas entre as 22h00 e as 06h00.

$$M_x = \frac{(1 - \frac{t}{T}) x_1 + x_2}{uc_x}$$

em que $T =$ número de horas entre as 18h00 e a última hora em que todos os habitantes passaram a estar no interior da casa (aqui $T = 4$) $t =$ número médio de horas passadas por cada habitante no exterior, depois das 18h00 (aqui $t = 1$)
 $x_1 =$ número de colheitas no interior durante o período T (18h00–22h00)
 $x_2 =$ número de colheitas no interior após o período T (22h00–06h00)
 $c_x =$ número de coletores no interior
 $u =$ número de noites de colheita

Relativamente a Julho de 1964, o denominador da taxa de picadas em humanos no interior (M_x) é de 4 (duas noites para dois coletores); o numerador = $[1 - (t/T)]x_1 + x_2$ com $t/T = 0,25$, x_1 o número de capturas no interior durante o período das 18h00 às 22h00 (12) e x_2 o número de colheitas no interior durante o período das 22h00 às 06h00 (84), assim o numerador de $(M_x) = [(1 - 0,25) 12] + 84 = 93$ e $(M_x) = 23,3$.

A taxa total de picadas em humanos (M) é dada como:

$$M = M_x + M_y = 23,3 + 1 = 24,3$$

Os resultados para Julho de 1964 indicam que um habitante da aldeia, em média, seria picado por 24,3 *An. gambiae* s.l. por noite, durante esse mês. Dessas picadas, 23,3 ocorriam no interior, enquanto apenas 1 no exterior, mesmo que o vetor tenha um hábito exofágico. Os resultados demonstram que os hábitos de dormir das pessoas influenciam o local onde o contacto homem-vetor ocorre, isto é, no interior.

Exercício 4.7c

Usando o Quadro 4.4, os participantes terão de calcular as taxas de picadas em humanos relativamente ao *An. gambiae* s.l. e ao *An. pharoensis*, para os meses de Agosto e Setembro de 1964. A partir dos resultados desse cálculo, onde é que ocorre a maioria dos contactos humanos-vetores, no interior ou no exterior? Que espécie é endofílica? Estes resultados são diferentes dos que foram calculados no Exercício 4.7a?

Cálculo indirecto da taxa de picadas em humanos a partir das colheitas com lençóis e piretrinas

Este método usa a colheita com lençóis e piretrina para estimar a taxa de picadas em humanos. A taxa de picadas em humanos (por noite) obtém-se dividindo o número total de mosquitos alimentados pelo número total de pessoas que passaram a noite nas casas escolhidas para a colheita:

$$M = \frac{F}{W}$$

em que $F =$ número total de mosquitos de uma determinada espécie recém-alimentados

$W =$ número total de pessoas nas casas escolhidas para a colheita

A estimativa acima mencionada da taxa de picadas em humanos tem dois pressupostos implícitos:

1. Todos os mosquitos alimentados, que foram encontrados nas casas escolhidas para a colheita, sugaram o sangue dos ocupantes das mesmas casas; e
2. Nenhum dos mosquitos alimentados saiu das casas depois de sugar sangue, até ao momento da captura.

Se estes pressupostos estiverem mais ou menos correctos, este método é mais eficiente para as espécies endofílicas e menos exigente, em termos de trabalho, para estimar a taxa de picadas em humanos.

No entanto, em algumas espécies de vetores, como o *An. arabiensis*, uma percentagem significativa (até 30%) pode alimentar-se em animais e pode ser encontrada repousando em habitações humanas. Os resultados poderão ter de ser ajustados em conformidade, multiplicando “M” pela percentagem de fêmeas encontradas que se tinha alimentado em sangue humano.

4.3.5 Preferência de hospedeiros

A preferência de hospedeiros é, normalmente, determinada analisando as fontes das refeições dos mosquitos. A percentagem de mosquitos com sangue humano (índice de sangue humano (HBI)), numa espécie de vetores, pode então ser usada como indicação do grau de antropofilia dessa espécie particular.

No estudo do exemplo, o HBI não foi determinado e, por isso, usar-se-á neste exercício aproximadamente 0,6, tanto para o *An. gambiae* s.l. como para o *An. pharoensis*.

4.3.6 Hábitos de repouso

Um índice importante é a percentagem de refeições de sangue tomadas em humanos, seguidas por repouso no interior. Um elemento do êxito da pulverização residual intradomiciliar (PRI) na

interrupção da transmissão é a percentagem de vetores que repousam na superfície pulverizada antes e depois de se alimentarem em humanos. O objectivo da pulverização residual é reduzir probabilidade dos vetores infectados atingirem uma idade infecciosa.

A percentagem de refeições de sangue tomadas em humanos, seguidas de repouso no interior, é calculada como:

$$f = \frac{KHD}{NPM}$$

- em que $k =$ um valor de correcção de 1,16
 $H =$ índice de sangue humano – não calculado durante o inquérito etíope, mas para o qual se usa o valor arbitrário de 0,6
 $D =$ densidade de mosquitos que repousam no interior (número total de fêmeas capturadas divididas pelo número de casas usadas para a colheita com lençóis e piretrina)
 $M =$ taxa de picadas em humanos no mês de Outubro (ver exercício 5.6)
 $P =$ duração do repouso no interior, depois de alimentados, em dias
 $P = 1 + G / F$, em que G é o número total de fêmeas semi- grávidas e grávidas (colheitas com lençóis e piretrinas) e F é o número de fêmeas recém-alimentadas (coletadas com lençóis e piretrina)
 $N =$ número médio de pessoas por casa (tamanho da família)

Relativamente a Outubro de 1964, os valores, que são os mesmos tanto para o *An. pharoensis* como para o *An. gambiae* s.l., são:

- $k = 1,16$
 $habitantes = 79$
 $casas = 18$

$$N = 79 / 18 = 4,4$$

e separadamente,

	<i>An. gambiae</i> s.l.	<i>An. pharoensis</i>
H (índice de sangue humano)	0,6	0,6
Número total de fêmeas	1765	91
D (densidade em repouso no interior)	$1765 / 18 = 98,06$	$91 / 18 = 5,06$
fêmeas alimentadas	802	46
fêmeas semi- grávidas	438	15
fêmeas grávidas	340	16
P (repouso no interior após a refeição)	$1 + [(340 + 438) / 802] = 1,97$	$1 + [(16 + 15)] / 46 = 1,67$
M (taxa de picadas em humanos)	8,1 ^a	11,9 ^a

^a ver os resultados: Unidade 5, Exercício 5.6 e Quadro 5.4

$$f = 1,16 (D)H / (N)(M)(P)$$

assim,

- para o *An. gambiae* s.l. $f = (1,16) (98,06)(0,6) / (4,4) (8,1) (1,97) = 0,972$
 para o *An. pharoensis* $f = (1,16) (5,06) (0,6) / (4,4) (11,9) (1,67) = 0,040$

Exercício 4.8

Os participantes terão de redigir uma breve descrição dos resultados acima apresentados. Comparar os seus resultados com os do facilitador.

4.3.7 Longevidade e infecciosidade

Há dois outros factores que afectam a probabilidade de ser picado por um mosquito infeccioso:

- 1. A sobrevivência de um mosquito fêmea após uma refeição de sangue (probabilidade de sobrevivência um dia depois da refeição, denotada como p , e esperança de vida para n dias (sendo n o número de dias necessário para que se complete um ciclo esporogónico).**

O resultado das dissecações de ovários entre Julho e Dezembro de 1964 no sector de Awasa foi o seguinte:

$$\begin{aligned} An. gambiae \text{ s.l. } & 72 / 108 = 0,667 \\ An. pharoensis & 107 / 276 = 0,388 \end{aligned}$$

Em função do intervalo de dois dias entre as refeições de sangue, a probabilidade de sobreviver um dia (denotada como p) pode ser estimada como:

$$p = \sqrt{\text{Proportion de pares}}$$

Assim,

$$\begin{aligned} \text{para o } An. gambiae \text{ s.l. } & p = \sqrt{0,667} = 0,817 \text{ e} \\ \text{para o } An. pharoensis & p = \sqrt{0,388} = 0,623 \end{aligned}$$

Assumindo um intervalo de 3 dias, temos

$$\begin{aligned} \text{para o } An. gambiae \text{ s.l. } & p = \sqrt[3]{0,667} = 0,874 \text{ e} \\ \text{para o } An. pharoensis & p = \sqrt[3]{0,388} = 0,729 \end{aligned}$$

A fórmula acima para p presume que a população de mosquitos tem uma estrutura estável de tamanho e idade e que a taxa de mortalidade é independente da idade. Por essa razão, a percentagem média de mosquitos parus é, normalmente, calculada sobre o ciclo de toda a população, para eliminar o efeito da flutuação sazonal na estrutura do tamanho e idade da população.

Também é possível calcular a probabilidade de sobreviver n dias. Como p é a probabilidade de sobreviver um dia, p^n é a probabilidade de sobreviver n dias. Por exemplo, a uma temperatura média diária de 27°C, seriam precisos cerca de 10 dias para o *P. falciparum* completar o ciclo esporogónico no vetor.¹ A probabilidade de que este parasita possa ser transmitido pelo *An. gambiae* s.l. e *An. pharoensis* é, respectivamente, de $0,874^{10}$ (= 0,26) e $0,729^{10}$ (= 0,042).

A esperança de vida para cada espécie pode também ser calculada como:

$$1 / -\ln p \quad ^2$$

¹ A duração da esporogonia como função da temperatura pode ser calculada pela fórmula $n = T / (t - t_{\min})$, em que n = duração da esporogonia; $T = 111, 105$ e 144 , respectivamente, para *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae*; t = temperatura média real em graus centígrados e $t_{\min} = 16$ para *P. falciparum* e *P. malariae* e $14,5$ para *P. vivax*.

² In significa "logaritmo natural" e p é a taxa diária de sobrevivência de um mosquito (que deve ser definida no texto). A fórmula é a inversa de menos o log natural de p , isto é, $1 / -\ln(p)$.

Usando essa fórmula e os dados dos parágrafos anteriores, a esperança de vida para o *An. gambiae* s.l. é de 7,4 dias e 3,2 dias para o *An. pharoensis*.

Em Abella Wondo, a temperatura média diária durante os meses de Julho a Dezembro é, habitualmente, de 20°C. A esta temperatura, são necessários aproximadamente 28 dias para completar o ciclo esporogónico do *P. falciparum*. A probabilidade de transmissão da infecção por *P. falciparum* pelo *An. gambiae* s.l. é, portanto, de $0,874^{28}$ (= 0,023 ou 2,3%). Durante o mesmo período, das 2434 fêmeas desta espécie, 3 revelaram-se infectadas, isto é, 0,1%. A baixa taxa de esporozoítos (ou a baixa probabilidade de transmissão) na zona do estudo pode ser resultado tanto da probabilidade de sobrevivência dos vetores como da temperatura ambiente.

2. Taxa esporozoítica dos mosquitos fêmeas e número de picadas infecciosas por noite.

As taxas esporozoíticas no sector de Awasa são apresentadas no Quadro 4.5 e Figura 4.12.

Quadro 4.5 Dissecção das glândulas salivares, *An. gambiae* s.l., sector de Awasa (1964–1965)

Mês e ano	N.º de dissecções	N.º de esporozoítos positivos	Taxa de esporozoítos (%)
Jun. 1964	128	0	0,00
Jul. 1964	212	0	0,00
Ago. 1964	580	0	0,00
Set. 1964	630	0	0,00
Out. 1964	803	2	0,25
Nov. 1964	162	1	0,62
Dez. 1964	47	0	0,00
Jan. 1965	20	0	0,00
Fev.1965	0	–	–
Mar. 1965	0	–	–
Abr. 1965	0	–	–
Mai 1965	38	0	0,00
Total	2620	30	0,11

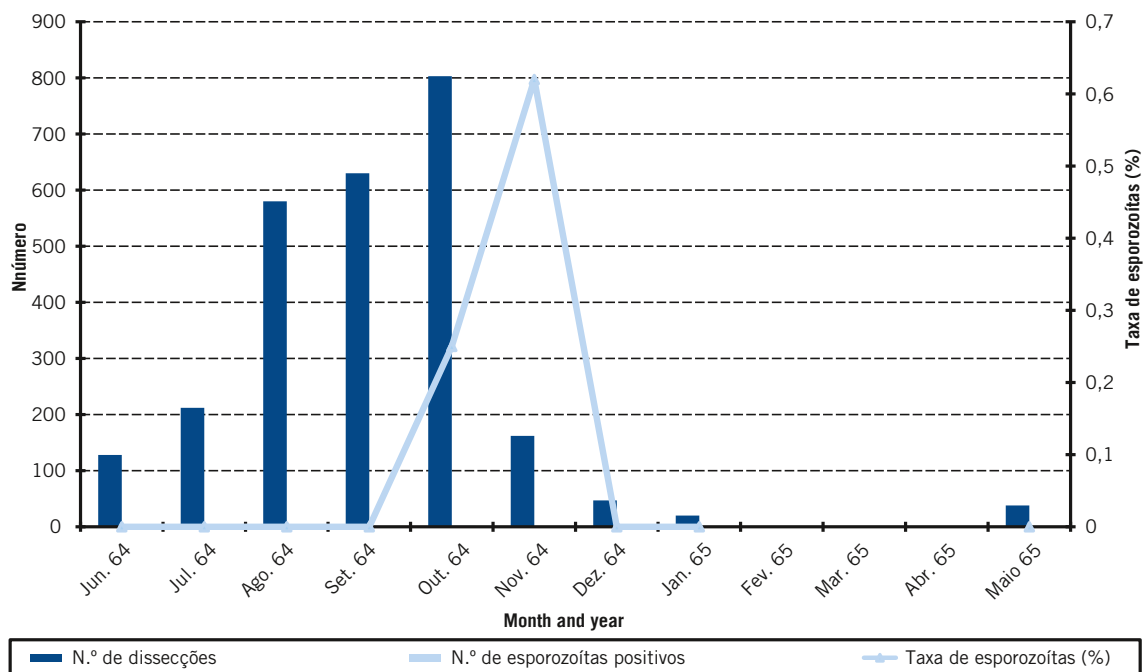


Figura 4.12 Gândula salivar dissecada, *An. gambiae s.l.*, Sector de Awasa em 1964-1965

No sector de Awasa, 3/2620 (0,11%) de *An. gambiae s.l.* revelaram-se positivos e durante o mesmo período, 6/1918 de *An. gambiae s.l.* (0,31%) foram positivos para esporozoítos no sector de Adamitulu. Em ambos os sectores, de um total de 2577 *An. pharoensis* capturados nenhum foi positivo.

Exemplo

Para um habitante de Abella Wondo (no sector de Awasa), em 1964, quantas picadas infecciosas de *An. gambiae s.l.* seriam de esperar, durante o mês de Outubro de 1964, se não tivesse sido usada nenhuma protecção contra as picadas dos mosquitos?

Esta questão pode ser rephraseada da seguinte forma: entre todos os *An. gambiae s.l.* fêmeas que podiam ter tomado as suas refeições de sangue nas pessoas, durante o mês de Outubro de 1964, quantos teriam sido infecciosos? Para responder a esta questão, são necessárias duas medições:

- ▶ a taxa esporozóitica, e
- ▶ a taxa de picadas em humanos

A taxa esporozóitica foi 0,25% (Quadro 4.5). Em média, a pessoa seria picada por 8,1 *An. gambiae s.l.* por noite. O número de picadas infecciosas por pessoa e por noite, é conhecida como Taxa de Inoculação Entomológica (TIE) e é calculada como:

$$TIE = \frac{\text{taxa de picadas em humanos} \times \text{taxa esporozóitica} (\%)}{100}$$

A TIE é, portanto, $8,1 \times 0,0025 = 0,0203$ por pessoa e por noite. Presumindo que o mesmo número de fêmeas picava todas as noites, em Outubro de 1964, seriam de esperar, durante esse mês, um total de $0,0203 \times 31 \text{ dias} = 0,63$ picadas infecciosas.

Alternativamente, a mesma solução pode ser derivada da seguinte forma: se 8,1 *An. gambiae s.l.* picarem uma pessoa todas as noites, $8,1 \times 31 = 251,1$ poderiam ter mordido essa pessoa durante

todo o mês. A partir da taxa esporozóitica presume-se que 0,25% destes mosquitos possam estar infectados; assim, as picadas infecciosas previstas seriam $0,0025 \times 251,1 = 0,63$ por pessoa e por mês (isto é, menos do que uma picada infecciosa). Ao exprimir a TIE, a dimensão de tempo (quer seja por noite, por mês ou por ano) deve ser sempre registada. Incidentalmente, o número de picadas infecciosas é baixo nesta zona específica. Em zonas hiperepidémicas de África, uma pessoa poderá receber uma picada infecciosa todas as noites.

Um cálculo semelhante para o *An. gambiae*, feito em Novembro de 1964 (Quadros 4.4 e 4.5) mostra a taxa de picadas em humanos de 1,2 por pessoa e por noite (mais baixa do que em Outubro) e uma taxa esporozóitica de 0,62% ou 0,0062 (mais alta do que em Outubro); a TIE é $1,2 \times 0,0062 = 0,00744$ picadas infecciosas por pessoa e por noite ou $0,00744 \times 30 = 0,22$ picadas infecciosas por pessoa e por mês. É provável que, em Novembro, os vetores restantes fossem mosquitos mais velhos (provavelmente infectados) mas a taxa de picadas mais baixa reduziu a TIE.

Exercício 4.9

Em trabalho de grupo, os participantes terão de responder às seguintes questões:

- A partir dos resultados de observações anteriores e dos cálculos sobre a esperança de vida e sobre os contactos homem-vetor, qual das duas espécies de anofelíneos é o vetor de paludismo mais importante na zona? Porquê? (Apresente três razões).*
- Se for tomada a decisão de usar pulverização residual para controlar o *An. gambiae* s.l., qual seria o momento mais indicado para a aplicação de um insecticida com seis meses de eficácia residual? Refira as densidades de repouso no interior e as taxas de picadas em humanos.*

Os resultados serão apresentados em plenário.

4.3.8 Capacidade vetorial

A capacidade vetorial é um índice (ou modelo) que é definido como a capacidade de uma população de vetores para transmitir o paludismo, em termos do potencial número de inoculações secundárias originadas por dia, a partir de uma pessoa infectada. A fórmula da capacidade vetorial (C) é a seguinte:

$$C = m a^2 p^n / -\ln p \quad 1$$

- em que
- m = densidade de vetores em relação às pessoas
 - a = número de refeições de sangue em humanos por vetor e por dia (= índice de sangue humano multiplicado por 0,5, se for presumido um ciclo gonotrófico de dois dias)
 - p = probabilidade de sobrevivência diária (ou percentagem de vetores que sobrevivem por dia)
 - n = período de incubação no vetor (dias)

A fórmula pode ser derivada do seguinte modo: uma pessoa é picada por ma vetores num dia; uma fração p^n destes vetores sobrevive ao período de incubação; sobrevivem $[1 / (-\ln p)]$ dias e, durante esse tempo, alimentam-se em a pessoas por dia; multiplicando ma por a e depois por p^n

¹ *In* significa "logaritmo natural" e p é a taxa diária de sobrevivência de um mosquito (que deve ser definida no texto). A fórmula é a inversa de menos o log natural de p , isto é, $1 / -\ln(p)$.

e $[1 / (-\ln p)]$ obtém-se a fórmula acima. É difícil medir todos estes parâmetros correctamente e é preciso ter em conta vários pressupostos. No entanto, a capacidade vetorial é um dos conceitos mais importantes nos estudos teóricos sobre epidemiologia e controlo do paludismo. Por exemplo, usando este conceito, pode mostrar-se que, reduzindo para metade a sobrevivência p (usando pulverização residual), se obtém uma redução muito maior da capacidade vetorial do que reduzindo para metade o elemento a , que é, ele próprio, mais eficaz do que a redução para metade da densidade m .

Debate final

Os participantes farão uma revisão dos principais conceitos da biologia dos vetores e da sua relação com a transmissão do paludismo e a incriminação de vetores. O tutor fará as perguntas abaixo apresentadas. Os participantes elaborarão uma lista dos componentes da biologia de um vetor que aumentam o risco de paludismo. Os resultados apresentados pelo grupo poderão ser expostos num quadro de folhas.

1. Que características dos habitats aquáticos dos vetores contribuem para o risco de paludismo?
2. Que características da história de vida do vetor adulto aumentam a probabilidade de que ele transmita o paludismo?
3. Que comportamentos da actividade de picar aumentam o potencial de transmissão do paludismo?
4. Que actividades e comportamentos humanos colocam as pessoas em risco de paludismo?
5. Será necessário medir todas as componentes do modelo de capacidade vetorial, para monitorizar a componente entomológica da transmissão do paludismo? Explique.
6. A TIE tornou-se um importante indicador entomológico da transmissão do paludismo para comparar as diferenças regionais. Por que razão isso aconteceu?

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 5

Controlo dos vetores do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Discutir o papel e objectivos do controlo dos vetores na prevenção e controlo do paludismo
- Descrever as opções de controlo dos vetores, suas vantagens e limitações
- Descrever as formulações de diferentes classes de insecticidas (organoclorados, organofosfatos, carbamatos e piretróides)
- Demonstrar competência na aplicação de insecticidas, usando a pulverização residual intradomiciliar (PRI), mosquiteiros tratados com insecticida (MTI/MILD), larvicidas e pulverização espacial
- Demonstrar competência na operação, armazenamento e manutenção do equipamento de controlo dos vetores (pulverizador de bomba Hudson, máquinas de nebulização e máquinas de nebulização de volumes ultra baixos)
- Descrever os diferentes métodos usados no controlo biológico dos vetores do paludismo
- Descrever o reconhecimento geográfico e o seu lugar nas operações com vetores
- Explicar as opções de Gestão Integrado de Vetores (GIV)

Introdução

O controlo dos vetores é um elemento fundamental no controlo do paludismo e continua a ser a medida mais geralmente eficaz para evitar a transmissão do paludismo, constituindo, por isso, uma das abordagens estratégicas ao controlo do paludismo.

Os objectivos do controlo dos vetores do paludismo têm duas vertentes:

- ▶ Proteger as pessoas individuais contra as picadas infecciosas do mosquito do paludismo; e
- ▶ Reduzir a intensidade da transmissão local do paludismo, a nível das comunidades, reduzindo a longevidade, densidade e o contacto humano-vetor da população local de mosquitos vetores.

Os métodos de controlo dos vetores variam consideravelmente na sua aplicabilidade, custo e sustentabilidade dos resultados. Os seus alvos são o mosquito adulto e/ou as suas larvas.

5.1 Métodos de controlo dos vetores

As intervenções, que usam os métodos de controlo dos vetores, estão relacionadas com as seguintes principais três medidas de controlo:

1. *Redução do contacto homem-vetor*

- ▶ Mosquiteiros tratados com insecticida
- ▶ Melhorias das habitações
- ▶ Repelentes e espirais anti-mosquito

2. *Controlo de mosquitos adultos*

- ▶ Mosquiteiros tratados com insecticida
- ▶ Pulverização residual intradomiciliar
- ▶ Pulverização espacial

3. *Controlo de larvas*

- ▶ Uso de larvicidas
- ▶ Redução das fontes
- ▶ Peixe larvívoro

Nem todos estes métodos se aplicam a todas as diferentes situações epidemiológicas e operacionais do paludismo que podem ocorrer. As duas mais poderosas e mais amplamente aplicadas intervenções de controlo dos vetores são os mosquiteiros tratados com insecticida e a pulverização residual intradomiciliar. Estas intervenções funcionam, porque reduzem o contacto homem-vetor e também o tempo de vida do mosquito fêmea (para que ele não sobreviva o tempo suficiente para transmitir o parasita).

Outras intervenções, tais como o uso de larvicidas ou a gestão ambiental, podem ser úteis num conjunto específico de condições, conforme o vetor-alvo e a situação local. Devido a limitações logísticas e operacionais, estes métodos não podem ser implementados com eficácia em todas as zonas, mas podem, em contextos específicos, desempenhar um papel complementar aos

mosquiteiros tratados com insecticida e à pulverização residual intradomiciliar. O uso de larvicidas apenas é útil onde os criadouros são raros, fixos e fáceis de encontrar.

Exercício 5.1

Trabalhando em pequenos grupos, os participantes escreverão, no diagrama abaixo (Fig. 5.1), os potenciais métodos de intervenção contra os vetores, relativamente a cada fase do ciclo de vida do vetor. Deverão classificá-los como (i) reduz o contacto homem-vetor, (ii) controla os mosquitos adultos, (iii) controla as larvas. Ao resolver este exercício, consultar o texto sobre os métodos de controlo dos vetores, no final desta Unidade de Aprendizagem. Cada grupo apresentará a informação em sessão plenária e discutirá as suas conclusões.

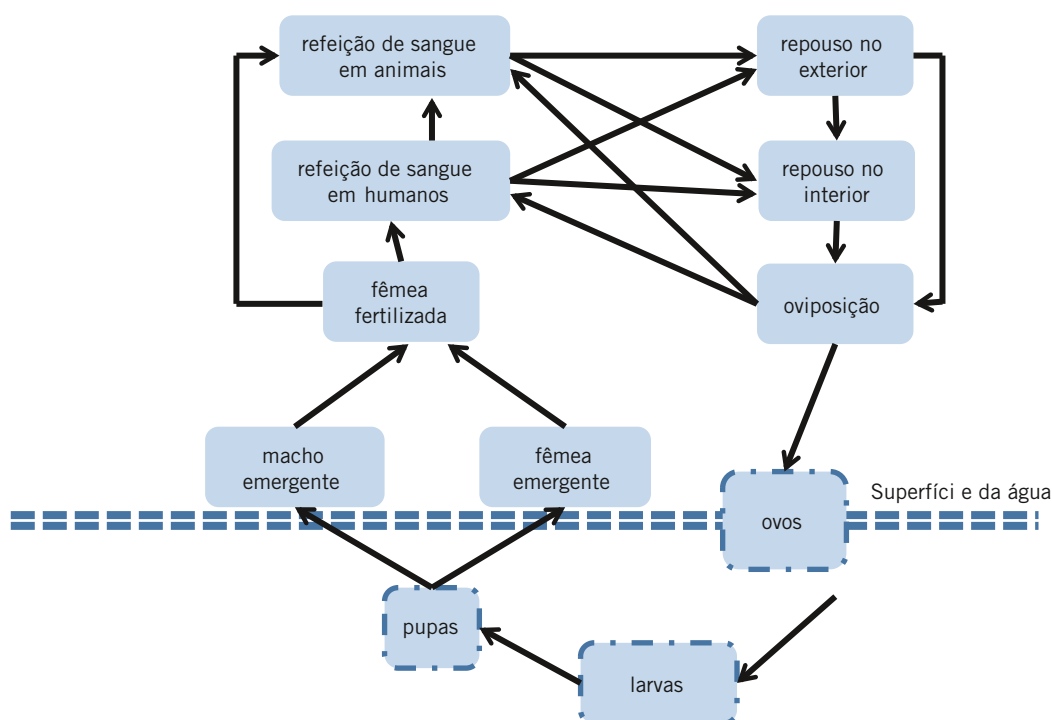


Figura 5.1 Apresentação esquemática do ciclo de vida do mosquito

Exercício 5.2

Trabalhando em pequenos grupos, os participantes completarão o Quadro 5.1, acerca dos efeitos esperados dos vários métodos de controlo dos vetores sobre os diferentes aspectos da população de vetores. Os seguintes sinais podem ser usados nas células em branco do quadro: (+) redução esperada; (-) nenhum efeito; e (+/-) efeito duvidoso ou condicional sobre outros factores. Apresentar os resultados do grupo em sessão plenária. Ao resolver este exercício, consultar o texto sobre métodos de controlo dos vetores, no final desta Unidade de Aprendizagem.

U5

Quadro 5.1 Aspectos dos vetores (e componentes da capacidade vetorial) que poderão ser afectados por vários métodos de controlo dos vetores

Método	Densidade de larvas (m)	Densidade de adultos (m)	Sobrevivência de adultos (p)	Hábitos de picada em humanos (a)
Reduzir o contacto humano-vetor				
Mosquiteiros tratados com insecticida, outros materiais				
Melhores habitações				
Repelentes e espirais anti-mosquito				
Controlo dos mosquitos adultos				
Mosquiteiros tratados com insecticida, outros materiais				
Pulverização residual intradomiciliar				
Pulverização espacial				
Controlo das larvas				
Redução das fontes				
Peixe larvívoro				
Larvicidas				

+ redução esperada; – nenhum efeito ; +/- efeito duvidoso ou condicional sobre outros factores

Demonstração

Serão demonstrados os métodos habitualmente usados no controlo dos vetores, respectivo equipamento e químicos. Os participantes praticarão esses métodos e discutirão o seu uso, manutenção, funcionamento e segurança.

5.1.1 Selecção de métodos de controlo dos vetores

Os métodos de controlo dos vetores variam na sua eficácia, recursos necessários, potenciais sistemas de aplicação e pessoal necessário para os implementar. Alguns deles são altamente específicos e outros de aplicação mais ampla. A Figura 5.2 demonstra a complexidade do processo de selecção de métodos para controlo dos vetores. O ponto central gira em torno de uma determinada situação epidemiológica. Esta unidade incide sobre o impacto dos diferentes métodos de controlo sobre a população de vetores.

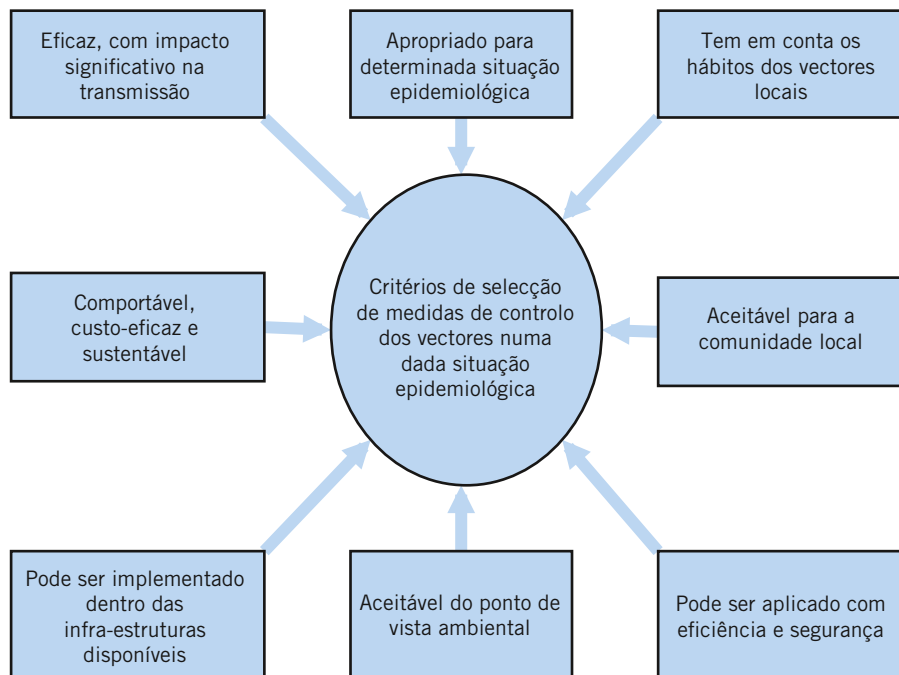


Figura 5.2 Critérios de selecção da opção apropriada de controlo dos vetores numa determinada situação epidemiológica

Exercício 5.3

Uma componente importante do processo de selecção das intervenções de controlo dos vetores é o conhecimento das vantagens e limitações de cada método. Em trabalho de grupo, os participantes irão elaborar uma lista de vantagens e limitações dos métodos apresentados no Quadro 5.1. Ao preparar a lista, pode consultar-se a informação fornecida no final desta Unidade de Aprendizagem.

Exercício 5.4

O tutor atribuirá a cada grupo uma de duas intervenções a usar no estudo de caso da Etiópia. Neste exercício, presume-se que o governo recebeu pareceres contraditórios sobre o uso de MTI ou PRI. O grupo deverá justificar a selecção do método apropriado, elaborar o plano de intervenção e promovê-lo em sessão plenária. Para a elaboração do plano, pode utilizar-se como guia o texto que se encontra no final deste módulo.

5.2 Reduzir o contacto homem-vetor

5.2.1 Mosquiteiros tratados com insecticida

Um mosquiteiro tratado com insecticida é uma rede mosquiteira que foi impregnada com um insecticida. Repele, incapacita e/ou mata os mosquitos que entrem em contacto com o insecticida aplicado na rede. Há duas categorias de mosquiteiros tratados com insecticida, conforme abaixo se descreve:

- ▶ Um mosquiteiro convencional tratado com insecticida (MTI) é uma rede mosquiteira que foi tratada mergulhando-a num insecticida recomendado pela OMS. Para garantir o seu efeito

contínuo, o tratamento da rede terá de ser renovado depois de três lavagens ou, pelo menos, uma vez por ano.

- ▶ Um mosquiteiro com insecticida de longa duração (MILD) é uma rede tratada na fábrica e feita com material que tem um insecticida incorporado nas fibras ou em seu redor. A rede terá de reter a sua actividade biológica eficaz contra os mosquitos vetores durante, pelo menos, três anos, nas condições de utilização recomendadas, evitando a necessidade de um tratamento regular com o insecticida. Por esta razão, a OMS recomenda o uso de mosquiteiros com insecticida de longa duração, em vez dos MTI convencionais.

Os mosquiteiros tratados com insecticida funcionam tanto por (i) protegendo a pessoa que dorme sob a rede (nível individual – protecção pessoal) como (ii) alargando o seu efeito a uma zona inteira (nível comunitário – efeito de massas). A protecção pessoal funciona impedindo o contacto entre o mosquito e a pessoa protegida pela rede. O “efeito de massas” ocorre quando o insecticida da rede mata o mosquito que a toca, afectando assim a população de vetores e reduzindo a intensidade global da transmissão na zona protegida. Contudo, quando se compara as pessoas que dormem sem rede na mesma casa com as que dormem sob uma rede, o efeito protector das redes tratadas com insecticida é inferior. Por esse motivo, a recomendação da OMS é atingir a “cobertura universal”, em vez de equipar um número pré-determinado de redes tratadas com insecticida por habitação.

5.2.1.1 Material para redes e modelos de mosquiteiros

Usam-se os seguintes termos para caracterizar os materiais usados no fabrico das redes:

Material

As redes são feitas de poliéster, polietileno ou polipropileno (ver Fig. 5. 3).



Figura 5.3 Diferentes materiais dos os mosquiteiros

Malha

É o número de orifícios por polegada quadrada; por exemplo, 156 malhas têm 12 x 13 orifícios por polegada quadrada. A contagem de 156 malhas é considerada um padrão para mosquiteiros não tratados ou tratados no terreno, na condição de que as redes tenham orifícios de tamanho razoavelmente homogêneo. Devido à sua retenção de actividade insecticida contra os mosquitos, os MILD poderão ter uma contagem diferente do número mínimo de malhas, que pode ser específica do produto.

Resistência

É definida como a pressão máxima que se pode aplicar a uma dada superfície da rede, antes de ela se romper pela força da pressão exercida. É medida em áreas de 7,3 cm² do material de rede. A resistência mínima aceitável para materiais de rede é de 250 kPa.

Denier (espessura)

É uma indicação do peso (e, portanto, da força) do fio. É definido como o peso em gramas de 9000 m de um fio singelo. Um denier de 100, ou mais, é forte e, muitas vezes, recomendado. Também se usam redes de 75 deniers, mas são frágeis.

Cor

As cores mais usadas são azul, verde ou rosa, porque se sujam menos e evitam problemas culturais associados à cor branca. No entanto, em algumas zonas, o branco é a cor preferida.

Forma e tamanho

Geralmente, os mosquiteiros têm duas formas: rectangular e cónica (ou circular). Os programas de larga escala usam, muitas vezes, redes rectangulares. O Quadro 5.2 resume os mosquiteiros mais frequentemente usadas. A forma e o tamanho dos mosquiteiros usados dependem das preferências locais.

Quadro 5.2 Mosquiteiros mais frequentemente usados

Tamanho	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Altura (cm)
Individual	70	180	150
Duplo	100	180	150
Familiar	130	180	150
Grande família	190	180	150

As redes cónicas mais usadas têm, aproximadamente, 8,76 m² as individuais, 10,20 m² as duplas, 11,64 m² as de tamanho familiar e 14,52 m² as destinadas a grandes famílias.

5.2.1.2 Procedimentos de tratamento dos MTI

Numa perspectiva programática, o tratamento e a renovação do tratamento dos mosquiteiros serão necessários, até que a cobertura com MILD esteja mais generalizada e substitua todos os MTI convencionais já entregues e distribuídos. Para além disso, certas comunidades em zonas de paludismo endémico poderão continuar a usar mosquiteiros que requeiram tratamento e renovação do tratamento. Os procedimentos de tratamento são descritos no Anexo 2.

5.2.1.3 Fontes dos mosquiteiros

As potenciais fontes dos mosquiteiros são:

- ▶ Fabricantes comerciais de redes prontas a usar ou fabricadas fora do país;
- ▶ Fabricante comercial local de redes prontas a usar;
- ▶ Produção de mosquiteiros de pequena escala, por exemplo, manufacturadas por alfaiates locais;
- ▶ Mosquiteiros feitas em casa, produzidos pelo dono da casa.

5.2.1.4 Mosquiteiros com insecticida de longa duração

Os mosquiteiros com insecticida de longa duração (MILD) são redes mosquiteiras pré-tratadas e prontas a usar, que não exigem renovação do tratamento durante o seu tempo de vida estimado (geralmente 2–3 anos). Os dados sobre a durabilidade (integridade física) obtidos no terreno sugerem que eles não duram mais de 24 meses. Isso tem enormes implicações no custo da sua substituição. Neste momento, estão a estudar-se formas de fabricar mosquiteiros mais duradouros que permitam intervalos mais longos entre os ciclos de substituição. Por outro lado, se existirem indícios de ineficácia prematura, a substituição deve ser feita antes dos 3 anos.

Os MILD apresentam várias vantagens importantes sobre os mosquiteiros convencionais. Entre elas contam-se a eliminação da necessidade de renovar o tratamento dos mosquiteiros (um dos principais obstáculos ao uso dos MTI em muitos países), a inexistência de problemas relacionados com o armazenamento e a manipulação de insecticidas por não profissionais e na comunidade, reduzindo o uso de insecticidas, e a minimização dos perigos ambientais causados pela libertação de insecticidas para coleções de água naturais.

O Esquema da OMS para a Avaliação de Pesticidas (WHOPES) apresenta recomendações relativamente às especificações dos MILD. As autoridades adquirentes apenas devem comprar MILD que cumpram as especificações do WHOPES. Todos os lotes de MILD devem ter garantia de qualidade. Existem 11 produtos de MILD actualmente recomendados pela OMS, conforme se indica no Quadro 5.5.

Quadro 5.5 Mosquiteiros com insecticida de longa duração recomendados pela OMS

Nome do produto	Tipo de produto	Estado da recomendação da OMS
DawaPlus® 2.0	Deltametrina revestida em poliéster	Provisório
Duranet®	Alfa-cipermetrina incorporada em polietileno	Total
Interceptor®	Alfa-cipermetrina revestida em poliéster	Total
LifeNet®	Deltametrina incorporada em polipropileno	Provisório
MAGNet™	Alfa-cipermetrina incorporada em polietileno	Total
Olyset®	Permetrina incorporada em polietileno	Total
Olyset® Plus	Permetrina e PBO incorporada em polietileno	Provisório
PermaNet® 2.0	Deltametrina revestida em poliéster	Total
PermaNet® 3.0	Combinação de deltametrina revestida em poliéster com orla reforçada (painéis laterais) e deltametrina e PBO incorporados em polietileno (tecto)	Provisório
Royal Sentry®	Alfa-cipermetrina incorporada em polietileno	Total
Yorkool® LN	Deltametrina revestida em poliéster	Total

1. Os relatórios das reuniões do Grupo de Trabalho do WHOPES devem ser consultados para uma orientação detalhada sobre o uso e recomendações. Esses relatórios estão disponíveis em <http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/>; and
2. As recomendações da OMS sobre o uso de pesticidas em saúde pública são válidos APENAS se associadas às especificações da OMS para o seu controlo de qualidade. As especificações da OMS para os pesticidas na saúde pública estão disponíveis em <http://www.who.int/whopes/quality/newspecif/en/>.

5.2.1.5 Vantagens e limitações dos MTI/MILD

As vantagens e limitações dos MTI/MILD são apresentadas no Quadro 5.6.

Quadro 5.6 As vantagens e limitações dos MTI e dos MILD comparadas com a PRI

Características	MTI ou MILD
Vantagens dos MTI/MILD	
• Não exigem equipamento especial nem formação	MTI e MILD
• Têm poucos problemas organizacionais e logísticos	MTI e MILD
• Apenas exigem pequenas quantidades de insecticida	MTI e MILD
• Oferecem protecção contra o pó, ratos e cobras	MTI e MILD
• São baseados nas comunidades	MTI e MILD
• Não exigem renovação do tratamento (2–3 anos)	MILD
Limitações dos MTI/MILD	
• Os mosquitos exofílicos e exofágicos reduzem-lhes a eficácia	MTI e MILD
• A falta de participação dos grupos de risco podem limitar a sua eficácia	MTI e MILD

U5

5.2.1.6 Componentes essenciais da implementação e avaliação dos programas de MTI/MILD.

Existem problemas técnicos, socioculturais, económicos e operacionais que poderão influenciar a implementação eficaz da estratégia MTI/MILD. Algumas das questões a considerar quando se planifica a implementação de um programa de MTI/MILD são:

- ▶ Quais são os padrões comportamentais dos vetores? São exofágicos ou endofágicos e quais são os períodos em que picam mais, especialmente em relação aos hábitos de dormir das pessoas? As pessoas estão no exterior (sem protecção de redes) nas alturas em que os mosquitos picam mais?
- ▶ Quais as movimentações e hábitos nocturnos das pessoas que mais provavelmente afectam a exposição aos vetores, incluindo as horas a que vão para a cama? (Isto varia com a idade, o sexo, e a profissão).
- ▶ Quais são as atitudes das pessoas em relação ao uso de mosquiteiros?
- ▶ Há alguma preferência por tamanho, forma ou cor das redes?
- ▶ Quem é que já usa mosquiteiros? Onde é que os obtêm e a que custo?
- ▶ Existem variações sazonais nos padrões de uso dos mosquiteiros?
- ▶ Qual a situação económica da maior parte das pessoas? (isso afectará a compra de mosquiteiros, a capacidade de pagar os insecticidas e a renovação do tratamento dos mosquiteiros).

Os MTI/MILD são indicados como intervenção a longo prazo na maioria das situações, especialmente nas seguintes:

Situações epidemiológicas

- ▶ Várias condições de transmissão em que é necessária protecção a longo prazo;
- ▶ Zonas com uma estação relativamente longa de transmissão do paludismo ou transmissão que ocorre em todo o ano, de tal modo que será necessário mais do que um ciclo de PRI;
- ▶ Zonas em que a PRI não pode ser usada e só é possível a protecção pessoal (por exemplo, paludismo florestal ou entre populações nómadas).

Situações socioeconómicas

- ▶ Locais em que a PRI pode encontrar problemas de aceitação por uma ou outra razão.

Acesso e situações programáticas

- ▶ Zonas em que a distribuição de rotina de MTI/MILD pode ser facilmente integrada nos sistemas de saúde existentes, tais como o PAV de rotina ou o ANC;
- ▶ Nas zonas em que as competências especializadas e as infraestruturas programáticas necessárias para a PRI (ainda) não foram desenvolvidas, uma campanha de distribuição de MTI/MILD pode conseguir rapidamente elevados níveis de cobertura;
- ▶ Proteger as populações difíceis de alcançar, onde não é viável a aplicação de ciclos repetidos de PRI (uma única distribuição de MTI/MILD pode oferecer uma protecção relativamente longa, comparando com a protecção mais curta dada por um ciclo de PRI).

Em todos os países, existe uma grande variedade de situações locais e cenários eco-epidemiológicos. Por esse motivo, justifica-se muitas vezes o uso de PRI em alguns contextos e de MTI/MILD noutros ou de ambos noutras situações.

População-alvo do programa de MTI/MILD

Populações de risco – cobertura universal

Os MTI/MILD devem ser fornecidos em número suficiente para abranger todas as pessoas que estão expostas à transmissão nas comunidades visadas. No entanto, quando existem restrições de material, os MTI/MILD devem ser usados apenas para dar protecção aos grupos mais vulneráveis, incluindo:

Crianças menores de cinco anos

As crianças pequenas não desenvolveram um nível de protecção imunitária contra o paludismo, porque tiveram uma exposição limitada à infecção. Nas zonas de elevada transmissão, esse grupo é vulnerável ao paludismo grave. Este grupo etário é, normalmente, um dos principais grupos-alvo das intervenções de luta contra o paludismo.

Mulheres grávidas

A gravidez aumenta a vulnerabilidade das mulheres ao paludismo. Nas mulheres não imunes, nas zonas em que a transmissão do paludismo é instável, o paludismo cerebral e outras formas de paludismo *falciparum* grave e complicado são mais frequentes nas mulheres grávidas, especialmente nas primíparas. Mesmo em algumas zonas hiperendémicas, os sintomas clínicos e a parasitemia

são piores nas mulheres primíparas do que nas mulheres múltiparas e outros doentes. Por outro lado, o paludismo durante a gravidez é um factor de risco para a insuficiência ponderal à nascença e para outros resultados adversos da gravidez.

Refugiados e pessoas internamente deslocadas

Este grupo transita, muitas vezes, de zonas sem transmissão de paludismo ou de baixa transmissão para zonas altamente endémicas e, como não têm imunidade protectora, essas pessoas constituem um grupo de elevado risco, seja qual for a sua idade.

Escolha entre MTI convencionais e MILD

A OMS recomenda aos programas nacionais de luta contra o paludismo e aos parceiros envolvidos nas intervenções com mosquiteiros tratados com insecticida que comprem apenas mosquiteiros com insecticida de longa duração. Além do mais, os MILD têm melhor relação preço-eficácia (porque podem ser usados durante 2–3 anos) do que os mosquiteiros convencionais e o seu tratamento com insecticida uma ou duas vezes por ano.

No entanto, nas zonas em que anteriormente os MTI foram distribuídos ou adquiridos pela população, através de outros canais de distribuição, e onde uma percentagem significativa (pelo menos 50%) da comunidade usa mosquiteiros de cama, a renovação do tratamento das redes pode ainda ter uma boa relação custo-eficácia. Prevê-se que os MILD acabem por se tornar a principal intervenção de controlo dos vetores paludismo na maioria das zonas, o que limitará a necessidade de renovação do tratamento dos MTI.

Os programas nacionais de controlo do paludismo e os seus parceiros devem comprar apenas MILD recomendados pelo esquema de avaliação de pesticidas da OMS (WHOPES). Uma vez que a qualidade dos produtos MILD pode variar, recomenda-se vivamente o pedido de testes de qualidade pré e pós-envio, devendo os potenciais fornecedores assumir os custos desses testes.¹

Distribuição de MTI/MILD

São necessárias elevadas taxas de cobertura para compreender todo o potencial dos MTI/MILD. Por esse motivo, a OMS recomenda a cobertura por MTI/MILD de todas as pessoas que se encontrem em zonas de risco visadas pela prevenção do paludismo,

Em geral, a rápida intensificação da cobertura das populações-alvo pode ser obtida mais eficazmente através da distribuição MTI/MILD gratuita ou em grande parte subsidiados. O preço não deve constituir uma barreira à disponibilização de MTI/MILD a todas as pessoas de risco, especialmente às crianças pequenas e às mulheres grávidas.

A melhor forma de se conseguir e sustentar o acesso universal aos MTI/MILD é combinar vários sistemas de distribuição, tais como mecanismos de acompanhamento e manutenção. Acompanhamento significa campanhas de distribuição massiva, que podem atingir rapidamente a cobertura universal dos MTI/MILD. No entanto, é essencial que essas campanhas sejam complementadas com sistemas de distribuição contínuos de “manutenção”, particularmente entrega sistemática a mulheres grávidas, através dos serviços pré-natais, e aos bebés nos postos de vacinação.

¹ WHO (2012). Guidelines for procuring public health pesticides. WHO/HTM/NTD/WHOPES/2012.4.

A entrega MTI/MILD a mulheres grávidas através dos cuidados pré-natais é praticada em muitos países e pode ser feita de duas formas:

- ▶ oferecendo um MTI/MILD gratuitamente ou subsidiado (i.e., produto directo);
- ▶ distribuindo um vale ou um cupão que pode ser trocado por um MTI/MILD num ponto de distribuição, como uma loja comercial.

A entrega de MTI/MILD a crianças pode ser feita através de:

- ▶ vacinação de rotina;
- ▶ dias/semanas de saúde infantil, que visem menores de cinco anos de idade, com um pacote de intervenções que incluam MTI/MILD, suplementos de vitamina A e desparasitação;
- ▶ unidades de saúde ou equipas móveis, como parte dos serviços de proximidade mensais.

Em situações de emergência, nas zonas com paludismo instável, a distribuição em campanhas, como parte dos esforços de eliminação, pode ajudar a atingir uma rápida cobertura de toda a população.

As técnicas de marketing social utilizadas em alguns países usam várias abordagens de distribuição, incluindo unidades de saúde pública e uma combinação de distribuição pelas comunidades e pelo sector privado, esta última maioritariamente nos centros urbanos. Os mercados comerciais são importantes fontes de mosquiteiros. Quando existirem ou estiverem em desenvolvimento mercados comerciais fortes, eles devem ser encorajados.

Estimativa do número de mosquiteiros necessários numa determinada zona

Actualmente, a proposta é a de que por cada duas pessoas deva ser distribuído um MTI/MILD. A nível de família, a distribuição de um MTI/MILD por cada dois membros da família implicará arredondamentos nas famílias em que exista um número ímpar de membros (e.g., 3 MTI/MILD para uma família de 5 membros, etc.). Devido a este arredondamento, a distribuição de “um MTI/MILD por cada duas pessoas”, a nível das famílias, exige um rácio global, para fins de compra, de 1 MTI/MILD por cada 1,8 pessoas da população-alvo.

- ▶ Nos locais em que ainda não tenham sido distribuídos MTI/MILD, a estimativa de redes necessárias deverá basear-se num cálculo de 1 MILD por 1,8 pessoas (o que significa 550 redes/1000 habitantes), reflectindo a necessidade de garantir a cobertura universal de todas as famílias, incluindo aquelas que têm um número ímpar de membros.
- ▶ Nas zonas com baixa cobertura de MTI/MILD (< 30%) ou onde não seja possível estimar quantas casas têm MTI/MILD, através de um sistema de localização de mosquiteiros, mas onde se supõe que a percentagem é baixa, recomenda-se que não se conte com os MTI/MILD existentes. Em vez disso, a estimativa do número de mosquiteiros necessários deve basear-se num cálculo de 1 MILD por 1,8 pessoas, tal como se fez acima.
- ▶ Nas zonas em que se estima que a percentagem de casas com MTI/MILD se situe acima dos 30%, uma quantificação mais detalhada da compra de mosquiteiros poderá aumentar o uso eficaz dos recursos. Uma boa metodologia de quantificação deverá considerar os seguintes factores, ao determinar as estimativas para compra de MTI/MILD:
 - ▶ reservas pré-existentes de MTI/MILD não distribuídos e disponíveis para uso;

- ▶ número estimado de MTI/MILD anteriormente distribuídos ao longo dos últimos 3 anos, por ano, de preferência por distrito;
- ▶ eficácia e estado provável dos MTI/MILD perdidos, às taxas descritas no quadro abaixo, com base na idade do mosquiteiro (número de anos desde a distribuição).

Taxa de perda de mosquiteiros

Estão actualmente em curso vários estudos sobre a durabilidade e vida efectiva dos vários tipos de mosquiteiros em zonas diferentes. Os países são encorajados a monitorizar prospectivamente a durabilidade dos MILD, usando a metodologia indicada na publicação da OMS intitulada *Orientações para monitorizar a durabilidade dos mosquiteiros impregnados com insecticida de longa duração em condições operacionais*¹. Os países que tenham dados específicos sobre a viabilidade ou durabilidade dos mosquiteiros podem usá-la para estimar o número de mosquiteiros viáveis e tempo de vida restante. As taxas de perda podem igualmente ser calculadas a uma taxa de 8% no primeiro ano (0–12 meses), desde a sua distribuição, 20% no segundo ano (13–24 meses) desde a distribuição e 50% no terceiro ano (25–36 meses), desde a distribuição. Estas taxas de perda baseiam-se nos dados disponíveis até à data, podendo mudar com o tempo, à medida que surgirem mais dados. Os exemplos abaixo mostram como estes números poderão ser usados para calcular as perdas de MILD, desde o momento da sua distribuição.

Exemplo: cálculo de MILD para 2013

Ano de distribuição das redes	2011	2012	2013
Quantidade distribuída	50 000	100 000	10 000
Quantidade perdida	$50\,000 \times 0,5 = 25\,000$	$100\,000 \times 0,2 = 20\,000$	$10\,000 \times 0,08 = 800$
Percentagem disponível	$1 - 0,5 = 0,5$	$1 - 0,2 = 0,8$	$1 - 0,08 = 0,92$
Redes existentes de cada ano	25 000	80 000	9 200
Total de redes existentes 2013	114 200		

Distribuição de MTI/MILD às famílias

A distribuição de MTI/MILD às famílias depende do número de mosquiteiros funcionais existentes na comunidade, do seguinte modo:

- ▶ Nas comunidades em que a percentagem de MTI/MILD nas famílias seja inferior a 30% ou desconhecida ou onde ainda não foram distribuídos mosquiteiros, recomenda-se a afectação dos mosquiteiros através de uma distribuição em massa, contemplando todas as famílias, independentemente dos MTI/MILD existentes.
- ▶ Nas comunidades em que a percentagem de MTI/MILD nas famílias seja superior a 30%, recomenda-se que, para se atingir uma cobertura universal, a afectação de mosquiteiros tenha em conta os mosquiteiros existentes, assumindo que há um número suficiente de redes em boas condições.
- ▶ Nas comunidades em que os dados sugerem que a maior parte das famílias (65%–85%) tem vários MTI/MILD e onde se atingiram níveis de cobertura quase universal, poderão não ser necessárias campanhas nacionais de distribuição de MTI/MILD. No entanto, poderão ser feitas pequenas campanhas, para reforçar a posse de mosquiteiros nas famílias das zonas



em que a taxa de posse é baixa no seio das regiões/distritos. Nessas situações, pode dar-se prioridade à criação e reforço da distribuição através de sistemas de rotina, para garantir que haverá MTI/MILD suficientes para as famílias, com vista a manter a cobertura universal nas zonas em que ela já foi atingida e para dar os passos finais para a atingir nos locais onde ainda não foi alcançada.

A cobertura existente é irregular, havendo algumas famílias com mais do que um mosquito e muitas outras sem nenhum, caso em que poderá ser necessário fazer um recenseamento das famílias e dos mosquiteiros, como parte do processo de registo das famílias, com vista a evitar excessos locais e rupturas de stock durante a distribuição. Um método para a afectação a nível de famílias é usar um registo das famílias ou dos MTI/MILD, para se poderem identificar as necessidades em cada casa, com base nos mosquiteiros funcionais que cada família possui e no número de membros da família ou de espaços de dormir. Em alguns países, entrega-se a um representante da família um vale ou uma pulseira com o número de mosquiteiros necessários para cada família, que esse representante deverá apresentar no ponto de distribuição no dia da campanha. Desse modo, a distribuição contemplará as famílias que têm necessidade de mosquiteiros.

O registo das famílias e o recenseamento das redes são um passo importante no processo da campanha e deverão realizar-se depois da compra de MTI/MILD, mas antes da sua distribuição. O planeamento da logística (transportes, armazenamento e pré-posicionamento dos MTI/MILD) baseia-se muitas vezes no registo das famílias e no recenseamento dos mosquiteiros, o que permite aos países tempo suficiente para fornecer os dados sobre o registo das famílias ao planeamento da logística e para enviar os MTI/MILD, através da cadeia de abastecimento, para os pontos de distribuição nas comunidades.

Garantia de que os MTI/MILD são devidamente utilizados

Para ficarem protegidas, as famílias devem não só ter os MTI/MILD em casa mas também usá-los. As intervenções para a mudança de comportamentos, incluindo as campanhas de informação, educação e comunicação (IEC) são fortemente recomendadas. A distribuição de MTI/MILD deve ser sistematicamente acompanhada de informação sobre o modo de os pendurar, usar e conservar devidamente.

Informação básica necessária para a implementação de MILD como intervenção de controlo dos vetores

Insecticida

- ▶ Suscetibilidade dos vetores aos insecticidas
- ▶ Eficácia dos insecticidas

Dados demográficos

- ▶ Estimativas populacionais
- ▶ Idade, sexo, rendimento, número de pessoas que usam mosquiteiros
- ▶ Grupos-alvo: crianças, mulheres grávidas (só quando não existem recursos para a cobertura universal)

Dados sociocomportamentais

- ▶ Hábitos de dormir (no exterior, no interior)
- ▶ Uso corrente de mosquiteiros
- ▶ Atitudes culturais
- ▶ Cores aceitáveis
- ▶ Tamanhos preferidos, conforme as condições das casas e dos quartos

Bionomia dos vetores

- ▶ Principais espécies de vetores
- ▶ Hábitos de picadas os mosquitos (exofílicos vs. endofílicos, zoofílicos vs. antropofílicos, horas das picadas)
- ▶ Densidade de vetores
- ▶ Sazonalidade da transmissão

Dados climáticos

- ▶ Temperatura
- ▶ Pluviosidade
- ▶ Humidade

Dados geográficos

- ▶ Zona, rios, estradas, casas, tipo de casas

Fardo do paludismo

- ▶ Casos anuais confirmados de paludismo por 1000 habitantes
- ▶ Óbitos anuais por paludismo de doentes hospitalizados por 1000 habitantes
- ▶ Incidência anual de parasitas (API)
- ▶ Taxa de exames com resultado positivo (SPR)

Unidades de saúde

- ▶ Acesso a unidades de saúde

5.2.1.7 Monitorização e avaliação dos MTI/MILD

O objectivo da maioria dos programas de MTI/MILD é reduzir a mortalidade e a morbilidade por paludismo, em determinada percentagem, durante os anos planeados. O Quadro 5.7 apresenta a lista dos principais indicadores (contributos, processos, produtos, resultados e impacto) usados na avaliação das intervenções com os MTI/MILD.

Quadro 5.7 Indicadores de processo (operacional), produto, resultado (cobertura) e impacto (entomológico) para a avaliação dos mosquiteiros tratados com insecticida (MTI) ou dos mosquiteiros com insecticida de longa duração (MILD)

Indicadores	Método de controlo: MILD
Indicadores de processo	Número de MILD comprados para distribuição (R)
Indicadores de produto	Número de MILD distribuídos à população-alvo (R)
Indicadores de resultado	Percentagem da população com acesso a um MTI/MILD em casa (R)
	Percentagem da população de risco potencialmente abrangida por MTI/MILD distribuídos (R)
	Percentagem da população que dormiu sob um MTI/MILD na noite anterior (R)
Indicadores de impacto (entomológico)	Índice de sangue humano (T)
	Situação da suscetibilidade aos insecticidas (R)
	Taxa de picadas em humanos (T)
	Taxa esporozoítica (S)

R: os indicadores podem ser regularmente monitorizados; S: selectivamente para fins específicos; T: para detectar tendências

Apresentam-se em seguida as descrições dos indicadores:

- a. Indicadores de contributo:** medem o nível de recursos disponíveis para uso pelo programa/intervenção, por exemplo, financiamento obtido para comprar MTI/MILD.
- b. Indicadores de processo:** ajudam a verificar se a intervenção MTI/MILD é implementada conforme foi planeada, por exemplo, verificam se os MTI/MILD foram comprados e estão prontos para distribuição e se há recursos disponíveis para entregar os mosquiteiros.
- c. Indicadores de produto:** medem referências de desempenho a nível dos programas. Os produtos mais importantes para monitorizar incluem entrega de MTI/MILD pelo programa e pelo mercado, por exemplo, o número de MTI/MILD distribuídos à população-alvo.
- d. Indicadores de resultado (cobertura):** medem a cobertura a nível da população das intervenções de MTI/MILD. Os indicadores usados para a cobertura com MTI/MILD são a percentagem de famílias com, pelo menos, um MTI/MILD por cada duas pessoas, percentagem da população com acesso a um MTI/MILD em casa e percentagem de pessoas que dormiram ao abrigo de um MTI/MILD na noite anterior. A mesma definição de cobertura deverá ser usada nos inquéritos iniciais e na avaliação pós-programa. Além da cobertura, renovação do tratamento e uso apropriado, todos os programas deverão monitorizar e avaliar a disponibilidade e o preço, para avaliar a equidade.
- e. Indicadores de impacto.** O objectivo da maioria dos programas de MTI/MILD é reduzir a mortalidade e a morbilidade causadas pelo paludismo, através do uso de MTI/MILD. Os indicadores de impacto incluem, portanto, a redução da mortalidade e da morbilidade. No entanto, é difícil avaliar a contribuição específica dos programas de MTI/MILD para a redução da mortalidade e morbilidade por paludismo, visto que há outras intervenções antipalúdicas, tais como os testes de diagnóstico, que são usadas em simultâneo. O impacto de uma intervenção de controlo dos vetores pode ser medido também em termos entomológicos.

A seguir descrevem-se outros indicadores para a monitorização e avaliação dos programas de MTI/MILD:

Indicadores da duração dos MILD. A duração dos MILD distribuídos às populações alvo deve ser monitorada, como parte das actividades programáticas, para ajudar a tomar decisões relativas à sua compra, substituição, eliminação ou reciclagem, ao aperfeiçoamento do produto e para orientar o planeamento do programa e as práticas. Os elementos a considerar na avaliação da duração dos MILD são (i) sobrevivência/desgaste das redes; (ii) integridade do tecido e (iii) actividade insecticida (bioeficácia).¹ Estas componentes da durabilidade são determinadas, em parte, por factores intrínsecos ao fabrico das redes (por ex., composição do material, tipo de malha e tecelagem, qualidade do acabamento, tipo e conteúdo de insecticida, aditivos, tecnologia dos MILD) e, em parte, por factores extrínsecos que causam desgaste. Propõem-se as seguintes definições, descrições e indicadores para os elementos de duração:

Sobrevivência é uma percentagem de mosquiteiros já distribuídos mas ainda disponíveis para o uso pretendido nas casas às quais foram distribuídos, após um determinado período, por exemplo 1, 2, 3 ou mais anos.

Desgaste (o contrário de sobrevivência) é uma percentagem de mosquiteiros que já não são usados para o fim pretendido, após um determinado período, depois da sua distribuição às famílias. O desgaste pode ser classificado como decadência (isto é, o mosquiteiro está destruído, tão gasto e usado que é considerado inútil como protecção contra os mosquitos), ausência (por ex., roubado, dado, deslocado) ou usado para outros fins.

Integridade do tecido reflecte o número, localização e tamanho dos orifícios de cada rede. Quando possível, a avaliação pode também ser categorizada por tipo de orifício (queimadura, rasgão, costura defeituosa, roída ou mastigada por animais).

Actividade insecticida (bioeficácia) é o grau de queda, mortalidade ou inibição de sugar induzido em mosquitos sensíveis, conforme determinado pelos procedimentos e critérios padrão da OMS. A actividade insecticida está associada ao tipo e conteúdo ou disponibilidade de insecticida. O conteúdo de insecticida é expresso em g/kg ou mg/m² do MILD e é determinado pelo método indicado nas especificações da OMS para os MILD (<http://www.who.int/whopes/recommendations/en/>).

5.2.2 Outros materiais tratados com insecticida

As cortinas e as redes de descanso podem igualmente ser tratadas com insecticidas piretróides e usadas para reduzir o contacto homem-vetor. Os cobertores, tendas de lona, chadores e tendas de plástico impregnados com piretróides são todos potencialmente protectores contra o paludismo; embora os dados generalizáveis sejam limitados, podem ser usados em algumas circunstâncias, tais como em campos de refugiados. Cortinas nas portas e janelas poderão também ser úteis intervenções complementares dos MTI em zonas com uma taxa significativa de picadas ao princípio da noite, antes das pessoas dormirem, desde que as pessoas estejam o interior das casas a essa hora.

¹ WHO (2011). *Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions*. Geneva, World Health Organization. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501705_eng.pdf

5.2.3 Outras abordagens para a redução do contacto homem-vetor

5.2.3.1 Melhoria das habitações e localização dos assentamentos em relação aos criadouros

As acções a nível das famílias e comunidades, para melhorar a qualidade das habitações (planta, construção, alterações, incluindo dispositivos anti-mosquitos) e para impedir a entrada de mosquitos e o seu repouso no interior das casas, podem ter efeitos mais permanentes do que os métodos de controlo com insecticidas. Uma melhor habitação também melhora as condições de vida e a saúde geral da população. Estas considerações são também relevantes em aldeamentos projectados, incluindo em projectos de desenvolvimento.

Uma má habitação significa maior risco de contacto homem-vetor. Por exemplo, casas incompletas com paredes abertas, espaços desprotegidos entre os telhados e as paredes e casas com janelas e portas abertas ou sem telhado, favorecem a entrada de mosquitos. As casas com paredes e chão húmidos favorecem o repouso dos mosquitos no interior das casas. A protecção das casas com redes nas janelas, aberturas e portas são um método eficaz de reduzir o contacto homem-vetor, quando devidamente implementado e mantido. Os novos aldeamentos devem ser cuidadosamente projectados, escolhendo correctamente a planta, estrutura, material de construção e localização relativamente aos criadouros, para evitar paludismo.

5.2.3.2 Repelentes, espirais anti-mosquito e vestuário de protecção

O uso de repelentes e de vestuário de protecção é útil para as pessoas que estão no exterior durante os períodos de maior intensidade das picadas. A maior parte dos repelentes tem uma duração muito curta do seu efeito (8 horas, ver a Fig. 5.6).

Repelentes. Existem repelentes em creme, loção e aerossol, que podem ser aplicados directamente na pele ou na roupa. O uso de repelentes é uma medida de protecção pessoal. Eles complementam os MTI/MILD e as protecções das casas, podendo ser usados após o escurecer, antes das pessoas se recolherem e se abrigarem sob um mosquiteiro ou pelas pessoas que passam parte da noite no exterior. Em situações de epidemia, muitas vezes são distribuídos repelentes para controlo do paludismo, embora seja duvidosa a sua relação custo-eficácia.

Espirais anti-mosquito. Alguns insecticidas matam ou repelem mosquitos à distância, quando vaporizados com um dispositivo de aquecimento. As espirais anti-mosquito estão entre os vaporizadores de insecticida mais populares e mais usados. Quando são acesas, as espirais derretem-se, libertando insecticida para o ar, a um ritmo constante, durante 6–8 horas.

Vestuário protector. A roupa que cobre a maior parte do corpo, isto é, casacos e camisas de manga comprida, calças e meias podem oferecer um certo nível de protecção pessoal contra as picadas dos mosquitos.



Figura 5.6 Espiral anti-mosquito e vaporizadores eléctricos de insecticida

5.3 Controlo de mosquitos adultos

5.3.1 Pulverização residual intradomiciliar (PRI)

A PRI consiste na aplicação de insecticidas residuais nas superfícies interiores das habitações, onde muitas espécies de mosquitos anofelíneos tendem a descansar depois de uma refeição de sangue. O principal efeito da PRI é matar os mosquitos que entram nas casas e repousam nas superfícies pulverizadas. Por isso, a PRI não é útil para o controlo de vetores que tendem a repousar no exterior, embora possa ser eficaz contra os mosquitos que picam no exterior e entram nas casas depois de se alimentarem. A PRI, quando devidamente implementada, é uma intervenção altamente eficaz, oferecendo protecção às comunidades, através de um rápido efeito massivo sobre as populações de vetores, reduzindo as densidades e a longevidade dos vetores, bem como a sua “capacidade vetorial” para transmitir os parasitas do paludismo.

5.3.1.1 Componentes essenciais do planeamento, formação, implementação e avaliação da PRI

Condições para o uso e eficácia da PRI

A PRI é recomendada apenas quando:

- ▶ a maioria da população de vetores é endofílica,
- ▶ a população de vetores é suscetível aos insecticidas escolhidos,
- ▶ uma elevada percentagem de casas ou estruturas na zona operacional tem superfícies pulverizáveis adequadas,
- ▶ a pulverização é feita correctamente.

Os mosquitos repousam em vários locais durante o ciclo gonotrófico. O repouso é feito no interior das habitações humanas, em abrigos de animais e na vegetação exterior. Os sítios preferidos pelos vetores para repousarem são as paredes das casas, tectos, debaixo das peças de mobiliário e locais frescos, escuros e húmidos. Os vetores que repousam em superfícies pulverizadas irão, muito provavelmente, ao encontro de uma dose letal de insecticida e morrerão mais do que aqueles que não repousam em superfícies pulverizadas.

Critérios de selecção de PRI

As consideráveis necessidades de recursos, necessidades de importação, preocupações ambientais com o seu uso e o potencial desenvolvimento de resistência dos vetores, obrigam a uma escolha de PRI altamente selectiva. Como acontece com qualquer intervenção de controlo, a selecção de PRI requer a definição da população a proteger e das zonas em que a medida irá ser aplicada. A situação epidemiológica determina que zonas deverão receber cobertura total durante um período de tempo relativamente longo e que zonas serão cobertas apenas depois da detecção de certos factores de risco.

Nas áreas a pulverizar, a PRI exige, em princípio, a cobertura de todos os locais onde o vetor possa repousar, pelo menos, durante as primeiras horas depois de se alimentar e enquanto procura um hospedeiro dentro de uma unidade epidemiológica. Uma unidade epidemiológica é a zona onde o vetor circula livremente entre riadouros e fontes de sangue. Poderá ser tão pequena como um grupo isolado de casas ou vários criadouros. A extensão e intensidade do problema do paludismo

e a mobilidade da população afectada determinará o tamanho da unidade de intervenção. A unidade poderá ser tão grande como um vale inteiro ou mesmo variar entre certas altitudes.

A PRI é mais indicada como meio de reduzir rapidamente a transmissão do paludismo nas seguintes condições:

- ▶ o controlo de epidemias detectadas nas primeiras fases de desenvolvimento, quando a pulverização pode ser feita suficientemente cedo para interromper a transmissão de pico (i.e., em zonas em que os picos sazonais podem ser cobertos com um ciclo de pulverização por ano);
- ▶ o controlo da transmissão sazonal em zonas com elevadas taxas de mortalidade, morbidade e doença grave por paludismo, a fim de reduzir os picos de incidência;
- ▶ a prevenção de epidemias, depois de sinais de alarme significativos de riscos emergentes em zonas específicas de potencial epidémico (e.g., chuvas fortes ou secas anormais que possam levar a um aumento dos criadouros dos vetores, humidade e temperaturas elevadas e migração de grandes números de pessoas não imunizadas para zonas endémicas);
- ▶ situações de risco especiais (e.g., grupos populacionais não imunes temporariamente expostos aos riscos de transmissão), tais como campos de refugiados, pessoas instaladas em zonas de projectos de desenvolvimento, campos de trabalho e quartéis do exército ou esquadras de polícia;
- ▶ a redução da transmissão e interrupção da propagação de parasitas resistentes aos medicamentos em zonas com grandes problemas de resistência aos medicamentos;
- ▶ capacidade de resposta em zonas de resistência aos insecticidas identificada, especialmente, em zonas onde os MILD são a intervenção usada para o controlo dos vetores.

Planeamento da PRI

O planeamento da PRI envolve a estratificação e o delineamento de zonas a abranger, com definição mais precisa dos limites operacionais e da frequência e momentos da aplicação (i.e., macro e micro-análise de informação para alvos seleccionados). A comunidade deverá compreender a importância da PRI, incluindo a sua segurança.

Questões a considerar no planeamento da PRI:

- ▶ a transmissão e o fardo do paludismo são, muitas vezes, focais e podem variar com a endemicidade do paludismo e a densidade de vetores, mesmo dentro de uma pequena zona;
- ▶ os indicadores agregados, tais como as taxas de incidência anual de parasitas, não devem ser o único critério para proceder à PRI. A micro-estratificação da epidemiologia do paludismo, na unidade mais pequena usada no planeamento das actividades de controlo, é necessária para determinar o alvo da PRI;
- ▶ o tamanho das zonas operacionais é influenciado pela distribuição dos vetores, distância dos criadouros importantes, autonomia de voo dos vetores, características demográficas e distribuição do paludismo;
- ▶ a PRI pode ser limitada a zonas geográficas específicas, aldeias e estações do ano.

A primeira decisão a tomar é saber se a PRI é uma intervenção adequada para o problema do paludismo numa determinada zona. A escolha deve basear-se numa avaliação dos resultados

das actividades anteriores de controlo dos vetores. Para melhorar a interpretação dos registos existentes, é necessário recolher informação sobre a bionomia e comportamento dos vetores locais.

Para que a PRI seja eficaz, além da identificação de um insecticida adequado, é preciso que estejam reunidas algumas outras condições:

- ▶ o vetor deverá, preferencialmente, ser endofílico. No entanto, a pulverização pode ser eficaz, até certo ponto, contra vetores que sejam parcialmente exofílicos, isto é, que repousem no interior apenas durante algumas horas depois de se alimentarem e depois passem a maior parte do tempo a digerir o sangue e a desenvolver ovos no exterior.
- ▶ as habitações humanas deverão ter paredes para a aplicação do insecticida.
- ▶ a cobertura necessária deve ser completada antes do início da estação de transmissão e mantida durante toda a estação. Isto é particularmente importante para o controlo da epidemia. Quando uma epidemia é declarada, na sequência de um aumento alarmante de casos de paludismo, é essencial determinar se há probabilidade da transmissão continuar; a PRI não é aconselhável quando a epidemia está a regredir e a transmissão está a chegar ao fim.

A PRI não deve ser planeada, a não ser que exista capacidade total para a sua implementação, monitorização e avaliação, a nível nacional, provincial e distrital. A demora na implementação dos programas de PRI pode ter consequências desastrosas sobre a saúde pública.

Definição de alvos para a aplicação da PRI

Os alvos a pulverizar devem ser claramente definidos, devendo fazer-se o reconhecimento da zona, para que se possam preparar os mapas e as orientações para os operadores de pulverização, do seguinte modo:

Zonas a pulverizar. As unidades de intervenção devem ser mapeadas ou claramente marcadas para que possam ser facilmente reconhecidas pelas equipas de pulverização. Os mapas e os critérios de identificação devem ser disponibilizados para orientar os responsáveis pelas operações de pulverização.

Estruturas. Os tipos de estruturas a pulverizar devem ser definidos, devendo incluir-se todas as habitações humanas onde possam ocorrer contactos entre os vetores e os humanos. Em muitas zonas rurais, por exemplo, as pessoas podem passar longos períodos de tempo em “cabanas” nos seus terrenos e essas estruturas podem ser muito importantes para manter a transmissão. Do mesmo modo, outras estruturas, como os abrigos dos animais, latrinas, armazéns ou anexos, podem ser importantes locais de repouso para os mosquitos que já se alimentaram.

Superfícies pulverizáveis. A PRI exige um elevado grau de cobertura dos potenciais locais de repouso, incluindo todas as paredes, tectos e peças de mobiliário. A pulverização das molduras das janelas e de ambos os lados das portas é muitas vezes necessária, visto que podem ser locais de repouso temporário dos vetores que entram e saem de uma divisão da casa.

Requisitos organizacionais e logísticos da PRI

A PRI requer uma cobertura muito elevada para que seja eficaz. A pulverização deve ser:

- ▶ total – todas as habitações devem ser pulverizadas,
- ▶ completa – cobrir todas as superfícies pulverizáveis,

- ▶ suficiente – aplicação uniforme da dose necessária a todas as superfícies pulverizáveis,
- ▶ regular – repetida a intervalos regulares, para garantir a presença de um resíduo eficaz durante a estação da transmissão.

A necessidade de cobrir todas as casas significa que é necessário ter um conhecimento completo da geografia da zona e que os operadores de pulverização terão de cobrir todas as casas próximas e as populações dispersas. Normalmente, é necessário um reconhecimento geográfico para actualizar os mapas locais e os dados dos recenseamentos. Para obedecer a estes padrões, é necessário que haja uma organização competente e disciplinada, com operadores de pulverização devidamente equipados e formados e um apoio logístico eficaz. Tradicionalmente, a PRI baseava-se no modelo operacional das campanhas de erradicação do paludismo dos anos 1950 e 1960, que exigiam uma forte organização autónoma e centralizada. Esse modelo já não existe na maioria das zonas e a necessidade dessa centralização tem sido questionada, particularmente quando os países adoptam uma política de descentralização. É preciso dar especial atenção ao seguinte:

- ▶ logística do apoio operacional, material, supervisão e monitorização,
- ▶ planeamento necessário para a aplicação regular da PRI e orientação técnica necessária para as operações descentralizadas,
- ▶ responsabilidade das pessoas e da comunidade – as operações descentralizadas beneficiarão com as decisões e acções a nível local, através de capacidades locais sustentadas e da participação das comunidades.

Seleção de insecticidas para a PRI

Os insecticidas residuais para aplicação são formulados como:

- ▶ pó dispersível em água, insecticida em pó seco misturado com um agente tensioactivo que lhe permite dissolver-se em água. Preparado para se misturar com a água de modo a formar uma suspensão pulverizável, normalmente contendo 1% – 5% do ingrediente activo;
- ▶ concentrado emulsificável, um solvente + agente emulsificante, em que o insecticida é dissolvido. Quando misturado com água, forma uma emulsão própria para superfícies delicadas e não causa manchas, mas é mais dispendioso;
- ▶ suspensão concentrada, partículas de insecticida com agente humidificante e água, resultando numa suspensão à base de água, que é não inflamável, duradoura, mas menos eficaz do que o pó dispersível em água em superfícies porosas.

A escolha de insecticida e a sua formulação devem basear-se em: (i) susceptibilidade dos vetores locais; (ii) características dos vários compostos; (iii) tipo de superfície da parede/tecto; (iv) formulações dos produtos disponíveis (e.g., efeito residual); e (v) custo. A informação sobre os insecticidas recomendados pelo WHOPES para a PRI é apresentada no Quadro 5.8.

A escolha do insecticida e a sua formulação depende da sua eficácia contra a espécie de vector local e da sua segurança. Por isso, devem fazer-se previamente testes de susceptibilidade. Mesmo que um insecticida seja eficaz noutra local, poderá ser necessário realizar pequenos ensaios no terreno, para determinar a sua eficácia residual nas condições locais.

Quando um insecticida e a sua formulação estiverem seleccionados, é fundamental escolher um produto de qualidade. Os produtos que parecem ser semelhantes poderão não conter a

mesma concentração de ingrediente activo. Mesmo que a concentração seja rigorosa, o produto poderá estar mal formulado, não fazer bem a suspensão, bloquear os pulverizadores e dar uma cobertura desigual. Poderá também deteriorar-se rapidamente durante o armazenamento e produzir derivados tóxicos.

O WHOPEs pode ajudar nos programas nacionais de controlo de vetores, reforçando e/ou criando capacidades para o controlo de qualidade dos pesticidas. O WHOPEs poderá também disponibilizar as especificações, os critérios e as orientações para esse fim.¹ Quando necessário, os procedimentos poderão ser efectuados nos centros de colaboração designados pela OMS, em nome do programa. Os Representantes da OMS nos países poderão fornecer informações sobre a forma de encomendar insecticidas, usando o serviço de aprovisionamento da OMS.

É preciso que haja mecanismos reguladores, políticas nacionais e legislação de saúde pública sobre a selecção, importação e uso dos insecticidas, o que garantirá a sua segurança, qualidade e eficácia. A longo prazo, isso permitirá gerir a resistência dos vetores. O registo dos insecticidas deve basear-se nos dados de uma avaliação adequada (WHOPEs, complementado, se possível, com dados de avaliações realizadas no próprio país).

Os insecticidas importados devem obedecer às especificações da OMS para uso em saúde pública. Ao comprar insecticidas, os relatórios da conformidade dos insecticidas seleccionados com as especificações da OMS devem ser examinados por uma instituição independente, antes desses insecticidas saírem do local ou país de origem.

Quadro 5.8 Insecticidas recomendados pela OMS para a pulverização residual intradomiciliar (PRI) contra os vetores do paludismo

Compostos e formulações de insecticidas ^a	Grupo da classe ^b	Dosagem (g a.i./m ²)	Modo de ação	Duração da eficácia da ação (meses)
DDT WP	OC	1–2	Contacto	> 6
Malatião WP	OP	2	Contacto	2–3
Fenitotrião WP	OP	2	Contacto e via aérea	3–6
Pirimifós-metílico WP & EC	OP	1–2	Contacto e via aérea	2–3
Bendiocarbo WP	C	0,1–0,4	Contacto e via aérea	2–6
Propoxur WP	C	1–2	Contacto e via aérea	3–6
Alfa-cipermetrina WP, SC	PY	0,02–0,03	Contacto	4–6
Bifentrina WP	PY	0,025–0,050	Contacto	3–6
Ciflutrina WP	PY	0,02–0,05	Contacto	3–6
Deltametrina WP, WG	PY	0,020–0,025	Contacto	3–6
Etofenprox WP	PY	0,1–0,3	Contacto	3–6
Lambda-cialotrina WP, CS	PY	0,02–0,03	Contacto	3–6

^a CS: suspensão em cápsulas; EC = concentrado emulsificável; SC = concentrado em suspensão; WG = granulado dispersível em água; WP = pó molhável

^b OC = organocloreto; OP = organofosfato; C = carbamato; P = piretróide

Nota: as recomendações da OMS sobre o uso de pesticidas na saúde pública são válidas APENAS quando ligadas às especificações da OMS para o controlo da qualidade. As especificações da OMS para o uso de pesticidas na saúde pública estão disponíveis em <http://www.who.int/whopes/quality/en/>.

¹ WHO (2t000). *Guidelines for the purchase of public health pesticides*. Geneva, World Health Organization. Document WHO/CDS/WHOPEs/2000.1.

U5

Aceitação. A pulverização das casas exige a cobertura coordenada de todas as superfícies pulverizáveis, a intervalos regulares (ciclo de pulverização). A finalidade é atingir uma elevada taxa de cobertura de todos os potenciais locais de repouso dos vetores com a dose necessária de insecticida, durante todo o período em que a transmissão deve ser controlada.

Quando se usa a pulverização residual, deve preparar-se um plano que garanta a cobertura necessária no período especificado e a existência de recursos materiais e humanos suficientes para essa finalidade.

Quer a pulverização seja feita por uma organização especializada, quer pela própria comunidade, ela precisa da colaboração constante da população, podendo esta perder-se facilmente, se as pessoas não forem continuamente sensibilizadas para a necessidade de controlar os vetores. Isso é particularmente importante, se alguns dos benefícios iniciais da pulverização, tais como o controlo dos insectos incómodos, se perderem com o tempo. É, por isso, essencial manter um contacto activo com a comunidade, através de um mecanismo eficaz de IEC.

Dosagem. Dosagem é a quantidade de insecticida aplicada por unidade de área. É, normalmente, expressa em gramas ou miligramas de ingrediente activo, por metro quadrado (g/m^2 ou mg/m^2) de superfície pulverizável. As doses variam consideravelmente, conforme os insecticidas. A maioria dos piretróides são eficazes em doses de $10\text{-}50 \text{ mg}/\text{m}^2$, enquanto o DDT e os insecticidas de organofosfato e carbamato geralmente exigem doses de $1\text{-}2 \text{ g}/\text{m}^2$.

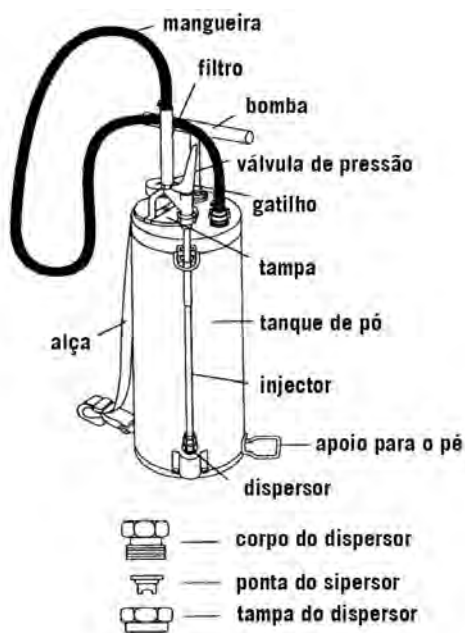
Preparação das casas antes da pulverização. Uma pulverização correcta exige uma preparação cuidadosa das divisões da casa a pulverizar. Por exemplo: todos os alimentos, utensílios de cozinha e roupa de cama devem ser protegidos do insecticida, devendo ser retirados de casa antes de se iniciar a pulverização; também todas as peças de mobiliário, que se possam deslocar ou que se encontrem encostadas às paredes, devem ser retiradas para se poderem pulverizar todas as paredes e todos os lados das peças de mobiliário.

Quando aplicar o insecticida. A repetição das operações de pulverização a intervalos regulares é designada de “ciclo de pulverização”. É o intervalo entre repetições, por exemplo, um ciclo de 6 meses. Cada pulverização de todas as casas numa determinada área, durante um certo período de tempo, é designada de “ronda de pulverização”. As necessidades epidemiológicas e o efeito residual da formulação do insecticida sobre as principais superfícies pulverizáveis determinarão a frequência do ciclo de pulverização.

Nas zonas com transmissão sazonal, o insecticida seleccionado para uso terá de ser eficaz durante o período de tempo em que a transmissão possa ocorrer. As zonas que requeiram uma protecção contínua devem ser pulverizadas regularmente. Para manter uma cobertura eficaz, durante toda a estação da transmissão, a pulverização de toda a zona a proteger deve terminar antes do início dessa estação (normalmente, a estação das chuvas). Este requisito tem implicações operacionais que devem ser tidas em conta, particularmente quando as operações são conduzidas por serviços de saúde descentralizados, para se poder assegurar a recepção atempada do material e a formação ou a actualização da formação dos operadores de pulverização.

Técnicas de pulverização residual. A aplicação da PRI está padronizada em todo o mundo. É sempre necessário verificar as práticas de trabalho dos operadores de pulverização, para garantir que nem as pessoas nem o ambiente correm perigo. Isso é particularmente importante quando se usam insecticidas com maior toxicidade aguda.

A melhor maneira de aplicar uma dose uniforme de insecticida a todas as superfícies pulverizáveis é usar pulverizadores de compressão que obedecem às especificações da OMS.¹ Os pulverizadores de compressão aprovados pela OMS (Fig. 5.7) são suficientemente sólidos para manter a pressão necessária a uma pulverização de jacto plano e resistir a condições duras de manuseamento no terreno. Os pulverizadores devem ser equipados com pontas difusoras, que produzam a taxa necessária de amplitude e descarga, e com manómetros ou válvulas de controlo da descarga (CFV) graduadas para a taxa de aplicação pretendida. As pontas difusoras desgastam-se muito rapidamente quando se usam insecticidas em suspensão a alta pressão, devendo, portanto, ser feitas de materiais altamente resistentes (aço temperado, cerâmica, etc.) e ser verificadas frequentemente, para evitar desperdício de insecticida ou doseamento irregular.



U5

Figura 5.7 Pulverizador de compressão aprovado pela OMS (Hudson X-pert)

¹ WHO 2013. Indoor residual spraying: An operational manual for IRS for malaria transmission, control and elimination. Geneva, World Health Organization. <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505123/en/index.html>

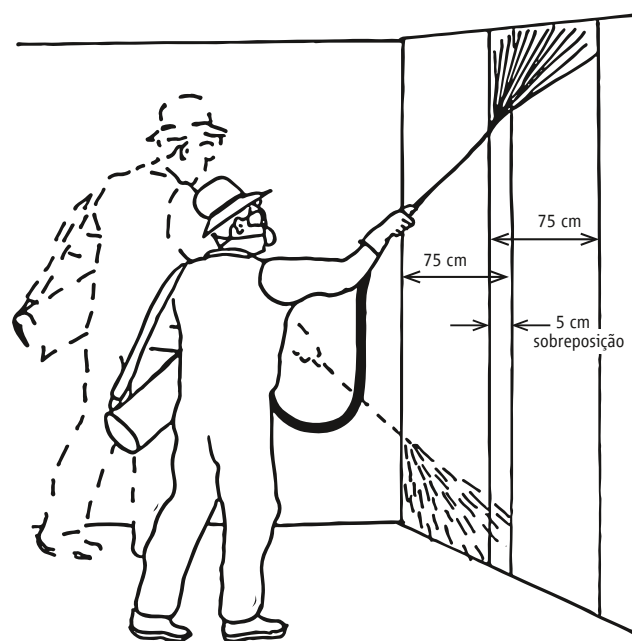


Figura 5.8 Técnica de pulverização

O manual da OMS sobre PRI descreve os procedimentos a adoptar para um uso seguro e eficaz dos insecticidas destinados à PRI, dando também indicações sobre a manutenção do equipamento.¹ A pulverização é aplicada em áreas com 75 cm de largura. Essas áreas devem sobrepor-se em 5 cm. A pulverização faz-se desde o tecto até ao chão, usando um movimento descendente, para completar uma área. O operador afasta-se para o lado e pulveriza para cima, desde o chão até ao tecto (Fig. 5.8).

Medidas de segurança. É preciso ter algumas precauções para um uso seguro dos insecticidas na PRI. É indispensável recolher ou proteger todos os alimentos e utensílios de cozinha e talheres. Os moradores devem ser aconselhados a não entrar numa casa pulverizada antes da pulverização secar e a varrer o chão, antes de permitir a entrada das pessoas em casa. Isso é particularmente importante para as famílias com crianças pequenas ou animais domésticos que vivam dentro de casa e possam ter contacto com o chão.

O uso de dispositivos de protecção e de práticas de trabalho seguro é essencial para evitar ou reduzir a contaminação dos operadores, quer sejam operadores de pulverização, de embalagem ou de mistura. Na maioria dos programas de pulverização, em que são usados insecticidas de baixa toxicidade aguda (como o DDT), é suficiente usar fato-macaco, chapéus de aba larga, para cobrir o pescoço, luvas e sapatos ou botas (cujas aberturas devem ser cobertas pelas calças do fato-de-macaco). Insecticidas mais tóxicos e mais irritantes exigem protecções mais elaboradas, tais como máscaras, óculos, viseiras e respiradores.

Os operadores de pulverização correm maior risco de contaminação, devendo, por isso, usar luvas de borracha, máscaras ou respiradores e proteger os olhos com uma viseira de plástico transparente presa ao chapéu. A tendência actual é que os insecticidas venham de fábrica já em cargas pré-embaladas, de preferência em saquetas solúveis em água, para que possam ser deitados directamente no tanque da bomba, dispensando assim os operadores de embalagem e de mistura.

¹ WHO 2013. *Indoor residual spraying: An operational manual for IRS for malaria transmission, control and elimination*. Geneva, World Health Organization. <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505123/en/index.html>

Também existem formulações de suspensões concentradas (SC) e concentrados emulsificáveis (EC) em recipientes doseadores e formulações de granulados dispersíveis em água que limitam a exposição, durante a preparação dos tanques para pulverização.

Os chefes de equipa devem aplicar práticas seguras e o uso correcto dos dispositivos de segurança. Devem conhecer os primeiros sinais de intoxicação e estar atentos a qualquer sinal de envenenamento dos membros da sua equipa.

As precauções básicas para prevenir a contaminação desnecessária incluem:

- ▶ Lavagem das mãos e do rosto depois de se encher cada carga da bomba.
- ▶ Proibição de comer, beber e fumar, excepto depois de se lavar e antes de começar a pulverizar.
- ▶ Os operadores de pulverização não devem expor-se aos insecticidas durante mais de seis horas por dia.
- ▶ Os fatos macaco e os chapéus devem ser lavados todos os dias, especialmente se tiverem sido muito contaminados.
- ▶ Os operadores de pulverização devem tomar banho de chuveiro no final de cada dia de trabalho, particularmente se tiverem trabalhado com insecticidas de organofosfatos.
- ▶ Os respiradores terão de ser bem ajustados ao nariz e à boca. Têm de ser lavados e postos a secar e o cartucho deve ser mudado todos os dias ou sempre que ficar obstruído.

Os recipientes vazios devem ser recolhidos pelos supervisores da equipa e levados para o armazém central, para serem devidamente descartados por pessoal qualificado, de acordo com as orientações da FAO/OMS/PNUA.¹ Também é essencial seguir as recomendações para a eliminação de recipientes de metal de maiores dimensões. A reutilização dos recipientes é sempre perigosa. Para os reutilizar, é preciso que sejam seleccionados e devidamente limpos por pessoal qualificado.

O gráfico ao lado mostra factos sobre a pulverização residual intradomiciliar (PRI).

Vantagens da PRI

- ▶ Muito eficaz para espécies com comportamento endofílico e endofágico
- ▶ Maior impacto na redução da capacidade vetorial do que outras medidas

Pulverização residual intradomiciliar (PRI)

- A principal finalidade da PRI é reduzir a sobrevivência dos vetores do paludismo que entram nas casas
- A PRI é de pouca utilidade no controlo dos vetores que repousam no exterior, em particular se eles picarem no exterior e não entrarem nas casas pulverizadas
- Para garantir resultados (protecção da comunidade), todas as potenciais superfícies de repouso dos vetores devem ser pulverizadas com um insecticida apropriado, a uma dose que seja suficiente para se manter eficaz durante toda a estação de transmissão
- Compreender a epidemiologia do paludismo e os hábitos de repouso dos vectores é fundamental para uma aplicação adequada do insecticida no tempo e no espaço
- A ação residual do insecticida depende da sua composição e formulação, assim como do tipo de superfície e das condições climáticas

¹ FAO (1999). *Guidelines for the management of small quantities of unwanted and obsolete pesticides*. Rome, FAO, Field document GCP/INT/650/NET.

Desvantagens da PRI

- ▶ Elevado custo
- ▶ Requer uma boa formação do pessoal
- ▶ Na utilização a longo prazo, a participação da comunidade pode diminuir
- ▶ É preciso ter muito cuidado com a eliminação dos restos de insecticida
- ▶ As falhas do programa (i.e., incumprimento ou atraso num ciclo de pulverização) pode ter consequências desastrosas sobre a saúde pública

Monitorização e avaliação da implementação da PRI

O Quadro 5.9 apresenta uma lista dos principais indicadores para a avaliação da PRI.

Quadro 5.9 Indicadores de processo (operacional), produto, resultado e impacto (entomológico) para a avaliação da pulverização residual intradomiciliar (PRI)

Indicadores	Método de controlo: PRI
Indicadores de processo	Insecticidas fornecidos para pulverização (R)
	Operadores qualificados (R)
	Estado do equipamento de pulverização (R)
	Momento adequado para a pulverização (R)
Indicadores de produto	Número de estruturas pulverizadas (R)
	Número de ciclos de pulverização (R)
Indicadores de resultado	Percentagem da população de risco protegida por PRI em 12 meses (R)
	Percentagem de casas/estruturas pulverizadas com insecticidas (R)
Indicadores de impacto (entomológico)	Índice de sangue humano (T)
	Situação da suscetibilidade aos insecticidas (R)
	Taxa de picadas em humanos (T)
	Taxa de esporozoítos (S)

R: os indicadores podem ser monitorizados regularmente; S: selectivamente para fins específicos; T: para detectar tendências

Estimativa das necessidades em insecticidas e recursos humanos para a PRI

Numa pequena comunidade de 500–1000 pessoas (100–200 casas), um ou dois operadores equipados com pulverizadores de compressão podem completar um ciclo de pulverização residual em 2–3 semanas, trabalhando ao ritmo de 8–10 casas por dia. O melhor momento para a pulverização, recomendado para o projecto pelo serviço central de controlo dos vetores, deve ser rigorosamente respeitado. Para tal, todos os elementos devem ser reunidos pelo responsável pelo projecto um mês antes do início da pulverização. A frequência do tratamento depende da duração residual da formulação do insecticida à dosagem usada, do tipo de superfície pulverizada, da bionomia do vetor, da estação de transmissão e das condições climáticas (vento, temperatura e humidade). No entanto, é necessária a rápida renovação do tratamento, se os depósitos de insecticida forem removidos das superfícies, por motivo de renovação do reboco, lavagem, renovação do telhado ou depósito de fumo.

Para se levar a cabo um programa bem sucedido de PRI é importante (i) mapear a zona do projecto e o número de casas, (ii) estimar a área média por casa que vai ser pulverizada e (iii) determinar as necessidades de insecticidas, pessoal, equipamento de pulverização e transporte.

Formulação de insecticidas em quantidade suficiente para um ano; pulverização, mistura; e equipamento de protecção e transportes – exemplo de estimativas baseadas em dados de reconhecimento geográfico:

- ▶ Número de casas na área do projecto = 5000
- ▶ Superfície média pulverizável por casa = 200 m²
- ▶ Dose de insecticida a aplicar (Lambdacialotrina ou deltametrina) = 25 mg/m²
- ▶ A formulação a usar é a de pó molhável (WP) = 10% de concentração
- ▶ A duração do ciclo de pulverização é de 2 meses (2 x 20 dias = 40 dias de trabalho)
- ▶ Ciclo de tratamento por ano = 2 vezes
- ▶ Produção média do operador de pulverização por dia = 10 casas (10 x 200 = 2000 m²)
- ▶ A formulação do insecticida necessário para um ciclo será calculada do seguinte modo:
 - ▶ Insecticida técnico por casa = 200 m² x 25 mg/m² = 5000 mg
 - ▶ Insecticida como pó molhável a 10% por casa = 5000 x 100 / 10 = 50 000 mg = 50 g
 - ▶ Formulação do insecticida necessário para a zona do projecto por ciclo = 5000 casas x 50 = 250 000 g = 250 kg
- ▶ Total de insecticida necessário para 2 ciclos = um ano = 250 x 2 = 500 kg
- ▶ Reserva de insecticidas = 10% = 50 kg
- ▶ Total de insecticidas para um ano = 550 kg
- ▶ Área total a abranger = 5000 casas x 200 m² = 1 000 000 m²
- ▶ Área abrangida/operador de pulverização/ciclo = 2000 m² x 40 dias = 80 000 m²

Número de operadores de pulverização necessários = 1 000 000 / 80 000 = 12,5 = 13

Ou:

- ▶ Número de casas pulverizadas por operador = 10 casas por dia x 40 dias = 400 casas
- ▶ Número de operadores de pulverização necessários para um ciclo = 5000 / 400 = 12,5 = 13

5.3.2 Pulverização espacial

A pulverização espacial – tecnicamente a nebulização (por vezes designada de aerossol) – é um insecticida líquido que é disperso no ar na forma de centenas de milhões de gotículas minúsculas, com menos de 50 µm de diâmetro. Pulverização espacial é definida como a destruição de mosquitos no ar (voando) por contacto com insecticidas. O seu principal objectivo é reduzir a densidade de vetores e aumentar a sua taxa de mortalidade, tão rapidamente quanto possível. Tem um uso limitado no controlo do paludismo e é usada como método complementar no controlo dos vectores em situações específicas. É usada, principalmente, em conjugação com

o tratamento em massa das febres. Tem sido igualmente usada com algum êxito conhecido no controlo de epidemias de paludismo ou de vetores altamente exofílicos, tais como o *An. dirus* em campos de refugiados na Tailândia e o *An. nuneztovari* na República Bolivariana da Venezuela. Tem sido usada no controlo de emergência de certas epidemias (na fase de desenvolvimento) e quando existem provas suficientes de que o principal factor determinante é uma densidade de vetores anormal.

A pulverização espacial visa:

- ▶ um rápido abate,
- ▶ uma rápida mortalidade, e
- ▶ um método rápido de controlo em epidemias e situações de emergência.

A pulverização espacial pode ser aplicada como (i) nebulização térmica ou à quente ou (ii) nebulização a frio (ver Fig. 5.9).

5.3.2.1 Nebulização térmica (a quente)

O insecticida usado na nebulização térmica é diluído num líquido de transporte, normalmente à base de óleo. Para aquecer o pesticida em pó usa-se gás quente, o que diminui a viscosidade do transportador de óleo, vaporizando-o. Ao sair do dispersor, o vapor encontra ar mais frio e condensa-se, formando uma espessa nuvem branca. O gás quente emitido obtém-se a partir de escapes de motores, placas de fricção/escapes de motores ou de um pulso-reactor.

Vantagens da nebulização térmica (versus nebulização a frio)

- ▶ A neblina é facilmente visível, podendo ser observado e monitorizado.
- ▶ Boas relações públicas, porque as pessoas podem ver que algo está a ser feito para resolver o problema.
- ▶ Baixa concentração de pesticidas na mistura pulverizada e limitada exposição do operador.

Desvantagens da nebulização térmica (versus nebulização a frio)

- ▶ Grandes volumes de solventes orgânicos são usados como diluentes, que podem emitir um odor desagradável e resultar em manchas.
- ▶ Elevado custo dos diluentes e da aplicação do pulverização.
- ▶ Exige equipamento especial e dispendioso.
- ▶ Os moradores podem opor-se e obstruir a penetração da neblina nas suas casas, fechando janelas e portas.
- ▶ A eficácia depende, muitas vezes, das condições meteorológicas no momento da aplicação, incluindo a direcção do vento, a chuva e a temperatura.
- ▶ Risco de incêndio provocado por máquinas que trabalham a temperaturas muito elevadas com solventes inflamáveis.
- ▶ Podem causar problemas de trânsito nas zonas urbanas, devido à reduzida visibilidade que provocam.

5.3.2.2 Nebulização a frio

Com neblina fria, as gotículas formam-se pela quebra mecânica da mistura de pulverização, quer fazendo-a passar pelos dispersores de alta pressão, quer fazendo passar lentamente a mistura através de um vórtex de ar de alta velocidade. Algum equipamento está equipado com dispersores rotativos de alta velocidade. As partículas pulverizadas são geradas sem qualquer calor externo.

Vantagens da nebulização a frio (versus nebulização térmica)

- ▶ A quantidade de diluente é reduzida ao mínimo, resultando num custo de aplicação mais baixo e numa maior aceitação.
- ▶ Algumas formulações estão prontas a usar, reduzindo assim a exposição do operador.
- ▶ Podem usar-se formulações à base de água ou diluídas em água, que representam um baixo risco de incêndio e são relativamente amigas do ambiente.
- ▶ Devido à aplicação de um menor volume de líquido, a aplicação é mais eficiente.
- ▶ Não representa um risco para o trânsito automóvel, porque a nuvem da pulverização é quase invisível.

Desvantagens da nebulização a frio (versus nebulização térmica)

- ▶ A dispersão da nuvem de pulverização é difícil de observar.
- ▶ São exigidas maiores competências técnicas e calibrações regulares para o funcionamento eficaz do equipamento.

Para que haja impacto sobre a densidade de vetores, o momento da pulverização deverá coincidir com as actividades de pico do vetor. Uma característica importante da pulverização espacial é o tamanho das gotículas dispersas, que determina o tempo que ficam em suspensão e a sua capacidade de penetrar em espaços que não estejam completamente abertos. Os custos operacionais são elevados e a capacidade para matar os vetores é temporária. A pulverização espacial terá de ser considerada como excepção e durante períodos de tempo muito limitados.

A nebulização pode ser considerada em situações de emergência extremas, como, por exemplo, em campos de refugiados. Nessas situações, se a espécie de mosquito visada for exofílica, o tratamento deve ser aplicado no exterior, nos locais de repouso do mosquito. Se o vetor for endofílico, o tratamento deve ser aplicado no interior e no exterior, coincidindo com o tempo de voo do vetor local.

5.3.2.3 Inseticidas e formulações para pulverização espacial

O Quadro 5.10 mostra os inseticidas mais adequados para uso como neblina quente ou aerossóis em frio para o controlo dos mosquitos (ver Fig. 5.9). Os peritróides estão a tornar-se os inseticidas mais usados na pulverização espacial, enquanto os organofosfatos se estão a tornar menos aceitáveis, devido ao seu mau odor.

5.4 Controlo das larvas

O controlo das larvas é indicado como o único método de controlo dos vetores, apenas se os criadouros dos anofelíneos dentro da autonomia de voo do vetor, na zona da comunidade a proteger, forem raros, fixos e fáceis de encontrar e de gerir.¹ Pode também fazer-se o controlo das larvas, para complementar os efeitos das principais intervenções de controlo dos vetores (MILD e PRI). O controlo das larvas afecta apenas a densidade de vetores e, para ser eficaz, exige uma elevada cobertura. Do controlo das larvas espera-se apenas uma redução percentual da capacidade vetorial, através da redução em m , ao passo que a redução na sobrevivência dos adultos p e m (usando a pulverização residual) produz uma redução muito maior da capacidade vetorial. Os métodos de controlo das larvas incluem larvicidas e peixe larvívoro.

O controlo das larvas poderá ser útil nos seguintes casos:

- ▶ em zonas densamente povoadas, com relativamente poucos criadouros, fixos e fáceis de encontrar, por exemplo, vilas e cidades;
- ▶ em zonas em que criadouros sejam fáceis de encontrar e não muito extensos, como, por exemplo, zonas de montanha, orlas de desertos, durante períodos muito secos nas zonas endémicas, quando os criadouros são muito limitados e fáceis de definir e de gerir;
- ▶ em campos de refugiados;
- ▶ nas áreas de desenvolvimento, tais como sistemas de irrigação de pequena escala e estaleiros de construção.

Quadro 5.10 Insecticidas seleccionados para a nebulização com neblina quente (térmica) ou com neblina frio para o controlo dos mosquitos

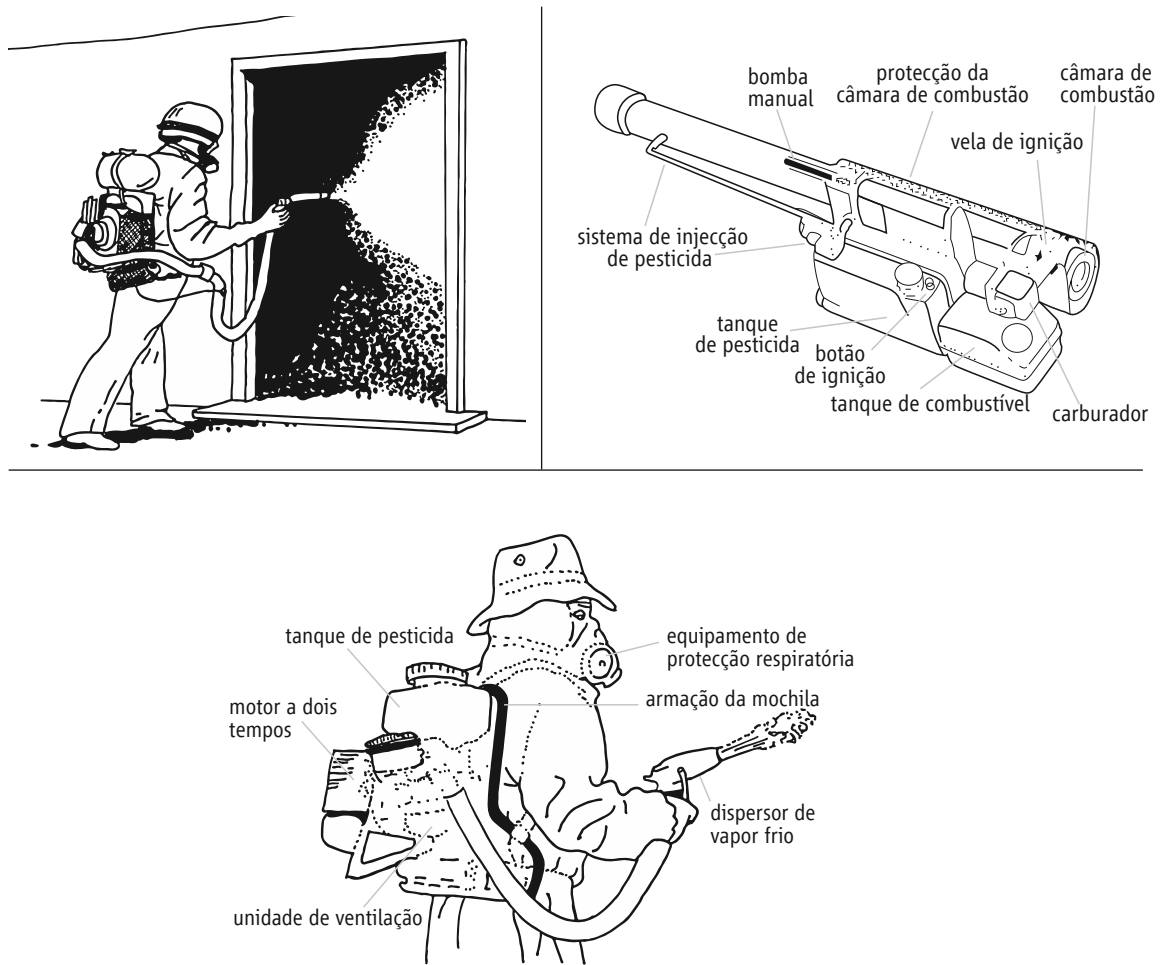
Compostos e formulações	Interior (g AI/ 1000 m ³)		Exterior (g AI/ha)	
	Nebulização a frio	Nebulização térmica	Nebulização a frio	Nebulização térmica
Deltametrina UL	0,5	0,05	0,5–1,0	0,5–1,0
Deltametrina EW	—	0,05	1	
Lambda-cialotrina EC	—	—	1–2	2
Malatão UL	—	—	112–600	112–600
Permetrina (25 cis:75 trans; 10.35% w/w) + s-bioaletrina (0.14 w/w) + piperonil butóxido (9.85% w/w) EW	0,55 permetrina	0,73 permetrina		
d-d, trans-cifenoctrina EC	0,1–0,2	0,2	3,5–4,0	3,5–4,0

EC = Concentrado emulsificável; EW = emulsão, óleo em água; UL = líquido de ultra-baixo volume (ULV)

Notas:

1. Os relatórios das reuniões do grupo de trabalho do WHOPES (disponível em <http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/>) e a publicação do WHOPES Pesticides and their application for control of vectors and pests of public health importance (disponível em http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf) devem ser consultados para orientações sobre uso e recomendações;
2. As recomendações da OMS sobre o uso de pesticidas na saúde pública APENAS são válidas quando ligadas às especificações da OMS sobre o respectivo controlo da qualidade (disponível em <http://www.who.int/whopes/quality/newspecific/en/>).

¹ WHO (2012). Interim position statement: the role of larviciding for malaria control in sub-Saharan Africa. Geneva, World Health organization, available at http://www.who.int/malaria/publications/atoz/larviciding_position_statement/en/



U5

Figura 5.9 Pulverização espacial por nebulização térmica (acima) e nebulização a frio (em baixo)

5.4.1 Uso de larvicidas

O uso de larvicidas inclui a utilização de produtos químicos ou agentes biológicos, para matar larvas e pupas. Os larvicidas são usados em zonas onde os criadouros são escassos, fixos (coleções de água de duração relativamente prolongada que persistem durante ou para além da estação das chuvas) e fáceis de encontrar (Fig. 5.10).



Figura 5.10 Uso de larvicidas em criadouros

5.4.1.1 Indicações

O uso de larvicidas é indicado apenas para vetores que, normalmente, são criados em coleções de água semi-permanentes que sejam raras, fáceis de encontrar, fixas e onde a densidade da população humana a proteger seja suficientemente elevada para justificar a intervenção. Estes pré-requisitos tornam os larvicidas

adequados em zonas de habitats claramente definidos, tais como zonas urbanas, orlas de desertos, zonas de montanha, campos de trabalho ou de refugiados e projectos de desenvolvimento. Nessas situações, é possível que os programas de larvicidas possam complementar as medidas ambientais dos programas de controlo integrado, destinadas a controlar o paludismo e outras doenças transmitidas pelo mosquito. Nas zonas de elevada transmissão do paludismo, os larvicidas devem, normalmente, ser usados apenas com complemento das intervenções essenciais (MTI ou PRI); o uso de larvicidas nunca pode ser visto como substituto dos MTI ou da PRI em zonas com risco significativo de paludismo.

Uma vez que as indicações para o uso de larvicidas no combate ao paludismo são escassas e que é necessário um elevado grau de cobertura, para que haja alguma eficácia, é muito importante definir exactamente a zona e os pontos em que a intervenção deve ser aplicada. A aplicação de larvicidas no solo não é recomendada em zonas de grandes cheias, tais como as grandes plantações de arroz irrigadas ou as planícies de aluvião dos grandes rios.

5.4.1.2 Efeito residual

O efeito residual dos larvicidas varia consideravelmente conforme a qualidade da água e o tipo do criadouro, mas é relativamente pequeno para a maioria dos larvicidas. É, normalmente, necessário repetir as operações larvicidas a intervalos semanais, durante a estação das chuvas, quaisquer que sejam as características residuais do produto usado, porque estão sempre a aparecer novos criadouros e os ovos postos em novos locais podem chegar à idade adulta em apenas 7–10 dias.

5.4.1.3 Larvicidas disponíveis

Existe uma variedade de larvicidas que foram ou estão sendo usados para controlar o paludismo (Quadro 5.11), incluindo insecticidas químicos ou de origem biológica; estes variam no seu modo de acção, eficácia, segurança, formulações, custo e disponibilidade. Os larvicidas que poderão ser usados são referidos mais adiante.

Óleos

São usados para coleções de água estagnada que não sejam apropriadas para os animais nem para a irrigação. Os óleos actuam, sobretudo, formando uma fina camada à superfície da água, impedindo assim que as larvas respirem. Quanto mais pesado for o óleo, menos dispersível é e mais facilmente é bloqueado pela vegetação. O uso de óleo de petróleo não é recomendado, por contaminar o ambiente.

Insecticidas químicos mais comuns

Os insecticidas organofosfatos (Quadro 5.11) são muito usados, apesar de níveis cada vez maiores de resistência em algumas zonas. O temefos, que apresenta uma toxicidade em mamíferos muito baixa, tem sido o larvicida de mosquitos mais usado em todo o mundo. Pode ser aplicado na água utilizada para irrigar plantações alimentares e tem sido igualmente usado para tratar água para beber. No entanto, é tóxico para os peixes. O fenitrotião também é muito usado, quando não existe risco de contaminação da água de beber e dos alimentos.

Reguladores do crescimento dos insectos

Existem compostos químicos que são altamente tóxicos para as larvas dos mosquitos, impedindo o seu desenvolvimento. O seu uso tem, regra geral, sido limitado pelo seu elevado custo. Os reguladores do crescimento dos insectos podem ser agrupados em (i) análogos hormonais juvenis, que impedem o desenvolvimento das larvas para pupas viáveis ou das pupas em adultos (não matam larvas) e (ii) inibidores da síntese da quitina, que interferem com o processo de desenvolvimento, matando as larvas quando se transformam.

Quadro 5.11 Compostos e formulações recomendados pelo WHOPES para o controlo das larvas dos mosquitos

Compostos e formulações de insecticidas ^a	Grupo de classe ^b	Dosagem (ingrediente activo)	
		Geral (g/ha)	Reprodução no recipiente mg/L
Bacillus thuringiensis israelensis, estirpe AM65-52, WG	BL	125–750 ^c	1–5 ^c
Diflubenzuron DT, GR, WP	BU	25–100	0,02–0,25
Novaluron EC	BU	10–100	0,01–0,05
Piriproxifeno GR	JH	10–50	0,01
Fentião EC	OP	22–112	–
Pirimifós-metílico EC	OP	50–500	1
Temefós EC, GR	OP	56–112	1
Espinosade DT, EC, GR, SC	SP	20–500	0,1–0,5

^a DT = pastilha para aplicação directa; GR = granulado; EC = concentração emulsificável; WG = granulado dispersível em água; WP = pó molhável.

^b BL = Larvicida bacteriano; BU = Benzilureias; JH = Imitador de hormonas juvenis; OP = Organofosfatos; SP = Espinosinas.

^c Produto formulado

Notas:

- Os relatórios das reuniões do grupo de trabalho do WHOPES (disponível em <http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/>) e a publicação do WHOPES Pesticides and their application for control of vectors and pests of public health importance (disponível em http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf) devem ser consultados para orientações sobre uso e recomendações;
- As WHO Guidelines for drinking-water quality (http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/) fornece orientações formais, devendo ser consultadas para a aplicação de insecticidas em água potável para matar as larvas; e
- As recomendações da OMS sobre o uso de pesticidas na saúde pública APENAS são válidas quando ligadas às especificações da OMS sobre o respectivo controlo da qualidade (disponível em <http://www.who.int/whopes/quality/newspecif/en/>).

Larvicidas microbianos

A bactéria *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) produz toxinas que são muito eficazes para matar larvas de mosquitos após a ingestão. É inofensiva para outros insectos, peixes, animais e humanos em doses normais e, em doses apropriadas, pode ser adequada para utilização na água usada para beber (com a devida atenção aos potenciais contaminantes microbianos no produto formulado) ou para a irrigação das plantações alimentares. Tem a desvantagem de quebrar facilmente no ambiente e tem de ser aplicada periodicamente. Formulações recentes têm sido desenvolvidas para manter as bactérias no cimo da coluna de água, para que possam ser comidas pelas larvas dos anofelíneos. Há outra bactéria, a *B. sphaericus*, que também produz uma toxina. Tem características semelhantes às da *Bti*, mas é mais eficaz na água poluída, ao passo que a *Bti* é mais eficaz em água limpa.

U5

5.4.1.4 Monitorização e avaliação dos larvicidas

O Quadro 5.12 mostra os indicadores de processo e impacto para avaliar os larvicidas.

Quadro 5.12 Indicadores de processo (operacional), produto, resultado e impacto (entomológico) para avaliação do uso de larvicidas

Indicadores	Método de controlo: uso de larvicidas
Indicadores de processo	Número de criadouros identificados (R)
Indicadores de produto	Número de criadouros tratados com larvicidas (R)
Indicadores de resultado	Percentagem de criadouros tratados entre os locais-alvo (R)
Indicadores de impacto (entomológico)	Presença e densidade de larvas (R)
	Densidade de mosquitos adultos (R)
	Estado da suscetibilidade aos insecticidas (R)

R: Os indicadores podem ser monitorizados regularmente; S = selectivamente para um fim específico; T: para detecção de tendências

5.4.2 Redução das fontes

O termo redução das fontes refere-se a qualquer medida que impeça a reprodução de mosquitos ou a eliminação dos criadouros. A redução das fontes é uma componente da gestão ambiental, que se destina a modificar o ambiente, para privar a população dos vetores dos seus requisitos de sobrevivência (principalmente a criação, o repouso e a alimentação), reduzindo assim o contacto homem-vetor e os riscos de transmissão.

Se essas medidas provocarem mudanças duradouras ou permanentes no solo, na água ou na vegetação, são designadas de modificação ambiental (por ex., enchentes, drenagem, plantação de árvores hidrófilas, tais como o eucalipto em zonas pantanosas, e fechando ou tapando os criadouros). Quando essas medidas têm um efeito temporário e precisam de ser repetidas, são conhecidas como manipulação ambiental (por ex., flutuações do nível da água, irrigação intermitente, descargas, mudanças na salinidade da água, limpeza da vegetação nos rios e canais de irrigação).

Muitas actividades associadas ao desenvolvimento (por ex., irrigação) provocam alterações ambientais e, muitas vezes, inadvertidamente, aumentam o risco de transmissão do paludismo. São necessárias salvaguardas apropriadas e acções de mitigação nas fases de planeamento, construção e manutenção dos projectos de desenvolvimento. Os canais de irrigação devem ser revestidos e a vegetação limpa, para evitar a reprodução nas extremidades dos canais e permitir o livre curso da água. A periodicidade da evacuação da água pode também ser ajustada para permitir expulsar as larvas dos leitos dos canais.

A redução das fontes pode permitir a prevenção permanente da proliferação de anofelíneos, devendo ser encorajada, sempre que possível. Isso pode implicar a colaboração com outros sectores, como os departamentos de agricultura e planeamento urbano. Embora os custos possam ser elevados, poderão ser encontrados fora do sector da saúde, por exemplo, no caso dos esgotos urbanos.

5.4.2.1 Vantagens da redução das fontes

- ▶ Depende de métodos não químicos.
- ▶ Quando bem implementada, pode conduzir à eliminação total dos criadouros dos mosquitos.
- ▶ Constitui uma oportunidade para colaborar com outros sectores, além dos programas de controlo dos vetores do paludismo, isto é, a agricultura, obras públicas e estradas, ambiente e comunidade.

5.4.2.2 Desvantagens da redução das fontes

- ▶ Pode ser dispendiosa
- ▶ Não se aplica em toda a parte
- ▶ Requer manutenção periódica

5.4.3 Peixe larvívoro

O peixe larvívoro alimenta-se de larvas de mosquitos. Algumas das espécies introduzidas com maior sucesso em vários países são o vairão de cabeça grande ou o peixe do mosquito (*Gambusia affinis*) e o guppy (*Poecilia reticulata*). O *Gambusia* é mais eficaz em água limpa, enquanto o *Poecilia* pode ser usado com sucesso em água organicamente poluída. O *Poecilia* tolera temperaturas mais elevadas do que o *Gambusia*, podendo por isso ser mais eficaz nos campos de arroz das zonas quentes. Contudo, ao contrário do *Gambusia*, não consegue sobreviver a temperaturas abaixo de 10°C. O killifish anual, *Cynolebias*, *Nothobranchius* e *Aphyosemion*, tem ovos resistentes às secas e pode ser usado nos criadouros que sequeam temporariamente, tais como areiros e campos de arroz irrigados. Para além disso, os peixes apanhados localmente foram avaliados relativamente à sua eficácia no controlo dos mosquitos e algumas espécies provaram ser muito úteis. O uso de peixe larvívoro local é particularmente importante para evitar o risco de perturbar o equilíbrio ecológico com a introdução de espécies “exóticas” de peixe (Fig. 5.11). No entanto, o papel do peixe no controlo do paludismo tem sido difícil de avaliar.

5.4.3.1 Locais potencialmente adequados para o controlo das larvas usando peixes

- ▶ Os criadouros dos mosquitos estão bem definidos
- ▶ As condições da água são adequadas
- ▶ Os larvicidas químicos não são adequados

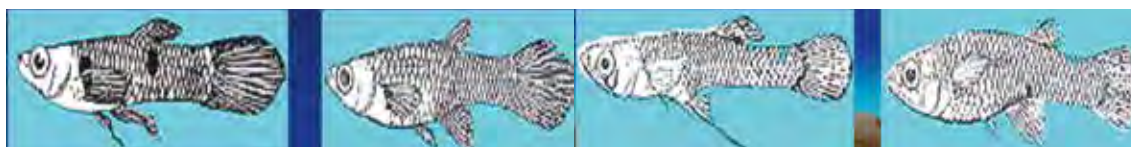


Figura 5.11 Diferentes peixes larvívoros

5.4.3.2 Os possíveis peixes larvívoros devem ter as seguintes características:

- ▶ Alta preferência por larvas de mosquitos.
- ▶ Alimentar-se à superfície.
- ▶ Boca terminal ou superior.
- ▶ Tamanho pequeno.
- ▶ Elevada taxa de fecundidade.
- ▶ Tolerantes ao transporte, condições ambientais rigorosas, temperaturas extremas, presença de poluentes e elevada turvação.

O peixe pode ser usado tanto em habitats naturais como construídos, tais como, tanques de água, lagos, fontes, lagos, charcos, bebedouros de gado, piscinas, reservatórios de água, infiltrações, locais de armazenamento de água, cisternas de irrigação, canais, pequenas represas, campos de arroz, riachos com curso lento da água, pântanos e locais de recolha temporária de água.

5.5 Monitorização do impacto das intervenções de controlo dos vetores sobre o paludismo

O Quadro 5.13 resume o efeito dos diferentes métodos de controlo dos vetores sobre a população e o comportamento dos vetores. Qualquer intervenção sobre os vetores, para controlo do paludismo, deve definir objectivos em função da sua esperada contribuição para o objectivo geral de controlo do paludismo. A monitorização e a avaliação são essenciais para a gestão eficaz de qualquer programa de controlo dos vetores, começando com a identificação de objectivos claramente estabelecidos, realistas, mensuráveis e a identificação ou desenvolvimento de um sistema apropriado de informação. O Quadro 5.14 apresenta indicadores seleccionados para avaliar o impacto do controlo dos vetores sobre o paludismo.

Quadro 5.13 Efeito dos diferentes métodos de controlo sobre a população e o comportamento dos vetores

Método	Densidade de adultos	Sobrevivência de adultos	Picadas em humanos
Controlo das larvas			
Redução das fontes	+	-	-
Peixe larvívoro	+	-	-
Larvicidas	+	-	-
Controlo do contacto homem-vetor			
Mosquiteiros tratados com insecticida	+/-	+/-	+
Melhoria das habitações	-	-	+
Repelentes de mosquitos	-	-	+
Controlo dos mosquitos adultos			
Pulverização residual intradomiciliar	+	+	+
Pulverização espacial	+	+/-	-

+: redução esperada; -: sem efeito; +/-: efeito em certas situações

Quadro 5.14 Indicadores seleccionados para avaliar o impacto (sobre a saúde) do controlo dos vetores sobre o paludismo

Método de controlo dos vetores	População-alvo	Indicador de impacto (aspecto da doença)
Pulverização residual intradomiciliar	Número de pessoas na zona das operações de pulverização	Casos de paludismo confirmados por 1000 pessoas por ano
Mosquiteiros tratados com insecticida	Número de pessoas na zona de operações de MTI/MILD	Óbitos por paludismo de doentes internados por 1000 pessoas por ano
Larvicidas	Número de pessoas nas zonas de operações com larvicidas	Taxa de mortalidade em <5 anos por todas as causas
		Prevalência de parasitas: percentagem de crianças com 6–59 meses com infecção por paludismo

Exercício 5.5

Trabalhando em pequenos grupos, os participantes irão responder às seguintes perguntas:

- A pulverização parcial pode ser contraproducente, isto é, a pulverização de abrigos dos animais, sem pulverização total de residências humanas. Porquê?*
- Além da elevada taxa de recusa por parte da habitantes, que outros problemas limitam a eficácia da PRI?*
- O objectivo da PRI é reduzir o tempo de vida médio dos mosquitos. Verdadeiro ou falso? Justifique a sua resposta.*
- O número de pessoas protegidas é igual ao número de habitantes das casas pulverizadas, por exemplo, se 50% das casas foram pulverizadas, 50% dos habitantes ficaram protegidos. Verdadeiro ou falso? Justifique a sua resposta.*
- Nos casos de epidemia de paludismo, a PRI deve dar prioridade à pulverização das estruturas com superfícies pulverizáveis. Verdadeiro ou falso? Justifique a sua resposta.*

5.6 Poluentes orgânicos persistentes (POP)

Os POP são químicos com as seguintes características:

- ▶ permanecem intactos no ambiente durante muito tempo
- ▶ distribuem-se por todo o ambiente (via atmosfera, oceano e outras vias)
- ▶ acumulam-se nos tecidos gordos dos organismos vivos
- ▶ são tóxicos (carcinogénicos) para os humanos e vida selvagem
- ▶ têm acumulação biológica nos organismos e cadeias alimentares
- ▶ evaporam-se e espalham-se para longe, através do ar e da água

Existem três tipos de POP:

- ▶ Pesticidas (como o mirex e o DDT)
- ▶ Químicos industriais (como o PCB)
- ▶ Subprodutos de resíduos (tais como dioxinas e furans) (ver Quadro 5.15)

As Nações Unidas assinaram a convenção sobre POP em 2001. Nos termos dessa convenção, os países comprometem-se a reduzir e/ou eliminar a produção, uso e/ou libertação de POP. Os POP usados como pesticidas e de maior preocupação ambiental são apresentados no Quadro 5.15.

Quadro 5.15 Poluentes Orgânicos Persistentes

Poluentes Orgânicos Persistentes	Tipo
Aldrina	Pesticida
Clordano	Pesticida
Diclorodifeniltricloroetano (DDT)	Pesticida
Dieldrina	Pesticida
Endrina	Pesticida
Heptacloro	Pesticida
Hexaclorobenzeno	Pesticida, químico industrial, subproduto
Mirex	Pesticida
Toxafeno	Pesticida
Bifenis policlorinados (PCB)	Químico industrial
Dibenzo-p-dioxinas policlorinado (dioxinas)	Subproduto
Dibenzo-p-furans policlorinado (furans)	Subproduto

O DDT tem várias características que são de particular relevância no controlo dos vetores do paludismo. Entre os 12 insecticidas actualmente recomendados para esta intervenção, o DDT é que tem eficácia residual mais longa, quando pulverizado nas paredes e tectos. (6–12 meses conforme a dosagem e a natureza do substrato). Conforme a duração da estação da transmissão, o uso de alternativas ao DDT poderá exigir mais do que dois ciclos de pulverização por ano. O DDT tem poder repelente para espaços e um efeito de irritação sobre os vetores do paludismo que limita muito o contacto humano-vetor, contribuindo assim para um controlo eficaz da transmissão da doença. A OMS recomenda o seu uso apenas na PRI, na condição de se cumprirem todas as orientações e recomendações da OMS e da Convenção de Estocolmo.¹

5.7 Reconhecimento geográfico

O reconhecimento geográfico é um instrumento de gestão para as operações no terreno. Recolhem-se e mapeiam-se dados sobre o tipo, dimensão, qualidade e localização das habitações locais, os hábitos da população local, a localização dos criadouros de mosquitos, presença de estradas, caminhos pavimentados e térreos e principais características naturais, como, por exemplo, rios e florestas. Os principais objectivos do reconhecimento geográfico são:

- ▶ Determinar o número e a localização das casas e da população em risco de paludismo e, portanto, ser incluído no programa de controlo dos vetores
- ▶ Fornecer uma base para o planeamento das necessidades do programa quanto a equipamento, material, transporte e pessoal

¹ WHO (2007). The use of DDT in malaria vector control. WHO position statement. Geneva, World health Organization. http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_htm_gmp_2011/en/

- ▶ Estabelecer a natureza e extensão dos criadouros de mosquitos em relação aos centros populacionais, como base para planear as medidas de controlo
- ▶ Fornecer informação básica para a educação em saúde, detecção de casos e programas de tratamento
- ▶ Preparar um mapa para o planeamento, execução, supervisão, monitorização e avaliação das actividades de controlo do paludismo.

Existem, em cada país, várias fontes que fornecem informação valiosa para o desenvolvimento do reconhecimento geográfico.

Equipamento necessário para o reconhecimento geográfico

- ▶ Prancheta com clip ou estirador portátil (30 x 40 cm)
- ▶ Régua (30 cm)
- ▶ Bússola de bolso simples (presa à prancheta)
- ▶ Pioneses ou elásticos
- ▶ Fita métrica
- ▶ Estojo com tinta e pincel (tachas, pregos e martelo)
- ▶ Mochila
- ▶ Cola
- ▶ Papel de desenho
- ▶ Ficha de reconhecimento geográfico

O método de reconhecimento geográfico para construir um esboço cartográfico foi usado, pela primeira vez, durante a era da erradicação do paludismo. Hoje em dia, pode usar-se a informação fornecida pelos satélites para preparar mapas de qualquer zona, com vista às actividades de controlo do paludismo (para mais informação, ver o Anexo 3).

5.7.1 Medição do volume pulverizável das casas

Para a pulverização residual intradomiciliar, pode usar-se um esboço cartográfico produzido pelo reconhecimento geográfico para estimar os “volumes pulverizáveis”. Para pulverizar todas as divisões, o volume da casa pode ser estimado medindo a largura e o comprimento com passos e estimando a altura a olho nu, pelo que:

$$\text{Volume da casa} = \text{largura} \times \text{comprimento} \times \text{altura}$$

Por exemplo, numa divisão com 4 x 3 x 3m, o volume é 36 m³. A área, em m², é 1,5 vezes o número de m³ calculados para o volume, isto é, 36 x 1,5 = 54 m².

5.8 Sistema de Informação Geográfica (SIG)

O SIG é uma base de dados informática para a tecnologia de gestão e mapeamento, que constitui um excelente meio de analisar os dados epidemiológicos, revelar tendências e interrelações que teriam sido mais difíceis de descobrir em tabelas. O SIG permite a representação de aldeias e cidades num mapa, de acordo com as suas coordenadas geográficas (longitude e latitude). Para localizar qualquer objecto, usam-se pequenos dispositivos electrónicos baseados em sistemas globais de localização (GPS), que podem também



Figure 5.12 Arc view de SIG programa

ser usados para registar informação acerca do objecto, por exemplo a localização de uma casa, e informação sobre os seus ocupantes. Um GPS é um receptor portátil que pode obter informação sobre latitudes e longitudes. A informação necessária para todas as aldeias (nome, divisão administrativa, coordenadas, população, disponibilidade e tipo de infra-estruturas de saúde, número e tipo de escolas, fontes de água potável, latitude e longitude) pode depois ser introduzida numa base de dados compatível com o sistema SIG, designadamente Excel, Access ou Epi Info (ver Fig. 5.12).

5.9 Gestão integrada dos vetores (GIV)

Os princípios de controlo dos vetores mudaram desde meados do séc. XX, quando a erradicação dos vetores foi substituída pelo controlo dos vetores como o principal objectivo programático. O relevo actual atribuído à gestão integrada dos vetores (GIV) confere maior importância aos programas de controlo e faz um uso mais eficiente dos recursos.

A abordagem da GIV ao controlo dos vetores é um plano combinado de controlo que selecciona os métodos de controlo mais apropriados, com base nas condições ambientais e na dinâmica da população dos vetores, que mantém essa população a um nível tal que não constitui um problema de saúde pública.

A GIV é um processo racional de tomada de decisões para a melhor utilização possível dos recursos na gestão das populações de vetores, com o fim de reduzir ou interromper a transmissão de doenças através dos vetores.¹ Esta abordagem procura melhorar a eficácia, a relação custo-eficácia, a preservação ecológica e a sustentabilidade do controlo dos vetores das doenças.

5.9.1 Características da GIV

- ▶ Selecção de métodos comprovados de controlo dos vetores com base no conhecimento da biologia e ecologia dos vetores locais, transmissão das doenças e morbidade

¹ WHO (2008). WHO position statement on integrated vector management. Geneva, World Health Organization. Available at http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_htm_ntd_vem_2008_2/en/index.html

- ▶ Uso de várias intervenções de controlo dos vetores, separadamente ou em combinação e, muitas vezes, em sinergia
- ▶ Colaboração no seio do sector da saúde e com outros sectores públicos e privados com impacto na reprodução de vetores
- ▶ Colaboração com as comunidades locais e outras partes interessadas
- ▶ Opera dentro de um quadro regulador e legislativo de saúde pública
- ▶ Uso racional de insecticidas
- ▶ Boas práticas de gestão

5.9.2 Partes interessadas na GIV

- ▶ OMS e o Banco Mundial
- ▶ Indústria
- ▶ Agência de Protecção do Ambiente
- ▶ Ministérios da Saúde, Agricultura, Negócios Estrangeiros, Energia e Pescas
- ▶ Município
- ▶ Departamento de Meteorologia
- ▶ Departamento de Veterinária
- ▶ Centros de Investigação e Universidades
- ▶ ONG
- ▶ Comunidade e sector privado

Exemplo

O que se deve fazer, se o método de controlo dos vetores seleccionado não satisfizer os critérios de êxito? Por exemplo, se o resultado sanitário a obter for a redução do paludismo em 35%, em 5 anos, mas no 3º ano se tornar evidente que apenas se registará uma redução de 15%, será necessário aceitar esse resultado mais baixo ou aperfeiçoar o programa de controlo.

Se, após uma avaliação aprofundada do programa de controlo dos vetores, para excluir deficiências operacionais, as densidades de contacto homem-vetor e de adultos não diminuírem como se esperava, suspeitar-se-á inicialmente de uma redução da suscetibilidade do vetor ao insecticida. No entanto, se se observar que o vetor continua a ser sensível ao controlo químico, o que é preciso fazer? Neste caso, será necessário pensar em usar outro método de controlo dos vetores ou um complemento ao método original seleccionado, isto é, o programa de controlo dos vetores deverá ser integrado e gerido de outra forma.

Exercício 5.6

Em trabalho de grupo, os participantes terão de responder às seguintes questões.

1. *Indique quais são as três mais importantes partes interessadas/colaboradores da GIV no seu país e explique por que motivo são importantes?*
2. *Concorda que o uso de diferentes intervenções de controlo dos vetores para o controlo do paludismo é o único exemplo de GIV?*
3. *Se não estiver já a ser usada, gostaria de ver uma abordagem integrada incorporada no programa de controlo dos vetores do paludismo em que está a trabalhar? Acha que essa seria uma opção realista? Explique porquê.*
4. *Quais são as vantagens e limitações associadas ao conceito de GIV?*

Os resultados devem ser apresentados em sessão plenária. O tutor conduzirá um debate sobre o controlo dos vetores e as questões apresentadas neste exercício.

Exercício 5.7

Todos os participantes devem praticar a PRI. Cada participante terá de operar a bomba de pulverização e aplicar a quantidade necessária de insecticida em 19 m², em 60 minutos, como se mostra na Fig. 5.8.

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 6

Monitorização e gestão da resistência aos insecticidas

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Relembrar o desenvolvimento histórico dos insecticidas
- Explicar o modo de ação dos insecticidas
- Discutir o mecanismo da resistência aos insecticidas
- Determinar a resistência aos insecticidas usando o kit de testes de suscetibilidade (adultos)
- Determinar a suscetibilidade das larvas de mosquitos aos insecticidas
- Realizar bioensaios padrão e discutir o sua importância
- Determinar a eficácia residual de um mosquiteiro tratado com insecticida, em qualquer momento, após a sua distribuição
- Determinar o modo de monitorizar a resistência aos insecticidas numa população

6.1 Desenvolvimento histórico dos insecticidas

Como resultado das acções das pragas de insectos, as populações humanas sempre tiveram de lidar com doenças, desconforto e perdas económicas consideráveis. Desde os primórdios da civilização, as pessoas têm feito esforços para melhorar o seu bem-estar e neles incluem-se o uso de agentes químicos para controlar os insectos responsáveis pela transmissão de doenças e destruição de colheitas. Alguns dos métodos de controlo dos insectos remontam a muitos séculos atrás.

Os povos antigos confiavam quase inteiramente no uso de produtos e preparações naturais deles derivadas. Até aos anos 1940, os químicos usados para destruir os parasitas eram, sobretudo, químicos inorgânicos, nomeadamente compostos de chumbo e arsénico, que são venenosos, tanto para os seres humanos como para os animais. Alguns químicos orgânicos de origem vegetal, como nicotina, o piretro e a rotenona também foram usados para controlar os parasitas.

A era moderna dos pesticidas orgânicos, chamada a “revolução dos pesticidas”, começou nos anos 1940, quando o DDT começou a ser usado como insecticida. O DDT foi, pela primeira vez, sintetizado por Zeidler, em 1874, mas as suas propriedades insecticidas foram descobertas por Paul Muller, em 1939. Muller recebeu o Prémio Nobel da Medicina, em 1948, pela sua descoberta. O DDT começou a ser comercializado em 1943, tendo-se tornado rapidamente no insecticida mais usado. Depois da descoberta e aplicação do DDT, surgiram novos grupos de insecticidas sintéticos, que foram fabricados e usados contra insectos importantes do ponto de vista médico. Com o aparecimento do DDT, pensou-se que se tinha descoberto a “bala mágica” para o controlo do paludismo. Em 1955, a Assembleia Mundial da Saúde adoptou uma resolução que apelava à erradicação mundial do paludismo, excluindo a África Subsariana, na sequência do sucesso obtido com o uso de insecticidas na redução dos casos de paludismo em muitas partes do mundo. No entanto, o optimismo relativamente ao uso de insecticidas teve uma duração limitada, devido ao desenvolvimento de resistência aos insecticidas por parte dos vetores e, a partir de 1976, a estratégia da OMS para o paludismo mudou da erradicação para o controlo.

6.2 Modo de ação dos insecticidas

Os piretróides e o DDT actuam por interferência com os canais de sódio, tanto do sistema nervoso central como periférico. Abrem os canais de sódio e provocam uma excitação continua dos nervos, paralisia e morte do vetor; têm igualmente um efeito irritante, provocando uma resposta excito-repelente, que resultam em hiperactividade, queda rápida, inibição do apetite, tempos de aterragem mais curtos e voo não dirigido, o que reduz a capacidade de picada dos vetores. Os organofosfatos e os carbamatos actuam por inibição da colinesterase, evitando a quebra do neurotransmissor acetilcolina, o que resultam na sobreestimulação neuromuscular e morte do vetor. Compreender o modo de ação dos insecticidas é importante por várias razões:

- ▶ compreender os perigos que estes químicos representam para a saúde das pessoas e de outros organismos não visados
- ▶ permitir que sejam concebidos outros químicos com modo de acção semelhante

- ▶ fornecer informação sobre os mecanismos de desenvolvimento da resistência aos insecticidas, em particular os que implicam na suscetibilidade do alvo, para que se possam encontrar medidas que contrariem a resistência ou revertam o desenvolvimento de resistência
- ▶ fornecer valiosa informação básica sobre a natureza dos sistemas-alvo (por ex., a fraqueza dos insectos sensíveis) em termos de conhecimentos fisiológicos, bioquímicos e biofísicos dos sistemas biológicos vitais.

6.3 Mecanismos da resistência aos insecticidas nos artrópodes

Resistência aos insecticidas é o termo usado para descrever a situação em que os vetores deixam de morrer com a dose padrão de insecticida ou conseguem evitar entrar em contacto com o insecticida. Vários anos de uso intensivo de insecticidas orgânicos para controlar artrópodes e vetores de doenças provocaram a selecção de resistência aos insecticidas em algumas espécies. Os factores que induzem a resistência são inúmeros e o mecanismo adoptado por um organismo depende da pressão prevalente e do modo de ação do insecticida que está a ser usado. A intoxicação de um insecto por um insecticida engloba vários níveis de interação farmacocinética: penetração da barreira de tecido, distribuição, armazenamento, metabolismo no tecido interno e interação molecular com o local-alvo específico. Há muitos químicos em uso contra os artrópodes e há centenas de exemplos de resistência, com alguns mecanismos de resistência identificados, como abaixo se descreve.¹

6.3.1 Resistência metabólica

Na resistência metabólica, as vias metabólicas do insecto são modificadas por forma a desintoxicar o insecticida ou a evitar o metabolismo do composto aplicado para a sua forma tóxica. A resistência metabólica aos insecticidas é mediada por alterações qualitativas e quantitativas nas proteínas, que podem, muitas vezes, ser difíceis de definir com precisão ao nível bioquímico. Há três grandes classes de enzimas envolvidas na desintoxicação dos insecticidas: glutathione-S-transferases (GST), as oxidases de função mista (MFO) e as esterases. O seu envolvimento na resistência é, normalmente, identificado por aumentos nos metabolitos característicos que produzem. As três classes existem em múltiplas formas dentro de cada espécie e, muitas vezes, não se sabe se o aumento da actividade provém de alterações qualitativas ou quantitativas desses complexos enzimáticos. Para os piretróides, as MFO são da maior importância, seguidas das esterases. Para o DDT, as GST são as mais importantes, seguidas das MFO. Para os organofosfatos e carbamatos, as esterases e as MFO são as mais importantes. A síntese aumentada destas enzimas parece resultar da amplificação de genes.

Glutathione-S-transferases (GST)

Este grupo de enzimas catalisa a conjugação da glutathione com compostos que tenham um centro electrofílico reactivo, levando à formação de um produto solúvel em água e menos reactivo. Embora existam muitos exemplos de aumento do metabolismo do insecticida ou substratos modelo pelas GST de insectos resistentes, poucos são caracterizados ao nível molecular. O metabolismo mediado por estas enzimas tem estado implicado na resistência ao DDT e aos organofosfatos.

¹ WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). Geneva, World Health Organization. Disponível em <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/gpirm/en/index.html>

Têm sido reportados níveis aumentados de DDT-desidroclorinase em várias espécies resistentes ao DDT. A função natural da DDTase não é conhecida, embora esteja presente em diferentes órgãos de insectos, incluindo, provavelmente, o sistema nervoso periférico, onde o DDT parece exercer o seu maior efeito. A caracterização das GST parcialmente purificadas de estirpes sensíveis e resistentes ao DDT demonstrou as diferenças quantitativas e qualitativas das enzimas.

Oxidases de função mista (MFO)

As enzimas MFO são de grande significado nos mamíferos e artrópodes para fornecer protecção contra uma grande variedade de insecticidas, particularmente a alguns hidrocarbonos clorinados, a muitos organofosfatos, carbamatos e alguns piretróides. O complexo mono-oxigenases, ou oxidases de função mista (MFO), envolve uma reductase e um ou mais citocromos P-450s. Um aumento da actividade das MFO é um dos mecanismos mais versáteis de resistência nos insectos. As enzimas P-450 dos insectos também activam certos tipos de insecticidas, como, por exemplo, a conversão de organofosfatos para a sua forma insecticida activa. Vários factores, incluindo a espécie, a estirpe, o sexo, a fase de desenvolvimento, a idade e a nutrição afectam a actividade monooxigenase. Está comprovado que o sistema das MFO ocorre no corpo gordo, túbulos de Malpighi e intestino médio. De longe, o sistema das MFO mais intensivamente estudado é o da mosca doméstica. Pensa-se que as MFO são importantes em casos recentemente descobertos de resistência aos piretróides no *An. gambiae*.

Esterases e hidrólise

As esterases são as enzimas mais significativas para a desintoxicação de insecticidas em insectos. O organofosfato, o carbamato e os piretróides contêm ligações carboxilester e fosfotriester que estão sujeitas a ataque por parte das esterases. Estas esterases podem, muitas vezes, ser separadas em isoenzimas com diferentes especificidades de substratos. As esterases dos insectos são muito diversas e podem incluir monómeros, dímeros e multímeros, o que significa que a sua massa molecular relativa pode abranger uma ampla gama. O polimorfismo é uma característica notável das esterases dos insectos. Há múltiplas formas de esterases presentes na fração solúvel e citosólica dos insectos. Das múltiplas formas de isoenzimas de esterase que existem nos insectos, poucas participam no metabolismo dos insecticidas. Cada isoenzima provavelmente tem uma gama particular de substratos.

6.3.2 Resistência nos pontos-alvo

Muitos insecticidas são tóxicos para o sistema nervoso dos insectos, actuando sobre a sinapse ou o axónio. Diferentes partes dos canais do sistema nervoso, como os canais de sódio dependentes de voltagem, canais de potássio, ATPase, canal de cloreto ligado ao GABA e acetilcolinesterase são os primeiros pontos-alvo de várias classes de insecticidas. A resistência nos pontos-alvo ocorre quando o ponto de acção onde um insecticida actua é modificado em estirpes resistentes, de tal modo que o insecticida deixa de actuar com eficácia e, portanto, o insecto não é afectado ou é menos afectado pelo insecticida. Este mecanismo de resistência aos insecticidas pode ter lugar no canal de sódio, podendo resultar em: diferentes tipos de canais de sódio; alteração estrutural do canal de sódio; modificação dos canais de sódio; alteração nos fosfolípidos da membrana da célula nervosa; redução da densidade do canal de sódio; e menor afinidade do canal de sódio. As mutações resistentes, conhecidas como mutações da resistência à queda (kdr), podem afectar

a acetilcolinesterase, que é o alvo molecular dos organofosfatos e carbamatos ou dos canais de sódio regulados por voltagem (para os piretróides e o DDT).

6.3.3 Resistência comportamental

Resistência comportamental é qualquer modificação no comportamento dos mosquitos que os ajudam a evitar os efeitos letais dos insecticidas. A propriedade de irritação de alguns insecticidas pode levar uma percentagem de insectos a abandonarem as superfícies pulverizadas, antes de adquirirem uma dose letal, pelo que é necessário um contacto repetido, antes de ocorrer a morte. O aumento da actividade dos mosquitos provocada pelos insecticidas é designada de “irritabilidade”. A perturbação dos mosquitos que repousam é o resultado mais óbvio da irritação; o termo repelência (mais frequentemente, excito-repelência) é, por vezes, aplicado a este fenómeno. A repelência é a estimulação por um químico dos movimentos orientados para longe da fonte ou o impedimento de que o insecto se aproxime do insecticida. Ambas as definições significam que a repelência não é provocada apenas pelo contacto dos mosquitos com um insecticida, mas também pela ação fumegante do insecticida. Esta irritabilidade produzirá uma maior actividade no mosquito ao aterrar e este permanecerá na superfície tratada apenas durante um curto período de tempo.

A África tem sido uma fonte contínua de relatos de impedimento comportamental dos resíduos de DDT. Em alguns casos, pensou-se que esta resposta comportamental dos vetores teria um impacto negativo nos esforços de controlo.

Embora a classificação da resistência em mecanismos bioquímicos, fisiológicos e comportamentais constitua uma forma cómoda de encarar a resistência, na realidade estes três grupos representam um espectro interrelacionado de respostas biológicas. Por exemplo, uma resposta fisiológica, tal como a sensibilidade nervosa alterada é a soma total de uma série de eventos bioquímicos que potencialmente envolvem alterações na estrutura dos nervos. De modo semelhante, uma resposta comportamental é a soma total de uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas. Contudo, em alguns casos uma mudança na população dos vetores pode ser erradamente tomada como o desenvolvimento de resistência comportamental.

A capacidade de repelência dos insecticidas poderá impedir que os vetores entrem nas habitações humanas tratadas com insecticidas. Essas respostas comportamentais pode reduzir em grande medida o contacto humano-vetor, que pode ser acompanhado por uma redução sustentada da transmissão do paludismo. A monitorização cuidadosa das respostas fisiológicas e comportamentais aos piretróides será fundamental para avaliar os méritos de iniciar ou continuar o uso de piretróides em larga escala.

6.3.4 Penetração reduzida (resistência da cutícula)

A composição do exoesqueleto de um insecto pode modificar-se de forma a inibir a penetração do insecticida. A penetração reduzida dos insecticidas permitirá muito tempo para que as enzimas desintoxicantes metabolizem o químico, o qual, por esse motivo, será menos eficaz. A menor penetração da cutícula, possivelmente causada por um gene semelhante ao *pen*, foi também encontrada numa estirpe seleccionada por permetrina da mosca doméstica.

6.3.5 Excreção

A excreção aumentada é um dos mecanismos de resistência desenvolvidos pelos insectos. As larvas de estirpes resistentes de *Aedes aegypti* respondem ao DDT expelindo o insecticida para a membrana peritrófica. Este comportamento foi mais evidente em algumas estirpes resistentes do que em outras e ocorreu em muito menor grau nas larvas de estirpes suscetíveis. Pareceu constituir um mecanismo de resistência para remover o DDT do canal alimentar e bloquear o acesso ao corpo.

6.3.6 Mecanismos de resistência das principais espécies de vetores do paludismo

Em todo o mundo se encontram mecanismos de resistência no metabolismo ou nos pontos-alvo; contudo, há diferentes mecanismos de resistência em diferentes espécies. Por exemplo, no *An. funestus* s.s. é reportada actualmente resistência metabólica, enquanto no *An. gambiae* s.s se encontram mecanismos de resistência, tanto no metabolismo como nos pontos-alvo. O Quadro 6.1 resume os mecanismos de resistência nas principais espécies de vetores do paludismo.

Quadro 6.1 Mecanismos de resistência nas principais espécies de vetores do paludismo¹

Espécie de vetor	Piretróides		DDT		Organofosfatos		Carbamatos	
	Metabólico	Ponto-alvo	Metabólico	Ponto-alvo	Metabólico	Ponto-alvo	Metabólico	Ponto-alvo
<i>An. gambiae</i> s.s	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
<i>An. funestus</i> s.s			✓				✓	
<i>An. arabiensis</i>		✓	✓	✓		✓		✓
<i>An. Culicifacies</i> (C)		✓		✓				
<i>An. Culicifacies</i> (B)		✓	✓	✓	✓			
<i>An. stephensi</i>	✓	✓	✓	✓	✓			
<i>An. dirus</i>			✓					
<i>An. sacharovi</i>			✓		✓	✓	✓	✓
<i>An. albimanus</i>	✓		✓		✓	✓		✓

6.4 Queda (Knock down) e morte

O termo “queda” conforme aplicado na entomologia, denota paralisia nos insectos, quer seja reversível ou não. À não recuperação de uma queda dá-se o nome de “morte”. O termo “queda” foi originalmente introduzido para descrever a indução bastante rápida de sintomas de paralisia provocados pelas piretrinas, mas o seu uso acabou por ser alargado a todos os casos de paralisia de insectos provocados por químicos. É, mais frequentemente, usado em conjugação com o tempo necessário para o início de sintomas de paralisia numa certa fração da população do teste (por ex., KD₅₀, KD₉₀, etc.). A recuperação da queda foi observada em algumas espécies de insectos.

¹ WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). Geneva, World health Organization. Available at <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/gpirm/en/index.html>

Não se sabe se a recuperação da queda é uma mera questão de metabolismo do insecticida a um nível não letal ou se os processos de envenenamento que provocam a queda são os mesmos que os que eventualmente provocam a morte. A rapidez e a duração da queda e a possibilidade e extensão da recuperação são considerações importantes no controlo das pragas.

6.5 Métodos de detecção de resistência

Existem presentemente várias abordagens para detectar a emergência de resistência.¹ A detecção de resistência constitui a base para a aplicação de técnicas de gestão da resistência destinadas a contrariá-la. O processo envolve a obtenção de dados iniciais de suscetibilidade e a monitorização regular da resistência, usando os métodos mais sensíveis que existem, conforme se descreve nas secções abaixo.

6.5.1 Testes de suscetibilidade

Os testes de suscetibilidade (bioensaios) são usados para medir a percentagem da mortalidade, após exposição dos vetores a uma dose de diagnóstico padrão de insecticida, o que permite a comparação de estudos independentes. Podem usar-se quer os bioensaios em papel da OMS, quer os bioensaios com garrafa dos CDC¹. No entanto, os resultados obtidos com estes dois métodos não são comparáveis. Por conseguinte, deve usar-se sempre o mesmo método ao longo do tempo para se observarem os padrões longitudinais ou temporais da resistência. Os bioensaios em papel da OMS são o método padrão básico mas os ensaios com garrafa dos CDC garrafa constituem uma alternativa que pode fornecer informação complementar. Os testes de suscetibilidade podem também ser usados para determinar a dose apropriada para matar 50% ou 90% das populações de insectos, fornecendo assim informação mais pormenorizada sobre a extensão da resistência numa população. Os bioensaios identificam a existência de resistência, quando esta se encontra num nível detectável, mas não estabelecem o mecanismo de resistência envolvido. Também podem não identificar a resistência, quando a frequência é demasiado baixa. Contudo, estes bioensaios continuam a ser extremamente importantes para a monitorização da resistência, porque a detectam, independentemente do mecanismo fisiológico envolvido. Alguns dos ensaios abaixo descritos, embora mais sensíveis, apenas são adequados para a detecção de um particular tipo de resistência.

6.5.2 Ensaios bioquímicos e imunológicos

São duas as principais causas da resistência: (i) alterações no ponto-alvo que reduzem a ação do insecticida (resistência no ponto-alvo) e (ii) aumento da taxa a que o insecticida é metabolizado (resistência metabólica).

Há três famílias de enzimas que são responsáveis pelo metabolismo do insecticida: carboxilesterases, citocromo P-450s e glutathione-S-transferases. Os ensaios bioquímicos detectam o nível de actividade dessas enzimas. Esses ensaios usam substratos modelo que produzem uma mudança de cor visível a olho nu. A intensidade da cor é percentual à actividade da enzima. Embora não meçam directamente o nível do metabolismo do insecticida, podem fornecer uma indicação

¹ WHO (2013). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Geneva, World Health Organization. Disponível em <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505154/en/index.html>

dos mecanismos de resistência numa população e dar uma ideia dos possíveis padrões de resistência cruzada.

A vantagem dos testes bioquímicos incluem a capacidade de realizar vários ensaios num único insecto, permitindo a detecção de múltiplos mecanismos de resistência. As desvantagens incluem as dificuldades em usá-los no terreno, visto que requerem equipamento sofisticado e a interpretação dos resultados requer sólidas competências técnicas. Ao usar estes ensaios, é importante testar uma estirpe suscetível da mesma espécie, juntamente com a população no terreno, para permitir a comparação dos níveis da enzima desintoxicante. Estão disponíveis protocolos para esses ensaios.¹

6.5.3 Teste molecular

Existem actualmente diagnósticos baseados no ADN, para detectar a resistência no ponto-alvo a todas as principais classes de insecticidas, relativamente a muitas espécies de vetores. Esses ensaios detectam a verdadeira mutação responsável pela resistência. São extremamente sensíveis e conseguem detectar a resistência, logo que ela surge numa população, dando um aviso precoce de possível falha no controlo. No entanto, uma vez que os ensaios moleculares apenas estão disponíveis para a resistência no ponto-alvo, não podem ser usados como substitutos dos bioensaios. Um resultado negativo de um ensaio molecular não indica que a espécie não seja resistente a um determinado insecticida, mas apenas que ela não contém o mecanismo específico de resistência que está a ser testado.

Para estes ensaios moleculares, foram desenvolvidas diferentes plataformas. Os métodos mais simples usam PCR alelo-específico ou PCR seguido de digestão por enzimas de restrição. Os produtos são resolvidos num gel de agarose e apenas são necessárias uma máquina de PCR e uma caixa de luz UV. Outros ensaios moleculares requerem equipamento mais sofisticado mas têm a vantagem de uma maior sensibilidade, especificidade e maior capacidade. Alguns dos ensaios alternativos para detectar a resistência no ponto-alvo ao DDT e aos piretróides (kdr alelo) são comparados em Bass et al, 2009.²

Existem actualmente muito poucos ensaios moleculares para detectar a resistência metabólica nos insectos e, até agora, não existem ensaios baseados no terreno para a detecção dos genes responsáveis por essa resistência nos principais mosquitos vetores. A presença de resistência metabólica pode ser indicada através do uso de agentes sinérgicos em bioensaios. Além disso, também foram desenvolvidas várias plataformas de *microarray* para estudar especificamente a resistência metabólica nos mosquitos vetores. No entanto, estas experiências ainda são dispendiosas e requerem equipamento especial.

6.6 Monitorização da resistência aos insecticidas

Uma monitorização adequada da suscetibilidade dos vetores aos insecticidas é uma componente fundamental do planeamento e avaliação do uso dos insecticidas nos programas de controlo

¹ WHO (1998). Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual). Geneva, World Health Organization. WHO/CDS/CPC/MAL/98.6.

WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). Geneva, World Health Organization. Disponível em http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en/index.html

² Bass et al (2009). Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae*: a comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malaria Journal*; 6:111.

do paludismo.¹ O problema, cada vez maior, da resistência nos vetores da doença tem vindo a reduzir constantemente a escolha de insecticidas alternativos, não existindo nenhuma solução simples para o problema. É importante reconhecer que existe apenas um número muito limitado de insecticidas para uso nos programas de saúde pública e que eles devem ser tratados como um valioso recurso. Os “recursos” de insecticidas terão de ser usados da forma mais eficaz possível. O uso racional dos insecticidas depende muito de um vasto conhecimento dos possíveis ou prováveis mecanismos de resistência. Com base nesse conhecimento, poderão ser tomadas todas as precauções necessárias para evitar a ocorrência de resistência e previamente preparado um plano para lidar com o desenvolvimento da resistência, nas suas primeiras fases no terreno. O potencial desenvolvimento de resistência aos insecticidas é uma ameaça comum a todos os programas e resulta do uso contínuo ou repetido de insecticidas. Por conseguinte, é importante monitorizar periodicamente a suscetibilidade dos vetores, durante as operações dos programas.

A resistência resulta muitas vezes do uso do mesmo insecticida ou outro afim que seja usado na agricultura. A escolha do insecticida a usar no controlo dos vetores deve basear-se, não apenas na suscetibilidade da população dos vetores, mas no uso geral de insecticidas na zona. É também desejável que se estude a história da resistência nas zonas vizinhas e da mesma espécie de vetor noutras zonas.

Considerações semelhantes aplicam-se relativamente ao impedimento do contacto do vetor com superfícies pulverizadas. Será necessário monitorizar possíveis alterações no comportamento dos vetores, por meio de armadilhas de saídas e pela observação dos hábitos de picadas em humanos.

Uma das principais razões para recolher amostras de populações de vetores é determinar a sua suscetibilidade aos insecticidas. Quando se usam insecticidas para o controlo do paludismo, é importante monitorizar, de tempos a tempos, as alterações no nível de suscetibilidade dos vetores visados. A eficácia residual do insecticida usado deverá também ser determinada a intervalos regulares, depois da sua aplicação ou uso. Nesta unidade, os participantes irão aprender as competências necessárias para realizar essas actividades.

6.6.1 Concentrações discriminatórias de insecticidas

As concentrações discriminatórias (ou doses) de insecticidas são usadas rotineiramente para detectar e monitorizar a resistência dos mosquitos aos insecticidas. Essas concentrações foram criadas nas condições laboratoriais padrão, usando estirpes ou populações reconhecidamente “susceptível” de várias espécies de mosquitos vetores.² As concentrações discriminatórias dos insecticidas normalmente usados para os mosquitos adultos, assim como para as larvas, são apresentadas, respectivamente, nos Anexos 4 e 5.

6.6.2 Testes de suscetibilidade em mosquitos adultos

Os testes de suscetibilidade realizam-se para determinar a percentagem da população de vetores que é fisiologicamente resistente a um determinado insecticida.

¹ WHO (2012). *Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM)*. Geneva, World Health Organization. Disponível em http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en/index.html

² WHO (2013). *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes*. Geneva, World Health Organization, 2013. Available at <http://www.who.int/malaria/publications/en/>

A *resistência fisiológica* aos insecticidas tem sido definida como a “capacidade de uma população de insectos tolerar doses de um insecticida que seriam letais para a maioria dos indivíduos numa população normal da mesma espécie”.

A eficácia da PRI e dos MTI depende, entre outras coisas, da percentagem de vetores que repousam na superfície pulverizada e da suscetibilidade dos vetores ao próprio insecticida. É, por isso, importante monitorizar o desenvolvimento e extensão da resistência aos insecticidas numa determinada população de vetores.

Teste de suscetibilidade usando o bioensaio padrão da OMS

O método padrão da OMS consiste na verificação da mortalidade de vários *Anopheles* fêmeas de uma espécie conhecida, exposta, em tubos especiais, a papéis de filtro impregnados com uma concentração letal (conhecida como dose discriminatória) de um determinado insecticida dissolvido em óleo. Para uma descrição dos procedimentos do teste de suscetibilidade aos insecticidas, consultar o Anexo 4.

Teste de suscetibilidade usando o bioensaio com garrafa dos CDC

O bioensaio com garrafa dos CDC determina se um determinado insecticida consegue matar um vetor, como um mosquito, num determinado local, num determinado momento. O objectivo do bioensaio é medir o tempo que um determinado insecticida leva a matar um mosquito adulto. O bioensaio com garrafa dos CDC pode ser efectuado em populações de mosquitos criados num insectário, a partir de larvas capturadas no terreno, ou nos capturados no terreno.

O bioensaio com garrafa dos CDC está a ser cada vez mais usado na monitorização diária de rotina das populações de mosquitos. As vantagens do bioensaio com garrafa dos CDC sobre os testes de suscetibilidade a OMS são: 1) não é necessário encomendar papéis impregnados ao centro de colaboração da OMS na Malásia; 2) não exige um período de espera de 24 horas, 3) todos os insecticidas disponíveis podem ser avaliados de uma vez, 4) a resistência a doses discriminatórias mais baixas pode ser detectada mais cedo. As desvantagens são a falta de garantia de qualidade na preparação das garrafas pelos diferentes laboratórios/pessoas, o transporte das garrafas no terreno, particularmente durante longos períodos de tempo, quando não existe acesso a laboratórios e a extracção de mosquitos vivos, após o período de exposição necessário para o armazenamento destinado à identificação das espécies. Os resultados do bioensaio com garrafa não são directamente comparáveis com os resultados do teste de tubos da OMS. O bioensaio com garrafa é, contudo, adequado para ensaios sinérgicos, para fins de investigação e para criar concentrações de diagnóstico de novos insecticidas ou para novas espécies de mosquitos. A metodologia detalhada, “*Guideline for evaluating insecticide resistance in vectors using the CDC Bottle Bioassay*”, pode ser consultada nos Centros dos Estados Unidos para o Controlo e Prevenção das Doenças (visitar <http://www.cdc.gov>). Uma versão *online* das orientações, com animação, está disponível em <http://www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/assay/bottle/index.htm>.

6.6.3 Testes de suscetibilidade em larvas

A finalidade do teste de suscetibilidade em larvas é detectar a presença de resistência numa população de larvas de mosquitos, tão cedo quanto possível, para que se possam fazer planos alternativos de controlo a tempo de resolver a situação, quando o insecticida em causa deixa de ter

o efeito desejado. Para uma descrição detalhada dos procedimentos dos testes de suscetibilidade em larvas, consultar o Anexo 5.

6.6.4 Métodos de bioensaios

Eficácia residual do insecticida em paredes tratadas

A eficácia residual de um insecticida numa parede pulverizada é determinada pelo teste de bioensaio. Isso faz-se verificando a mortalidade do mosquito-alvo exposto à superfície pulverizada, com intervalos de semanas ou meses depois da pulverização. Esta técnica pode também ser usada para avaliar a qualidade de uma operação de pulverização residual. No Anexo 6 é apresentada uma descrição detalhada dos procedimentos deste método.

Eficácia residual do insecticida em mosquiteiros tratados

O método do bioensaio é também usado para determinar a eficácia residual de um insecticida em mosquiteiros tratados, que pode ser usado para decidir quando se deve renovar o tratamento dos mosquiteiros, no caso dos MTI, ou substituí-las, no caso dos MILD, e também para avaliar a qualidade do tratamento. O procedimento do bioensaio em mosquiteiros tratados com insecticida é semelhante ao procedimento usado para as paredes pulverizadas, com a diferença de que o cone é preso ao tecido com um elástico e os mosquitos ficam expostos, normalmente, apenas três minutos. No Anexo 7 é feita uma descrição detalhada do procedimento deste método.

A maioria dos programas não tem insectários para criar mosquitos em que se conheça a idade e a situação de suscetibilidade para os bioensaios. Estão a ser desenvolvidos novos métodos para a monitorização dos resíduos de insecticida nos MTI/MILD e nas superfícies. Um exemplo de um desses métodos é o Kit de Quantificação do Insecticida (IQK) do Consórcio de Inovação no Controlo dos Vetores (IVCC). O IQK é simples de usar no terreno.

6.7 Gestão da resistência aos insecticidas

As estratégias de gestão da resistência aos insecticidas (IRM) destinam-se a manter a eficácia de controlo dos vetores, apesar da ameaça de resistência. Indicam-se em seguida estratégias de IRM que têm sido usadas ou propostas para gerir a resistência aos insecticidas no controlo dos vetores¹:

- ▶ *Rotação de insecticidas.* Dois ou mais insecticidas com diferentes modos de ação são alternados de um ano para o outro;
- ▶ *Combinação de intervenções.* Duas ou mais intervenções com insecticidas para controlo dos vetores são usadas numa casa (por ex., piretróides em redes e um insecticida de uma classe diferente nas paredes), para que o mesmo insecto possa, embora não garantidamente, entrar em contacto com o segundo insecticida, se sobreviver à exposição ao primeiro;
- ▶ *Pulverização em mosaico.* Numa determinada zona geográfica usa-se um composto e nas zonas vizinhas um composto diferente, pertencendo os dois a uma classe diferente de insecticidas; é necessária mais investigação sobre o uso de mosaicos;

¹ WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). Geneva, World health Organization 2012, disponível em http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en/index.html

- ▶ *Misturas.* Misturam-se dois ou mais compostos de diferentes classes de insecticidas, para fazer um produto ou formulação únicos, com vista a garantir que o mosquito entre em contacto com essas duas classes ao mesmo tempo. Não existem actualmente misturas disponíveis para o controlo dos vetores do paludismo.

Todos os programas de controlo dos vetores do paludismo devem incluir uma estratégia de gestão da resistência aos insecticidas. As actividades e políticas de gestão da resistência devem ser introduzidas desde o início e não ser retardadas até que a resistência surja. Essas actividades de gestão da resistência incluem:

- ▶ Para a PRI, a política mínima de gestão da resistência é alternar entre as classes de insecticidas, num sistema de rotação; isso significa fazer a rotação entre insecticidas com diferentes modos de ação (mudar de um piretróide para outro não é considerado uma rotação).
- ▶ Pode usar-se um piretróide como elemento da rotação, excepto quando houver uma elevada cobertura de MILD na mesma zona geográfica.
- ▶ Como já se afirmou, os piretróides não devem ser usados para a PRI em zonas com elevada cobertura de MILD; inversamente, a combinação de MILD com PRI não piretróides é uma estratégia recomendada de gestão da resistência.
- ▶ No processo de aprovação dos pedidos de compra de insecticidas, as agências financiadoras deverão verificar se existem dados recentes e relevantes sobre a resistência aos insecticidas na zona-alvo ou nas suas proximidades, os quais devem ser tomados em consideração na decisão de escolher um determinado insecticida.
- ▶ A monitorização da resistência deve ser efectuada, pelo menos, uma vez por ano em vários locais que sejam alvo das actividades de controlo dos vetores. Sempre que possível, a resistência deve ser seguida, não apenas com bioensaios convencionais, mas também com métodos de genotipagem molecular. Recomenda-se que se disponibilizem fundos para estas actividades.
- ▶ As recomendações da OMS sobre os métodos de testes da resistência, e sobre a recolha, análise e interpretação dos dados foram actualizadas, com vista a orientar os países sobre o modo de garantir que serão tomadas medidas preventivas e que a resistência será gerida em devido tempo.¹
- ▶ O impacto da resistência sobre a eficácia do controlo dos vetores é também uma questão-chave: sempre que possível, os esquemas de monitorização devem tentar determinar se as operações de controlo dos vetores tendem a ter menos impacto nas zonas com níveis relativamente elevados de resistência.

6.7.1 Considerações importantes sobre o uso criterioso de insecticidas

- ▶ **Que** insecticida (composto e formulação) aplicar? O produto que for mais apropriado, tendo em conta a sua segurança, eficácia, aceitabilidade, custo e disponibilidade.
- ▶ **Onde aplicar o insecticida?** Esta decisão implica a identificação das zonas geográficas prioritárias e de locais específicos alvo para uma melhor cobertura.

¹ WHO (2013). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Geneva, World Health Organization. Available at <http://www.who.int/malaria/publications/en/>

- ▶ **Quando aplicar?** Isto pode referir-se à estação do ano ou momento do dia e aos requisitos epidemiológicos, tendo em consideração a duração do efeito e o tempo necessário para cobrir a zona-alvo.
- ▶ **Como aplicar?** Que competências e equipamentos são necessários para garantir uma aplicação eficaz e segura?

A Figura 6.1 ilustra os factores envolvidos no uso criterioso de insecticidas.

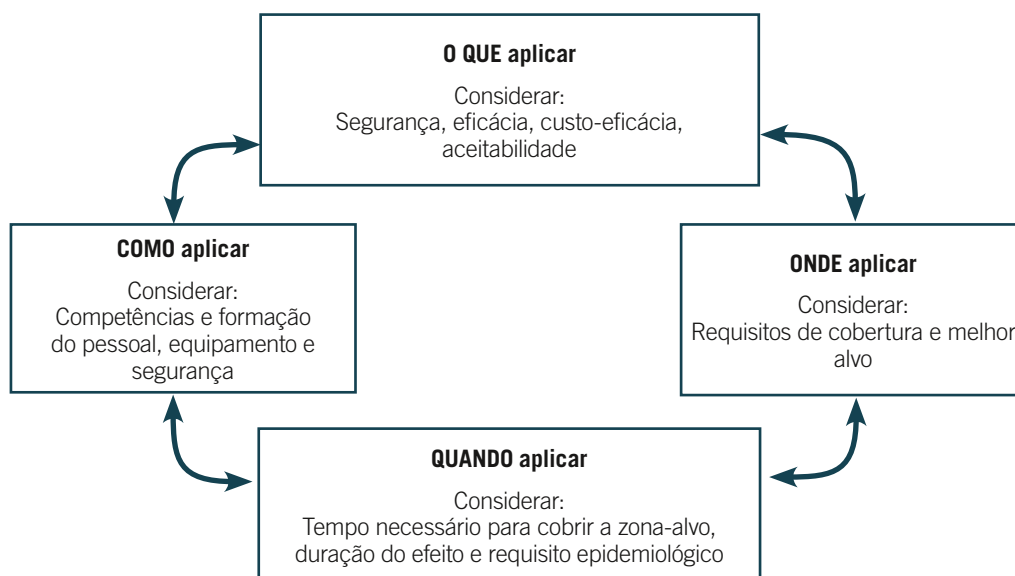


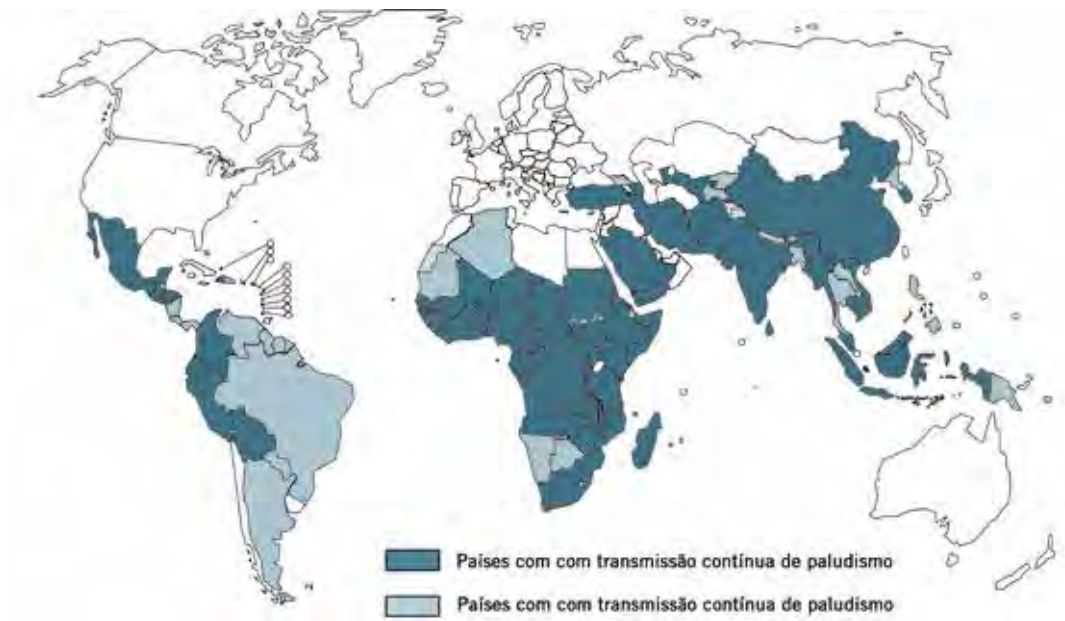
Figura 6.1 Diferentes factores para o uso criterioso de insecticidas

6.8 Situação actual da resistência aos insecticidas

Desde 2009, quando se começou a dar maior relevo à monitorização da resistência aos insecticidas, têm sido reportados cada vez mais casos de resistência, particularmente em África. A maioria dos países que realizaram testes de suscetibilidade notificaram, pelo menos, um caso de resistência. A resistência foi identificada em 64 países com transmissão contínua do paludismo, principalmente aos piretróides (Fig. 6.2). A resistência ao DDT também é prevalente e estão a aumentar os relatórios sobre resistência aos organofosfatos e carbamatos. Abaixo apresenta-se uma visão geral da situação conhecida de resistência aos insecticidas.

Regiões Africanas. Os países da África Ocidental e Central há muito tempo que notificam elevadas frequências de resistência, em particular o Benim, Burkina Faso, Camarões, Côte d'Ivoire e Gana. Estes países registam uma resistência generalizada aos piretróides e ao DDT; a Côte d'Ivoire também notificou resistência aos carbamatos e organofosfatos. A Etiópia notificou resistência às quatro classes de insecticidas, incluindo resistência generalizada ao DDT e uma frequência crescente de resistência aos piretróides. Outras zonas da África Oriental com resistência generalizada aos piretróides e ao DDT são o Uganda e as suas fronteiras com o Quênia e a República Unida da Tanzânia. A África Austral, Moçambique e África do Sul notificaram um amplo espectro de resistência durante a última década. Uma elevada frequência de resistência metabólica aos piretróides foi igualmente notificada no Malawi e na Zâmbia.

Figura 6.2 Países com transmissão contínua de paludismo, onde a resistência aos insecticidas foi identificada em, pelo menos, um dos seus principais vetores¹



Informação proveniente dos entomologistas dos Escritórios Regionais da OMS, completada com uma análise da literatura pelo Programa Mundial do Paludismo.

IR = resistência aos insecticidas

1. Inclui os países com suscetibilidade confirmada a todos os insecticidas usados e os países onde não se realizam correntemente testes de suscetibilidade ou não há resultados disponíveis.
2. O mapa não fornece qualquer indicação sobre a dimensão da resistência dentro de um país; por esse motivo, uma notificação isolada de resistência será suficiente para assinalar um país como tendo resistência.

Região do Sudeste Asiático. Existe resistência generalizada ao DDT e a alguns piretróides e organofosfatos (malatião) na Índia. Indonésia e Myanmar também notificam resistência aos piretróides; em Myanmar, há ainda confirmação de resistência ao DDT e aos organofosfatos.

Região das Américas. Nesta região, tem sido notificada resistência aos piretróides, carbamatos e organofosfatos. Na Colômbia, a resistência generalizada em meados de 2000 foi invertida em muitas localidades, mudando o insecticida e, assim, retirando pressão à selecção. A resistência, porém, persiste noutras localidades. Tem igualmente sido notificada resistência na Bolívia (piretróides e carbamatos), Equador (piretróides e organofosfatos), Honduras (piretróides) e Peru (piretróides, carbamatos e organofosfatos).

Região do Pacífico Ocidental. Tem sido notificada resistência aos piretróides e ao DDT em vetores do paludismo de importância local, nas zonas costeiras do Vietname. Por outro lado, existe resistência aos piretróides na China e resistência ao DDT no Camboja e na Malásia.

Região do Mediterrâneo Oriental. Resistência aos piretróides foi notificada em vários países desta região, nomeadamente o Afeganistão, a República Islâmica do Irão e Omã. Para além disso, existe resistência ao DDT no Iémen. Estes dados carecem de confirmação. Somália e Sudão notificaram resistência às quatro classes de insecticidas, incluindo resistência generalizada ao DDT e uma frequência crescente de resistência aos piretróides.

Região Europeia. Foi notificada resistência às quatro classes de insecticidas na Turquia, ao DDT no Azerbaijão e aos carbamatos e organofosfatos no Uzbequistão.

¹ WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). Geneva, World health Organization. Disponível em http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en/index.html

Exercício 6.1

Testes de suscetibilidade em adultos. Em trabalho de pares, os participantes realizarão testes de suscetibilidade em mosquitos adultos, como se descreve no Anexo 4.

Exercício 6.2

Testes de suscetibilidade em larvas. Os participantes realizarão testes nas larvas, como se descreve no Anexo 5.

Exercício 6.3

Bioensaio em MTL. Em trabalho de pares, os participantes farão o teste de eficácia dos piretróides em mosquiteiros tratados, como se descreve no Anexo 7.

UNIDADE DE APRENDIZAGEM 7

Controlo dos vetores em diferentes estratos epidemiológicos do paludismo

Objectivos da aprendizagem

No final desta unidade, o participante deverá ser capaz de:

- Descrever o conceito de estratificação
- Descrever os estratos do paludismo com base na intensidade da transmissão
- Descrever as características dos principais estratos eco-epidemiológicos do paludismo
- Seleccionar estratégias eficazes de controlo dos vetores para os estratos eco-epidemiológicos do paludismo

Introdução

O paludismo é uma doença focal; a sua distribuição varia consideravelmente de uma zona para outra, mesmo dentro de limites relativamente pequenos como os de um distrito. Por conseguinte, a situação do paludismo varia ao longo do território nacional devido a factores administrativos, operacionais, técnicos e financeiros, bem como à heterogeneidade da epidemiologia do paludismo em zonas diferentes. Esta variabilidade pode ser estudada relativamente às potenciais eficácia e sustentabilidade de intervenções disponíveis, o que permite o reconhecimento de um número limitado de tipos de situação de paludismo. Estas situações são caracterizadas pela predominância de factores demográficos, parasitológicos, entomológicos, ecológicos, sociais e político-administrativos. A distribuição geográfica destes tipos de situações de paludismo é a base da estratificação sobre a qual se seleccionam as intervenções adequadas.

7.1 Conceito de estratificação

A estratificação é o processo que consiste em agrupar zonas, populações ou situações que exibam uma semelhança relativa num conjunto de determinadas características relevantes, denominadas variáveis, distinguindo-as assim de outras zonas, populações e situações dissemelhantes, segundo o mesmo conjunto de características. O processo de estratificação define diferentes estratos que partilham características epidemiológicas, geográficas, socioeconómicas e ecológicas semelhantes. As variáveis que definem estratos diferentes podem ser agrupadas nas seguintes categorias ou critérios:

- ▶ Macro-ecológicos e sociais (socioeconómicos): população, dados geográficos (clima, latitude), padrão de distribuição e deslocação da população, grupos étnicos, actividades económicas e de desenvolvimento mais importantes, aspectos culturais e sociopolíticos.
- ▶ Epidemiológicos: espécie de parasita, espécie e comportamento dos vetores, hospedeiro do contacto humano-vetor, nível de endemicidade, dados relativos à morbilidade e mortalidade, risco de epidemias, resistência do parasita a medicamentos, resistência do vetor a insecticidas.
- ▶ Micro-ecológicos: presença e localização vetor dos criadouros permanentes e temporários, produção agrícola que proporciona condições favoráveis ao vetor.
- ▶ Antropológicos: deficiência de G6PD, traço falciforme.
- ▶ Organização dos serviços de saúde: cobertura dos serviços gerais de saúde, cuidados de saúde primários e cuidados associados ao paludismo, estrutura de apoio logístico e administrativo.
- ▶ Actividades antipalúdicas específicas: intervenções antipalúdicas anteriores e actuais, resultado e impacto das intervenções, causas do sucesso ou fracasso, custo das intervenções, planos para a melhoria e expansão das operações de intervenção.

7.2 Estratificação do risco de paludismo

Com base no grau de transmissão, o risco de paludismo pode ser estratificado em três grandes categorias:

- ▶ Livre de paludismo: não existe transmissão de paludismo;

- ▶ **Instável (epidémico):** a transmissão de paludismo é variável, estando sujeita a flutuações sazonais e anuais acentuadas. Consequentemente, o nível de imunidade da população em geral é baixo;
- ▶ **Estável (endémico):** a transmissão é geralmente elevada e não está sujeita a flutuações anuais, sendo por isso elevado o nível de imunidade da população.

Nem sempre é fácil fazer a distinção entre paludismo estável e instável. Em cada estrato podem caber outras classificações. Por exemplo, em zonas de paludismo instável (epidémico), é possível classificar dois tipos distintos de transmissão:

- ▶ transmissão marcadamente sazonal mas intensiva, com um padrão mais ou menos previsível a cada ano, associada a explosões da epidemia com intervalos de 5–10 anos;
- ▶ marcadamente sazonal, com transmissão muito reduzida ou nula durante vários anos. Por vezes, estas zonas são também afectadas por epidemias dramáticas e devastadoras, resultantes de alterações ambientais e meteorológicas.

No que respeita ao paludismo estável, algumas zonas podem manifestar uma acentuada variação sazonal na intensidade da transmissão, enquanto outras revelam um padrão de transmissão mais uniforme ao longo do ano.

7.3 Estratificação baseada nas taxas de parasitas e de esplenomegalia

Tradicionalmente, a endemicidade do paludismo tem sido classificada em quatro categorias de intensidade de transmissão definidas sobretudo pela prevalência, num dado momento, de parasitemia e baço aumentado palpável na população, normalmente em crianças de 2–9 anos de idade (Quadro 7.1).

Quadro 7.1 Classificação dos níveis de endemicidade do paludismo

Critério	Hipoendemicidade	Mesoendemicidade	Hiperendemicidade	Holoendemicidade
Taxa de esplenomegalia 2–9 anos ¹	0–10%	11–50%	Constantemente > 50–75%*	Constantemente > 75%**
Taxa de parasitas 2–9 anos ¹	0–10%	11–50%	Constantemente > 50%	Constantemente > 75% em crianças dos 0–11 meses
Estabilidade ²	Instável	Instável	Estável	Estável
Taxa de inoculação entomológica ³	< 0,25	0,25–10	11–140	> 140

* Também elevado em adultos (>25%); ** Mas baixo em adultos (<25%)¹²³

As quatro categorias de intensidade de transmissão do paludismo são:

- ▶ **Zonas hipoiendémicas:** transmissão muito reduzida e baixo risco de infecção para a população;

¹ WHO (1963). *Terminology of malaria and of malaria eradication: report of a drafting committee*. World Health Organization, Geneva. <http://whqlibdoc.who.int/publications/9241540141.pdf>.
² WHO (2006). *Systems for the early detection of malaria epidemics in Africa - An analysis of current practices and future priorities*. WHO/HTM/MAL/206.1115.WHO, Geneva.
³ Beier JC, Killeen GF & Githure JI (1999) Short report: entomologic inoculation rates and *Plasmodium falciparum* malaria prevalence in Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61, 109-113

U7

- ▶ Zonas mesoendémicas: aldeias tipicamente rurais, sobretudo em regiões subtropicais, com intensidade de transmissão variável e muitas vezes propensa a epidemias de paludismo;
- ▶ Zonas hiperendémicas: transmissão do paludismo de sazonalidade acentuada, com a doença em todos os grupos etários;
- ▶ Zonas holoendémicas: nível elevado de transmissão durante todo o ano, com grau elevado de imunidade entre a população, particularmente nos adultos.

As taxas de inoculação entomológica e a capacidade vetorial são também úteis na expressão do risco de infecção do paludismo e na distinção entre diferentes níveis de endemicidade. (Quadro 7.1).

7.4 Estratificação por tipos eco-epidemiológicos

É essencial identificar que medidas de controlo dos vetores funcionam melhor em determinadas circunstâncias. O processo orienta-se pelo reconhecimento de factores eco-epidemiológicos e socioeconómicos indicativos de determinada bionomia do vetor, padrões de contacto humano-vetor e a viabilidade operacional de determinadas medidas de controlo. A epidemiologia do paludismo divide-se agora em vários ecotipos para uma melhor compreensão da dinâmica de transmissão do paludismo, dos parasitas e vetores e da ecologia humana.

Actualmente existem seis tipos eco-epidemiológicos principais presentes em ecossistemas em estado estacionário¹. Estes ecotipos não representam necessariamente todas as variantes possíveis da epidemiologia do paludismo a nível mundial. Pelo contrário, em algumas situações, uma estratificação mais pertinente pode exigir a distinção entre as subdivisões destes ecotipos. Além disso, esses ecotipos não se excluem mutuamente e é frequente encontrar situações mistas (por exemplo, floresta e franjas altitudinais, savana árida e corredores florestais de rios). Os tipos eco-epidemiológicos propostos que serão usados para descrever a bionomia do vetor, a situação da transmissão e as medidas adequadas de controlo dos vetores são descritos nas secções que se seguem.

7.4.1 Savana tropical africana

Este ecotipo estende-se do deserto do Sara aos trópicos africanos de clima equatorial húmido e é ainda estratificado em três tipos agroclimáticos principais:

- ▶ "zona de pastagem" do Sahel, passando a vegetação de savana árida para sul;
- ▶ cinturas ocidental e central progressivamente mais húmidas, passando a floresta tropical equatorial;
- ▶ savanas extensas que cobrem grande parte da África Oriental e Austral, entre a floresta tropical equatorial e as terras altas temperadas e o sul subtropical.

Vetores do paludismo e transmissão: O complexo *An. funestus* e *An. gambiae*, dois dos vetores mais eficientes do mundo, encontram-se por todas as savanas. O *An. funestus* reproduz-se em pântanos com vegetação, enquanto os membros do complexo *An. gambiae* se desenvolvem em poças temporárias de água doce onde quer que estas ocorram, devido a precipitação ou irrigação, valetas, pegadas ou buracos na estrada. Os dois membros mais importantes do complexo *An. gambiae* são o *An. arabiensis*, com mosquitos fêmea que dentro e fora das habitações se alimentam com o sangue do gado ou do homem, e o *An. gambiae* s.s., com mosquitos fêmea com maior probabilidade de picar o homem dentro de casa. Entre outras espécies que podem ser vetores locais importantes encontram-se os *An. nili*, *An. coustani* e *An. pharoensis*.

¹ WHO, 2006. Malaria vector control and personal protection. Report of a WHO study group (12–14 March 2004). Geneva, World Health Organization. http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_trs_936/en/index.html

Em termos gerais, a transmissão do paludismo pode ser intensa, regular, longa, contínua ou sazonal, de acordo com o regime de pluviosidade e presença de coleções de água em torno dos aglomerados.

Medidas de controlo dos vetores: a medida de controlo dos vetores MTI/MILD é a escolhida para a África tropical. Esta pode ser conjugada com a PRI para acelerar e maximizar a redução da transmissão.

7.4.2 Planícies e vales fora de África

Este ecotipo encontra-se na Ásia Meridional, América Central e América do Sul e China.

Vetores do paludismo e transmissão: os principais vetores do paludismo na Ásia Meridional são o *An. culicifacies* (nas planícies); o *An. fluviatilis* e o *An. minimus* (em vales fluviais); e o *An. stephensi* (nas planícies áridas e semi-áridas e nas cidades). Os *An. annularis*, *An. philippinensis* e *An. conitus* (nas zonas costeiras orientais) são considerados vetores secundários. Os *An. sinensis* e *An. anthropophagous* são vetores do paludismo na China. Os *An. darlingi* e *An. pseudopunctipennis* são os principais vetores do paludismo na América Central e do Sul.

A transmissão do paludismo é muito intensa nos sopés das montanhas e nos vales de média altitude. A transmissão é muitas vezes sazonal nas planícies e nos vales fluviais ou em zonas tropicais húmidas, perene com acentuados picos sazonais associados aos ciclos agrícolas e determinada pela existência de águas superficiais, pela temperatura, humidade, variações climáticas e outras perturbações físicas. A transmissão ocorre sobretudo de forma mesoendémica ou hipoendémica. O *P. vivax* é o parasita predominante, embora a transmissão pelo *P. falciparum* ocorra frequentemente.

Medidas de controlo dos vetores: em planícies e vales com transmissão de mesoendémica a hipoendémica, pode apontar-se a utilização de MTI/MILD para os grupos ou comunidades de alto risco. Na América Central e do Sul, os MTI/MILD seriam uma escolha racional em grandes áreas em que populações endofágicas de mosquitos que atacam durante a noite, tais como os *An. darlingi*, *An. nuneztovari* e *An. marajoara*, estão envolvidas na transmissão do paludismo. É provável a ocorrência de epidemias de paludismo em zonas áridas, nas franjas altitudinais ou após a chegada em massa de populações deslocadas ou refugiados vindos de zonas de endemicidade mais baixa. Será necessário que funcionem sistemas de alerta e de detecção precoces de epidemias.

7.4.3 Floresta e franjas florestais

Encontra-se no Sudoeste do Pacífico e Sudeste Asiático, América do Sul e África. O risco de paludismo está frequentemente associado às áreas florestais.

Vetores do paludismo e transmissão: as florestas e franjas florestais abrigam vetores do paludismo muito eficientes, em particular os *An. gambiae* s.s., *An. funestus* e *An. moucheti* na África tropical; os *An. darlingi* e *An. albitasis*, *An. marajoara* e *An. nuneztovari* na América do Sul e os *An. dirus*, *An. fluviatilis* e *An. minimus* no Sudeste Asiático. Estes vetores são preferencialmente atraídos a picar os seres humanos nos seus abrigos, mas são exofílicos, escapando assim ao efeito de qualquer insecticida residual que tenha sido pulverizado nas paredes ou tectos desses abrigos. Assim, a transmissão do paludismo é mais intensa e mais difícil de controlar em aglomerados florestais temporários ou recém-estabelecidos do que nos vizinhos campos agrícolas da savana. A espécie predominante é o *P. falciparum*.

Nestas zonas, os aglomerados humanos e as actividades desenvolvidas variam consideravelmente, conduzindo a um vasto leque de situações epidemiológicas, as quais podem requerer diferentes abordagens de controlo do paludismo. Pode tornar-se necessária uma sub-estratificação baseada no tipo de aglomerados e actividades humanas como a seguir se indica:

- ▶ *Populações florestais nativas de caçadores e colectores*
- ▶ *Actividades agrícolas em áreas florestais*
- ▶ *Colectores de produtos florestais*
- ▶ *Extração de ouro e gemas*
- ▶ *Postos de polícia e do exército nas áreas florestais*
- ▶ *Actividades ilegais e grupos de rebeldes*
- ▶ *Trabalhadores de projectos de desenvolvimento económico*
- ▶ *Postos fronteiriços internacionais*

Medidas de controlo dos vetores: Os MTI/MILD podem ser usados em acampamentos relativamente estáveis. A PRI é relativamente ineficaz devido aos hábitos de repouso dos vetores (exofílicos), aos abrigos temporários incompletos que muitas vezes não têm paredes que possam ser pulverizadas e à mobilidade dos aglomerados humanos que permanecem por declarar e inacessíveis.

7.4.4 Terras altas e franjas de deserto

Este ecotipo representa as regiões situadas entre as zonas altamente endémicas e o deserto ou as zonas de elevada altitude com total inexistência de transmissão. As zonas de franja montanhosa encontram-se em África, no Sudeste Asiático, Sudoeste do Pacífico e América do Sul, enquanto as franjas de deserto se situam no Sahel, África Austral e no Ásia Ocidental.

Vetores do paludismo e transmissão: Entre os vetores das franjas montanhosas encontram-se os *An. fluviatilis* e o *An. minimus*, no Sul e Sudeste Asiático, e o *An. pseudopunctipennis*, na América Central e América do Sul. As franjas de deserto partilham os vetores da savana ou planícies vizinhas, tais como o *An. arabiensis*, os quais se adaptam melhor às condições de seca. Os vetores do paludismo nos sopés ou vales de média altitude são mais eficientes do que nas planícies do sul e Sudeste Asiático (por exemplo, os *An. fluviatilis* e *An. minimus*), enquanto a situação inversa se regista na América Central e América do Sul (*An. pseudopunctipennis*). Nas terras altas e franjas de deserto africanas, o *P. falciparum* é a espécie dominante, enquanto fora de África domina geralmente o *P. vivax*.

Nas franjas montanhosas, a temperatura é o elemento determinante do potencial infeccioso, enquanto nas zonas de franja de deserto a existência de águas de superfície e a humidade relativa representam os papéis principais. Assim, a transmissão do paludismo é reduzida nestas zonas a uma estação curta (decrecendo com a altitude ou a aridez), com zonas em que a transmissão ocorre apenas em anos com períodos excepcionalmente longos de calor ou precipitação elevada. Estas zonas são, por isso, propensas a epidemias.

Medidas de controlo dos vetores: Em muitas destas zonas, o controlo do paludismo depende ainda, em grande medida, do recurso sistemático à PRI. Pode promover-se a utilização de MTI

nestas zonas, orientados para a população em risco. A aplicação de larvicidas pode ser eficaz se os criadouros dos vetores forem raros, fixos e fáceis de encontrar. Se os recursos o permitirem, e quando parece provável a transmissão prolongar-se por alguns meses, podem implementar-se medidas de controlo dos vetores selectivas e direccionadas, tais como a PRI.

7.4.5 Zonas costeiras e zonas húmidas

As zonas costeiras oferecem condições particularmente favoráveis à transmissão do paludismo. Espécies eficientes de vetores proliferam em água salobra ou habitats húmidos e as zonas costeiras são normalmente atractivas para uma série de actividades humanas, como por exemplo, o turismo e os projectos de desenvolvimento.

Vetores do paludismo e transmissão: Entre os vetores deste ecotipo encontram-se o complexo *An. subpictus* e o complexo *An. sondaicus*, no Sudeste Asiático, e o complexo *An. punctulatus* na Australásia. Na África tropical, as espécies costeiras *An. melas* na África Ocidental e *An. merus* na África Oriental são vetores menores do que as espécies de água doce *An. arabiensis* e *An. gambiae* por toda a savana tropical africana. Na América Central e América do Sul, alguns vetores do paludismo eficientes estão associados a habitats salobros costeiros, nomeadamente o *An. aquasalis* e o *An. albimanus*, na América do Sul, e o *An. albimanus* em algumas zonas da América Central.

A transmissão do paludismo em zonas costeiras e zonas húmidas é influenciada pela migração de populações das zonas rurais de paludismo endémico para as cidades e zonas costeiras baixas. O risco de transmissão do paludismo nas zonas costeiras pode aumentar consideravelmente devido a alterações na utilização das terras ou perturbação humana do meio ambiente que resulte na acumulação de água estagnada e salobra e consequente aumento da população de vetores. De igual modo, a actividade humana, onde se inclui a localização de áreas residenciais muito próximas de zonas tropicais húmidas extensas ou lagunas, riachos, etc. de água salobra, influenciam a incidência de paludismo nas zonas costeiras e zonas húmidas.

Medidas de controlo dos vetores: as medidas de controlo dos vetores preferenciais incluem os MTI/MILD, PRI limitada e redução da densidade larval, através da aplicação de larvicidas ou de processos físicos. É muito importante compreender o comportamento dos vetores, uma vez que alguns deles muitas vezes picam ao amanhecer e são exofílicos, reduzindo a eficácia tanto da PRI como dos MTI.

7.4.6 Zonas urbanas e periurbanas

O paludismo urbano ocorre em África, na Ásia Meridional e América do Sul e também sobreposto a qualquer um dos outros ecotipos.

Vetores do paludismo e transmissão: O paludismo urbano pode resultar de qualquer das situações que se seguem.

- ▶ existência, na cidade ou na sua periferia, de zonas que mantêm as características ecológicas das zonas rurais propícias à transmissão do paludismo. Trata-se de uma extensão do paludismo rural circundante, transmitido pelos mesmos vetores das zonas rurais vizinhas.
- ▶ situações onde os contextos urbanos criam condições favoráveis a que um vetor eficiente do paludismo se estabeleça.

- ▶ uso nas cidades de terrenos não ocupados para o cultivo de vegetais ou eventualmente arroz, geralmente com irrigação informal e sem a drenagem adequada, criando assim locais favoráveis à reprodução.
- ▶ existência de paludismo urbano *stricto sensu*, o qual é transmitido na cidade por vetores especialmente adaptados ao ambiente urbano, a saber, (i) o *An. stephensi*, em muitas cidades da Índia; (ii) o *An. claviger*, em cidades de Israel, do Líbano e da República Árabe da Síria; e (iii) o *An. arabiensis*, em cidades das ilhas Maurícia e da Reunião.

O paludismo urbano em África está geralmente associado a um mais baixo risco do que o paludismo da savana e é frequente os centros das cidades encontrarem-se livres de transmissão do paludismo. Em contrapartida, o paludismo urbano no subcontinente indiano está associado a um risco mais elevado do que o paludismo da maioria das zonas rurais adjacentes.

Medidas de controlo dos vetores: podem ser usados os MTI/MILD e a PRI focalizada. A aplicação de larvicidas é particularmente indicada para as zonas urbanas em que os criadouros sejam raros, fixos e fáceis de encontrar. Entre outras medidas encontram-se, por exemplo, a gestão ambiental, o melhoramento da drenagem, o controlo de depósitos de água aéreos contra o *An. stephensi*, bem como a melhoria das casas, de forma a torná-las mais à prova de mosquitos.

Para além dos seis ecotipos em ecossistemas estacionários, existem outros dois tipos eco-epidemiológicos que ocorrem em situações de alteração com desenvolvimento rápido, conforme o abaixo descrito.

7.4.7 Projectos de desenvolvimento agrícola

Este ecotipo está relacionado com sistemas agrícolas irrigados convencionais que parecem gerar um pesado fardo de doenças, através da interação de factores bioecológicos, socioeconómicos e políticos. Entre estes factores incluem-se densidades elevadas de vetores, estirpes resistentes de parasitas e vetores, agregação e migrações humanas, pobreza, ignorância, infraestruturas inadequadas, quer física quer de recursos humanos especializados, que forneça cuidados preventivos e curativos apropriados, e instabilidade política violenta.

Os vetores do paludismo nos projectos de desenvolvimento são normalmente os mesmos que nas zonas vizinhas. No entanto, em alguns casos, são observadas diferenças na distribuição das espécies e a transmissão do paludismo pode diferir consideravelmente, devido às alterações ambientais locais e às mudanças na distribuição da população introduzidas pelo projecto. As principais medidas de controlo dos vetores usadas são a PRI e os MTI/MILD.

7.4.8 Perturbações sociopolíticas (situações de emergência humanitária)

Entre os factores específicos de cada contexto que dão origem ao pesado fardo do paludismo em emergências complexas encontram-se a falência dos serviços de saúde, a concentração de refugiados não imunes em zonas de risco de paludismo, má nutrição, localização de campos de refugiados em terrenos marginais sujeitos a inundações ou à reprodução de vetores e problemas na obtenção do acesso ou distribuição de medicamentos à população deslocada. À medida que o conflito aumenta, as emergências complexas evoluem normalmente da fase de emergência aguda para a de pós-emergência. A fase aguda caracteriza-se pela deslocação súbita da população das zonas de distúrbios e por taxas de mortalidade elevadas, podendo prolongar-se por apenas

algumas semanas ou meses. Durante a fase pós-aguda, à medida que os refugiados se reinstalam, a situação estabiliza, a situação sanitária volta geralmente a ser controlada e são satisfeitas as necessidades básicas.

Os vetores do paludismo nas situações de emergência complexas são muitas vezes os mesmos das zonas vizinhas. A escolha das intervenções de controlo dos vetores dependerá de factores locais, tais como o tipo de abrigos disponíveis e os comportamentos humanos e dos vetores. Em situações de emergência complexas, são prioridades a prontidão do diagnóstico e o tratamento eficaz. Em fase aguda, tal pode ser complementado, sempre que viável, com MTI/MILD destinados a cobrir toda a população em risco. A PRI não é adequada a cenários onde os abrigos sejam temporários ou sem superfícies que possam ser prontamente pulverizadas. Tanto os MILD como a PRI têm um papel importante na fase pós-aguda, em que a situação estabiliza e as pessoas têm abrigos com superfícies pulverizáveis. Embora sem recomendação formal da OMS, têm sido também usadas telas plásticas tratadas com insecticida na fase aguda, uma vez que o uso de MILD e a aplicação da PRI não são praticáveis.

Exercício 7.1

Em pequenos grupos, os participantes responderão às seguintes questões:

1. *Quais são os impactos dos factores entomológicos e ambientais na prevalência do parasita, imunidade da população, distribuição etária da infecção, doença e morte devido ao (i) paludismo instável e (ii) paludismo estável? Compare e enuncie as diferenças.*
2. *Explique porque é difícil reduzir a transmissão em zonas de paludismo estável quando comparadas com zonas de paludismo instável.*
3. *Quais são os factores que afectam a densidade de vetores nos meios urbanos?*

Reunir em plenário para discutir as conclusões com o resto do grupo.

Exercício 7.2

Em pequenos grupos, os participantes determinarão que opções de controlo dos vetores são mais adequadas a cada um dos seguintes estratos:

1. paludismo instável
2. paludismo estável
3. meio urbano
4. projectos de desenvolvimento agrícola
5. perturbações sociopolíticas (situações de emergência humanitária)

Listar num quadro de papel os resultados e a justificação da selecção. Apresentar os resultados em plenário.

Discussão. O tutor conduzirá uma discussão final sobre as opções de controlo dos vetores e a sua relação com os estratos epidemiológicos.

ANEXO 1

Protocolo para a criação de mosquitos

A1.1 Introdução

É importante para o trabalho laboratorial de entomologia criar e manter os mosquitos em condições de insectário. Na descrição que se segue, que respeita aos requisitos e métodos específicos para a criação de mosquitos, parte-se do princípio que o insectário tem temperatura controlada por termóstato (aquecimento/ar condicionado conforme as necessidades) e controlo da humidade.

A1.2 Equipamento para manuseamento de mosquitos adultos

A1.2.1 Gaiolas

Tem sido desenvolvida uma grande variedade de gaiolas de criação para mosquitos adultos. O factor mais importante é a dimensão relativamente ao número de mosquitos por gaiola e sobretudo a área do espaço de repouso disponível por mosquito. Esta densidade afecta o acasalamento, a alimentação e a longevidade. Uma superfície de repouso vertical de 1,8 cm² por mosquito parece o mais conveniente quando há um elevado número de mosquitos. O outro factor relacionado com a dimensão é a facilidade com que os mosquitos conseguem acasalar. Muitas espécies não acasalarão em gaiolas com menos de 30 x 30 x 30 cm. Com efeito, algumas espécies colonizadas recentemente no terreno só acasalarão devidamente em gaiolas de 1 x 1 x 1 m ou maiores. As espécies que não acasalarem de modo algum em gaiolas de laboratório poderão ter de ser mantidas através de procedimentos artificiais de acasalamento.

Os mosquitos *Aedes*, *Culex*, e *Anopheles* podem ser colonizados em gaiolas de 30 x 30 x 30 cm. Os *Toxorhynchites* e algumas espécies de *Anopheles* são normalmente colonizados em gaiolas de 1 x 1 x 1 m e o mesmo tamanho de gaiola é usado ocasionalmente para manter grandes colónias de outros géneros.

A estrutura das gaiolas é normalmente de madeira ou metal, coberta por rede de algodão, tecido sintético ou alumínio. O orifício da malhagem deve ser tal que as aberturas não tenham mais de 1,1 mm de diâmetro; os mosquitos criados em laboratório podem ser pequenos devido a sobrelotação ou subnutrição nos estádios larvares e os machos que são criados nessas condições podem conseguir escapar por uma malha maior que esta. A parte da frente da gaiola deve ter uma manga em tecido suficientemente larga para permitir a introdução de pequenos recipientes (12 cm de diâmetro) para a postura de ovos. Em termos gerais, é preferível a utilização de rede sintética, uma vez que o algodão apodrece rapidamente. A base e parte traseira da gaiola podem ser de laminado plástico; deve optar-se por uma base estável em vez de rede, dado que terá de suportar recipientes contendo pupas ou água para a postura de ovos (Fig. An1.1).



Figura An1.1 Diferentes tamanhos e tipos de gaiolas

A1.2.2 Alimentação dos mosquitos adultos

A água para os mosquitos adultos deve ser fornecida em pequenos recipientes de 12 cm de diâmetro, podendo optar-se por colocar discos de algodão embebidos em água em cima da gaiola. Pode ser fornecido açúcar para prolongar o tempo de vida dos machos e para sustentar as fêmeas entre as refeições de sangue. Uma solução a 10% de sacarose de uso doméstico é uma forma adequada de fornecer hidratos de carbono. Mergulham-se bolas de algodão nesta solução, espremem-se para libertar o excesso de líquido e colocam-se em cima da gaiola. Em alternativa, podem colocar-se no interior das gaiolas pedaços de algodão dentro de pequenos recipientes com a solução de sacarose. Bocados de maçã, uvas passas ou sultanas, colocadas nos topos da gaiola, podem ser também fontes de açúcar, mas devem deixar a rede suja.

As refeições de sangue são necessárias para a produção de ovos em todas as espécies, com excepção das autogénicas. Por regra, as colónias são alimentadas com sangue duas vezes por semana. Os sistemas de alimentação através de membrana são os indicados e podem ser usados para a manutenção de rotina das colónias. (Fig. An1.2). Ao pôr em funcionamento um insectário ou quando os mosquitos não se alimentam de imediato nas membranas, pode considerar-se colocar um animal anestesiado sobre a gaiola. Entre outras fontes de sangue incluem-se cobaias, ratos, ratazanas, galinhas e coelhos. Previamente corta-se pêlo no flanco dos mamíferos com uma máquina de barbear (Fig. An1.2). As espécies de mosquito difíceis poderão ter de ser alimentadas no braço do experimentador. A figura An1.3 mostra o aparelho para a alimentação artificial de mosquitos.



Figura An1.2 Sangue de cobaias para alimentação de mosquitos



Figura An1.3 Aparelho para alimentação artificial de mosquitos

Para uso em campo, aloja-se muitas vezes um número menor de mosquitos em cilindros de plástico ou caixas de papelão, qualquer destes tapados com rede na extremidade (Fig. An1.4).

Os mosquitos adultos são transferidos de uma gaiola para outra através de um aspirador ou dispositivo de sucção (Fig. An1.5). A utilização de aspiradores bocais comporta o risco de irritação causada pela inalação de escamas de mosquito. Este problema pode evitar-se com recurso a aspiradores mecânicos semelhantes aos aspiradores portáteis comuns.



Figura An1.4 Embalagens de gelados em plástico ou cartão cobertas com rede

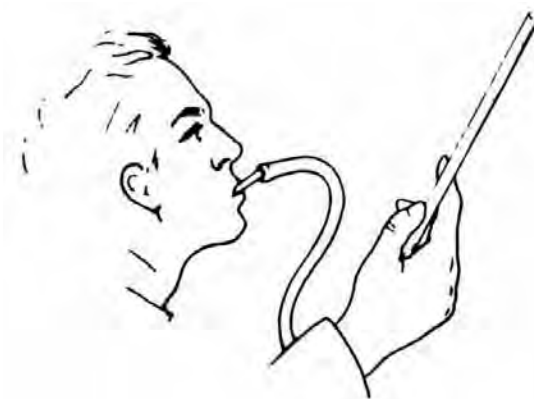


Figura An1.5 Aspirador usado para a colheita e transferência de mosquitos

A1.2.3 Recolha dos ovos

Os ovos dos mosquitos *Anopheles* raramente resistem à seca e são postos um a um, à superfície, num recipiente com água normalmente fresca. Por vezes coloca-se papel de filtro dobrado dentro do recipiente para evitar que os ovos se agarrem às paredes ou para facilitar a sua transferência. Os ovos devem ser transportados em papel de filtro húmido, embora à temperatura do insectário eles eclodam em poucos dias (a refrigeração pode por vezes ser usada para atrasar o processo).

A1.2.4 Procedimentos para a criação de larvas

As larvas são mantidas em tabuleiros ou tigelas. Tem sido usada uma grande variedade de tamanhos e formatos. Os recipientes rectangulares são preferíveis aos redondos, por oferecerem maior estabilidade em bancos e prateleiras. Têm sido muito usados os tabuleiros em esmalte branco, bem como os de polietileno e policarbonato. Os tabuleiros de cerca de 30 x 25 x 5 cm são adequados para manter água com cerca de 4cm de profundidade, comportando cada um

deles 300 larvas. As larvas são manuseadas e transferidas com recurso à utilização de pipetas de vidro com uma tetina ou ampola de borracha.

É extraordinária a variedade de materiais que têm sido usados como alimento para as larvas, de fezes de cobaia a dietas químicas bem definidas. Os biscoitos para cão têm sido vastamente adoptados, como também comprimidos de levedura, fígado em pó, sangue seco, papa de cereais para bebés (por exemplo, Farex), comida para peixe em flocos, sendo muito comuns as combinações de dois ou mais destes materiais. É muitas vezes necessário experimentar qual a dieta adequada a cada espécie ou subespécie. Se for colocada demasiada comida no tabuleiro, a formação de espuma à superfície da água pode levar a que as larvas sufoquem e morram. Por vezes junta-se uma pequena quantidade de erva, turfa ou outras plantas à água onde se criam os *Anopheles* spp.

Se as larvas se amontoarem nos tabuleiros, a pupação é atrasada e os adultos resultantes são mais pequenos e mais débeis. Isto pode trazer consequências sérias em estudos experimentais, por exemplo, estes mosquitos tomam refeições de sangue menores.

A1.2.5 Manuseamento das pupas

As pupas devem ser removidas dos tabuleiros logo que se formam, caso contrário os adultos emergem e fogem para a sala de criação. Regra geral, a remoção das pupas é realizada diariamente, sendo estas transferidas para água fresca antes da transferência para as gaiolas onde se mantêm os mosquitos adultos. As pupas podem ser apanhadas através de uma pipeta de vidro com uma tetina na extremidade, como as utilizadas no manuseamento das larvas, ou com pequenas redes. Quando se trata de pupas em grande número, por vezes são separadas das larvas filtrando o conteúdo do tabuleiro de criação e colocando-as em água gelada. As larvas mergulham de imediato, enquanto as pupas se mantêm à superfície e são dela retiradas. Tem sido descrita uma variedade de mecanismos que podem ser utilizados para separar as pupas das larvas.

Quando se tratar de mosquitos a serem utilizados em experiências de cruzamento, será necessário separar as pupas por sexo, normalmente pelo tamanho (por vezes as pupas macho são mais pequenas), forma ou pormenores da terminália. Para verificar se os sexos foram devidamente separados, as pupas podem ser colocadas, quatro por tubo, em balões de vidro de fundo plano de 75 x 25 mm, fechando o gargalo dos balões com um tampão de algodão (ver Fig. An1. 6).



Figura AN1.6 Equipamento para conservar ovos, larvas e pupas

A1.2.6 Concepção do insectário

Os três requisitos essenciais de um insectário são a capacidade de controlar: (i) a temperatura, (ii) a humidade, e (iii) a iluminação.

O grau de sofisticação das técnicas de criação dependerá tanto das instalações como dos requisitos do trabalhador. Por exemplo, nos trópicos, as larvas de mosquito podem ser criadas em tabuleiros cobertos numa sala não aquecida simples e mantidas com mosquitos adultos na mesma sala. A humidade elevada é essencial na criação de adultos e pode ser mantida, colocando um pedaço

de algodão saturado numa placa de Petri, aberta no topo superior da gaiola, e tapando esta com uma película de polietileno. Quando é necessário manter mosquitos numa estação de campo, este tipo de improvisação pode tornar-se essencial.

Em algumas situações, sobretudo quando se trata de manter um número reduzido de insectos, ou quando é necessário um controlo particularmente cuidado das condições ambientais, os insectos podem ser criados e mantidos numa câmara ambiental num laboratório comum.

A1.2.7 Construção

Dada a necessidade de controlar a temperatura e a iluminação, é necessária uma sala sem janelas, de preferência sem paredes externas. Nos climas temperados, os insectários com paredes externas sofrem geralmente de condensação excessiva, enquanto nos trópicos podem absorver em demasia o calor do sol.

Cada sala de criação de insectos deveria ter uma antecâmara sempre que possível, a qual pode servir de zona de segurança para evitar a perturbação indevida da temperatura e da humidade quando se abre a porta. A antecâmara serve também para limitar a fuga de mosquitos adultos. As paredes da sala devem ser macias e estar pintadas de branco ou de uma cor muito clara. A tinta não pode ser insecticida. É geralmente recomendada tinta epoxy totalmente impermeável, mas efectivamente uma ligeira permeabilidade da superfície das paredes ao vapor de água pode ajudar a limitar a condensação. As paredes em azulejo, completamente estanques, caracterizam-se pela condensação excessiva. É essencial um lavatório grande com água corrente quente e fria em qualquer sala de criação e sobretudo naquelas em que se estão a criar insectos com fases aquáticas. É vantajoso ter uma sala à parte para limpeza das gaiolas e tabuleiros de criação ou outro equipamento. Deve dar-se preferência a mesas, bancos e prateleiras que possam ser deslocados facilmente, para um uso mais flexível e para facilitar a limpeza.

A1.2.8 Controlo da temperatura

O controlo da temperatura pode ser parte integrante de um sistema de ar condicionado elaborado ou tratar-se de um simples aquecedor de barras controlado por termóstato. Se não houver na sala deslocação de ar produzida por uma ventoinha, a temperatura pode estar estratificada entre o chão (a mais baixa) e o tecto (a mais elevada). Os controlos por termóstato têm tendência a falhar numa atmosfera húmida ao fim de um período de tempo relativamente pequeno, sendo preferível ter uma sonda de termóstato na sala com o dispositivo de comutação instalado no exterior. Em alternativa, pode recorrer-se a um sistema modular de termóstato e aquecedor facilmente substituíveis. Em insectários tropicais serão normalmente necessários sistemas de ar condicionado, de forma a manter as temperaturas dentro dos limites de controlo desejados.

Devem ser feitos registos regulares da temperatura no insectário. Para essa finalidade é muitas vezes conveniente dispor dum termómetro de temperatura máxima e mínima e/ou um termo-hidrógrafo registador. Os insectários para mosquitos são normalmente mantidos entre os 26°C–28°C.

A1.2.9 Controlo da humidade

A regulação da humidade é normalmente obtida através de pequenos dispositivos de aerossol disponíveis no mercado. Possuem discos planos movidos a alta velocidade por um motor eléctrico, os quais produzem uma nuvem de finas gotículas de água ejetadas por um difusor no topo. O controlo da humidade é mantido por um sensor de humidade. Dado que têm de ser instalados na sala, o micro-interruptor acaba por deixar de funcionar devido à névoa, devendo-se substituir regularmente tanto o humidificador como o sensor de humidade. A humidade deve ser medida regularmente: quer continuamente com um termo-higrógrafo registador, quer diariamente usando um higrómetro giratório.

A1.2.10 Controlo da iluminação

Tanto o fotoperíodo como a intensidade da luz afectam o desenvolvimento nas várias fases do ciclo de vida, a saber, acasalamento, alimentação, postura de ovos e altura de pupação. Os períodos de iluminação são controlados por temporizadores incorporados na instalação de iluminação. A fonte de iluminação mais adequada são as lâmpadas fluorescentes normais. Para o trabalho nos períodos de obscuridade podem utilizar-se lâmpadas de incandescência de luz vermelha. Normalmente opta-se por um fotoperíodo de 12 horas com luz e 12 horas sem luz, embora alguns trabalhadores possam preferir 14 horas com luz e 10 horas sem luz.

As espécies com refeição de sangue à noite podem ser mantidas numa sala em que o ciclo de luz é desligado. Desligar a luz ao meio-dia e ligá-la à meia-noite permite que se faça o trabalho de rotina de manhã e o fornecimento de sangue aos mosquitos fêmea adultos de tarde. Algumas espécies podem precisar de um período crepuscular para se juntarem em colónia e acasalarem, o que pode requerer controlos automáticos da diminuição gradual da luz para dar um efeito de poeira e do aumento gradual do brilho para simular o amanhecer. (ver Fig. An1. 7).



Figura An1.7 Insectário com prateleiras e tabuleiros para criar larvas de mosquitos

A1.2.11 Segurança

Têm de ser tomadas medidas especiais de segurança relativamente à manutenção das colónias de insectos vetores de doenças, a fim de os isolar do ambiente circundante e impedir a sua fuga. No caso do paludismo, os mosquitos que escapem de um laboratório podem pôr em sério risco os esforços de controlo ou eliminação. A fuga de mosquitos resistentes aos insecticidas para uma população de mosquitos nativa suscetível poderia acarretar consequências graves para as medidas de controlo da zona.

A correcção dos procedimentos de criação e a utilização de portas duplas são medidas básicas para limitar a fuga dos mosquitos dos insectários. As paredes pintadas de branco permitem detectar mais rapidamente os mosquitos que tenham escapado. Também é aconselhável que a antecâmara esteja pintada de branco e possua armadilhas luminosas como medida adicional para evitar que os mosquitos que escaparam cheguem ao exterior. Os canos podem precisar de crivos, inclusivamente os dos lavatórios. Este pode ser um aspecto relevante num insectário nos trópicos em que as fases aquáticas de mosquitos que se encontram em instalações de criação podem passar às canalizações circundantes e fixar-se. As gaiolas de oviposição dentro e em volta dos insectários podem ajudar. Em zonas de potencial colonização de espécies como a *Aedes aegypti*, pode tornar-se necessário instalá-las no exterior, delimitando as instalações do insectário. Os insectários não devem situar-se nas imediações de biotérios.

A1.2.12 Mosquitos infectados com agentes patogénicos humanos

São necessárias precauções particularmente rigorosas na criação e manutenção de mosquitos infectados com agentes patogénicos humanos. As medidas variam de acordo com a dimensão do risco envolvido.¹ Os microrganismos que produzem uma infecção potencialmente fatal ou de cura difícil são atribuídos a um grupo de risco maior do que os que não são fatais ou para os quais se disponibilize de imediato quimioprofilaxia e/ou quimioterapia eficaz. Os mosquitos infectados experimentalmente com *Plasmodium falciparum* numa zona não endémica transportam uma infecção potencialmente letal para trabalhadores não imunes e o risco pode estender-se a pessoas que não estejam associadas ao programa de investigação.

É fundamental que se aja em conformidade com regulamentações nacionais eventualmente em vigor relativas às condições de manutenção de agentes patogénicos.

¹ Existe informação adicional sobre grupos de risco para os agentes patogénicos humanos e confinamento laboratorial de artrópodes infectados disponível em *Manual de Biossegurança em Laboratório* da OMS, 3ª edição, 2004. www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7/pdf

ANEXO 2

Tratamento de mosquiteiros com insecticida

AN2

A2.1 Introdução

De uma perspectiva programática, o tratamento e a renovação do tratamento de mosquiteiros serão necessários até que a cobertura com MILD esteja mais generalizada e substitua todos os MTI convencionais já entregues e distribuídos. Para além disso, certas comunidades em cenários endémicos de paludismo podem continuar a utilizar mosquiteiros que necessitam de tratamento e de renovação do tratamento.

Os MTI convencionais necessitam de uma renovação do tratamento a cada 6 ou 12 meses, dependendo da extensão da transmissão e das frequências das lavagens. Para voltar a tratar os mosquiteiros basta impregná-los numa mistura de água e insecticida e deixá-los a secar num local com muita sombra. Os mosquiteiros podem ser tratados através de um:

- ▶ *Tratamento doméstico*: os mosquiteiros são tratados por qualquer adulto na habitação, utilizando equipamentos de tratamento (auto-tratamento), que estão disponíveis nas lojas ou são fornecidos pelos centros de saúde.
- ▶ *Tratamento em massa*: as redes são tratadas por (i) pessoal qualificado que trabalha num centro de imersão, um local fixo onde as pessoas levam as suas redes para serem tratadas; (ii) campanhas comunitárias que oferecem um novo tratamento uma ou duas vezes por ano, preferencialmente antes da época de transmissão; ou (iii) equipas móveis que fornecem renovações de tratamentos em vários locais, incluindo centros de saúde, mercados e habitações.

A2.2 Processo de tratamento

De seguida encontram-se 10 passos para o tratamento e a renovação de tratamento dos mosquiteiros:

1º Passo: Recolher as provisões/materiais necessários

Os materiais necessários para o tratamento de mosquiteiros consistem em mosquiteiros, insecticida, água, um lavatório, um recipiente medidor, luvas de borracha, vestuário de protecção e sabão. Deve-se assegurar que o mosquiteiro é lavado/limpo antes do tratamento. Os mosquiteiros devem ser tratados de preferência no exterior, à sombra. Se o tratamento tiver de ser realizado no interior, deve ser utilizada uma sala com janelas abertas. Devem ser utilizados um lavatório e luvas que não tenham qualquer outro propósito.

2º Passo: Colocar as luvas protectoras antes de se iniciar o tratamento dos mosquiteiros

3º Passo: Medir a quantidade correcta de água

A quantidade de água necessária depende do material do mosquiteiro. Independentemente do tamanho e forma do mosquiteiro, a quantidade de água necessária para uma rede sintética (poliéster) é ½ litro (pode ser necessária mais água, caso o mosquiteiro seja muito grande). Se vier

um recipiente medidor com o insecticida, deve ser utilizado para medir a água. Caso contrário, utiliza-se qualquer recipiente medidor que não seja utilizado para comida, bebidas ou medicamentos.

4º Passo: Medir a quantidade correcta de insecticida

A quantidade de insecticida necessária para tratar um mosquiteiro depende do tipo de insecticida utilizado. Deve seguir-se as instruções do recipiente/saqueta/pacote. Normalmente são necessários 10-15 ml de insecticida para tratar um único mosquiteiro. O resto do insecticida deve ser armazenado no seu recipiente original, no escuro e afastado das crianças.

5º Passo: Misturar cuidadosamente a água e o insecticida no lavatório utilizando as luvas

6º Passo: Tratar os mosquiteiros

- ▶ Impregnar sempre um mosquiteiro de cada vez.
- ▶ Colocar o mosquiteiro no lavatório que contém a água e o insecticida.
- ▶ Deixar o mosquiteiro de molho o tempo suficiente para que todas as partes fiquem impregnadas.
- ▶ Retirar os mosquiteiros e permitir que o líquido em excesso escorra através de ligeiros apertos, nunca torcendo.

7º Passo: Secar os mosquiteiros

- ▶ Deixar que o mosquiteiro seque na horizontal, à sombra e em cima de plásticos.
- ▶ O mosquiteiro pode ser pendurado, mais tarde, para que acabe de secar à sombra.

8º Passo: Eliminação das sobras da mistura de água e insecticida e de recipientes/saquetas de insecticida

- ▶ Após o tratamento de todos os mosquiteiros disponíveis, as sobras da mistura de água e insecticida, se existirem, podem ser utilizadas para tratar as cortinas.
- ▶ Caso contrário, deve-se deitar o líquido na sanita ou num buraco longe de habitações, abrigos de animais, fontes de água potável, lagos, rios e riachos.
- ▶ Destruir os recipientes, saquetas e pacotes vazios de insecticida e/ou enterrá-los num buraco longe de habitações, abrigos de animais, fontes de água potável, lagos, rios e riachos.

9º Passo: Lavar e limpar mãos e equipamentos

- ▶ Lavar equipamentos (lavatório, recipiente medidor) com muita água, enquanto se utiliza luvas protectoras.
- ▶ Lavar as luvas (se forem utilizadas luvas não descartáveis) com sabão e muita água, ou então eliminá-las juntamente com os recipientes de insecticida.
- ▶ Lavar as mãos com sabão e muita água.

10º Passo: Lavar e renovar o tratamento dos mosquiteiros

- ▶ A lavagem remove o insecticida do mosquiteiro. Por isso, os mosquiteiros devem ser lavados o mais raramente possível, gentilmente, com sabão e água fria e devem ficar a secar na horizontal, à sombra e em cima de plásticos.

- ▶ Não se deve lavar/enxaguar mosquiteiros tratados em fontes de água potável, lagoas, lagos, rios e riachos, ou perto deles.
- ▶ Deve-se deitar fora a água utilizada para lavar/enxaguar na sanita ou num buraco longe de habitações, abrigos de animais, fontes de água potável, lagos, rios e riachos.
- ▶ Os mosquiteiros devem ser novamente tratados após terem sido lavados três vezes; ou, pelo menos uma vez por ano, mesmo que não tenham sido lavados, de preferência mesmo antes da estação das chuvas. Os mosquiteiros podem ser tratados duas vezes por ano em áreas que têm muitos mosquitos, ao longo de todo o ano.

Quadro An2.1 Produtos, dosagens e quantidades de insecticida utilizados para o tratamento de mosquiteiros recomendados pela OMS

Insecticida	Formulação ^a	Dosagem ^b	Dosagem por mosquiteiro
Alfa-cipermetrina	SC 10%	20-40	6 ml
Ciflutrina	EW 5%	50	15 ml
Deltametrina	SC 1%	15-25	40 ml
Deltametrina	WT 25%	15-25	Uma pastilha
Etofenprox	EW 10%	200	30 ml
Lambda-cialotrina	CS 2.5%	10-15	10 ml
Permetrina	EC 10%	200-500	75 ml

^a SC = concentrado de suspensão aquosa; EW = emulsões de óleo em água; WT = pastilha dissolúvel em água;

CS = suspensão da cápsula; EC = concentrado para emulsão

^b Miligramas do ingrediente activo por metro quadrado de rede.

Nota: As recomendações da OMS acerca da utilização de pesticidas na saúde pública são válidas APENAS se estiverem ligadas às especificações da OMS relativas ao controlo de qualidade. As especificações da OMS acerca de pesticidas na saúde pública estão disponíveis em <http://www.who.int/whopes/quality/en/>.

A2.3 Insecticidas e formulações para tratamento

O Quadro An2.1 enumera os produtos insecticidas e dosagens por mosquiteiro recomendadas pelo Esquema de Avaliação de Pesticidas da OMS (WHOPES) relativamente ao tratamento de mosquiteiros.

A2.4 Questões de segurança

Embora o uso no terreno de piretróides nas doses recomendadas para o tratamento de mosquiteiros coloque pouco ou nenhum risco para as pessoas que estão a realizar o tratamento, o abastecimento do insecticida no balcão utilizado nas habitações coloca problemas específicos no que toca à segurança. Por isso, é altamente recomendado que os insecticidas utilizados no tratamento doméstico de mosquiteiros sejam comercializados apenas em doses únicas. Além disso, se forem apresentados numa formulação líquida em garrafas, é essencial o uso de tampas de segurança para crianças. Deve ser evitado o abastecimento “de balcão” de permetrina de alta concentração (por exemplo, 50% EC). Essa concentração elevada de permetrina deve apenas ser utilizada por pessoal qualificado.

Pode ocorrer uma toxicidade aguda ou irritação como resultado do manuseamento de insecticidas, aquando da sua aplicação nos mosquiteiros. As pessoas directamente envolvidas em impregnar

grandes números de mosquiteiros correm um maior risco do que as pessoas que apenas tratam dos seus mosquiteiros ocasionalmente. O uso de luvas de borracha é essencial. Devem ser utilizadas máscaras para a boca e nariz quando se impregna grandes quantidades de mosquiteiros, especialmente com formulações de concentrado para emulsão.

A2.5 Quando aplicar o insecticida

Deve ser prestada uma atenção especial aos sistemas de distribuição de mosquiteiros e às renovações de tratamento periódicas com insecticida. As actividades do programa de controlo do paludismo devem ser adaptadas ao método de distribuição, quando esta opção de controlo dos vetores é adoptada.

Um dos principais problemas é a criação de ciclos funcionais periódicos de renovação de tratamento com base nas necessidades epidemiológicas, no efeito residual das formulações em materiais diferentes e nos hábitos da população no que toca à lavagem dos seus mosquiteiros.

É necessária a maior protecção durante a época de transmissão ou durante o seu pico, onde a transmissão é duradoura. Quando os programas de controlo têm um papel activo na distribuição de mosquiteiros, sejam gratuitos ou subsidiados, a renovação do tratamento é normalmente realizada em eventos especiais, como a Semana (ou Dia) Nacional Anti-Paludismo ou no Dia da Saúde. A distribuição e a renovação do tratamento devem ser programadas, se possível, para assegurar a maior cobertura de mosquiteiros recentemente tratados durante a época de transmissão. Quando a transmissão é realizada por entidades privadas, devem ser organizados eventos oficiais para promover e demonstrar a utilização de MTL, imediatamente antes da estação da transmissão.

A periodicidade da renovação do tratamento deve ter como base as investigações que determinam os reais efeitos residuais do insecticida nas condições de utilização na área em causa (clima, exposição à luz solar directa, quando utilizado no exterior, hábitos de lavagem, etc.) e na sazonalidade da transmissão. Estes estudos devem determinar o melhor método de lavagem dos mosquiteiros, tendo em consideração os efeitos dos sabões locais, a utilização de água quente, as condições de secagem, a frequência das lavagens, etc., que devem ser promovidas através da informação, educação e comunicação, durante o tratamento ou eventos promocionais.

Se os mosquiteiros são vendidos de forma comercial e as pessoas são responsáveis pelo tratamento, os utilizadores devem ser informados que se lavarem os seus mosquiteiros mais frequentemente que o recomendado, então também devem renovar o tratamento mais frequentemente. Sempre que possível, o tratamento com insecticida deve ser fornecido gratuitamente, especialmente aos grupos de pessoas pobres e vulneráveis.

Quando é detectado o risco de uma epidemia iminente, ou durante a fase precoce de uma epidemia, é aconselhável a organização de um evento de renovação de tratamento em áreas onde existe uma cobertura elevada de mosquiteiros tratados, desde que isso não interfira com a implementação de medidas de controlo de emergências.

ANEXO 3

Reconhecimento geográfico

A3.1 Definição, objectivos e âmbito do reconhecimento geográfico

O reconhecimento geográfico pode ser definido como uma operação no terreno que envolve recenseamento, mapeamento e procedimentos de amostra. Pode necessitar o registo da quantidade, tipos, tamanho, qualidade, localização, acessibilidade e outras informações pertinentes sobre as habitações, o hábito e costumes da população local relativamente às necessidades do programa, à presença e localização de locais actuais ou potenciais criadouros de mosquitos, aos hábitos dos mosquitos e quaisquer outras informações consideradas necessárias para o planeamento e a realização de um programa de controlo dos vetores de mosquitos. A recolha desses dados acerca de: população, habitação, comunicação, mapas e informação entomológica e epidemiológica deve anteceder as actividades de controlo.

Os objectivos do reconhecimento geográfico são:

- ▶ determinar o número e localização de habitações e população em risco de contrair a doença e, por isso, a serem incluídas no programa de controlo dos vetores;
- ▶ fornecer uma base para o planeamento das necessidades do programa em termos de equipamento, abastecimentos, transporte e pessoal; e
- ▶ estabelecer a natureza e extensão dos criadouros de mosquitos relativamente aos centros populacionais como base para o planeamento de medidas de controlo de mosquitos, como a utilização de larvicidas e a redução das fontes.

Resumindo, o principal objectivo do reconhecimento geográfico é fornecer a base para o planeamento e realização de um programa de controlo de mosquitos, de modo a incluir pulverização residual das habitações, pulverização espacial utilização de larvicidas e redução das fontes, sempre que apropriado para cada situação individual.

Um objectivo secundário pode ser a educação sanitária. Esta é uma excelente oportunidade para realizar uma campanha de relações públicas e de educação, de modo a assegurar a compreensão e cooperação das pessoas. Se for realizado correctamente, o reconhecimento geográfico pode ser bastante útil para a maior parte dos outros programas de saúde. O âmbito do reconhecimento geográfico varia de país para país e de programa para programa, dependendo da natureza do problema e dos recursos disponíveis. Nos programas de controlo/eliminação do paludismo, a principal necessidade é que a informação sobre as habitações facilite o programa de pulverização residual e a informação sobre as pessoas facilite a detecção de casos e o programa de tratamento. Estas necessidades aplicam-se aos programas de controlo do paludismo e aos programas de controlo de outras doenças vectoriais. No entanto, com a actual abordagem ao controlo dos vetores, i.e., um controlo de vetores abrangente que utilize todos os métodos disponíveis num programa integrado, o âmbito necessário do reconhecimento geográfico é muito mais amplo.

Para satisfazer adequadamente as necessidades de um programa desses, o reconhecimento geográfico deve incluir:

- ▶ A recolha e análise de dados epidemiológicos e entomológicos pertinentes, de modo a definir a área em risco de contrair a doença.
- ▶ A preparação de mapas que mostrem a localização de habitações e meios de acesso (estradas e caminhos).
- ▶ Numerar as habitações num cartão nelas afixado e rubricado por todas as pessoas que realizam visitas oficiais à habitação para efeitos de supervisão. Embora este sistema tenha sido abandonado em muitos países durante o processo de conversão de erradicação para controlo do paludismo, continua a ser o melhor sistema de supervisão desenvolvido até hoje e é apropriado para qualquer programa de saúde que envolva um contacto repetitivo com os habitantes nas suas casas.
- ▶ Identificação e mapeamento das fontes de mosquitos em relação às aldeias.

O resultado do reconhecimento geográfico deve estar disponível na sede onde têm lugar o planeamento e gestão administrativa das actividades de controlo de mosquitos. Estes resultados devem também estar disponíveis na periferia, para os supervisores das operações de campo. Devem ser feitas cópias suficientes dos mapas, de modo a serem utilizados tanto pelos operadores como pelos supervisores. O reconhecimento geográfico, e em especial os mapas, devem ser actualizados em intervalos regulares, de preferência todos os anos.

Está disponível, a partir de várias fontes em cada país, muita informação valiosa para o desenvolvimento do reconhecimento geográfico. Podem estar disponíveis mapas adequados a partir de muitas dessas fontes. Essas fontes de informação incluem:

- ▶ Departamento de Recenseamento e Estatísticas
- ▶ Ministério da Saúde
- ▶ Ministério da Educação
- ▶ Ministério da Habitação ou do Interior
- ▶ Departamento ou Empresas de Correios e Telégrafos
- ▶ Departamento do Governo Autónomo Local ou de Assuntos Municipais
- ▶ Departamento de Habitação
- ▶ Inspector-Geral
- ▶ Departamento de Obras Públicas
- ▶ Departamento de Irrigação
- ▶ Ministério da Alimentação ou da Agricultura
- ▶ Ministério do Trabalho
- ▶ Ministério do Comércio
- ▶ Forças Armadas
- ▶ Departamento de Serviços de Informação e Publicidade
- ▶ Ministério do Planeamento ou da Indústria
- ▶ Ministério das Comunicações
- ▶ Recursos Hídricos ou Departamento de Utilidade
- ▶ Câmara de Comércio
- ▶ Preocupações do sector privado – bebidas engarrafadas, combustível, etc.

- ▶ Atlas e almanaques
- ▶ Sociedades geográficas
- ▶ Organizações internacionais
- ▶ Bibliotecas Públicas
- ▶ Particulares

A3.1.1 Mapas para o controlo de mosquitos

Um mapa é uma representação espacial de uma área. Mostra características naturais e artificiais através de símbolos, linhas, cores e códigos. Os mapas são essenciais para o planeamento, realização, supervisão e avaliação de programas de controlo de doenças vetoriais.

Antes de se começar a preparar mapas para propósitos de controlo dos vetores, deve ser feita uma tentativa de reunir todos os mapas e fotografias aéreas que estejam disponíveis noutras agências governamentais, organizações internacionais e fontes comerciais, como os mapas do Google.

A3.1.2 Tipos de mapas necessários para um programa de controlo de doenças vetoriais

a. O mapa do projecto deve abranger toda a área em que estejam planeadas as actividades de controlo dos vetores. Para os países pequenos, isto pode significar apenas um mapa. Os países grandes podem necessitar de um mapa de projecto separado para cada estado, província, distrito ou até subdistrito. Em anteriores programas de erradicação do paludismo, foram criadas fronteiras de zonas, sectores, unidades ou subunidades, em resposta ao problema do paludismo, tendo sido muitas vezes ignoradas as fronteiras políticas. Com a transformação numa estratégia de controlo, muitos países ajustaram as suas unidades operacionais de modo a serem mais consistentes com as realidades políticas. O futuro planeamento de programas de controlo de doenças vetoriais em coordenação com os cuidados de saúde primários devem utilizar distritos ou quaisquer outras subdivisões políticas apropriadas para estabelecerem áreas de actividade operacional.

Os mapas adequados para a conversão em mapas de projecto na escala apropriada devem estar prontamente disponíveis de outras fontes governamentais, mas podem necessitar ser rastreados ou redesenhados, de modo a eliminar detalhes desnecessários. Para além das características geográficas normais, estes mapas devem mostrar as áreas problemáticas do paludismo ou qualquer outra doença vetorial que estejam sujeitas às várias actividades de controlo e as áreas de responsabilidade de supervisão para o controlo de doenças e para os serviços de saúde. A informação epidemiológica e entomológica pode ser incluída, assim como qualquer outra informação pertinente para facilitar a compreensão do problema e o controlo da situação.

De modo a preparar um mapa de projecto, a pessoa responsável deve primeiro tentar obter um mapa razoavelmente preciso e detalhado da comunidade e arredores. Esse mapa deve ser ampliado a uma escala conveniente, de modo a que as características importantes que são necessárias possam ser copiadas. Por exemplo, o mapa topográfico oficial do distrito, à escala 1:25 000, onde o projecto está localizado, mostra as ruas da aldeia, as áreas florestadas e cultivadas, alguns dos edifícios e os rios ou riachos. Não é mostrado um esquema de irrigação que foi construído desde que o mapa foi impresso, mas este pode ser um marco. Os mapas bons

são simples, claros e mostram aproximadamente as principais características da localidade numa posição relativa correcta umas em relação às outras. As principais características necessárias para um mapa de projecto de controlo de mosquitos são os cursos de água (com as direcções) e os nomes dos pântanos ou zonas pantanosas, florestas e campos, montes e cordilheiras, ruas e caminhos. Também devem estar incluídos os marcos construídos, como as linhas ferroviárias, canais, linhas eléctricas, tanques de água e edifícios de todos os tipos, classificados de acordo com o seu uso.

Quadro An3.1 Escala dos mapas

“A” Pequena escala

Escala	1 cm igual a	1 polegada igual a	1 milha igual a	1 km igual a
1:500 000	5 km	7,89 mi	0,127 pol	0,2 cm
1:100 000	10 km	15,78 mi	0,063 pol	0,1 cm

“B” Escala média

Escala	1 cm igual a	1 polegada igual a	1 milha igual a	1 km igual a
1:50 000	0,5 km	0,789 mi	1,27 pol	2,0 cm
1:63 360	0,634 km	1,0 mi	1,00 pol	1,58 cm
1:75 000	0,75 km	1,18 mi	0,845 pol	1,33 cm
1:100 000	1,0 km	1,58 mi	0,834 pol	1,00 cm
1:250 000	2,5 km	3,95 mi	0,253 pol	0,4 cm

“C” Grande escala

Escala	1 cm igual a	1 polegada igual a	1 milha igual a	1 km igual a
1:5000	5 m	13,9 jar	10,56 pés	2 cm
1:1000	10 m	27,8 jar	63,36 pol	100 cm
1:2000	20 m	55,6 jar	31,88 pol	50 cm
1:3.168	31,7 m	0,05 mi	20,0 pol	31,7 cm
1:5000	50 m	139 jar	12,67 pol	20 cm
1:10 000	100 m	0,158 mi	6,54 pol	10 cm
1:20 000	0,2 km	0,316 mi	3,17 pol	5 cm
1:25 000	0,25 km	0,395 mi	3,64 pol	4 cm
1:31 680	0,317 km	0,5 mi	2,0 pol	3,17 cm

Nota: 1 mi = 63,360 pol e 0,05 mi = 105,6 jar

b. Os mapas operacionais necessários para o controlo de vetores dos mosquitos são de dois tipos:

- ▶ *Um mapa da aldeia* que mostra toda a população (e não apenas a aldeia como uma entidade política) numa determinada área, como um distrito ou subdistrito. Para além da aldeia, o mapa deve também mostrar todas as estradas de acesso às aldeias, os riachos, lagos, lagoas, pântanos, localização de todas as instituições de saúde e números populacionais relativamente à mais pequena subdivisão política possível. Este mapa é para ser utilizado pelo supervisor a nível do distrito ou subdistrito, de modo a permitir-lhe realizar o planeamento necessário, realizar a supervisão das operações de campo e avaliar o estado do programa. Os mapas distritais da aldeia podem estar em escalas de 1:25 000 a 1:50 000 ou até maior, dependendo do tamanho da área a ser abrangida.

- ▶ *Um esboço cartográfico da localidade*, que mostra a localização das habitações individuais numa determinada localidade relativamente às estradas e criadouros dos mosquitos. Este mapa fornece a base para a criação de itinerários dos trabalhadores de campo que distribuem mosquiteiros ou das equipas que realizam uma pulverização residual das habitações, espaços ou larvicidas e, juntamente com o mapa do distrito, pode ser utilizado para planear projectos de redução das fontes.

O esboço cartográfico da localidade varia normalmente na escala de 1:500 a 1:5000, dependendo da distribuição das habitações, mas não é essencial uma escala precisa. No entanto, a localização e numeração das habitações devem estar claramente identificáveis e as estradas e fontes de mosquitos devem estar precisas o suficiente, de modo a serem facilmente localizadas. Devem ser preparadas várias cópias destes mapas, para que um esteja sempre disponível para os supervisores, um para o chefe de equipa e, sempre que necessário, um para os trabalhadores individuais. Estes mapas devem ser actualizados de forma contínua, à medida que forem construídas novas habitações, as velhas são abandonadas e as fontes de mosquitos mudem.

A3.1.3 Equipamento necessário para um agente de reconhecimento geográfico:

- ▶ Prancheta ou estirador portátil (40 x 30 cm)
- ▶ Régua (divisão por mm) com 30 cm de comprimento
- ▶ Bússola de bolso simples (de preferência, presa ao estirador)
- ▶ Pioneses ou elásticos (para prender a folha de desenho ao estirador)
- ▶ Vareta de medição de casas, de madeira (1,5 ou 2 m de comprimento) ou fita métrica
- ▶ Equipamento de pintura e pincel (ou tachas, pregos e martelo)
- ▶ Mochila
- ▶ Cola, para fixar o cartão da habitação
- ▶ Folhas de desenho (20 x 30 cm)
- ▶ Registos do reconhecimento geográfico

O procedimento para fazer o esboço cartográfico é o seguinte:

1. Devem ser feitas várias visitas à área, de modo a obter um conhecimento geral da topografia local, servindo de guia para o planeamento. É dada especial atenção à descoberta de fronteiras facilmente identificáveis e marcos reconhecíveis.
2. Para determinar a escala, deve-se primeiro conhecer o tamanho da área a ser mapeada, tanto o seu comprimento máximo de norte a sul, como de este a oeste. Isto descobre-se a percorrer as duas dimensões tanto dentro da área ou, se não for possível, fora dela. Estas duas dimensões podem ser chamadas de C e L, e o comprimento utilizado no papel de “c” e a largura “l”. As medidas Cc e Ll são calculadas e a escala mais pequena das duas é utilizada para decifrar a escala do mapa.

3. O comprimento do passo do mapeador deve ser calibrado. Isso faz-se percorrendo uma dada distância, por exemplo 100 m em terreno plano e calculando o comprimento médio do passo. Uma simples bússola de bolso deve ser presa ao estirador e a linha do norte desenhada num dos cantos do esboço, paralela ao lado mais curto do papel, caso a dimensão norte-sul da localidade seja a mais pequena, ou paralela ao lado mais comprido, caso a dimensão norte-sul seja a maior. Em alternativa, pode ser utilizado um Sistema Global de Posicionamento (GPS) para determinar as coordenadas geográficas em qualquer ponto do mapa ou para traçar a posição de uma linha, como as margens de um rio ou uma estrada.

Primeiro é feita uma estrutura, onde são colocados os detalhes. Os limites da área podem ser estradas, rios, linhas ferroviárias, canais ou outras características. Dentro dos limites, a área pode ser atravessada por trilhos, caminhos, ruas, delimitações de produção, riachos, etc. Todas estas características serão traçadas como linhas no mapa. As características importantes que delimitam e atravessam a área devem ser seleccionadas, devendo ser desenhadas em primeiro lugar para fornecer uma estrutura. A vantagem de desenhar uma estrutura é que uma vez que estas linhas são desenhadas suavemente a lápis e não existem outros detalhes confusos, os erros no seu mapeamento podem ser corrigidos antes do preenchimento dos detalhes. Por isso a regra é: ESBOÇO primeiro, DETALHE depois.

A3.1.4 Reprodução

Quando é feita uma grande quantidade de reprodução, é justificado o fornecimento de um computador com impressora. A fotocopiadora pode fazer cópias de traços feitos a lápis ou caneta, se estiver disponível. O tracejado original deve ser cuidadosamente guardado na caixa do mapa. Os mapas pequenos podem ser reproduzidos por uma fotocopiadora.

A3.1.5 Localização e registo dos habitats dos mosquitos

As várias espécies de mosquitos que infestam uma comunidade têm locais típicos para reproduzirem, voarem e repousarem, e também estações e alturas do dia preferidas para as suas actividades. Ter conhecimento destes locais e horários constitui o ponto de partida para o responsável pelo projecto (e para o pessoal e voluntários) localizar os habitats dos mosquitos (larvas e adultos) e monitorizar as alterações ocorridas durante o projecto.

No início do projecto, e em diferentes alturas do ano, deve ser feita uma tentativa para localizar e numerar todos os criadouros ao ar livre, assim como para estimar as superfícies de água correspondentes em m² ou hectares, que podem ter de ser tratadas com larvicida, e por fim assinalá-las com sinais e símbolos distintivos tanto no terreno (se possível) como no mapa do projecto. O reconhecimento geográfico dos criadouros ao ar livre deve ser realizado em alturas diferentes do ano. O número do local de reprodução no sinal e no mapa deve ser pintado com uma cor característica (por exemplo, vermelho) e incluído num símbolo característico (por exemplo, um círculo vermelho). Pode ser utilizada uma haste de madeira de 1,5 ou 2m de comprimento, pintada alternativamente de preto e branco para mostrar comprimentos de meio metro, de modo a estimar a largura de pequenas superfícies e canais; grandes superfícies podem ser medidas percorrendo o comprimento e a largura.

Quando são descobertos novos criadouros durante o projecto, estes devem ser numerados consecutivamente no terreno (se possível) e no mapa. Todos os usos de larvicidas e todas as buscas por larvas devem ser identificados em relatórios de projectos com o número do criadouro.

Os locais onde os mosquitos adultos estão activos no exterior, conforme determinado pelas taxas ou observações de aterragem, devem ser identificados em alturas diferentes do dia e em estações diferentes, assim como para espécies diferentes. Estes locais exteriores devem ser identificados e numerados no terreno e num mapa de projecto separado através de sinais e símbolos característicos, como um número vermelho num triângulo vermelho invertido. O registo deve ter a data, hora, espécie e densidade. Os novos locais descobertos, à medida que o projecto avança, devem ser numerados consecutivamente e também no mapa. Todas as pulverizações dos espaços exteriores e todas as capturas de adultos devem ser identificadas nos relatórios de projecto com os números dos locais.

Os locais de repouso dos mosquitos devem ser identificados, idealmente antes de se tomar quaisquer medidas relativamente a insecticidas, ou pelo menos antes do início das operações residuais adulticidas. As buscas devem ser feitas através da captura manual ou trazendo uma amostra representativa de casas habitadas, das paredes, vigas, tectos, debaixo da mobília e em abrigos de animais. As buscas também devem ser feitas, se possível, em todos os edifícios não habitados, como escolas, escritórios, lojas e abrigos temporários remotos. Devem ser procurados mosquitos em repouso sob galerias e pontes na área do projecto e numa amostra representativa de poços, cisternas, fossas, fossas cépticas, tubos de drenagem e bacias colectoras. Todos os locais de repouso dos mosquitos fora das habitações e edifícios devem ser identificados e numerados no terreno e num mapa, com sinais e símbolos característicos. O registo dos locais de repouso deve mostrar o número exterior do local de repouso ou o número da habitação, a data, hora, espécie e densidade, o tipo de superfície (i.e. pedra, cimento, gesso, lama, madeira, palha) e a superfície pulverizável estimada dos locais de teste em m². Os novos locais exteriores de repouso devem ser numerados em série e assinalados no terreno e no mapa. Deve ser prestada especial atenção às alterações nos locais de repouso que ocorrem em habitações e outras estruturas pulverizadas, de modo a verificar se os adultos repousam em superfícies que evitaram anteriormente.

Devem ser utilizados mapas separados para registar: (i) criadouros e de utilização de larvicidas; (ii) locais de voo e utilização de adulticidas no espaço exterior; e (iii) locais de repouso e utilização de adulticidas residuais. Os quadros An3.2, An3.3 e An3.4 são exemplos de formulários que podem ser utilizados para registar os criadouros, locais de voo e locais de repouso, assim como as superfícies estimadas correspondentes. Esses mapas e registos são úteis na fase de planeamento e para a verificação e avaliação de medidas de controlo. Os mapas sazonais irão mostrar como está a ser desenvolvido o trabalho.

O registo de demasiada informação num único mapa pode levar a confusão. Podem ser indicados mapas separados para as fontes de mosquitos, pulverização residual, utilização de larvicidas e pulverização dos espaços. Uma melhor solução seria preparar um único mapa básico com um conjunto de folhas protectoras transparentes para cada uma das categorias.

A3.1.6 Localização e registo dos habitats humanos

Os locais utilizados por pessoas da comunidade para viverem e trabalharem devem ser numerados e localizados no esboço cartográfico para eventuais operações adulticidas. Devem ser obtidas, com base numa amostragem, as medidas das superfícies pulverizáveis e a informação sobre os materiais utilizados para a construção das habitações.

A3.1.7 Numeração das habitações

Um bom sistema de numeração de habitações é aquele que conduz de uma habitação para a seguinte com o mínimo de esforço. Os números das habitações devem começar do 1 em cada localidade e devem seguir em série. A numeração pode começar a partir da entrada principal da localidade e avançar numa dada direcção. O público deve ser informado relativamente ao objectivo da numeração e deve ser pedido o seu consentimento, de modo a assegurar a sua cooperação. A decisão fica totalmente ao critério do indivíduo e não deve ser feita pressão para persuadir o ocupante a concordar com a colocação do número.

Nas habitações agrupadas em blocos irregulares, deve reconhecer-se no estirador, em primeiro lugar, todos os blocos traçados e só depois numerar as habitações seguindo o sistema mais conveniente.

Para as habitações dispersas, devem ser traçados as ruas e caminhos da localidade, antes da numeração. As habitações podem ser numeradas ao mesmo tempo que são localizadas, seguindo um itinerário lógico.

O número dado à habitação deve estar visível na entrada principal. Um “cartão de visita da habitação” ou “cartão de controlo dos mosquitos” deve ser colocado ou entregue aos proprietários da habitação na altura do reconhecimento (ver Quadro An.3.5). O cartão é recomendado para facilitar a supervisão de todas as operações e também como um seguro contra a perda ou remoção do número.

Às novas habitações construídas após o mapeamento inicial podem ser dados números hifenizados, como anexos à habitação mais próxima. Uma nota no esboço cartográfico irá indicar o número total de habitações. As habitações destruídas, ou sem ocupantes, ou aquelas em que os ocupantes recusaram a pulverização, devem estar identificadas no esboço cartográfico da localidade durante o ciclo de pulverização, riscando o número e colocando um “D” a lápis, para que o escritório faça as correcções. Deverá também ser completo um formulário de registo separado para essas habitações (assim como para as novas habitações).

A3.1.8 Medição das superfícies pulverizáveis das habitações

A análise de uma amostra representativa de habitações relativamente a locais de repouso dos mosquitos irá determinar quais as superfícies a serem incluídas caso seja realizado um adulticida residual. Com base nestas decisões, o total de superfícies pulverizáveis na comunidade deve ser estimado com base numa amostra. Estas superfícies são a base do planeamento operacional, incluindo a quantidade necessária de insecticida, número de operadores de pulverização e supervisores, número de pulverizadores, equipamento de mistura e de protecção e o transporte necessário.

As superfícies pulverizáveis nas habitações escolhidas são medidas divisão a divisão e registadas em formulários (Quadro An3.6). Normalmente, o trabalhador de campo recebe uma fita métrica para determinar as dimensões da divisão. Uma haste de medição alternativa, feita de madeira leve

com 1,5 ou 3m de comprimento, pode ser marcada em intervalos de meio metro e o último meio metro será dividido por pontos de 10 cm, com marcações a tinta vermelha e branca. O trabalho é feito da forma mais conveniente em equipas de duas pessoas, com uma a fazer as medições e a outra a registá-las no formulário e num caderno. As superfícies pulverizáveis são compostas por formas geométricas como rectângulos, triângulos, sectores de círculos, cones e esféricos; todas estas superfícies podem ser calculadas com precisão a partir de fórmulas bem conhecidas.

O procedimento normal para medir a superfície pulverizável de uma divisão é primeiro medir as dimensões principais dessa divisão e estimar a área da parede e tecto, como se não tivessem irregularidades; a seguir deve-se medir as portas e janelas abertas, alcovas e armários e calcular mais ou menos as suas áreas; e por último deve-se medir a mobília pulverizável e estimar a sua área. Nos casos onde as áreas de base de uma divisão constituem a maior parte da superfície pulverizável, as restantes superfícies pulverizáveis podem ser estimadas como percentagem da área de base da divisão. A área pulverizável de cada divisão deve ser registada com um arredondamento à meia casa decimal mais próxima. As áreas pulverizáveis de todas as divisões da habitação são depois somadas e registadas no formulário e no cartão de controlo de mosquitos da habitação, juntamente com a data.

Em algumas situações pode ser obtida informação especial acerca da existência de tectos elevados que obrigue à utilização de extensores, por parte das equipas de pulverização.

A3.1.9 Medição dos volumes pulverizáveis das habitações

Em projectos onde seja usado um adulticida em espaços interiores e onde o projecto forneça o insecticida (em vez dos proprietários da habitação), será necessário uma estimativa dos “volumes pulverizáveis”. Caso se pretenda pulverizar todas as divisões, o volume da habitação pode ser estimado através de passos para a largura e comprimento e estimando a altura a olho nu, pelo que

$$\text{Volume da habitação} = \text{largura} \times \text{comprimento} \times \text{altura}$$

Se apenas forem pulverizados a sala e os quartos, estes devem ser medidos separadamente. É de salientar que em projectos onde as divisões já foram medidas relativamente à utilização de adulticida residual nas paredes e tectos, os volumes das divisões em m^3 aproximam-se de dois terços das superfícies pulverizáveis em m^2 . Por exemplo, numa divisão 4×3 e com 2,5 de altura, as paredes e tecto têm uma superfície de 47 m^2 e o volume da divisão é de 30 m^3 : $(2/3) 47 = 31,3$.

A3.1.10 Recenseamento da população

Esta informação pode já estar disponível. Se não estiver, deve ser registada quando as habitações estiverem a ser registadas. Outras informações podem também ser registadas, num formulário separado, relativamente à utilização de mosquiteiros de cama, repelentes, pulverização de espaços, hábitos de dormir no exterior e a frequência com que a casa é pintada.

A3.1.11 Definição da área de projecto

O derradeiro objectivo do reconhecimento geográfico é determinar a área a ser incluída num programa de controlo dos vetores de mosquitos e fornecer uma base para o desenvolvimento de um plano de ação anual que ofereça informação sobre quais os métodos de controlo de mosquitos a utilizar onde, quando e por quem.

A área de projecto pode estar sujeita a limitações arbitrárias, caso seja planeada juntamente com um projecto de desenvolvimento hídrico, um acantonamento militar, uma comunidade ou grupo de comunidades específicos, uma área urbana específica ou áreas ou plantações agrícolas. É relativamente fácil estabelecer limites para esses projectos em parte com base no interesse próprio. Essas entidades podem estar tão preocupadas com a praga dos mosquitos como estão com a ameaça de doenças transmitidas por mosquitos.

No entanto, na maior parte dos países o controlo das doenças vetoriais é da preocupação do governo e é realizado pelos serviços de saúde locais, com orientações técnicas em alguns casos, ajuda do Estado, governo regional ou central. Mesmo nos países com programas verticais ou semiautónomos de paludismo ou de controlo dos vetores de longa data, existe um forte movimento com vista à sua integração nos serviços gerais de saúde ou, pelo menos, no desenvolvimento de uma estreita coordenação entre o trabalho de campo e de laboratório. Existe também a tendência para partilhar os serviços dos trabalhadores voluntários a nível da aldeia, especialmente no desenvolvimento de cuidados de saúde primários, através da participação da comunidade.

Uma vez que o ministério da saúde e os serviços de saúde locais estão preocupados com a saúde de todas as pessoas na sua jurisdição, a criação de limites para as actividades de controlo de mosquitos deve ter como base a população em risco de contrair a doença transmitida por mosquitos. No caso do paludismo, os programas de controlo já têm uma experiência considerável. Estão incluídas quaisquer áreas onde a transmissão indígena do paludismo pode ser demonstrada. Isto é viável ao abrigo de uma estratégia de controlo do paludismo. Devido à limitação do orçamento, as autoridades devem primeiro tomar uma decisão sobre qual o nível aceitável de incidência de paludismo. Os inquéritos epidemiológicos e entomológicos são depois utilizados para determinar a natureza e extensão dos riscos para os vários segmentos da população, em todas as áreas de preocupação. Os resultados do reconhecimento geográfico são depois utilizados no desenvolvimento de planos de operações a longo prazo e do plano de ação anual, que devem ser revistos todos os anos, com base na actualização do reconhecimento geográfico.

A3.1.12 Revisão do plano de ação do projecto

Os planos técnicos, financeiros e de ação do projecto têm normalmente como base a estimativa preliminar da extensão da infestação dos mosquitos na comunidade e a informação geral, se possível confirmada através de inquéritos entomológicos e epidemiológicos realizados na área do projecto. Após o reconhecimento geográfico ter sido feito e os mapas tenham sido estudados, em colaboração com os funcionários de controlo dos vetores, podem ser desejáveis algumas alterações ao plano original. Se essas alterações envolverem a necessidade de recursos adicionais, estes terão de ser aprovados pela comunidade e pelos serviços governamentais que colaboram. O responsável pelo projecto deve submeter o reconhecimento geográfico preenchido juntamente com as recomendações à comunidade para as alterações ao plano de acção, com uma cópia para o serviço central de controlo dos vetores. Assim que as alterações recomendadas tenham sido aprovadas, o projecto deve avançar e obter rapidamente as provisões necessárias e procurar formar os operadores e voluntários necessários.

O reconhecimento geográfico não acaba com o início das medidas de controlo, uma vez que os mapas e dados devem estar constantemente a ser revistos. Novas construções, habitações destruídas, alterações na localização de cabanas de verão ou tendas de nómadas, novas fontes

de água, novas estradas, novas instalações governamentais ou outras, todas devem ser registadas tanto nos relatórios como nos mapas. Além disso, podem existir algumas alterações observadas nos hábitos dos mosquitos, na resistência aos insecticidas, etc., e por isso a revisão periódica do plano de ação do projecto e a actualização dos mapas operacionais são essenciais, de modo a atingir um controlo químico eficaz.

Quadro An3.2 Registo do reconhecimento geográfico dos criadouros dos mosquitos

Data	Hora	Número do criadouro	Descrição (tipo de superfície da água)	Tamanho m ² ou ha	Positivo para as espécies:	Densidade

Quadro An3.3 Registo do reconhecimento geográfico dos locais de voo dos mosquitos

Data	Hora	Número do local de voo	Descrição	Tamanho m ² ou ha	Positivo para as espécies:	Densidade

Quadro An3.4 Registo do reconhecimento geográfico dos locais de repouso dos mosquitos

Data	Hora	Número da habitação ou local exterior de repouso	Descrição	Positivo para as espécies:	Densidade

Quadro An3.5 Cartão de controlo dos mosquitos das habitações

Comunidade Número da habitação.....

Superfície pulverizável m²

Data	Actividade	Assinatura

Quadro An3.6 Registo do número e das medidas da habitação

Habitação Nº.	Número de ocupantes	Nome do proprietário da habitação	Áreas da divisão (m ²)										Total pulverizável	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		

ANEXO 4

Protocolo para determinar a suscetibilidade dos mosquitos adultos aos insecticidas: Ensaio biológico da OMS

A4.1 Introdução

Os insecticidas têm um papel importante no controlo de doenças vectoriais. No caso do paludismo, por exemplo, são utilizados para o tratamento de mosquiteiros e outros materiais e para a pulverização residual intradomiciliar. A Organização Mundial da Saúde recomenda quatro classes de insecticidas para este efeito em programas de saúde pública: piretróides, organoclorados, organofosforados e carbamatos.

Os programas contínuos e a longo prazo de controlo dos vetores, com base em aplicações repetidas de insecticidas, irão seleccionar genes resistentes na população de vetores do paludismo. Um dos critérios essenciais na escolha de um insecticida é a suscetibilidade dos vetores do paludismo na área dos insecticidas. O objectivo do teste de suscetibilidade é detectar a presença de resistência na população o mais cedo possível, de modo a que os programas nacionais de controlo realizem medidas preventivas para gerir a resistência aos insecticidas.

A4.2 Concentrações discriminatórias de insecticidas contra mosquitos adultos

As concentrações discriminatórias ou as concentrações (ou dosagens) de diagnóstico de insecticidas são normalmente utilizadas para detectar e monitorizar a resistência dos mosquitos a insecticidas. Estas concentrações foram determinadas em condições laboratoriais padronizadas para todos os insecticidas a serem actualmente utilizados em programas de controlo de paludismo, sendo utilizadas estirpes ou populações conhecidas como “susceptíveis” de várias espécies de vetores de mosquitos. As espécies anofelíneas utilizadas foram *An. aconites*, *An. albimanus*, *An. arabiensis*, *An. dirus*, *An. freeborni*, *An. gambiae s.s.*, *An. maculatus*, *An. minimus* e *An. stephensi*.¹ Como parte dos kits de teste fornecidos pela OMS, são fornecidos papéis já impregnados com insecticida nas concentrações discriminadas apropriadas. De modo a garantir que todos os mosquitos susceptíveis são mortos, a concentração discriminada para um determinado insecticida e a espécie de mosquito foram definidos numa de duas formas, isto é, ou:

- ▶ duas vezes a concentração mais baixa que teve como resultados sistemáticos 100% de mortalidade após 60 minutos de exposição e um período de manutenção de 24 horas numa estirpe ou população susceptíveis; ou
- ▶ duas vezes o LC99,9 determinado pela suscetibilidade de base de uma estirpe ou população susceptíveis. A suscetibilidade de base é obtida através da exposição de conjuntos de mosquitos a diferentes concentrações durante 60 minutos e um período de manutenção de 24 horas e através do ajuste dos resultados a um modelo log-probit.

¹ Procedimentos de teste para a monitorização dos mosquitos vectores do paludismo relativamente à resistência aos insecticidas. Genebra, Organização Mundial da Saúde, 2013. Disponível em <http://www.who.int/malaria/publications/en/2>.

O Quadro An4.1 resume as concentrações discriminatórias de insecticidas utilizadas mais frequentemente no controlo dos vetores e/ou para propósitos de investigação (por exemplo, dieldrina) para os mosquitos adultos.¹

Quadro An4.1 Concentrações discriminatórias de insecticidas para mosquitos anofelíneos adultos²

Classes de insecticidas	Insecticidas	Concentrações discriminatórias (períodos de exposição de 1 hora)
Organoclorados	DDT	4%
	Dieldrina ^a	0,4% 4%
Organofosforados	Malatião	5%
	Fenitrotião ^b	1%
	Pirimifós-metílico ^{c,d}	0,25%
Carbamatos	Propoxur	0,1%
	Bendiocarbo	0,1%
	Carbossulfão ^{c,e}	0,4%
Piretróides	Permetrina	0,75%
	Deltametrina	0,05%
	Lambda-cialotrina	0,05%
	Ciflutrina	0,15%
	Etofenproxe	0,5%
	Alfa-cipermetrina	0,05%
	Bifentrina	0,2%
Pirrolos	Clorfenapir ^{c,f}	5%
Fenilpirazóis	Fipronil ^{c,g}	2%

^a Exposição a dieldrina a 0,4% mata todos os indivíduos suscetíveis mas não os heterozigotos resistentes, enquanto a exposição a dieldrina a 4% mata os heterozigotos resistentes mas não os homozigotos resistentes.

^b Exposição de duas horas.

^c Provisório; a ser confirmado pelo Esquema de Avaliação de Pesticidas da OMS (WHOPES).

^d Com base em dados da indústria não publicados, 2006

^e Com base em dados publicados por N'Guessan et al. (2003)³ e Ahoua Alou et al. (2010).⁴

^f Com base nos dados publicados por Raghavendra et al. (2011).⁵

^g Com base nos dados publicados por Kolaczinski & Curtis (2001)⁶ e Brooke et al. (2000).⁷

¹ WHO 1998. Discriminating concentrations for adult mosquitos (one hour exposure – WHO/CDS/CPC/MAL/98.12 and WHO Technical Report Series 818) – http://www.who.int/whopes/resistance/en/Diagnostic_concentrations

² *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitos*. Geneva, World Health Organization. <http://www.who.int/paludismo/publications/atoz/9789241505154/en/index.html>

³ N'Guessan R et al. Resistance to carbosulfan in *Anopheles gambiae* from Ivory Coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase, *Medical and Veterinary Entomologia*, 2003, 17(1):19–25.

⁴ Ahoua Alou LP et al. Distribution of ace-1R and resistance to carbamates and organophosphates in *Anopheles gambiae* s.s. populations from Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*, 2010, 9:167.

⁵ Raghavendra K et al. Chlorfenapyr: a new insecticide with novel mode of action can control pyrethroid resistant malaria vectors. *Malaria Journal*, 2011, 10(1):16.

⁶ Kolaczinski J and Curtis C. Laboratory evaluation of fipronil, a phenylpyrazole insecticide, against adult *Anopheles* (Diptera: Culicidae) and investigation of its possible cross-resistance with dieldrin in *Anopheles stephensi*. *Pest Management Science*, 2001, 57(1):41–45.

⁷ Brooke BD, Hunt RH, Coetzee M. Resistance to dieldrin + fipronil assort with chromosome inversion 2La in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Medical and Veterinary Entomology*, 2000, 14(2):190–194.

A4.3 Equipamento e material

A4.3.1 Conteúdos do kit de teste

12 tubos de plástico (125 mm de comprimento e 44 mm de diâmetro), onde cada tubo está equipado numa extremidade com uma tela ou rede de malha tamanho 16 num. Os 12 tubos incluem:

- ▶ Quatro marcados por um **ponto vermelho** para serem utilizados como tubos de exposição, i.e. para exporem os mosquitos aos papéis impregnados com insecticida;
- ▶ Dois marcados por um **ponto amarelo** para serem utilizados como tubos de controlo, para exporem os mosquitos aos papéis de controlo tratados com óleo, i.e. sem insecticidas;
- ▶ Seis marcados por um **ponto verde** para serem utilizados como tubos de repouso, para a triagem anterior ao teste e a observação pós-exposição;
- ▶ Seis unidades de lâminas, cada uma com uma tampa de rosca em cada lado e com um orifício de 15 mm para o enchimento;
- ▶ 40 folhas de papel limpo (12x15 cm), para revestir os tubos de repouso;
- ▶ 12 molas, 6 de aço e 6 de cobre, para segurarem os papéis às paredes dos tubos; as 6 de aço são utilizadas com os tubos de repouso marcados com os pontos verdes e as 6 de cobre são utilizadas com os 4 tubos de exposição assinaladas com o ponto vermelho e os dois tubos de controlo assinalados com o ponto amarelo;
- ▶ Dois tubos de sucção de vidro ou plástico com 12 mm de diâmetro interno, juntamente com 60 cm de tubagem e bocais;
- ▶ Um rolo de fita auto-adesiva ou uma folha de etiquetas;
- ▶ Folha de instrução e 20 cópias do formulário do relatório;
- ▶ 3 folhas de papéis log-probit para traçar a linha de regressão para o cálculo do LT50, utilizando tempos variáveis com uma concentração constante;
- ▶ Um contador para contar os mosquitos à medida que são colocados nos tubos;
- ▶ Os papéis impregnados com insecticida com uma concentração discriminatória de um dado insecticida são empacotados em caixas de plástico; cada caixa contém 8 papéis (ver Figura An4.1).



Figura An4.1 Equipamento para o teste de suscetibilidade com uma caixa de papel impregnado com insecticida

A4.3.2 Papéis impregnados com insecticida

Os kits de teste e papéis impregnados são feitos na Universidade Sains Malaysia (Penang, Malásia), em nome da OMS. Os procedimentos e condições para obter estes itens estão especificados no documento da OMS sobre “Provisões para a monitorização da resistência aos insecticidas nos vetores de doenças. Procedimentos e condições” (*Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors. Procedures and conditions*).¹

Apenas são utilizados papéis impregnados nas concentrações discriminatórias para a monitorização de rotina da suscetibilidade aos insecticidas. Os papéis impregnados para cada insecticida na concentração discriminatória são empacotados em caixas de plástico. Cada caixa contém 8 papéis. Os papéis impregnados devem ser armazenados a 4°C. Os papéis devem ser imediatamente colocados nas caixas após serem utilizados, novamente selados cuidadosamente com a fita adesiva e armazenados a 4°C para uso futuro. Baixas temperaturas podem causar a cristalização do insecticida. Deve ser evitado o armazenamento prolongado a temperaturas elevadas. Os papéis não devem ser utilizados após a data de validade exposta na caixa. A data de validade é válida apenas se as caixas estiverem sempre seladas.

Para estabelecer a suscetibilidade de base de uma espécie de mosquitos, os papéis impregnados em concentrações em série podem ser obtidos na Universidade Sains Malaysia, mediante solicitação.

A4.4 Procedimentos e condições de teste

A4.4.1 Condições gerais para os mosquitos serem testados

A idade, estado fisiológico e género dos mosquitos, assim como a temperatura a que a exposição ao insecticida ocorre, pode influenciar os resultados dos testes de suscetibilidade. Por isso, deve ser considerado o seguinte:

- ▶ Idealmente, devem ser testados mosquitos fêmeas que não se tenham alimentado de sangue e cuja idade seja conhecida (3-5 dias após o nascimento). Os mosquitos fêmeas de idades conhecidas podem ser obtidos:
 - ▶ através da recolha de larvas de vários criadouros, de modo a evitar a análise de mosquitos de um único lote de ovos. Os tipos de criadouros podem ser especificados. As larvas do mesmo local e do mesmo tipo de criadouros podem ser agrupados antes do teste. Todos os tipos de criadouros devem ser testados.
 - ▶ a partir da progenitura F1 dos mosquitos fêmeas capturados no exterior. Uma vez que a variabilidade genotípica de um mosquito fêmea é limitada, o número de mosquitos fêmeas apanhados no exterior tem de ser representativo da população (pelo menos 30 conjuntos de ovos, mais se houver uma mistura das espécies).
- ▶ Para as espécies ou locais onde não é possível recolher as larvas, os testes podem ser realizados nos mosquitos fêmeas apanhados no exterior. Neste caso, o seu estado fisiológico (alimentado/não alimentado de sangue, semi-grávido, grávido) deve ser cuidadosamente registado.
- ▶ Para a monitorização da resistência não é recomendado o uso de machos, uma vez que são normalmente mais pequenos, mais frágeis e por isso mais suscetíveis que as fêmeas.
- ▶ Em situações onde coexistem diferentes espécies de mosquitos, é recomendado que as amostras recolhidas do campo sejam identificadas, sempre que possível, ao nível da espécie.

¹ WHO, 2001. *Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors. Procedures and conditions*. WHO/CDS/CPE/PVC/2001.2

A4.4.2 Condições gerais para os procedimentos dos testes

- ▶ Devem ser testados cerca de 100 mosquitos adultos para a detecção de quaisquer insecticidas na concentração de diagnóstico, com 4-5 réplicas de 20-25 mosquitos por cada tubo de ensaio. Quando não é possível recolher este número de mosquitos de uma só vez/num só dia, devem ser realizados vários testes durante alguns dias para chegar a este número. Para além dos mosquitos de teste, devem ser incluídos um mínimo de dois tubos de controlo (50 mosquitos).
- ▶ Os testes devem ser realizados idealmente à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e à humidade relativa (HR) de $80 \pm 10\%$. Os testes nunca devem ser realizados a temperaturas superiores a 30°C .
- ▶ Para as espécies de mosquitos que não são constantemente monitorizadas e/ou não estão disponíveis dados básicos, é necessário estabelecer a suscetibilidade de base.
- ▶ Uma vez que a eficácia dos papéis impregnados diminui com o número de utilizações e o número de mosquitos testados, os papéis não devem ser utilizados mais que 6 vezes, o que corresponde à exposição de 150 mosquitos.

O número de vezes que os papéis impregnados podem ser reutilizados depende do insecticida. O número máximo de vezes é 15 para papéis organoclorados, 10 para papéis organofosforados e carbamatos e 5 para papéis piretróides.

A4.4.3 Procedimento do teste

1. Inserir um pedaço de papel branco limpo (12x15 cm) em cada um dos tubos de repouso. O papel deve ser enrolado num cilindro, de modo a revestir o tubo, e fixado com uma mola (prata). As lâminas devem ser presas aos tubos.
2. Aspirar suavemente as fêmeas adultas da gaiola dos mosquitos. Devem ser utilizadas as fêmeas que não se alimentaram de sangue, 24-48 horas após o nascimento (ver Figura An4.2). Não podem ser recolhidos mais de 5 mosquitos em cada aspiração. Os mosquitos devem ser suavemente colocados no tubo de repouso através da abertura de enchimento (ver Figura An4.3). Inserir um algodão na abertura de enchimento. Encher um tubo de repouso com 15-25 mosquitos. Quando estiver cheio, retirar o algodão e depois fechar a lâmina. Devem ser preparadas pelo menos 4-5 réplicas de 20-25 mosquitos por tubo de ensaio, representando pelo menos 100 mosquitos fêmeas.

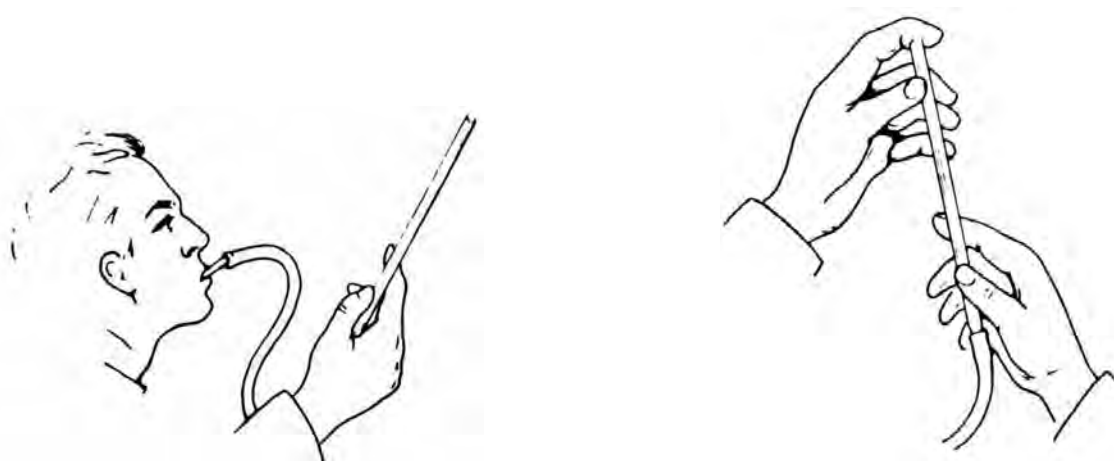


Figura An4.2 Aspirando mosquitos da gaiola

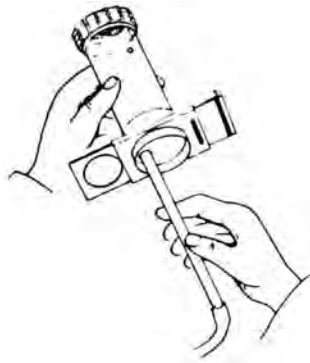


Figura An4.3 Libertando mosquitos no tubo de repouso

3. Colocar os tubos de repouso na vertical durante uma hora. Após este tempo, remover todos os insectos danificados.
4. Introduzir uma folha de papel impregnado em cada um dos tubos de exposição, enrolados num cilindro para revestir o tubo e fixado com uma mola de cobre.
5. Introduzir os mosquitos no tubo de exposição, prendendo-o à tampa de enroscar vazia da lâmina. A lâmina deve ser retirada até estar para além da abertura de enchimento, de modo a que não tape as aberturas do tubo; os mosquitos são depois soprados suavemente para o tubo de exposição. Fechar a lâmina. Separar o tubo de repouso e colocá-lo de lado (ver Figura An4.4).



Figura An4.4 Introduzindo o mosquito no tubo de exposição

6. Durante o período de exposição (60 minutos) de todos os insecticidas, todos os tubos de exposição devem estar na vertical (ver Figura An4.5). Para limitar o contacto dos mosquitos, que são atraídos pela luz, com a tela de malha, pode ser colocado um pedaço de cartão em cima dos tubos.
7. No final do período de exposição, transferir os mosquitos para o tubo de repouso, invertendo o procedimento. Abrir a lâmina e soprar gentilmente os mosquitos para o tubo de repouso; fechar a lâmina e remover o tubo de exposição. Depois colocar o tubo de repouso de modo a que fique em cima da lâmina e colocar um disco de algodão húmido na tela.
8. Manter todos os tubos de repouso num local com sombra durante 24 horas, de preferência num insectário. Armazenar todos os tubos sob iluminação moderada e difusa e sob humidade adequada. Todos os tubos podem ser armazenados num contentor e cobertos por uma toalha húmida. A temperatura e a humidade devem ser registadas durante o período de recuperação.

9. Mortalidade medida 24 horas após a exposição. Um mosquito adulto deve ser considerado vivo quando consegue voar, independentemente do número de patas restantes. Quaisquer mosquitos caídos e os que têm patas ou asas a menos são considerados moribundos e devem ser contados como mortos (na população selvagem esses mosquitos serão provavelmente apanhados por predadores e formigas). Os resultados devem ser registados no formulário fornecido.
10. Para os tubos de controlo devem ser utilizados papéis tratados com óleo a quatro réplicas. Os óleos utilizados são: óleo mineral para organocloratos, azeite para organofosforados e carbamatos; e óleo de silicone para insecticidas piretróides.



Figura An4.5 Tubos de exposição colocados na vertical

A4.4.4 Registo e análise dos dados do teste da suscetibilidade

A Figura An4.6 mostra um formato para registar os dados do teste da suscetibilidade, incluindo a informação sobre a área de estudo, amostra de mosquitos, método de recolha, etapas fisiológicas do mosquito, insecticida de teste e condição de teste.

A4.4.5 Cálculo das taxas de queda e de mortalidade

Taxa de queda

A avaliação da queda é feita até 60 minutos após a exposição. Um mosquito é considerado caído se não se conseguir manter em pé ou voar de forma coordenada. O tubo de repouso pode ser batido algumas vezes antes de ser feita a avaliação final.

Quando está envolvida resistência à queda, a taxa de queda já deu provas de ser um indicador sensível à detecção precoce da resistência.

Registar a taxa de queda dos mosquitos durante a exposição é um procedimento simples. Após 10 minutos de exposição, o tubo é suavemente manuseado de forma a contar o número de mosquitos caídos no fundo do tubo. Pode ser feita uma contagem inicial de quedas e, depois disso, aos 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos (mesmo antes da transferência para o tubo de observação). Se após os 60 minutos as quedas observadas forem menos de 80%, deve ser feita outra contagem, aos 80 minutos, dos mosquitos no tubo de observação. Em populações muito suscetíveis, o registo das quedas deve ser feito com maior frequência, a cada 3 minutos.

As taxas de queda, de acordo com o tempo de exposição, podem ser ajustadas a um modelo de tempo *log-probit*, de modo a obter o tempo das quedas para 50% (ou 95%) dos mosquitos.

Figura An4.6 Formulário para o registo dos dados do teste de suscetibilidade no terreno

a. Informação sobre o teste de suscetibilidadeCódigo da Aldeia Número do teste Data (dd-mm-aa) / / Nome do investigador: Código do investigador **Informação da área**

País: Província:

Distrito: Comunidade: Aldeia:

Posição no GPS UTM_X .UTM_Y .**Informação da amostra**

Espécies testadas:..... Controlo das espécies:

Sexo: Idade (dias): (only if known: colony & F1)

Método de capturaPousado num ser humano no interior A repousar à noite no interior A repousar de manhã no interior Captura no gado Pousado num ser humano no exterior A repousar à noite no exterior Outro: especifique Captura de larvas Progenitura F1 Colónia Nome da estirpe da colónia:**Estado fisiológico**Não se alimentou de sangue Alimentou-se de sangue Semi-grávido Grávido **Informação sobre o insecticida do test**Insecticida testado: Data de validade: / / Papéis impregnados preparados por: Data em que a caixa foi aberta: / / Concentração: Número de vezes que este papel foi usado: Condições de armazenamento: Temperatura ambiente Refrigerado **Condições do teste**

	Período de exposição: início	Após 12 horas	Fim do teste
Temperatura °C	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> . <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> . <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> . <input type="checkbox"/>
Humidade relativa (%)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

b. Resultados do teste: período de exposição (minutos).....

Nº de expostos	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		Réplica 4		Controlo 1		Controlo 2	
Número de mosquitos caídos após exposição durante minutos												
	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		Réplica 4		Controlo 1		Controlo 2	
	Nº de testados	Nº de quedas	Nº de testados	Nº de quedas	Nº de testados	Nº de quedas	Nº de testados	Nº de quedas	Nº de testados	Nº de quedas	Nº de testados	Nº de quedas
INÍCIO												
10 min												
15 min												
20 min												
30 min												
40 min												
50 min												
60 min												

c. Número de mosquitos mortos/vivos no fim do período de manutenção (24 horas)

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Réplica 5	Controlo
Nº mortos						
Nº vivos						

Taxa de mortalidade

Normalmente, a mortalidade é medida 24 horas após a exposição. Um mosquito é classificado como morto se estiver imóvel ou se não se conseguir manter em pé ou voar de forma coordenada. Com alguns insecticidas como os piretróides, os mosquitos tendem a perder as suas patas algumas horas após a exposição ao insecticida. No entanto, os adultos são considerados vivos, se conseguirem voar independentemente do número de patas restantes.

A percentagem de mortalidade após o período de recuperação de 24 horas deve ser registada no formulário de relatório. A mortalidade da amostra de teste é calculada através da soma do número de mosquitos mortos nas quatro réplicas de exposição e representando este valor como uma percentagem do número total de mosquitos expostos:

$$\text{Teste de mortalidade} = \frac{\text{Número total de mosquitos mortos}}{\text{Tamanho da amostra}} \times 100$$

Deve ser feito um cálculo semelhante de modo a obter um valor para a mortalidade de controlo. Se a mortalidade de controlo for superior aos 20%, os testes devem ser descartados. Se a mortalidade de controlo for superior aos 5% e inferior aos 20%, a mortalidade observada deve ser corrigida através da aplicação da fórmula de Abbott, como se segue:

$$\frac{\% \text{ da mortalidade de teste} - \% \text{ da mortalidade de controlo}}{100 - \% \text{ da mortalidade de controlo}} \times 100$$

Se a mortalidade no controlo for inferior a 5%, pode ser ignorada e não é necessária nenhuma correcção. Ao notificar as contagens de mortalidade, deve ser sempre dado o tamanho da amostra e, de preferência, uma estimativa dos intervalos de confiança de 95%.

Interpretação dos resultados do teste de suscetibilidade

- ▶ 98–100% de mortalidade indica suscetibilidade.
- ▶ <98% de mortalidade sugere a possibilidade de resistência que necessita uma investigação adicional para ser confirmada.
- ▶ Entre 90% e 97% de mortalidade é necessária a confirmação da presença de genes resistentes na população dos vetores l. A confirmação da resistência pode ser obtida através da realização de ensaios biológicos adicionais com o mesmo insecticida na mesma população ou geração de quaisquer mosquitos sobreviventes (criados num insectário) e/ou através da realização de ensaios moleculares para mecanismos de resistência conhecidos. A resistência é confirmada se, pelo menos, dois testes adicionais apresentarem consistentemente uma mortalidade abaixo dos 98%.
- ▶ Se a mortalidade for inferior aos 90%, pode não ser necessária a confirmação da existência dos genes resistentes na população de teste, através de ensaios biológicos adicionais, desde que tenham sido testados pelo menos 100 mosquitos de CADA espécie. No entanto, deve ser realizada uma investigação adicional aos mecanismos e à distribuição da resistência.
- ▶ Quando a resistência é confirmada, DEVEM ser tomadas medidas preventivas para gerir a resistência ao insecticida e para assegurar que a eficácia dos insecticidas utilizados para o controlo dos vetores do paludismo é preservada.

Estabelecer a suscetibilidade de base

Ao estabelecer a base de suscetibilidade para uma população de mosquitos, para todos os insecticidas, conjuntos de mosquitos são expostos à dose de diagnóstico do insecticida a intervalos de tempo duplicados, por exemplo, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 minutos. Os intervalos de tempo devem ser escolhidos de modo a que pelo menos um tempo resulte em 100% de mortalidade, alguns resultem em 50-90% de mortalidade e pelo menos dois resultem em mortalidades de 5-50%. Para traçar a linha de regressão, a mortalidade deve ser de 5-99% na altura da exposição. O Quadro An4.3 mostra um exemplo para traçar a linha de regressão e medir o LT50.

Quadro An4.3 Mortalidade da espécie *Anopheles* ao DDT a 4% em intervalos de tempo diferentes

Tempo de exposição (minutos)	Mosquitos		% Mortalidade	Mortalidade corrigida ^b
	Nº de testados	Nº de mortos ^a		
4	100	5	5%	3%
8	100	30	30%	24%
16	100	52	52%	48%
32	100	78	78%	76%
64	100	99	99%	99%
Controlo (64)	100	8	8%	---

^a 24 horas após a exposição

^b Correcção de Abbott

O Quadro An4.4 mostra os principais parâmetros da linha de regressão de uma espécie exposta à concentração discriminatória de um inseticida em diferentes intervalos de tempo.

Quadro An4.4 Parâmetros de uma linha de regressão probit da espécie *Anopheles* exposta a 4% de DDT

A	B ± SE	LT50, 95% C.I.	LT90, 95% C.I.	χ^2 (df)	Valor P
-3,5	2,9 ± 0,2	14	37	5,9 (3)	<0,05
		16	44		
		17	54		

A = Interceptar

B ± SE = Declive ± erro padrão

LT50, 95% C.I. = Tempo letal resultando em 95% de mortalidade, intervalo de confiança

LT90, 95% C.I. = Tempo letal causando 90% de mortalidade, intervalo de confiança

χ^2 (df) = heterogeneidade da linha de regressão com um grau de liberdade

Para traçar a linha de regressão, pode ser utilizado o papel padrão log-probit. No eixo X são indicados os intervalos de tempo (4, 8, 16, 32, 64 minutos) e no eixo Y os dados de mortalidade são transformados numa escala probit (50% de mortalidade = 5 probit). O LT50 pode ser calculado a partir da linha de regressão (ver Figura An4.7). A linha de regressão pode também ser traçada utilizando programas de computador, como o HG3 ou o Excel.

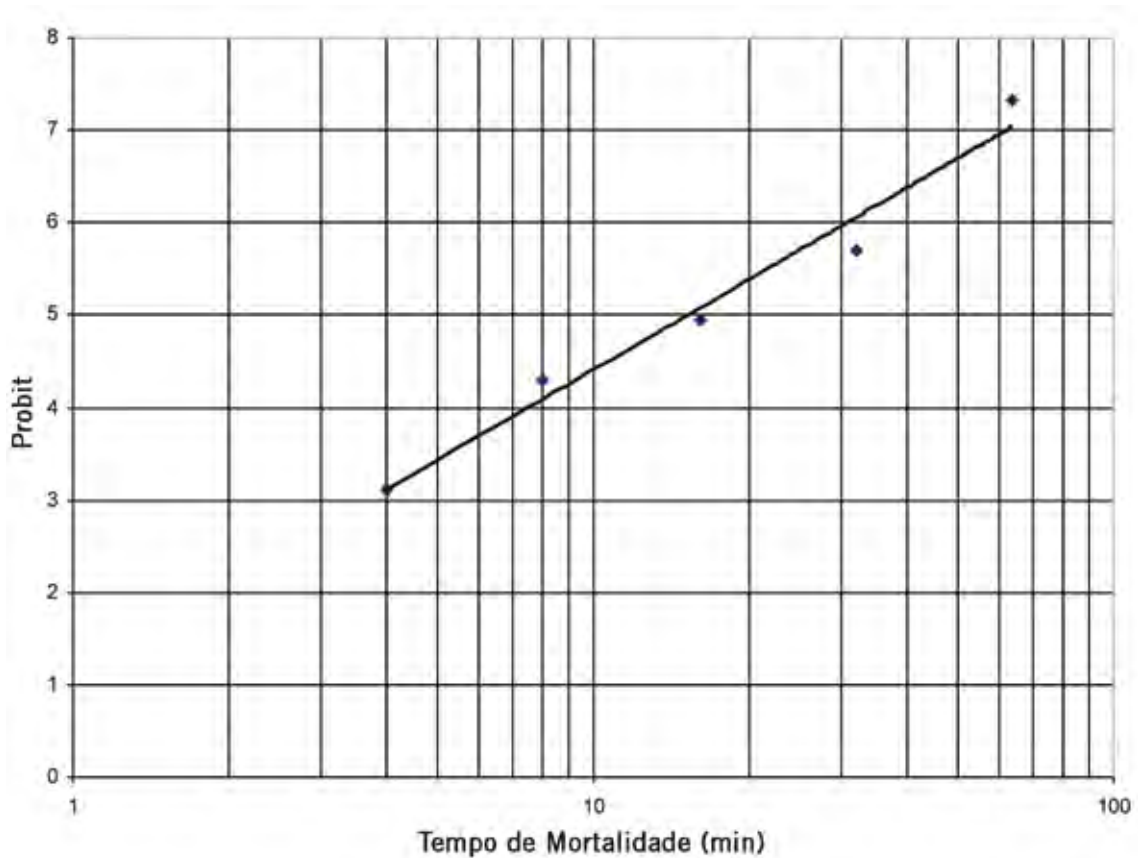


Figura An4.7 Linha de regressão probit da espécie *Anopheles* exposta a 4% de DDT

ANEXO 5

Protocolo para determinar a suscetibilidade das larvas de mosquitos a insecticidas

A5.1 Introdução

A utilização de larvicidas pode ser um método útil para os programas de controlo do paludismo, especialmente em áreas onde os criadouros são poucos, fixos e fáceis de encontrar. Na África Subsariana esses critérios são muitas vezes encontrados em áreas urbanas, onde os larvicidas podem ser utilizados para complementar as outras intervenções de controlo dos vetores. Os insecticidas utilizados como larvicidas recomendados pela OMS são apresentados no Quadro 5.11 da Unidade de Aprendizagem 5, no Guia do Participante.

O objectivo de um teste de suscetibilidade é permitir que os programas de controlo tomem medidas preventivas para gerir a resistência, através de uma utilização rotativa de insecticidas, mantendo dessa forma a eficácia das intervenções/ferramentas de controlo dos vetores disponíveis. Existem dois métodos para determinar o estado de suscetibilidade das larvas de mosquitos a insecticidas. O primeiro requer verificações de rotina com uma concentração de diagnóstico (discriminatória) de larvicidas, um método de fácil execução para os técnicos. O segundo requer a definição de uma base de referência e o cálculo do LC50 a partir da linha de regressão; este método é menos simples e requer um pessoal formado e metuculoso.

A5.2 Concentrações discriminatórias para os larvicidas

O Quadro An5.1 mostra as concentrações discriminatórias utilizadas para as larvas do mosquito do paludismo. Para os outros larvicidas apresentados no Quadro An5.1 as dosagens de diagnóstico devem ser calculadas para cada uma das espécies locais.

Quadro An5.1 Dosagens de diagnóstico provisórias para as larvas dos mosquitos *anopheles* (mg/l=ppm)

	Concentrações discriminatórias
Malatão	3,125
Fenitrotião	0,125
Fentião	0,05
Temefós	0,25
Clorpirifós	0,025

A5.3 Conteúdos do *kit* de teste

- ▶ 24 provetas, 400 ml
- ▶ 24 provetas, 30 ml
- ▶ Uma micropipeta de 1 ml
- ▶ Pontas suficientes de micropipetas
- ▶ 5 conta-gotas com tubos de sucção de borracha
- ▶ 5 filtros (2 rolos de cabos, 1 pedaço de tela de nylon (30 cm²) e 1 tubo de cola
- ▶ Contador-registador
- ▶ Soluções diferentes de larvicida (em garrafas de 20 ml)
- ▶ Solvente de pesticida (normalmente etanol)
- ▶ Folha de instruções
- ▶ Papéis de mortalidade log-probit
- ▶ Termómetro para a água
- ▶ Tabuleiro para as larvas

Os conteúdos do *kit* de teste são apresentados na Figura An5.1.



Figura An5.1 Conteúdos do kit para o teste de suscetibilidade das larvas

A5.4 Procedimento do teste

- ▶ Recolher as larvas da mesma espécie de *Anopheles* no terreno em número suficiente, utilizando uma concha ou uma rede (Figura An5.2).
- ▶ Colocar cuidadosamente as larvas num recipiente para serem transportadas para o laboratório. Confirmar que as larvas são tratadas delicadamente, que têm ar suficiente e não ficam muito quentes.



Figura An5.2 Recolhendo larvas de mosquitos de criadouros

- ▶ No laboratório, transferir as larvas para um tabuleiro.
- ▶ Manter as larvas numa divisão com 25°C de temperatura.
- ▶ Identificar a composição e espécies das larvas.
- ▶ Seleccionar as larvas saudáveis das espécies desejadas, por exemplo, o principal vetor de paludismo da região.
- ▶ Quaisquer larvas que pareçam anormais, que aparentem estar doentes, devem ser descartadas.
- ▶ Apenas devem ser seleccionadas para o teste as larvas no 3º instar ou no início do 4º instar.
- ▶ Colocar 20-25 larvas numa pequena proveta (30 ml) através de um filtro ou conta-gotas.
- ▶ Completar o volume de água até 25 ml.
- ▶ Colocar 224 ml de água numa proveta de 400 ml (água destilada, água da chuva ou água da torneira; até pode ser utilizada água retirada de um poço ou de um riacho, mas água dura da torneira ou água clorada não devem ser utilizadas). Algumas espécies, como os mosquitos de pântano salgado ou os mosquitos que se criam em buracos de árvores, devem ser transferidas para água recolhida dos criadouros e que não tenha insecticidas e seja filtrada para excluir detritos orgânicos.
- ▶ Recolher 1 ml da solução de reserva do insecticida (por exemplo 1000 ppm), utilizando uma micropipeta.
- ▶ Adicionar 1 ml de solução do insecticida (1000 ppm) utilizando uma micropipeta e colocá-la numa proveta grande (o volume total será 225 ml). A solução final do insecticida a que as larvas serão expostas é 4 ppm (1000/250).
- ▶ Esperar 15-30 minutos após a preparação da solução de teste.
- ▶ Medir a temperatura da água (a temperatura ideal para o teste é 25°C). A temperatura da água deve estar entre os 20°C e os 30°C.
- ▶ Adicionar 25 ml de água, contendo 25 larvas, numa proveta grande (o volume total será 250 ml).
- ▶ Deixar as larvas durante 24 horas.
- ▶ Descartar as larvas que se tornaram em pupas durante o teste. Se mais de 10% das larvas de controlo se tornarem em pupas durante a experiência, o teste deve ser descartado. Os testes com uma mortalidade de controlo de 20% ou mais não são satisfatórios e devem ser repetidos.
- ▶ Registrar o número de larvas mortas e moribundas após o período de exposição de 24 horas em cada réplica. Antes da contagem da mortalidade, deve-se soprar suavemente a superfície da água e esperar 2-3 minutos. As larvas mortas não se mexem quando são picadas com uma agulha na região do sifão ou na região cervical. As larvas moribundas são as que são incapazes de subir até à superfície dentro de um período de tempo razoável. Também podem apresentar descoloração, posições pouco naturais, tremores, falta de coordenação e rigidez.
- ▶ Devem ser testadas pelo menos 4 réplicas, representando 100 larvas de mosquitos, para cada concentração de diagnóstico.
- ▶ Devem ser testadas pelo menos duas réplicas de controlo.

A5.4.1 Estabelecer a suscetibilidade de base

Ao estabelecer a suscetibilidade de base para a população de larvas de mosquitos, relativamente a todos os insecticidas, os conjuntos de mosquitos são expostos a diferentes concentrações de insecticidas, através de uma série de dosagens duplicadas, como por exemplo, 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg/l (ppm) (Figura An5.3 e An 5.4).

As concentrações de intervalo devem ser escolhidas de modo a que pelo menos um dos períodos de tempo resulte em 100% de mortalidade, alguns resultem em 50-90% de mortalidade e pelo menos dois resultem em mortalidades entre 5 e 50%. Para traçar a linha de regressão, a mortalidade nas concentrações de intervalo deve ser de 5-99% (Quadro An5.3).

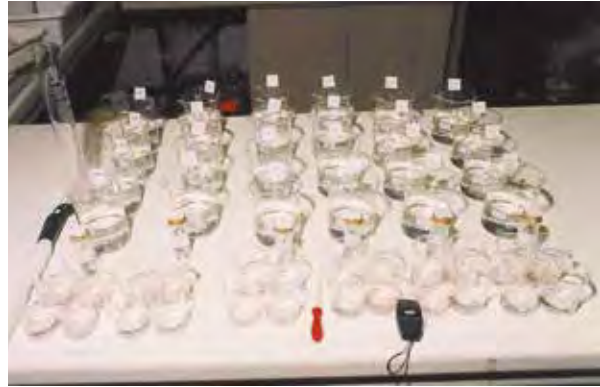


Figura An5.3 Exposição de larvas de mosquitos a diferentes concentrações de intervalo de insecticidas

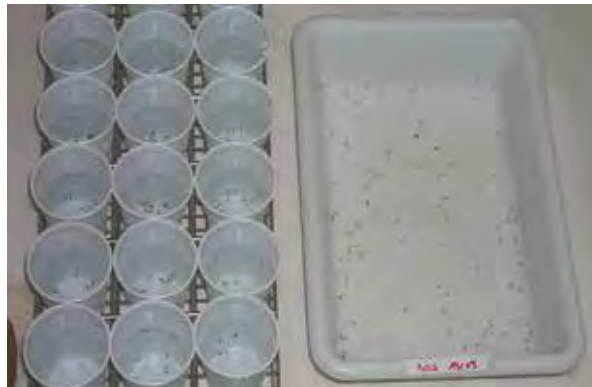


Figura An5.4 Exposição de larvas de mosquitos a diferentes concentrações de intervalo de insecticidas (para alguns insecticidas, como pesticidas biológicos ou reguladores de crescimento, podem utilizar-se copos de plástico)

Quadro An5.3 Mortalidade das larvas da espécie *Anopheles* a larvicidas em concentrações de intervalo diferentes

Tempo de exposição (minutos)	Larvas de mosquitos		% Mortalidade	Mortalidade corrigida (correção de Abbott)
	Nº de testados ^a	Nº de mortos ^b		
4	100	5	5%	3%
8	100	30	30%	24%
16	100	52	52%	48%
32	100	78	78%	76%
64	100	99	99%	99%
Controlo (64)	100	8	8%	---

^a Número de larvas testadas

^b Número de larvas mortas após 24 horas

Pode ser utilizado um programa de computador, outros *softwares* como o SPSS ou papel probit para traçar a linha de regressão. O Quadro An5.4 apresenta os principais resultados de uma análise probit onde as larvas foram expostas a diferentes concentrações de inseticidas.

Quadro An5.4 Análise probit sobre as larvas da espécie *Anopheles* expostas a diferentes concentrações de larvicida

A	B ± SE	LT50, 95% C.I.	LT90, 95% C.I.	χ^2 (df)	Valor P
-3,5	2,9 ± 0,2	14	37	5,9 (3)	<0,05
		16	44		
		17	54		

A = Interceptar

B ± SE = Declive ± erro padrão

LT50, 95% C.I. = Concentração letal resultando em 50% de mortalidade, intervalo de confiança 95%

LT90, 95% C.I. = Concentração letal resultando em 90% de mortalidade, intervalo de confiança 95%

χ^2 (df) = heterogeneidade da linha de regressão com um grau de liberdade

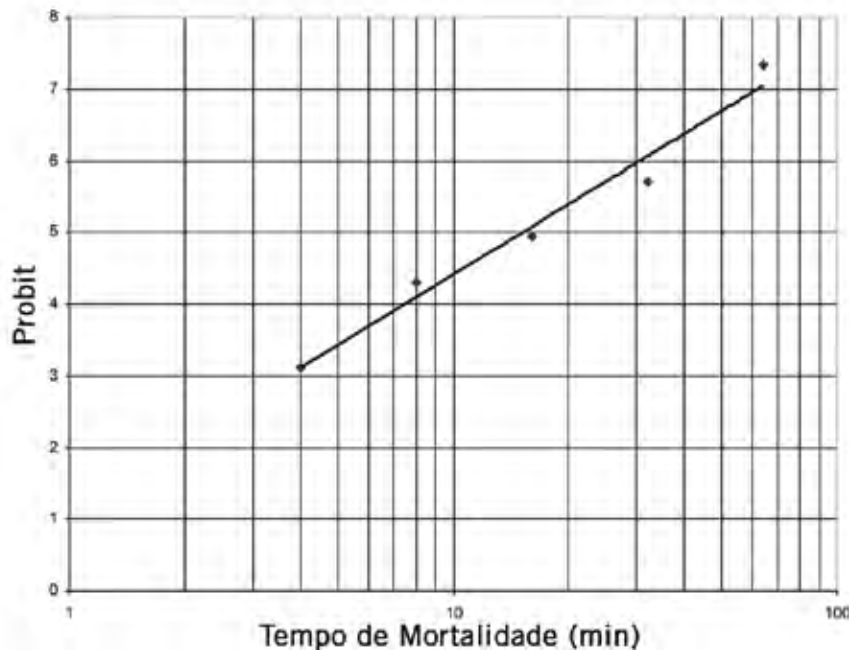


Figura An5.5 Linha de regressão probit da espécie *Anopheles* exposta a diferentes concentrações de intervalo de um larvicida

Pode ser utilizado papel log-probit padrão para traçar a linha de regressão. As concentrações de intervalo (4, 8, 16, 32, 64 mg/l) são traçadas no eixo X e a mortalidade na escala probit é colocada no eixo Y. Aqui 50% de mortalidade equivale a 5 probit. O LC50 pode ser calculado a partir da linha de regressão (Figura An5.5). Em alternativa, a linha de regressão pode ser traçada utilizando o HG3, Excel, SPSS ou outro programa estatístico.

A5.4.2 Análise dos resultados do teste de suscetibilidade

A percentagem de mortalidade após o período de recuperação de 24 horas deve ser registada no formulário de relatório. A mortalidade da amostra de teste é calculada ao somar o número de mosquitos mortos nas quatro réplicas de exposição e expressando este número como uma percentagem do número total de larvas de mosquitos expostas:

$$\text{Mortalidade do teste} = \frac{\text{Número total de mosquitos mortos}}{\text{Tamanho total da amostra}} \times 100$$

Deve ser feito um cálculo semelhante de modo a obter um valor para a mortalidade de controlo. Se a mortalidade de controlo estiver acima dos 20%, então os testes devem ser descartados. Se a mortalidade de controlo estiver acima dos 5% e abaixo dos 20%, então a mortalidade observada deve ser corrigida com a aplicação da fórmula de Abbott, como se segue:

$$\frac{\% \text{ da mortalidade do teste} - \% \text{ mortalidade de controlo}}{100 - \% \text{ da mortalidade de controlo}} \times 100$$

Se a mortalidade no controlo estiver abaixo dos 5% então pode ser ignorada e não é necessária nenhuma correcção. Na notificação da contagem da mortalidade deve ser sempre fornecido o tamanho da amostra e também, de preferência, uma estimativa dos 95% dos intervalos de confiança.

A5.4.3 Interpretação do resultado do teste de suscetibilidade

Nas melhores condições, com um conjunto de amostras >100 mosquitos, os resultados do teste às larvas pode ser interpretado da seguinte forma:

- ▶ 98–100% de mortalidade indica suscetibilidade.
- ▶ <98% de mortalidade sugere a possibilidade de resistência que deve ser investigada de forma mais aprofundada de modo a ser confirmada.
- ▶ Entre 90 e 97% de mortalidade deve ser confirmada a presença de genes resistentes no vetor da população.
- ▶ Se a mortalidade for inferior aos 90% é confirmada a existência de genes resistentes no teste.
- ▶ Pode não ser necessária uma população com ensaios biológicos adicionais, desde que pelo menos 100 mosquitos de CADA espécie tenham sido testados. No entanto, deve ser realizada uma investigação adicional dos mecanismos e distribuição da resistência.
- ▶ Quando é confirmada a resistência, DEVEM ser tomadas medidas preventivas para gerir a resistência ao insecticida e para assegurar que é preservada a eficácia dos insecticidas utilizados para o controlo dos vetores do paludismo.

A5.4.4 Detalhes do pesticida utilizado

- ▶ Nome do larvicida
- ▶ Ano em que foi introduzido
- ▶ Formulação
- ▶ Dosagem
- ▶ Frequência
- ▶ Ano em que foi terminado
- ▶ Total de ciclos
- ▶ Nome do investigador
- ▶ País
- ▶ Área
- ▶ Localidade
- ▶ Data do teste
- ▶ Espécie
- ▶ Localização da captura de larvas
- ▶ Temperatura
- ▶ Nome do insecticida
- ▶ Concentração do insecticida

ANNEX 6

Procedimentos de teste para determinar o efeito residual dos insecticidas nas superfícies das paredes

A6.1 Introdução

A eficácia de uma pulverização residual intradomiciliar (PRI) depende de um complexo conjunto de factores. Estes incluem as propriedades de um insecticida (toxicidade intrínseca, modo de acção, estabilidade e volatilidade) e os seus efeitos no vetor. O efeito também depende da natureza das superfícies onde é aplicado o insecticida, o tipo de construção da habitação, o número de animais domésticos e os tipos de abrigos de animais, a ecologia local, assim como o comportamento dos vetores e a população humana. Os insecticidas recomendados pela OMS para a pulverização residual intradomiciliar são apresentados no Quadro 5.8 da Unidade de Aprendizagem 5 no *Guia do Participante*.

O principal objectivo do ensaio biológico é avaliar a potência de um depósito de insecticida contra mosquitos adultos várias vezes, após a aplicação em diferentes superfícies e desse modo detectar o início de um declínio definitivo no efeito tóxico do depósito devido ao envelhecimento, sorção (absorção e adsorção) ou outros factores. O teste é concebido para fornecer informações que possam ajudar:

- ▶ na comparação da ação residual de diferentes insecticidas ou de formulações de insecticidas
- ▶ a determinar se a pulverização foi realizada de forma satisfatória.

O método não irá medir a quantidade de insecticida que permanece na parede. Não mede a taxa geral de mortalidade do vetor alcançada durante a campanha, que apenas pode ser avaliada através de outras medidas entomológicas na área.

É recomendado, sempre que possível, que métodos suplementares, como as colheitas por armadilhas de janela e testes de sobrevivência, sejam utilizados em conjunto com o ensaio biológico. Isto é especialmente aconselhável no local onde o ensaio biológico é utilizado para determinar a altura em que um depósito de insecticida perdeu a sua potência numa determinada superfície ou para determinar a dosagem de insecticida apropriada e o espaçamento dos ciclos de pulverização para um controlo eficaz dos vetores. O método não é adequado para medir a suscetibilidade ou resistência da população. Esta é a razão pela qual o teste utiliza mosquitos criados no laboratório com idade e suscetibilidade conhecidas.

A6.2 Equipamento e procedimento do teste

O primeiro teste para a avaliação de qualquer insecticida deve ser realizado poucos dias após a sua aplicação ou assim que o depósito esteja completamente seco. Quando está prevista uma nova aplicação do insecticida numa área que já foi pulverizada e não estão disponíveis dados sobre o

ensaio biológico, é aconselhável realizar o ensaio biológico primeiro, de modo a determinar a potência do depósito presente. O teste deve ser realizado numa escala adequada e em intervalos regulares. É necessário testar e avaliar separadamente a potência do depósito de insecticida em cada um dos principais tipos de superfície de repouso, num determinado tipo de superfície. Devem ser testados pelo menos 10 pontos, situados em vários locais, num determinado dia. Devem ser distribuídos em várias habitações, não podendo haver mais de 3 pontos numa única habitação. Para cada 10 testes devem ser utilizados pelo menos 2 controlos.

Os percursos de controlo são realizados a uma distância adequada dos locais de pulverização (mais de 100 m) e em superfícies não pulverizadas. Para este efeito, o investigador pode transportar um conjunto de cartões de índice ou material não pulverizado semelhante para ser descartado após cada teste.

Quando o principal objectivo é determinar a taxa de perda de potência, existem vantagens na utilização dos mesmos pontos ao longo da série de testes. Desse modo, os pontos devem ser cuidadosamente assinalados na altura dos primeiros testes, tendo atenção para evitar esfregar ou danificar o depósito destes pontos durante a realização dos testes. Se forem seleccionados pontos diferentes para testes posteriores, será adquirida mais informação sobre a potência geral do depósito de insecticida nos tipos de superfície examinados.

Após o ensaio biológico inicial, os testes posteriores devem ser realizados, pelo menos, em intervalos mensais. Para a comparação dos dados, é preferível realizar testes sucessivos na mesma altura do dia. Deve ser utilizada uma estirpe de suscetibilidade e idade conhecidas no ensaio biológico. Para isso, as fêmeas apanhadas no exterior devem poder depositar ovos e os F1 emergentes devem ser testados para a sua resistência ser verificada. Se se confirmar a suscetibilidade, esses mosquitos devem ser utilizados para manter uma colónia de laboratório/insectário, que será utilizada para a realização do ensaio biológico na superfície das paredes.

A6.3 Composição dos kits de teste

- ▶ 24 cones plásticos transparente, com 8,5 cm de diâmetro na base e 5,5 cm de altura.
- ▶ 10 tubos de sucção de vidro duro, com 1 cm de diâmetro exterior (com uma ponta curvada, de modo a facilitar a remoção de mosquitos do cone de exposição) juntamente com um tubo flexível de borracha ou plástico de 60 cm. Estes tubos são adequados para lidar com mosquitos de tamanho normal. Para espécies muito grandes devem ser utilizados tubos com um diâmetro interior de 12 mm. Estes tubos podem ser feitos de vidro ou plástico transparente.
- ▶ 10 aspiradores de vidro recto. Os cones de exposição devem ser carregados com um tubo de vidro recto ou de plástico com o diâmetro apropriado.
- ▶ Rolos de fita adesiva de espuma grossa e fina.
- ▶ 1 caixa de alfinetes com cabeças grandes.
- ▶ 1 caixa de agulhas pequenas.
- ▶ Folha de instruções.

A6.4 Procedimentos do teste

1. Seleccionar o local na superfície da parede onde o cone de exposição será fixado. Devem ser fixados quatro cones de exposição no topo (70 cm abaixo do telhado), 4 cones de exposição no meio e 4 cones na parte mais baixa da parede (60-70 cm acima da superfície da divisão) (Figura An6.1).



Figura An6.1 Câmaras de exposição presas em diferentes partes da superfície da parede

2. O cone de exposição pode ser fixo com um aparelho apropriado para ficar bem agarrada à superfície. É muitas vezes vantajoso fixar uma tira de fita adesiva à flange de cada cone de teste e deixá-la lá permanentemente. As agulhas podem ser utilizadas para prender os cones em superfícies duras. Deve ser tomado cuidado para não deslizar o cone na superfície enquanto esta está a ser fixado ou removida.

3. Libertar 10 mosquitos fêmeas que se alimentaram de sangue para cada cone através de um tubo recto, soprando suavemente. Deve ser tomada muita atenção, de modo a assegurar que a extremidade do tubo não toca na superfície de teste (Figura An6.2).

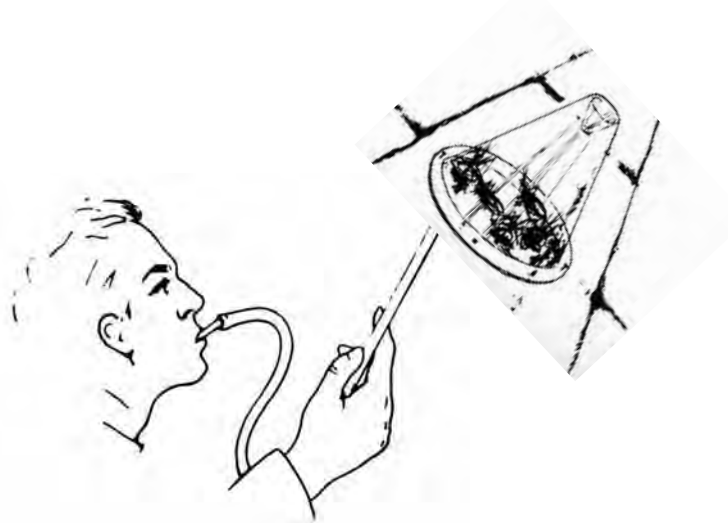


Figura An6.2 Libertar mosquitos no cone de exposição, utilizando um aspirador recto

4. Nunca se deve levar a gaiola dos mosquitos de reserva que irão ser utilizados em ensaios biológicos para dentro de uma habitação que foi pulverizada com insecticida. Deve ficar numa superfície livre de insecticida no exterior da habitação. As gaiolas devem ser manuseadas cuidadosamente, de modo a evitar contaminar os mosquitos com insecticida a partir das mãos dos operadores.
5. Não perturbar os cones durante 30 minutos.
6. No final do período de exposição, os mosquitos são recolhidos cuidadosamente através de um aspirador curvado (Figura An6.3).
7. Transferir os mosquitos imediatamente para o recipiente. Podem ser utilizados copos de papel ou plástico (Figura An6.4).

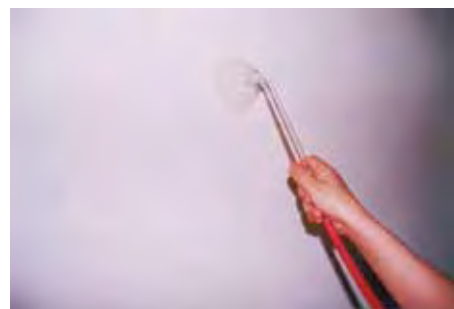


Figura An6.3 Recolha de mosquitos com um aspirador curvado no final do período de exposição

8. A temperatura da divisão e a humidade relativa são registadas no início e no fim de cada teste diário e em intervalos de uma hora durante o período de trabalho.
9. Manter os tubos da caixa de recuperação num local isolado e com sombra durante 24 horas, onde a temperatura não exceda os 30°C. É recomendada a manutenção dos tubos da caixa num insectário sempre que possível; em alternativa, a humidade pode ser mantida elevada através da utilização de uma toalha húmida.
10. Devem ser realizados os mesmos procedimentos para os controlos. As câmaras são presas numa divisão semelhante à utilizada para os cones do teste, mas sem a aplicação do insecticida.
11. O formulário fornecido deve ser preenchido após 24 horas, através do registo do número de mosquitos vivos e mortos. A mortalidade observada (%) deve ser registada para cada teste individual.



Figura An6.4 Contentores utilizados para a recolha de mosquitos durante o período de recuperação de 24 horas

A6.4.1 Resultados e interpretação

Os mosquitos mortos e vivos são contados após 24 horas.

É fundamental que a mortalidade observada seja registada

para cada teste individual. Se a mortalidade de controlo estiver acima dos 10%, é recomendado que o número de controlos nas séries de testes subsequentes seja aumentado para 4 em cada série de 10 testes. Quando a mortalidade de controlo exceder os 20%, as séries de testes devem ser consideradas pouco satisfatórias e devem ser repetidas.

É calculada a média da mortalidade em pontos diferentes (apenas num tipo de superfície). Quando a mortalidade de controlo estiver dentro do intervalo dos 5-20%, a mortalidade média observada é corrigida através da aplicação da fórmula Abbott:

$$\frac{\% \text{ da mortalidade do teste} - \% \text{ da mortalidade de controlo}}{100 - \% \text{ da mortalidade de controlo}} \times 100$$

A mortalidade média com um desvio-padrão deve ser calculada para cada parte da parede. Grandes diferenças nas taxas de mortalidade de um ponto para outro podem reflectir uma irregularidade da pulverização ou um diferencial na taxa de perda de potência, devido à especial composição da superfície, fuligem que pode ser depositada na superfície pelos fogos domésticos, ao microclima ou a outras variáveis locais.

Os testes devem continuar até que seja observada uma descida acentuada na mortalidade dos mosquitos até aos 70%. A durabilidade do insecticida nas superfícies pulverizadas pode ser determinada. Nesta situação pode ser necessária uma nova aplicação do insecticida.

A6.4.2 Informação necessária

Nome do insecticida

Dosagem do insecticida

Data da pulverização

Localização da pulverização

Província Município Cidade Aldeia

Data do teste

Tipo de superfície:

- ▶ Maticada
- ▶ Madeira
- ▶ Gesso
- ▶ Cimento
- ▶ Folhas de palmeira
- ▶ Colmo
- ▶ Outras

Temperatura

Humidade

Número do cone	Localização do cone fixo	Nº de mosquitos	Nº de mosquitos mortos	Mortalidade (%)	Mortalidade corrigida
1	Cima				
2	Cima				
3	Cima				
4	Cima				
5	Meio				
6	Meio				
7	Meio				
8	Meio				
9	Baixo				
10	Baixo				
11	Baixo				
12	Baixo				

A6.4.3 Verificação do concentraçãodo insecticida aplicado por cada unidade de superfície

Para determinar a concentração do insecticida por cada unidade de superfície, deve ser marcada uma área de 100 cm² numa parede maticada, com a ajuda de uma estrutura de metal com 10x10 cm e um instrumento limpo e pontiagudo. As amostras maticadas são recolhidas da área de 100 cm² assinalada a uma profundidade uniforme de 1 mm com a ajuda de um cinzel limpo. Para a recolha das amostras, pode ser utilizada uma pá de lixo doméstica segurada firmemente contra a parede mesmo abaixo da área marcada. Podem ser cortadas amostras semelhantes de 100 cm² do colmo e outras superfícies. Para as superfícies onde não podem ser raspadas amostras, os papéis de filtro Whatman N° 1 podem ser fixados à parede antes da pulverização para recolher amostras da zona pulverizada. No entanto, uma vez que os operadores pulverizam doses mais elevadas nesses papéis, é necessária uma supervisão cuidadosa.

As amostras devem ser transferidas para tubos de ensaio de vidro ou para folhas de alumínio grossas e embrulhadas de forma segura. Cada amostra deve depois ser colocada num saco de plástico, que é depois fechado firmemente. Cada amostra deve ser assinalada com o nome da aldeia e da habitação, data da aplicação do insecticida (se estiver disponível), data da recolha, localização da raspagem na parede (por exemplo, topo, meio, parte inferior) e a área de superfície de onde foram retiradas as amostras. Esta última informação é de especial importância para relacionar os resultados da análise química com a área de superfície. As amostras podem ser enviadas para um instituto de referência para serem analisadas.

Este procedimento é essencial para verificar a aplicação correcta de um insecticida na superfície pulverizada. A informação também pode estar relacionada e apoiar a interpretação da eficácia biológica, com base nos dados do bioensaio (ensaio biológico).

ANEXO 7

Procedimentos de teste para determinar a eficácia residual dos insecticidas nos mosquiteiros tratados

A7.1 Introdução

Os piretróides são os únicos insecticidas actualmente recomendados para o tratamento de mosquiteiros, devido ao seu rápido efeito de queda e elevada potência insecticida em pequenas doses, juntamente com a relativa segurança no que toca ao contacto humano e ao tratamento doméstico. Este anexo inclui os protocolos para os métodos do ensaio biológico para testar a eficácia e estabilidade dos piretróides em mosquiteiros tratados.

A7.2 Métodos do ensaio biológico

Existem três métodos para determinar a eficácia biológica dos piretróides em mosquiteiros tratados:

- ▶ Teste que utiliza os tubos de repouso e de exposição da OMS, tal como no teste de suscetibilidade dos adultos
- ▶ Teste que utiliza os cones da OMS
- ▶ Teste que utiliza o aparelho de rede com uma esfera de armação de arame

A7.2.1 Teste que utiliza os tubos de repouso e exposição da OMS

Procedimento do teste

- ▶ Inserir um pedaço de papel branco limpo (12x15 cm) em cada um dos tubos de repouso. O papel deve ser enrolado num cilindro, de modo a revestir o tubo, e fixado com uma mola (prata). As lâminas devem ser presas aos tubos.
- ▶ Aspirar suavemente as fêmeas adultas com suscetibilidade e idade conhecidas da gaiola dos mosquitos (ver Figura An7.1). Devem ser utilizadas as fêmeas que não se alimentaram de sangue, 24-48 horas após o nascimento. Não podem ser recolhidos mais de 5 mosquitos em cada aspiração. Os mosquitos devem ser suavemente colocados no tubo de repouso através da abertura de enchimento (ver Figura An7.2). Inserir um algodão na abertura de enchimento. Encher um tubo de repouso com 15-25 mosquitos. Quando estiver cheio, retirar o algodão e depois fechar a lâmina.



Figura An7.1 Aspirando mosquitos da gaiola

- ▶ Devem ser preparadas pelo menos 4-5 réplicas de 20-25 mosquitos por tubo de ensaio, representando pelo menos 100 mosquitos fêmeas. Se não for possível recolher este número numa única ocasião, devem ser feitos vários testes durante alguns dias para chegar a este total.
- ▶ Colocar os tubos de repouso na vertical durante uma hora. Após este tempo remover todos os insectos danificados.
- ▶ Introduzir uma folha de papel em cada um dos tubos de exposição e depois um pedaço de rede impregnada, enrolados num cilindro para revestir o tubo e fixados com uma mola de cobre.
- ▶ Introduzir os mosquitos no tubo de exposição, prendendo-o à tampa de enroscar vazia da lâmina. A lâmina deve ser retirada até estar para além da abertura de enchimento, de modo a que não tape as aberturas do tubo; os mosquitos são depois soprados suavemente para o tubo de exposição. Fechar a lâmina. Separar o tubo de exposição e colocá-lo de lado.
- ▶ Durante o período de exposição (3 minutos) de todos os insecticidas, todos os tubos de exposição devem estar numa posição vertical.
- ▶ No final do período de exposição, transferir os mosquitos para o tubo de repouso invertendo o procedimento. Abrir a lâmina e soprar gentilmente os mosquitos para o tubo de repouso; fechar a lâmina e remover o tubo de exposição. Depois colocar o tubo de manutenção de modo a que fique em cima da lâmina e colocar um disco de algodão húmido na tela.
- ▶ Manter todos os tubos de repouso num local com sombra durante 24 horas, de preferência num insectário. Armazenar todos os tubos sob iluminação moderada e difusa e sob humidade adequada. Todos os tubos podem ser armazenados num contentor e cobertos por uma toalha húmida. A temperatura e a humidade devem ser registadas durante o período de recuperação.
- ▶ A mortalidade é medida 24 horas após a exposição. Um mosquito adulto deve ser considerado vivo quando consegue voar, independentemente do número de patas restantes. Quaisquer mosquitos caídos e os que têm patas ou asas a menos são considerados como mortos, uma vez que serão provavelmente apanhados por predadores e formigas. Os resultados devem ser registados no formulário fornecido.
- ▶ Para os controlos, devem ser utilizados mosquiteiros tratados e o teste deve ser replicado quatro vezes.



Figura An7.2 Libertando os mosquitos para os tubos

A7.2.2 Teste que utiliza os cones da OMS

Conteúdos do kit de teste

- ▶ Cones de plástico transparente, com 8,5 cm de diâmetro na base e 5,5 cm de altura;
- ▶ 2 tubos de sucção de vidro (ou plástico) com 12 mm de diâmetro interno, juntamente com uma tubulação de 60 cm e um bocal;
- ▶ 1 rolo de fita auto-adesiva ou uma folha de etiquetas;
- ▶ Folha de instruções;
- ▶ 3 folhas de papel log-probit para traçar a linha de regressão no cálculo do LT50, utilizando tempos variáveis com uma concentração constante;
- ▶ Contador, para contar os mosquitos, enquanto estes são libertados para dentro dos cones ou para calcular os mosquitos caídos.

Tratamento dos mosquiteiros

Pedaços do mosquiteiro, com 25x25 cm, devem ser dobrados e cada um colocado numa placa de Petri de plástico descartável. São utilizadas placas Petri diferentes para o tratamento de cada mosquiteiro, que são posteriormente deitadas fora correctamente. A formulação diluída necessária deve ser cuidadosa e uniformemente colocada no mosquiteiro através de uma pipeta. O mosquiteiro deve depois ser ensopado durante uns segundos, utilizando os dedos protegidos por luvas de plástico, de modo a assegurar que toda a solução de insecticida é absorvida. Cada amostra de rede deve secar na mesma placa. As amostras de rede devem ser tratadas no dia anterior ao ensaio biológico, e nunca mais de 3 dias antes do teste (ver Figura An7.3). Os mosquiteiros tratados devem ser utilizados de preferência 1 a 3 dias após o tratamento, nunca depois de uma semana.



Figura An7.3 Tratamento do mosquiteiro

Ensaio biológico

Os ensaios biológicos padrão da OMS utilizam mosquitos fêmeas *Anopheles* padrão, suscetíveis, com 1-3 dias, que não se alimentaram de sangue, expostos durante 3 minutos às amostras de rede presentes nos cones da OMS. O ensaio biológico é utilizado, (i) 1-3 dias após o tratamento dos materiais de rede; (ii) 24 horas após cada lavagem de mosquiteiro; e (iii) em intervalos de tempo diferentes após os mosquiteiros tratados serem ensopados. Devem ser ajustados suavemente quatro cones no mosquiteiro. São introduzidos cinco mosquitos fêmeas em cada cone, com 8 réplicas por cada amostra de rede (i.e. 40 mosquitos testados). O intervalo de tempo entre cada conjunto de “4 cones” deve ser o mais curto possível (ver Figura An7.4). Os mosquitos dos primeiros 4 cones testados são agrupados num copo de plástico (20 mosquitos no total). O mesmo procedimento é seguido para a segunda série.

As quedas são registadas em intervalos regulares durante 20-30 minutos após a exposição, começando assim que o 4º cone (em cada conjunto) tenha sido transferido para o copo e acabando quando cerca de 80% dos mosquitos tenham caído. A observação termina passados 60 minutos, mesmo que 80% dos mosquitos não tenham caído. Será fornecida sacarose para cada copo, adicionada através de tampões de algodão. Para além da taxa de queda após 60 minutos de exposição, é registada a mortalidade após 24 horas (ver Figura An7.5).



Figura An7.4 Ensaio biológico em cones



Figura An7.5 Colocando o mosquito num copo para observar o tempo de queda e o período de recuperação

A7.2.3 Teste que utiliza o aparelho de rede com uma esfera de armação de arame

Conteúdos do kit de teste

- ▶ Aparelho com uma armação de arame com 15 cm de diâmetro (ver Figura An7.6);
- ▶ 2 tubos de sucção de vidro (ou plástico) com 12 mm de diâmetro interno, juntamente com uma tubulação de 60 cm e um bocal;
- ▶ 1 rolo de fita auto-adesiva ou uma folha de etiquetas;
- ▶ Folha de instruções;
- ▶ 3 folhas de papel log-probit para traçar a linha de regressão no cálculo do LT50, utilizando tempos variáveis com uma concentração constante;
- ▶ Contador, para contar os mosquitos enquanto estes são libertados para dentro da armação de arame ou para calcular os mosquitos caídos (ver Figura An7.7).



Figura An7.6 Aparelho de rede com armação de arame



Figura An7.7 Conteúdos do kit de teste que usa o aparelho de rede com armação de arame

Procedimento do teste

Todos os procedimentos serão realizados como descritos no teste de cones.

Em resumo: para a mortalidade são introduzidos 5 mosquitos em cada cone para um período de exposição de 3 minutos (ver figura An7.8). A mortalidade é contada após um período de recuperação de 24 horas. Para as quedas são introduzidos 11 mosquitos em cada cone e será registado o tempo de queda do 6º mosquito. Este tempo é considerado o tempo médio de queda. À medida que cada mosquito cai, é aspirado para evitar confusão com os mosquitos que estão a recuperar e caem posteriormente.

Este método oferece uma indicação sensível do efeito da lavagem e renovação de tratamento dos mosquiteiros, enquanto uma exposição padrão de 3 minutos de uma estirpe/população suscetível a um piretróide alfa-ciano tem tendência a resultar em 100% de mortalidade em todos os testes. Neste método, as avaliações da mortalidade e das quedas podem ser realizadas paralelamente, utilizando o aparelho de rede. Para qualquer teste são necessárias réplicas adequadas para examinar a variação na eficácia biológica, em partes diferentes do mesmo mosquiteiro e entre mosquiteiros. De preferência, devem ser testados 50 mosquitos fêmeas através de réplicas adequadas.



Figura An7.8 Introduzindo o mosquito no aparelho de rede

Condições de teste

Os testes devem ser realizados, de preferência, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura e com 70-80% de humidade relativa; os testes nunca devem ser realizados com temperaturas acima dos 30°C .

Interpretação dos resultados do teste

A percentagem de mortalidade deve ser registada no formulário de relatório após o período de recuperação de 24 horas. Se a mortalidade de controlo estiver entre os 5-20%, a percentagem de mortalidade deve ser corrigida através da aplicação da fórmula de Abbott, como se segue:

$$\frac{\% \text{ da mortalidade de teste} - \% \text{ da mortalidade de controlo}}{100 - \% \text{ da mortalidade de controlo}} \times 100$$

Se a mortalidade de controlo exceder os 20%, os resultados devem ser registados e o teste repetido. Para calcular o KD50 deve ser utilizada a análise probit.



PARA MAIS INFORMAÇÕES, ENTRE EM CONTATO COM

Programa Global da Malária,
Organização Mundial da Saúde,
20 avenue Appia
1211 Genebra 27
Suíça

E-mail: infogmp@who.int
<http://www.who.int/malaria>

ISBN 978 92 4 850581 2

