

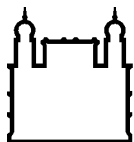
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária

ASPECTOS ECOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA MALÁRIA EM ÁREAS  
URBANAS DE CASOS AUTÓCTONES E IMPORTADOS NO ESTADO DE  
RORAIMA

NATHÁLIA COELHO VARGAS DE ALMEIDA

Rio de Janeiro  
Fevereiro de 2022



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária**

*Nathália Coelho Vargas de Almeida*

**ASPECTOS ECOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA MALÁRIA EM ÁREAS  
URBANAS DE CASOS AUTÓCTONES E IMPORTADOS NO ESTADO DE  
RORAIMA**

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

**Orientadora:** Profa. Dra. Joseli de Oliveira Ferreira.

**RIO DE JANEIRO**  
Fevereiro de 2022

Vargas-Almeida, Nathália Coelho.

ASPECTOS ECOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA MALÁRIA EM ÁREAS URBANAS DE CASOS AUTÓCTONES E IMPORTADOS NO ESTADO DE RORAIMA / Nathália Coelho Vargas-Almeida. - Rio de Janeiro, 2022.  
127 f.; il.

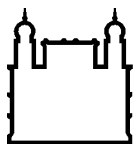
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2022.

Orientadora: Dra. Joseli de Oliveira Ferreira.

Co-orientadora: Teresa Fernandes Silva do Nascimento.

Bibliografia: f. 73-90

1. Malária. 2. Roraima. 3. Vetores. 4. Autóctones. 5. Importados. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária**

***AUTORA: Nathália Coelho Vargas de Almeida***

**ASPECTOS ECOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA MALÁRIA EM ÁREAS  
URBANAS DE CASOS AUTÓCTONES E IMPORTADOS NO ESTADO DE  
RORAIMA**

**ORIENTADORA: Profa. Dra. Joseli de Oliveira Ferreira.**

**Aprovada em: 23/02/2022**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. José Bento Pereira Lima - Presidente** (Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz)

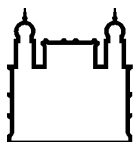
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Martha Suárez Mutis** (Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz)

**Prof. Dr. Ricardo Luis Dantas Machado** (Universidade Federal Fluminense)

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monique Albuquerque Motta** (Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz)

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Nakashima** (Universidade Federal de Roraima)

Rio de Janeiro, 23 de fevereiro de 2022



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

Ata da defesa de tese de doutorado acadêmico em Biologia Parasitária de Nathalia Coelho Vargas de Almeida, sob orientação da Dr<sup>a</sup>. Joseli de Oliveira Ferreira. Ao vigésimo terceiro dia do mês de fevereiro de dois mil vinte e dois, realizou-se às nove horas, de forma síncrona remota, o exame da tese de doutorado acadêmico intitulada: "Aspectos ecológicos da transmissão da malária em áreas urbanas de casos autóctones e importados no estado de Roraima", no programa de Pós-graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências - área de concentração: Biologia, na linha de pesquisa: Biologia de Parasita, Vetores e Hospedeiros. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. José Bento Pereira Lima – IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr<sup>a</sup>. Martha Cecilia Suárez Mutis– IOC/FIOCRUZ, Dr. Ricardo Luiz Dantas Machado – UFF/RJ, e como suplentes: Dr<sup>a</sup>. Monique de Albuquerque Motta- IOC/FIOCRUZ e Dr<sup>a</sup>. Fabiana Nakashima - UFRR/RR. Após arguir a candidata e considerando que a mesma demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela **Aprovação** da defesa da tese de doutorado acadêmico. De acordo com o regulamento do Curso de Pós- Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutora em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Presidente da Banca atesta a decisão e a participação da aluna e de todos o membros da banca de forma síncrona remota. O Coordenador do Programa Dr. André Luiz Rodrigues Roque, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 23 de fevereiro de 2022.

Dr. José Bento Pereira Lima (Presidente da Banca): *José Bento P. Lima*

Dr. André Luiz Rodrigues Roque (Coordenador do Programa): *André Luiz Rodrigues Roque*

À minha família, pelo apoio incondicional.  
Aos meus filhos, por me ensinarem a ser  
melhor todos os dias.

## Agradecimentos

À minha orientadora “Lila”, Dra. Joseli de Oliveira Ferreira, que sempre acreditou no meu potencial. Sempre me apoiou independentemente da situação, por me guiar nos caminhos durante toda pesquisa, e por me ajudar a concluir esta jornada. Obrigada por sua dedicação, que o fez, por muitas vezes, deixar de lado seus momentos de descanso para me ajudar e me orientar.

À minha coorientadora Teresa Fernandes Nascimento por sempre me incentivar, me mostrar que as dificuldades não eram só minhas, por contribuir com sua experiência de campo e seu vasto conhecimento em entomologia.

À coordenação da Pós-graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz por todo esforço dispensado.

Ao Instituto Oswaldo Cruz que me concedeu uma bolsa, durante a realização deste doutorado, fato este que muito contribuiu para a viabilização desta tese.

Ao Laboratório de Imunoparasitologia pelo apoio no trabalho de campo e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

Ao Maycon Neves que nos deu suporte no campo contribuindo com sua experiência e revisando o material de laboratório.

A Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde de Roraima, e pessoas que comigo trabalharam Daniela Palha, Luciana Grisoto, Ana Paula e Danubia.

Aos profissionais que trabalham nos setores de endemias e entomologia dos municípios de Pacaraima, São João da Baliza e Boa Vista, em especial, Ribamar, Júlio, Aldenisson, Gil Neto, Regivaldo, Lorival (*im memoriam*).

Aos amigos e colegas do Núcleo Estadual de Entomologia, que nunca mediram esforços para me ajudar no trabalho de campo e de laboratório, que em muitos momentos foram meu apoio nas dificuldades Muniz, Davi, Janilene, Valdenor, Pedro, Francisco, Williasmar, Cláudio, Ronaldo, Dejacir. Gostaria de agradecer o esforço de cada um nesta jornada.

Aos meus colegas do doutorado, em especial Jaime que me incentivou desde o início da seleção até agora, Raquel e Luciano sempre compartilhando saberes.

Ao Júlio Silva pela contribuição estatística, ao João Luiz Pereira de Araújo pela amizade e cooperação, ao Thiago Morato pela colaboração com os mapas.

Aos Diretores e mantenedores da Faculdade Cathedral, pelo incentivo, apoio e por me liberarem para o trabalho de campo em especial Prof. Bismarck, Prof. Marcos Pereira, Prof. Edison Xavier.

As amigas Clarissa, Eleonora, Adriana, Cecília, Ana e Luciana, pela energia, pela luz, pela presença constante e pelo suporte em momentos importantes da minha saúde.

Ao anjo que Deus colocou em nossas vidas com o nome de Marlene, que nos ajuda diariamente com tanto amor e dedicação.

Ao meu esposo Luciano, que me apoiou, ajudou, compreendeu e cuidou dos nossos filhos durante os trabalhos de campo, sem ele não seria possível chegar até aqui. Obrigada por entender que esta conquista era importante para mim. Meus filhos, Gustavo Henrique que foi companheiro de viagem em alguns momentos e se apaixonou pelo mundo dos insetos, meu pequeno Guilherme José que nasceu no final do trabalho de campo me ensinando a ser mais paciente e calma. Me desculpem pelos momentos de ausência e pelos dias que foi preciso dizer não.

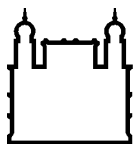
A minha honrada família que é minha referência. Ao meu pai, que deixou tudo e viajou sozinho para me ajudar no meu primeiro projeto piloto, ficando na minha casa cuidando do meu Gu. A minha mãe, que nunca mediu esforços para me apoiar, que sempre acreditou em mim! Pai e mãe, vocês sabem o quão difícil foi chegar até aqui, mas se cheguei foi porque tive o total apoio de vocês. Obrigada por me aceitar como filha!

Aos meus irmãos, cunhadas e sobrinhos que sempre torceram e rezaram para tudo dar certo. Aos tios, primos, primas, amigas que tinham sempre uma palavra de carinho e incentivo.

A Deus por ter me mantido em pé, ter me ajudado a concluir esse sonho e entregar meu destino nas mãos de pessoas tão especiais, por elas vos peço toda proteção.



Eu quero, eu posso, eu consigo (autor desconhecido).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

# ASPECTOS ECOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA MALÁRIA EM ÁREAS URBANAS DE CASOS AUTÓCTONES E IMPORTADOS NO ESTADO DE RORAIMA

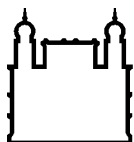
## RESUMO

### TESE DE DOUTORADO EM BIOLOGIA PARASITÁRIA

**Nathalia Coelho Vargas de Almeida**

Roraima está localizada no extremo norte do país na fronteira com Venezuela e Guiana e atualmente é o estado com maior número de casos importados de malária no país. O movimento de indivíduos infectados de áreas endêmicas dos países vizinhos e a presença de vetores em Roraima, tornam os municípios fronteiriços e a capital vulneráveis aos surtos de malária e epidemias. Portanto, compreender a diversidade de espécies de vetores e sua ecologia é essencial para desenhar estratégias eficazes de controle de vetores para esses municípios. Portanto, este estudo teve como objetivo determinar a composição da fauna de anofelinos e seus *habitats*, alguns aspectos do comportamento hematofágico e da dinâmica sazonal das espécies transmissoras em áreas de malária autóctone e importada no estado de Roraima. Um estudo longitudinal foi conduzido de janeiro de 2017 a outubro de 2018, para coleta de larvas e mosquitos adultos em três municípios do Estado de Roraima: Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza. Em cada município foram selecionados 4 a 6 seis criadouros de larvas de anofelinos para amostragem de larvas, juntamente com dois locais adicionais para coleta de mosquitos adultos. Todos os criadouros foram pesquisados a cada dois meses usando uma metodologia padronizada de amostragem de larvas e o capturador de Nasci para o intradomicílio e armadilha Shanon e a MosqTent para coleta de mosquitos adultos. Um total de 544 larvas de *Anopheles* spp. e 1488 adultos foram coletados nos três municípios estudados. Este estudo mostrou uma diversidade de espécies e criadouros de larvas de anofelinos em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza. Embora a abundância de espécies tenha diferido entre os municípios, as larvas de *Anopheles albitarsis* s.l., *Anopheles nuneztovari* s.l. e *Anopheles triannulatus* s.l. foram coletadas em todos os criadouros estudados enquanto *Anopheles darlingi* foram coletadas apenas em Boa Vista e São João da Baliza. Em Boa Vista a espécie predominante foi *An. albitarsis* (88,2%) seguido por *An. darlingi* (6,9%), enquanto em São João da Baliza, *An. darlingi* (85,6%)

foi a espécie predominante seguida por *An. albitarsis s.l.* (9,2%). Em contrapartida, a espécie mais abundante em Pacaraima foi *Anopheles braziliensis* (62%), seguido de *Anopheles peryassui* (18%). No geral, a maioria das espécies apresentaram comportamento predominantemente exofágico com exceção do *An. darlingi* que foi a única espécie coletada no intradomicílio em São João da Baliza. Nós concluímos que o *An. darlingi* é o vetor mais importante na transmissão da malária autóctone urbana de São João da Baliza e o *An. albitarsis s.l.* e *An. braziliensis* em Boa Vista e Pacaraima, áreas de baixa transmissão, embora sejam responsáveis pelos maiores números de casos importados do estado. Considerando a distribuição e o comportamento das espécies de vetores em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza, intervenções como borrifação intradomiciliar provavelmente serão insuficientes para reduzir a transmissão da malária nestes municípios. Pode-se especular que a população local de vetores em Boa Vista e Pacaraima é suficiente para sustentar a baixa transmissão da doença e amenizar os efeitos que os casos importados teriam se o *An. darlingi* fosse mais prevalente.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### ECOLOGICAL ASPECTS OF MALARIA TRANSMISSION IN URBAN AREAS OF AUTOCHTHONOUS AND IMPORTED CASES IN THE STATE OF RORAIMA

#### ABSTRACT

#### PHD THESIS IN PARASITE BIOLOGY

**Nathalia Coelho Vargas de Almeida**

Roraima is located in the extreme north of the country on the border with Venezuela and Guyana and is the state with the highest number of imported cases of malaria in the country. The movement of infected individuals from endemic areas from neighboring countries and the presence of vectors in Roraima make border municipalities and the capital town vulnerable to malaria outbreaks and epidemics. Therefore, understanding the diversity of vector species and their ecology is essential to design effective vector control strategies for these municipalities. Therefore, this study aimed to determine the composition of the anopheline fauna and their *habitats*, some aspects of the hematophagic behavior and the seasonal dynamics of the transmitting species in areas of autochthonous and imported malaria in the state of Roraima. A longitudinal study was conducted from January 2017 to October 2018, to collect larvae and adult mosquitoes in three municipalities in the state of Roraima: Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza. In each municipality, 4 to 6 anopheline larvae breeding sites were selected for larval sampling, along with two additional sites for adult mosquito collection. All breeding sites were surveyed every two months using a standardized larval sampling methodology and the Nasci aspirator, Shanon trap and MosqTent for adult mosquito collection. A total of 544 *Anopheles* larvae and 1488 adults were collected in the three municipalities studied. This study showed a diversity of anopheline larvae species and breeding sites in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza. Although the abundance of species differed between municipalities, the larvae of *Anopheles albitarsis* s.l., *Anopheles nuneztovari* s.l. and *Anopheles triannulatus* s.l. were collected in all breeding sites studied while *Anopheles darlingi* were collected only in Boa Vista and São João da Baliza. In Boa Vista the predominant species was *An. albitarsis* (88.2%) followed by *Anopheles darlingi* (6.9%), while in São João da Baliza, *An. darlingi* (85.6%) was the predominant species followed by *An. albitarsis* s.l. (9.2%). On the other hand, the most abundant species in Pacaraima was *Anopheles braziliensis* (62%), followed by *Anopheles peryassui* (18%). In general,

most species showed predominantly exophagic behavior except for *An. darlingi* which was the only species collected indoors in São João da Baliza. We conclude that *An. darlingi* is the most important vector in the transmission of autochthonous urban malaria in São João da Baliza and *An. albitarsis s.l.* and *An. braziliensis* in Boa Vista and Pacaraima, areas of low transmission, although they are responsible for the highest number of cases imported from the state. Considering the distribution and behavior of vector species in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza, interventions such as indoor roosting will likely be insufficient to reduce malaria transmission in these municipalities. It can be speculated that the local population of vectors in Boa Vista and Pacaraima is sufficient to sustain the low transmission of the disease and mitigate the effects that imported cases would have if *An. darlingi* were more prevalent.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	MARCO TEÓRICO	3
	2.1 Malária .....	3
	2.2 Fatores determinantes na transmissão da malária .....	6
	2.3 Principais vetores da malária no Brasil .....	10
	2.4 Situação da malária no Brasil no contexto amazônico .....	15
	2.5 A História da Malária em Roraima .....	21
3	JUSTIFICATIVA	27
4	OBJETIVOS	28
	4.1 Objetivo Geral .....	28
	4.2 Objetivos Específicos .....	28
5	MATERIAL E MÉTODOS	29
	5.1 Área estudada .....	29
	5.2 Desenho do estudo .....	30
	5.3 Estudo retrospectivo .....	30
	5.4 Estudos entomológicos .....	31
	5.4.1 Coletas e seleção dos criadouros .....	31
	5.5 Coleta das formas imaturas e tratamento das amostras .....	41
	5.6 Coletas de anofelinos adultos .....	43
	5.7 Dados Pluviométricos .....	45
	5.8 Espacialização dos dados .....	45
	5.8.1 Análise espacial .....	45
	5.8.2 Produção de Mapas .....	45
	5.8.3 Análise Estatística .....	46
	5.9 Aspectos éticos .....	46
6	RESULTADOS	47
	6.1 Características dos criadouros monitorados em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza .....	47
	6.2 Identificação de formas imaturas de anofelinos .....	50

6.3	Associação entre as espécies de larvas de anofelinos e as principais características dos criadouros .....	52
6.4	Distribuição dos anofelinos no intra, peri e extradomicílio nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza .....	54
6.5	Variação sazonal dos anofelinos em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza .....	55
6.6	Distribuição das espécies de anofelinos mais abundantes por horário de hematofagia nas capturas de 12h.....	58
6.7	Taxa de Picada Homem/noite no peridomicílio e extradomicílio em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza.....	59
6.8	São João da Baliza e a malária urbana .....	60
6.9	Distribuição espacial dos casos de malária e dos criadouros e das espécies de anofelinos em São João da Baliza.....	62
7	DISCUSSÃO	65
8	PERSPECTIVAS	71
9	CONCLUSÕES	72
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	ANEXOS	91

## Índice de Figuras

Figura 1 - Ciclo biológico da Malária .....	5
Figura 2 - Linha do tempo do Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM), com destaque para as principais atividades realizadas, Brasil, 2003-2016 .....	18
Figura 3 - Evolução da divisão política do Estado de Roraima .....	22
Figura 4 - Número de Casos autóctones de malária registrados no Estado de Roraima entre janeiro de 2003 e dezembro de 2016 .....	25
Figura 5 - Mapa do Estado de Roraima com destaque e localização das três áreas de estudo .....	30
Figura 6 - Mapa mostrando a localização dos criadouros e os pontos de coletas de larvas e de captura de adultos em Boa Vista, Roraima .....	32
Figura 7 - Mapa mostrando a localização dos criadouros e os pontos de coletas de larvas e de captura de adultos em Pacaraima, Roraima .....	35
Figura 8 - Fotos dos criadouros e mapa mostrando a localização dos criadouros e pontos de captura em São João da Baliza, Roraima .....	38
Figura 9 - Larvas de terceiro e quarto estágio nos copos plástico e material utilizado para manter as larvas para criação .....	43
Figura 10 - Variação sazonal das espécies de anofelinos mais abundantes. A. Boa Vista, B. Pacaraima e C. São João da Baliza .....	57
Figura 11 - Dispersão das espécies mais abundantes de anofelinos por intensidade média de chuva e temperatura .....	58
Figura 12 - Distribuição das espécies de anofelinos mais abundantes por horários de hematofagia nas capturas de 12h. A. Boa Vista. B. Pacaraima. C. São João da Baliza .....	59
Figura 13 - Números de casos de malária em área urbana e rural no município de São João da Baliza nos anos de 2015 a 2020 .....	61
Figura 14 - Imagem de satélite da área urbana de São João da Baliza mostrando os pontos de coleta e ilustração da mesma área mostrando a distribuição espacial dos casos de malária, dos criadouros, e das espécies de larvas e adultos coletados na área urbana de São João da Baliza .....	64



## Índice de Fotos

Foto 1 - Criadouro Jardim Caranã, Boa Vista, Roraima .....	33
Foto 2 - Criadouro Rio Cauamé, Boa Vista, Roraima.....	33
Foto 3 - Criadouro lago Caranã, Boa Vista, Roraima .....	34
Foto 4 - Criadouro igarapé do Frasco, Boa Vista, Roraima.....	34
Foto 5 - Criadouro nascente, Pacaraima, Roraima .....	35
Foto 6 - Criadouro cachoeirinha, Pacaraima, Roraima .....	36
Foto 7 - Criadouro casa do mecânico, Pacaraima, Roraima.....	36
Foto 8 - Criadouro sítio sossego, Pacaraima, Roraima.....	37
Foto 9 - Criadouro horta do japonês, Pacaraima, Roraima .....	37
Foto 10 - Criadouro florestal, Pacaraima, Roraima .....	38
Foto 11 - Criadouro casa do professor, São João da Baliza, Roraima.....	39
Foto 12 - Criadouro casa da professora, São João da Baliza, Roraima.....	39
Foto 13 - Criadouro vila olímpica, São João da Baliza, Roraima .....	40
Foto 14 - Criadouro parque aquático, São João da Baliza, Roraima .....	40
Foto 15 - Criadouro chácara do Betinho, São João da Baliza, Roraima .....	41
Foto 16 - armadilha MosqTent .....	44

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Casos autóctones de malária segundo unidade federativa e região, 2018 e 2019 .....	20
Tabela 2 - Características dos criadouros de larvas de anofelinos nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza .....	49
Tabela 3 - Total de larvas de anofelinos coletadas por espécie e por criadouro nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza monitorados no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018. ....	51
Tabela 4 - Modelos logísticos univariados para estimar a associação entre as principais características dos criadouros e a ocorrência das quatro espécies de larvas Anopheles mais frequentes coletadas no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018 .....	53
Tabela 5 - Número absoluto e frequência relativa de espécies adultas de anofelinos coletadas no intradomicílio, peridomicílio e extradomicílio por MosqTent (atrativo humano protegido) e armadilha Shannon (cavalo), no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018,.....	55
Tabela 6 - Taxa de picadas por noite por espécie no peridomicílio (PD) e extradomicílio (ED) para cada município.....	60
Tabela 7 - Bairros com maior número de casos de malária autóctone na área urbana de São João da Baliza no período de 2016 a 2019.....	62

## Lista de Siglas e Abreviaturas

GPS	Sistema de Posicionamento Global
IPA	Índice Parasitário Anual
M	Metros
M <sup>2</sup>	Metros quadrados
MEPA	Laboratório de Métricas da Paisagem
ML	Mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	Odds Ratio
pH	Potencial hidrogênico
PNCM	Programa Nacional de Controle da Malária
SIRGASS	Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas
SIVEP	Sistema de Informações de Vigilância Epidemiológica
UFRR	Universidade Federal de Roraima
UNICEF	Fundo Internacional de Emergência das Nações Unidas para a Infância
UTM	Universal Transverse Mercator
WGS	World Geodetic System

## 1 INTRODUÇÃO

A incidência de malária na Amazônia brasileira reduziu de 333.461 casos em 2010 para 156.916 em 2019. No entanto, nos estados que compartilham fronteiras internacionais, as intervenções de controle não foram bem-sucedidas e a malária continua a aumentar (1).

Roraima é um estado brasileiro no extremo norte do País que faz fronteira com a Guiana e a Venezuela. Desde 2016 vive um fluxo migratório sem precedentes de venezuelanos devido à conjuntura econômica, social e política em seu país (2,3). Segundo o UNICEF e as autoridades de migração no Brasil, estima-se que 178.000 venezuelanos cruzaram a fronteira internacional no estado de Roraima, com aproximadamente 32.000 assentamentos em Boa Vista, capital do estado, localizada a cerca de 100 km da Guiana e a 200 km da Venezuela (4). Um dos principais problemas enfrentados no aumento da transmissão da doença na Venezuela é o grande fluxo de pessoas oriundas das minas de ouro na fronteira com o Brasil (5). Certamente, o aumento dos movimentos da população fronteiriça entre Brasil, Venezuela e Guiana afetou as medidas de controle da malária e contribuiu para a disseminação da doença no estado de Roraima (1,5).

Dados do Ministério da Saúde, SIVEP-malária (Sistema de Informações de Vigilância Epidemiológica - malária), mostram que o número de casos notificados em Roraima quase triplicou, de 8.969 casos em 2016 para 23.369, em 2018. No entanto, 34% desses casos foram importados de outros estados do Brasil [3.630 casos] e de outros países [5.513], principalmente da Venezuela [4.478 casos] e Guiana [610 casos] (2). As infecções por *Plasmodium falciparum* foram responsáveis por 9,8% dos casos autóctones e 26% dos casos importados de outros países (2). Este influxo de casos de *P. falciparum* através das fronteiras internacionais ameaça o objetivo brasileiro de eliminação deste parasito. Em Roraima, os municípios de Boa Vista (capital) e Pacaraima (fronteira com a Venezuela), registraram mais da metade de todos os casos de malária transfronteiriços no Brasil entre 2007 e 2018 (1).

Apesar de serem consideradas áreas de baixo risco de transmissão, o grande fluxo migratório e os numerosos registros de casos importados principalmente da Venezuela e da Guiana, tornaram os municípios fronteiriços e a capital vulneráveis a surtos e epidemias de malária. Além disso, existe a preocupação com a circulação do

*P. falciparum* importado de países vizinhos, resistente aos medicamentos usados no tratamento da malária no Brasil (6,7).

O *Anopheles darlingi* é o principal vetor em várias regiões da Amazônia brasileira, transmitindo tanto *P. falciparum* quanto *P. vivax* e é a espécie predominante em regiões de alto risco de malária, contribuindo para a manutenção de altos níveis de transmissão (6). Na região Norte, além do *An. darlingi*, outras espécies também estão envolvidas na dinâmica da transmissão, como o *An. albitarsis s.l.*, *An. nuneztovari s.l.*, *An. triannulatus* e *An. braziliensis*, embora como vetores secundários e de importância local (3,7–9).

Em Roraima, estudos anteriores realizados em Boa Vista relataram que *An. darlingi* e *An. albitarsis s.l.* foram os vetores locais mais relevantes. Entretanto o *An. albitarsis* foi o anofelino mais frequente, principalmente e apresentou o maior índice de picada (10–13). Embora *An. darlingi* e *An. albitarsis s.l.* sejam considerados os principais vetores da malária em Boa Vista, o papel do *An. albitarsis s.l.* como vetor primário na transmissão da malária em outros municípios de Roraima não é conhecido.

Portanto, com os altos níveis de malária importada em curso em Roraima, e a paisagem ecológica diversificada no estado, este estudo teve como objetivo identificar os habitats de larvas de anofelinos, a composição de espécies e a distribuição de vetores nos municípios com maior número de casos de malária importados (Boa Vista e Pacaraima) e autóctones (São João da Baliza) no Estado de Roraima. A identificação de potenciais habitats de larvas e das condições ecológicas que determinam a presença de espécies de *Anopheles* spp. competentes para transmitir *Plasmodium* spp. será uma importante contribuição para o controle e eliminação da malária em Roraima.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Malária

A Malária é uma doença infecciosa, febril, aguda, de origem parasitária e de transmissão vetorial (14). Trata-se de uma doença antiga também conhecida por maleita, impaludismo, paludismo e febre terçã ou quartã (15). Normalmente, os sintomas aparecem entre 10 e 15 dias após a picada do mosquito infectado, e se a doença não for tratada a tempo, pode desencadear complicações e até causar a morte (16).

A malária é uma doença causada por protozoários do gênero *Plasmodium* spp. e transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles* spp. Dentre as espécies de *Plasmodium* spp. descritas, as principais capazes de infectar o ser humano são seis: O *Plasmodium vivax* (GRASSI & FELETTI, 1890), *P. falciparum* (WELCH, 1897), *P. malariae* (FELETTI & GRASSI, 1889), *P. ovale curtisi* (17,18), *P. ovale wallikeri* (17–19) e *Plasmodium knowlesi* (20). Este último, na última década, emergiu como uma fonte significativa de infecções zoonóticas no sudeste da Ásia (21). Além do *P. knowlesi*, o *Plasmodium cynomolgi* foi relatado infectando humanos de forma assintomática no oeste do Camboja (22), o *P. brasilianum* na Amazônia venezuelana (23) e o *P. simium* na região de mata Atlântica no sudeste do Brasil (24).

O *P. falciparum* e o *P. vivax* são as espécies mais prevalentes, sendo o *P. falciparum* responsável pela maior parte das mortes e o mais prevalente na África subsaariana. O *P. vivax* tem maior distribuição geográfica e predominância sobre o *P. falciparum* em muitas regiões endêmicas no mundo, inclusive no Brasil (25) As outras espécies, têm prevalências muito mais reduzidas, como o *P. malariae*, *P. ovale* e, mais recentemente, o *P. knowlesi*, que era considerada uma espécie de *Plasmodium* spp. restritamente simiana encontrada em regiões de floresta do continente asiático (26).

As principais espécies transmissoras no Brasil são o *Anopheles darlingi* (26) ROOT, 1926 e *Anopheles aquasalis* CURY, 1932 (27). O modo de transmissão é vetorial, pela fêmea de algumas espécies do gênero *Anopheles* spp. com distribuição em países localizados principalmente na faixa terrestre tropical e subtropical da linha do equador. Essas regiões dos trópicos são consideradas subdesenvolvidas ou com baixo Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), cenário ideal para manutenção da cadeia de transmissão da malária (28). A malária é um enorme peso para saúde com

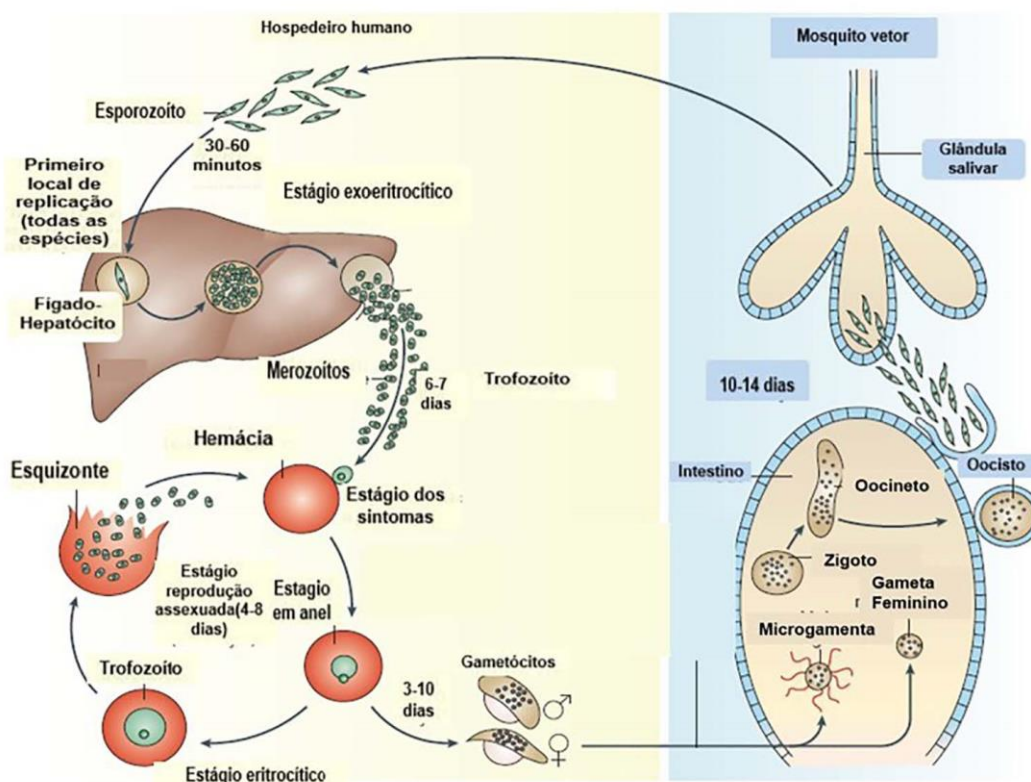
impacto no IDH do Brasil, principalmente na Amazônia Legal onde a doença é considerada um sério problema de saúde pública, exibindo ampla incidência e efeitos debilitantes em virtude, principalmente, das condições ambientais propícias para a manutenção dos vetores causadores desta doença (29,30).

Historicamente, a pobreza tem estado associada à malária e, em situações de mobilidade humana para regiões insalubres, essa doença é a primeira a surgir em áreas receptivas com presença de vetores em ambientes alterados como consequência do processo migratório especialmente de indivíduos susceptíveis. (31,32). Vários componentes contribuem com estes fatores citados, inclusive a antropofilia, que é a tendência de alguns grupos de vetores de se alimentarem em humanos, a longevidade comum desses mosquitos e a habilidade inata de algumas espécies em permitir o desenvolvimento do parasito (33). Por este fator afirma-se que a malária é produzida pela junção de vários aspectos que estabelecem relações de natureza biológica, socioeconômica, cultural e ambiental (34,35).

A infecção pelo *Plasmodium* spp. na malária humana é iniciada quando a fêmea do mosquito do gênero *Anopheles* spp. injeta esporozoítos na pele durante o repasto sanguíneo; alguns esporozoítos podem ficar muitos dias nas células epiteliais e, somente aqueles que migram para a corrente sanguínea e alcançam o fígado são capazes de se desenvolver e dar início à fase exo-eritrocítica do ciclo (Figura 1) (36).

Após invasão dos hepatócitos, os esporozoítos se replicam de maneira assexuada formando os esquizontes multinucleados com dezenas de milhares de merozoítos. Os merozoítos são liberados dos hepatócitos para a circulação sanguínea através da formação de vesículas denominadas merossomas (37). Os merossomas atingem os vasos sanguíneos liberando os merozoítos na circulação e invadem os glóbulos vermelhos. A fase exo-eritrocítica do ciclo tem duração de aproximadamente duas semanas nas infecções por *P. vivax* e *P. falciparum*. No caso dos *P. vivax* e *P. ovale*, alguns esporozoítos podem permanecer em uma forma latente no interior do fígado, os denominados hipnozoítos, que são responsáveis pelas recaídas da doença meses ou anos após a infecção (38).

Figura 1 - Ciclo biológico da Malária



Fonte: Adaptado de Phillips, M. et al., 2017

No interior dos glóbulos vermelhos, os merozoítos se desenvolvem de forma cíclica passando pelos estágios de anel, trofozoíto e esquizontes dando origem a merozoítos capazes de reinfetar novos glóbulos vermelhos. Esta fase sanguínea pode durar em média 48 horas em caso de infecção por *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale*; até 72 horas, quando infectado por *P. malariae*; e 24 horas, por *P. knowlesi*.

Após algumas gerações de merozoítos sanguíneos, alguns irão, por mecanismos e estímulos desconhecidos, se desenvolver em gametócitos imaturos e posteriormente em gametócitos maduros, masculinos e femininos que são capturados por outro mosquito durante um novo repasto sanguíneo.

O ciclo no mosquito tem início quando a fêmea do *Anopheles* spp., durante o repasto, ingere gametócitos femininos e masculinos. No intestino médio do mosquito esses gametócitos se diferenciam em gametas e ao serem fertilizados produzem zigoto sendo denominado de oocineto. O oocineto se movimenta por contrações e, dessa forma, atravessa a matriz peritrófica, alcança a parede do intestino médio e encista na camada epitelial passando a ser denominado de oocisto. No interior das células epiteliais, os oocistos, se multiplicam por esporogonia dando origem aos esporozoítas. Em torno de 9 a 14 dias corridos desde a infecção estes oocistos se



rompem liberando esporozoítos que, por sua vez, vão migrar para as glândulas salivares do mosquito onde serão inoculados no hospedeiro vertebrado durante o próximo repasto sanguíneo do mosquito reiniciando o ciclo (38)

## **2.2 Fatores determinantes na transmissão da malária**

Apesar dos grandes avanços em nível mundial para o controle da malária e uma diminuição significativa da morbimortalidade desta doença em muitas regiões endêmicas no mundo, a malária continua sendo a infecção parasitária mais importante que acomete o homem (26). Isso porque, entre outros motivos, vários fatores ambientais afetam as taxas vitais de mosquitos e parasitos incidindo na intensidade da transmissão, na sazonalidade e na distribuição geográfica da malária. Constantemente, pesquisas têm sugerido a influência dos fatores climáticos na ocorrência de doenças vetoriais (39–41). Desse modo, algumas variáveis ambientais como temperatura, umidade, padrões de uso do solo e de vegetação limitam o ciclo de vida de diversas doenças, sobretudo as transmitidas por vetores (42). Para Castro e Singer (43), os fatores ambientais exercem importante função no risco de transmissão da malária, estando divididos em dois grupos: meio ambiente natural e meio ambiente modificado pela ação humana. Diante deste fato, a paisagem como espaço de interações entre o homem e o ambiente tem sido amplamente estudada, seja nas questões relativas à conservação dos biomas, ao desenvolvimento socioeconômico ou ao seu impacto à saúde pública (44–46).

Fatores baseados no clima, temperatura e precipitação, são os principais determinantes ambientais da malária. A temperatura impacta o desenvolvimento de vetores e parasitos e, portanto, é uma restrição importante na adequação geográfica à malária (47). O desenvolvimento extrínseco do parasito dentro do mosquito vetor é restringido dentro de uma faixa de temperatura (48), que pode ser extremamente alta, condição que pode produzir mosquitos menores e menos fecundos (49). Além disso, o aumento das temperaturas reduz o tempo de maturação do mosquito (da larva para forma adulta), além de aumentar a frequência de alimentação (50,51). Modelos recentes indicam que a transmissão da malária (conforme medida pelo  $R_0$ ) é restrita a temperaturas entre 16°C e 34°C, com transmissão ótima a 25°C (52), ~6°C mais baixa do que o estimado anteriormente (53–55).

A frequência, duração e intensidade da precipitação contribuem para a formação de *habitats* aquáticos adequados para a reprodução do mosquito. Embora poças de água devam persistir por um tempo suficiente para o desenvolvimento do mosquito, a precipitação pesada foi associada à mortalidade das formas imaturas dos vetores (56). Como os mosquitos *Anopheles* spp. têm diferentes preferências, em relação aos seus ambientes de procriação, denominados criadouros. As condições naturais, de tais criadouros a exemplo, da temperatura, da qualidade da água, das características do solo e da cobertura vegetal (57) podem modificar a adequação do *habitat* aquático para o desenvolvimento do mosquito. Assim, a relação entre chuva e malária tem produzido resultados contrastantes, com alguns estudos relatando impactos positivos (58–60), e outros encontrando impactos negativos ou não significativos (61,62).

Eventos climáticos extremos (por exemplo, tempestades tropicais, secas, furacões, ciclones, tufões) costumam ter os impactos mais dramáticos na saúde humana (63). O *El Niño* Oscilação Sul (ENOS) é um fenômeno frequentemente associado a eventos climáticos extremos em todo o mundo, com impactos significativos na transmissão da malária (39). Embora a periodicidade do ENOS varie, os sistemas de alerta precoce (alguns com até 1 ano de antecedência) que monitoram a temperatura da superfície do mar facilitam a adoção de medidas em antecipação às consequências de eventos climáticos extremos (64).

A hidrografia, a hidrologia e a topografia locais afetam o fluxo e a coleta de água e a formação de poças d'água (57,65). Por exemplo, na região amazônica, o nível das águas dos rios aumenta drasticamente durante a estação chuvosa, inundando as áreas imediatamente próximas às margens. Quando termina a estação das chuvas, o nível da água diminui e surgem poças de água adequadas para a reprodução do mosquito vetores, devido à irregularidade do terreno (66).

A presença de predadores naturais de larvas de mosquitos pode contribuir para controlar o tamanho da população de vetores da malária, dependendo das propriedades físico-químicas do *habitat* aquático (67). A umidade afeta a sobrevivência do mosquito, porque em condições muito secas os mosquitos ressecam (68). Por último, os desastres naturais também podem resultar no aumento da transmissão da malária (69) por meio do deslocamento da população e mudança de *habitat* após um terremoto e inundações que propiciam a formação de criadouros de mosquitos vetores da malária (70,71). Em contraste com o fenômeno ENOS, os

desastres naturais muitas vezes acontecem sem aviso, deixando pouco espaço para planejar antecipando seus impactos negativos.

As alterações, realizadas pelo homem, no ambiente natural, servem a muitos propósitos e podem resultar em redução ou aumento da transmissão da malária. A implementação de projetos de desenvolvimento, como estradas, ferrovias, barragens, irrigação, mineração, reassentamento populacional e extração de petróleo, para citar alguns, muitas vezes resultam em impactos sociais e ambientais que, se não forem devidamente avaliados e mitigados, trazem efeitos negativos na saúde das pessoas. Esses impactos estão associados, por exemplo, ao desmatamento que pode criar habitats larvários ideais para os mosquitos; migração de populações sem imunidade para áreas endêmicas de malária ou migração de pessoas infectadas para áreas onde o vetor da malária está presente e a transmissão, embora ausente ou muito baixa, é adequada; uma grande concentração de trabalhadores vivendo em moradias precárias e, portanto, altamente expostos ao vetor; e criação de *habitats* de água ideais para a reprodução do mosquito, como lagos artificiais associados à construção de barragens. Essas e outras consequências de projetos de desenvolvimento, bem como os impactos negativos na saúde, foram bem documentados por mais de um século. No entanto, eles continuam a acontecer e a ameaçar a vida de muitos em áreas endêmicas de malária, expondo grandes falhas na transparência e execução de avaliações de impacto ambiental (72).

O desmatamento maciço observado na Amazônia brasileira nas décadas de 1970 e 1980 (impulsionado por grandes esforços de pecuária e assentamento humano) foi associado a um grande aumento da malária e trouxe uma nova definição para descrever a dinâmica de transmissão na região: malária de fronteira (73). Foi hipotetizado que o desmatamento extensivo e a ocupação desorganizada poderiam ser indiretamente responsáveis por modificações no comportamento do mosquito (picadas ao ar livre), subtraindo suas antigas fontes de alimento (animais selvagens, que foram espantados pelos novos colonos) e aproximando o homem dos habitats larvários (74).

A disponibilidade de infraestrutura básica (água, saneamento, coleta de lixo) em áreas residenciais é outro fator que pode modificar a exposição humana a uma infecção de malária, dependendo das características dos vetores locais da malária. A necessidade de coletar água de riachos ou mais perto de áreas onde a densidade de mosquitos é mais alta, para banhar-se em rios e realizar as necessidades fisiológicas

perto de áreas florestadas ao redor de vilas estão associadas a um maior contato humano-vetor (75,76). Além disso, o acúmulo de resíduos que podem bloquear o fluxo de água dos ralos contribui para a formação de poças d'água ideais para a reprodução do mosquito vetor da malária (77).

É possível que o processo de urbanização contribua para reduzir a transmissão da malária por meio de melhores cuidados de saúde, construção de casas melhoradas e um número reduzido de *habitats* de reprodução para os mosquitos *Anopheles* spp. causados pela poluição da água e grandes áreas de superfície impermeável (78,79). No entanto, economias em declínio, crescimento urbano descontrolado com grandes frações da população em processo de favelização e sem infraestrutura adequada e adaptação dos vetores da malária ao ambiente urbano trazem desafios adicionais para o controle da malária urbana (80,81).

Outro aspecto importante do ambiente feito pelo homem é a qualidade da habitação e até que ponto ela oferece uma barreira contra o vetor da malária. Em áreas endêmicas de malária, casas com beirais abertos, sem telas e sem portas e/ou janelas oferecem maior risco de contato humano-vetor e estão associadas a maior transmissão da malária (73,82,83).

As estratégias que alteram as características ambientais associadas à transmissão da malária estão entre as intervenções mais antigas para o controle da malária e podem ser agrupados em três tipos de atividades, com o objetivo de reduzir o número de *habitats* de reprodução para vetores da malária ou para reduzir o contato humano-vetor (84). Primeiro, uma modificação permanente do meio ambiente, como drenagem, enchimento e nivelamento do solo, atividades que muitas vezes exigem trabalho de engenharia em grande escala. Em segundo lugar, uma manipulação do meio ambiente que exige atividades recorrentes, como regulação do nível de água em reservatórios, irrigação intermitente, florestamento/ desmatamento e remoção de vegetação de corpos d'água. Terceiro, modificação da habitação humana por meio de reassentamento ou melhoria na habitação (85).

A gestão ambiental foi crucial para a eliminação da malária nos países europeus e nos Estados Unidos da América e para reduzir a incidência da doença em muitos outros locais (86–88). Empreendimentos importantes como a mineração de cobre na Zâmbia, antiga Rodésia (89,90) e produção de borracha na Malásia (91), provavelmente não teriam o mesmo resultado se a gestão ambiental não fosse adotada como parte do pacote de intervenções para o controle da malária. A malária

de bromélias, nomeada assim porque o vetor que transmite, *Anopheles cruzii*, utiliza a água dessas plantas como criadouro, foi eliminada do Sul do Brasil através da remoção de bromélias de áreas urbanas e introdução de árvores de eucalipto (nas quais as bromélias não crescem) em áreas florestais (74,92). A melhoria das habitações, introduzida pela primeira vez pelo higienista italiano Angelo Celli no final do século XIX, foi uma intervenção crucial na Europa, nos Estados Unidos e durante as guerras (quartéis de proteção) (93,94). O uso de estratégias de irrigação intermitente para o controle da malária dos arrozais foi e continua sendo uma estratégia importante na China (95,96).

Os exemplos históricos do uso bem-sucedido da gestão ambiental são muitos, tanto em ambientes urbanos como em ambientes rurais, provando ser eficazes em termos de custos (97,98). Algumas lições aprendidas incluem a combinação de estratégias de controle (com a gestão ambiental desempenhando um papel central) idiossincrática para cada localidade e a natureza multidisciplinar da equipe de controle (entomologista, epidemiologista, ecologista, hidrólogo, médico e engenheiro). Como a eliminação da malária ocupa um lugar proeminente na agenda de saúde dos países onde a malária é endêmica, as ações integradas podem produzir resultados rápidos, eficazes e sustentáveis.

### **2.3 Principais vetores da malária no Brasil**

A malária é transmitida por mosquitos vulgarmente conhecidos como carapanãs; são Dípteros, da Família Culicidae, Gênero *Anopheles* e subgêneros *Anopheles*, *Cellia*, *Kerteszia* e *Nyssorhynchus*. Destes, *Cellia*, o subgênero mais popular, só é encontrado no Velho Mundo e inclui alguns dos vetores mais notórios, como o *An. gambiae*, *An. coluzzi*, *An. arabiensis*, *An. funestus* e *An. stephensi*. No Brasil, 65 espécies pertencentes aos outros três subgêneros foram identificadas, em grande parte usando critérios morfológicos. Agora é entendido que algumas dessas espécies são de fato complexos de espécies (99).

Já foram formalmente reconhecidas 465 espécies e entre as 65 identificadas no Brasil, apenas 15 têm importância epidemiológica para atuarem no ciclo de transmissão. Na região amazônica, o principal vetor da malária é o *Anopheles darlingi*, seguido de *Anopheles albitarsis* e *An. aquasalis*. Além desses, há outras espécies, de

importância para a região como o *An. marajoara* e *Anopheles deaneorum*, *An. janconnae*, pertencentes ao complexo *An. albitarsis*, e ainda *An. triannulatus s.l.* e o *An. nuneztovari s.l.*, todos de baixa capacidade de transmissão, ou com transmissão restrita a algumas localidades (26,100).

Na Região Amazônica tem sido registradas aproximadamente 33 espécies de *Anopheles*, mas *Anopheles darlingi* (Root, 1926) é considerado o principal vetor (101). *An. darlingi* é encontrado desde o sul do México até a Nicarágua, na América Central; desde a Colômbia, ao leste da Cordilheira dos Andes, até o norte da Argentina, na América do Sul (102,103). No Brasil, encontra-se em quase todo o território nacional, exceto, no sertão nordestino e em regiões de elevada altitude. Ele é considerado um vetor de alto potencial de transmissão, talvez pela sua predileção antropofílica, apresentando alta densidade populacional, com ampla distribuição geográfica (104). É uma espécie de hábito antropofílico e endofílico, com horário de picada crepuscular e noturno. É o principal e mais eficiente vetor de malária humana nas Américas (102,105). Na Amazônia, essa espécie é amplamente distribuída em todos os estados, sendo responsável pela condição endêmica da malária na região (105,106). Tem sido associado a surtos de malária na Argentina, Bolívia, Colômbia, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Paraguai, Peru, Suriname e Venezuela (102,105), porém atualmente não tem sido encontrado em diferentes territórios, alguns dos quais estão atualmente livres de malária como a Argentina e o Paraguai.

As espécies de anofelinos têm sido tradicionalmente divididas em vetores primários (a presença dos quais permite o desencadeamento e manutenção da transmissão) e espécies secundárias, que teriam uma importância complementar às espécies primárias na transmissão local da malária, muitas vezes tendo um papel ocasional e residual (107). Algumas espécies, mesmo sendo encontradas naturalmente infectadas com *Plasmodium* spp. são consideradas vetores secundários ou ocasionais e, apesar de estar amplamente distribuídas na região, sua participação na transmissão da malária é variável entre localidades (108). Entretanto, o fato de ter papel secundário na transmissão não impede a possibilidade de que algumas dessas espécies se tornem um transmissor primário, pois, em algumas localidades algumas espécies, a exemplo do *An. intermedius*, *An. oswaldoi s.l.* e *An. forattinii*, foram encontradas naturalmente infectadas com *Plasmodium* spp. (109,110). Há também anofelinos que não são vetores de malária humana.

*Anopheles albitarsis* Lynch Arribálzaga, 1878, faz parte do complexo Albitarsis composto pelas espécies crípticas: *An. albitarsis*, *An. marajoara*, *An. deaneorum*, e uma quarta espécie ainda não descrita. Essa espécie está distribuída desde a Nicarágua até o Norte da Argentina e é o anofelino mais comum e amplamente distribuído no Brasil (111).

As fêmeas são antropofílicas, embora em algumas localidades apresentem comportamento zoofílico. A hematofagia ocorre em horário crepuscular vespertino. O *An. albitarsis* é considerado vetor secundário em algumas localidades da Região Amazônica, onde as taxas de infecção natural variam entre 0,82 e 5,2% (112,113).

*Anopheles albitarsis* é, talvez, o vetor relacionado com a transmissão da malária humana que tem maior ecletismo em todos os aspectos de seus hábitos. No que se refere aos criadouros, é quase destituído de preferência, criando-se nos mais variados tipos de coleções líquidas, temporárias ou não, naturais e artificiais, expostas à luz ou sombreadas. Porém, as larvas de *An. albitarsis* são mais abundantes nos alagados com capim (campos ou pastagens), de água doce e limpa, que se formam nos descampados, de forma que os criadouros são ensolarados, mas sendo a luz solar um pouco abrandada pela vegetação emergente (111). Este anofelino é comumente encontrado picando durante todo o ano, mas é bem mais abundante na estação chuvosa, quando são ampliados os seus criadouros.

O *Anopheles oswaldoi* (Peryassú, 1922), embora não esteja totalmente definido o seu papel como vetor é uma espécie amplamente distribuída na Amazônia e pertencente ao complexo de espécies, constituído por pelo menos três membros: *An. oswaldoi* s.s., *An. oswaldoi* A e *An. oswaldoi* B (114). Esse complexo se adapta a diversas características de criadouro: diversos níveis de tolerância ao sol, tamanho das coleções de água, grande variedade de turbidez, inclusive as suas larvas têm sido coletadas em águas claras ou turvas (10,115).

Na Guiana Francesa, *An. oswaldoi* s.l. foi encontrado naturalmente infectado com esporozoítos de *Plasmodium* spp., mas sua implicação exata na transmissão da malária ainda não foi esclarecida (116). Porém de acordo com Dusfour et. al (109) *An. oswaldoi* s.l. pode ter relação com a transmissão local de *P. falciparum*.

Embora, alguns estudos não tenham encontrado essa espécie infectada com o plasmódio, outros apontam seu importante papel dessa espécie na transmissão da malária em diversas localidades da Amazônia brasileira como é o caso dos estados

do Acre e de Rondônia e de alguns países da América do Sul, a exemplo da Colômbia (117,118).

*An. oswaldoi* s.l. apresenta ampla distribuição na América do Sul, sobretudo em regiões de floresta do interior da Amazônia, inclusive, em locais desmatado como estradas e áreas de cultivos (114). Trata-se de um complexo de espécies que têm hábitos exofágicos e tendência zoofílicas, mas que também fazem o repasto sanguíneo no homem. Membros deste complexo além de apresentar uma alta densidade populacional também apresentam diversidade na sua distribuição (119).

*Anopheles triannulatus* (Neiva & Pinto, 1922) está distribuído desde a Nicarágua até o norte da Argentina (119,120). É essencialmente zoofílico e exofílico. Devido a essas características, ele não tem sido considerado um bom vetor, porém em algumas regiões é suspeito de auxiliar na transmissão quando em altas densidades (111,121). Este complexo de espécies apresenta-se abundante em algumas localidades amazônicas, é composto de pelo menos três espécies: *An. triannulatus* s.s., *An. halophylus* e uma terceira espécie *An. triannulatus* C. (122). O *An. triannulatus* s.l. e membros desse complexo foram encontrados infectados no estado de Rondônia e em outras regiões no Brasil (119–121). Entretanto, tem *comportamento zoofílico e exofílico* e é considerado vetor secundário. O papel de cada espécie dentro desse complexo permanece desconhecido e carece de mais estudos (29,111).

*Anopheles nuneztovari* são anofelinos importantes na história da malária principalmente países da América do Sul. Porém, assim como outros anofelinos apresentam status taxonômico bastante confuso. Com uma distribuição geográfica abrangente desde o norte da América do Sul, até o leste do Panamá, incluindo grandes áreas dentro da região Amazônica e alguns estados do nordeste (122).

Na organização deste complexo Nuneztovari os seguintes membros foram descritos: *An. nuneztovari* s.s., *An. nuneztovari* A, *An. goeldii* e *An. dunhami*. Contudo, a posição taxonômica de algumas espécies desse complexo precisa de maiores estudos e definições. Já é conhecido através de estudos moleculares que o *An. goeldii* foi finalmente validado como espécie através de caracterização morfológica da genitália masculina de exemplares encontrados no Amapá e por testes moleculares - análises sequenciais do gene mitocondrial citocromo oxidase I - COI, gene *white* e ITS2 em 2008 (104,123). O *An. nuneztovari* s.l. é apontado como vetor primário da malária em várias regiões de Venezuela, Colômbia e Peru (124). Espécies infectadas



foram capturadas nos estados de Pará e Amapá e ao longo da BR-174 que liga Roraima ao estado do Amazonas (121).

*Anopheles braziliensis* é considerado vetor secundário ou vetor potencial por ter sido encontrado naturalmente infectado em alguma área endêmica de malária, particularmente na Amazônia (111). Porém tem sido apontado por alguns autores como espécie de hábito exofílico e zoofílico, encontrando-se em baixas densidades e raramente envolvida na transmissão da malária (125). É restrito a América do Sul (lado oriental dos Andes), ocorrendo em quase todo o Brasil e parte da Bolívia, Colômbia, Venezuela, Guianas e Trinidad. É mais raro no litoral Atlântico e nas áreas mais secas do sertão do que no interior, de modo geral (111). Essa espécie tem sido encontrada, ainda que em menor densidade, em áreas de pastos e clareiras no meio de florestas (126). *An. braziliensis* foi algumas vezes, encontrado picando durante o dia, principalmente quando o hospedeiro está próximo do seu criadouro (111). Exemplos de *An. braziliensis* infectados por *P. falciparum* e *P. vivax*, foram encontrados no estado do Pará e no estado de Rondônia (32,127).

*Anopheles braziliensis* foi considerada a espécie mais abundante no município de Cruzeiro do Sul, podendo assim estar envolvida com a transmissão de malária na região, uma vez que a espécie, embora seja considerada principalmente zoofílica, pode picar o homem e, quando em alta densidade, pode se infectar no auge de epidemias transmitidas pelos vetores primários (128).

O conhecimento da fauna anofélica e dos criadouros pela equipe de entomologia dos municípios é uma ferramenta fundamental no controle da malária (129). Entretanto, o Ministério da Saúde, reconhece a limitação na capacidade operacional dos serviços de saúde dos municípios, sobretudo, no manejo dos vetores. Por isso, é uma preocupação do programa de controle da malária disponibilizar manuais e capacitar a equipe de entomologia no sentido da sistematização dos “procedimentos inteligentes e na adoção de rotinas de monitoramento e análise para tomada de decisão”. Dessa forma, no controle vetorial algumas estratégias são recomendadas aos municípios: Manejo Integrado de Vetores (MIV) – é uma tomada de decisão que permite o manejo adequado da população de vetores que envolve vários setores, inclusive, colaboração de várias agências públicas e privadas e a participação comunitária; estratificação epidemiológica – outra estratégia, que envolve a sistematização da análise e interpretação das informações. Com base em informações epidemiológicas, as equipes envolvidas na operacionalização podem

definir, por exemplo, as localidades prioritárias para receber algum tipo de intervenção de “controle diferenciado e de intensidade distinta”; Controle Seletivo Vetorial (CSV) – refere-se aos métodos de controle do vetor que devem considerar vários aspectos envolvendo a malária, de modo a definir as prioridades, o conhecimento sobre a fauna das espécies dos mosquitos, a relação do homem com essa fauna e o aporte de recursos humanos e financeiros para a realização das ações de controle vetorial (129,130).

## **2.4 Situação da malária no Brasil no contexto amazônico**

Os primeiros relatos da malária no Brasil são de 1587, entre os indígenas Tupinambá. Estes relatos contam sobre ocorrência de febre quartã e terçã entre as tribos indígenas. No fim do século XIX, a grande migração de nordestinos para a Amazônia, em decorrência da terrível seca em suas terras e atraídos pela extração do látex, teve como resultado a primeira grande epidemia amazônica de malária, acarretando muitas mortes. Segundo Carlos Chagas esse agravo também atingia grande área fora da região Amazônica, como o vale do rio São Francisco, e a “Baixada Fluminense” , no Rio de Janeiro, principalmente pela recente libertação dos escravos e o abandono dos canais de irrigação das plantações, o que aumentou a oferta de criadouros para os anofelinos vetores (101,131,132).

A história da malária do Brasil tem tido importantes mudanças ao longo dos anos. No final do século XIX, a dispersão da malária atingia quase todo território nacional, nas principais cidades costeiras do Brasil. A segunda epidemia aconteceu na construção da estrada de ferro Madeira-Mamoré que ligaria Santo Antônio (hoje parte de Porto Velho) a Guajará-Mirim no Rio Mamoré. Milhares de trabalhadores morreram de malária durante a construção da estrada de ferro que por este motivo ficou conhecida como a “ferrovia do diabo” (133,134).

A primeira campanha no combate da malária foi realizada em 1905 quando Carlos Chagas comprova que a transmissão da malária é intradomiciliar, fato que permitiu o controle do vetor por meio do uso de imagocida ou adultocida à base de enxofre queimado nas habitações (131,135). Durante a construção do porto de Santos, em São Paulo, conhecendo o potencial de transmissão do vetor, Carlos Chagas, instituiu o uso de telas nas janelas e borrifação nas casas como medida de

intervenção contra a forma adulta do vetor. Essa ação foi de grande valia, pois houve redução expressiva dos casos de malária nessa região (106,136).

A partir da década de 1920, na região costeira do Nordeste, o manejo ambiental por meio da drenagem dos criadouros foi uma medida eficiente que impactou na redução da malária nessa região. Outra fase histórica importante, foi a epidemia no Rio Grande do Norte e Ceará, no início do século XX, causada pelo *Anopheles gambiae*, o que resultou num esforço global para evitar a disseminação desse vetor de alta capacidade de transmissão para as Américas (133,134). Todavia, a partir de 1940, ocorreram vários surtos e epidemias de malária em todo território nacional atingindo cerca de 70% dos 1986 municípios oficialmente reconhecidos. Problema que expôs ao risco aproximadamente 31 milhões de indivíduos com aproximadamente 8 milhões de casos de malária e 80 mil mortes (137,138). Mediante a gravidade, iniciou-se uma campanha de combate em nível nacional, sendo que a primeira medida foi a adoção de uma nova droga antimalárica, cloroquina (CQ), somada à sistematização da borrifação intradomiciliar com o DDT, inseticida residual de ação prolongada. Essas duas medidas tiveram impactos positivos para a redução da malária no Brasil, embora surtos localizados ainda persistissem, como por exemplo de São Paulo, que registrou 180 mil casos de malária (139).

No sul do país um surto ocorreu e foi atribuída à presença do anofelino, do subgênero *Kerteszia*, sobretudo pelas espécies *An. cruzii* e *An. bellator*, que habitam as bromélias, plantas epífitas presentes em grande parte da Mata Atlântica. Em 1950, além das medidas de controle domiciliar e tratamento, foram destruídas cerca de 25 milhões de bromélias. Atribuída a essas ações, houve uma tendência de queda que se prolongou nas décadas subsequentes – 40 mil casos/ano na década de 1940; cerca de 5 mil na década de 1970 e apenas 71 casos em 1982. Nos dias atuais a região sul e sudeste reduziram drasticamente a malária na Mata Atlântica (135,139).

Em 1957, seguindo os lineamentos mundiais, o Serviço Nacional de Malária criou uma campanha denominada “Campanha de Erradicação da Malária (CEM), visando, a erradicação da doença, utilizando para isso a abordagem passiva e ativa dos moradores de áreas endêmicas, além, do tratamento com cloroquina e a borrifação com DDT (139,140).

A campanha atingiu o objetivo de controlar a malária, mas não conseguiu erradicá-la. Na década 1970, a malária foi eliminada da maioria das cidades brasileiras e os números de casos se restringiram aos da região Amazônica. Porém, o programa

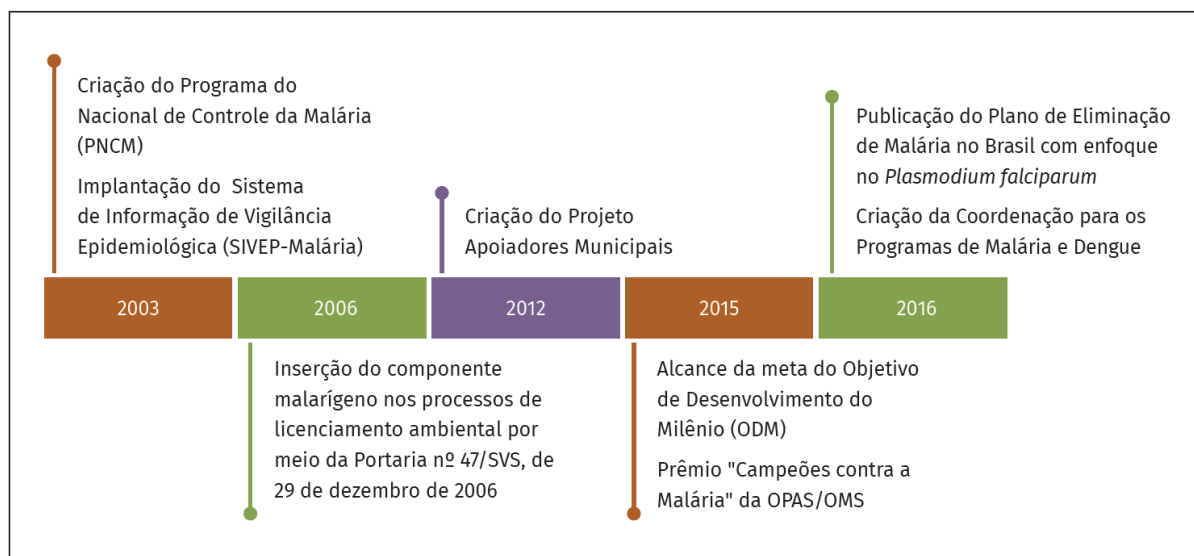
de colonização da Amazônia criado pelo governo neste período, mais uma vez gerou migração desordenada de pessoas de vários estados brasileiros, principalmente do sul e nordeste, para Amazônia e, conseqüentemente, resultando em aumento absurdo dos números de casos nesta região (101,141).

A partir do ano 2000, as ações de controle da malária passam para a gestão da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (Figura 2) que tem como função coordenar os programas de controle das doenças transmissíveis no âmbito nacional, compartilhada com estados e municípios. Atualmente, há várias diretrizes do Ministério da Saúde com foco nas medidas de proteção e controle da malária pactuadas entre as três esferas de governo: a “integração das ações de vigilância, prevenção e controle da malária na atenção básica” são medidas essenciais que ampliam o acesso ao diagnóstico e tratamento, além de aumentar o contingente humano no monitoramento da malária, inclusive pela equipe da estratégia saúde da família (142).

Em torno dos anos de 2000 a 2011, o Brasil registrou uma redução de 56% na incidência de malária, apesar disso, esse agravo continua sendo um problema importante de saúde pública no país (143). Os casos de malária no Brasil são quase que exclusivamente provenientes da região Amazônica [99,8%] (25). Entre os anos de 2001 a 2013, uma média de 392.600 casos de malária foram registrados por ano no país. No entanto, neste período, houve flutuações importantes no número de casos, com um pico de 607.782 casos no ano de 2005, considerado nível de transmissão muito elevado para o Brasil, próximo do recorde histórico de casos registrados em 1999 [637.470 casos] (144).

Desde 1905, data da primeira campanha no combate da malária realizada por Carlos Chagas, até os dias atuais, considerando todas as dificuldades de logística, é inegável a redução da malária na região Norte. Além disso, a condição de “região livre da malária” adquirida e mantida na maioria dos estados brasileiros é reflexo de medidas assertivas e de pesquisas realizadas ao longo das décadas no mundo e no Brasil. Contudo, a malária na Amazônia legal, se revela ainda como um grande desafio de saúde para os estados que compõem essa região.

**Figura 2** - Linha do tempo do Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM), com destaque para as principais atividades realizadas, Brasil, 2003-2016



Fonte: Boletim epidemiológico. Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Set, 2019

Os assentamentos agrícolas, os garimpos, as áreas indígenas e áreas rurais e urbanas de ocupação desordenada nas periferias das cidades na região Amazônica, são aquelas onde há maior incidência e mais difícil controle (136). Outro fator que foi identificado como muito importante no aumento de casos de malária na região Amazônica, foi a proliferação descontrolada de atividades de piscicultura em áreas urbanas e periurbanas, onde parte dos tanques artificiais construídos nas proximidades das habitações transformaram-se em excelentes criadouros de anofelinos, aumentando a incidência da malária e mudando os padrões sazonais nessas localidades (145).

No ano de 2011, os seis estados que registraram o maior número de casos de malária foram: Pará (114.752) seguido pelos estados do Amazonas (59.431), Rondônia (30.412), Acre (22.586), Amapá (18.978) e Roraima (14.006) (144). Embora tenha ocorrido uma queda no número de casos de malária ao longo dos últimos anos, no Brasil, focos importantes de transmissão, especialmente de *P. vivax* persistem. Por exemplo, no ano de 2013, as infecções por *P. vivax* e *P. falciparum* foram responsáveis por aproximadamente 82% e 16,5% dos casos de malária, respectivamente (136). A predominância de *P. vivax* nem sempre ocorreu de forma homogênea e uniforme no território amazônico e parece estar associada à implementação do diagnóstico precoce e tratamento do *P. falciparum* com derivados

de artemisinina pelo Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM). De fato, o tratamento precoce, antes que os gametócitos de *P. falciparum* apareçam na circulação de 8 a 10 dias após o início do ciclo eritrocítico, teve um grande impacto na transmissão desse parasito. Já o tratamento precoce contra o *P. vivax* não teve muito impacto. Além dos gametócitos circularem no sangue logo após três dias do início do ciclo eritrocítico, a formação de hipnozoítos nesta espécie dificulta o seu controle (25).

Em 2014 foram registrados 143.552 casos de malária, sendo 4.593 casos importados de países que fazem fronteira com o Brasil e 32 notificações de outros países. Em comparação com 2013, quando se registraram 177.791 casos, houve uma redução de 19% no número de casos de malária. Na análise comparativa de cada mês em relação aos anos anteriores, houve redução no número de casos em todos os meses de 2014. O estado do Amazonas contribuiu com o maior número de casos (47%), seguido pelo Acre (22%). Em 2014, houve redução no número de casos de malária em todos os estados da região Amazônica. Já na região extra-amazônica em 2014, foram registrados 559 casos de malária; destes, 54 são autóctones dos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Piauí, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo. Entre os casos importados, foram registrados 273 casos com local provável de infecção na região Amazônica e 232 casos com local provável de infecção em outros países (146).

Em 2015 foi o ano com o menor número de casos de malária dos últimos 35 anos. Esses dados foram divulgados pelo Ministério da Saúde no Dia Mundial da Malária, com a notificação de 143 mil casos da doença, com 26 mortes. Nessa data, o governo lançou a campanha “Elimine a malária para o bem”. A ação, direcionada para a região amazônica, enfatizava a eliminação da malária por *P. falciparum* no país, espécie mais grave do parasito *Plasmodium* spp., causador da doença (147).

Após 11 anos (2006 a 2016) de redução, houve expressivo incremento nos casos de malária em 2017 e 2018 no Brasil. Em 2017, foram registrados 194.426 casos, um aumento de 50% em relação ao ano anterior, além de 34 óbitos. Em 2018, foram notificados 55 óbitos e 194.578 casos da doença, aumento de aproximadamente 0,1% em relação a 2017. Em 2017, o aumento ocorreu em todos os estados, destacando-se o incremento de 155% no Pará e 66% no Amazonas (148).

Analisando apenas o ano de 2018, estratificado por estado, a incidência da malária autóctone em relação à importada é significativamente maior em todos os estados. Alguns desses estados, estão no patamar de baixo risco de transmissão de

acordo a classificação do Ministério da Saúde: Maranhão registrou (IPA=0,1); Mato Grosso, (IPA=0,3); Pará, (IPA=5,4); Rondônia, (IPA=5,4); Tocantins, (IPA=0,0). Já no estrato moderado risco de transmissão estão inclusos o estado do Acre (IPA=30,5), Amazonas (IPA=17,6), Amapá (IPA=18,4) e Roraima (IPA=40,5). Portanto nenhum estado do Norte apresentou alto risco de transmissão. Entretanto, é possível que dentre os municípios haja alguns que se encontram dentro desse estrato, como é casos de alguns municípios de Roraima. Amazonas foi o estado que apresentou o maior número de casos de malária autóctone e Roraima o maior em casos importados. As ocorrências da malária por *P. falciparum* foram maiores no Amazonas, com 8.522 casos, equivalentes a 12,9% do total de malária e no Acre, com 5.684 casos, representando 22,5% desse total (2).

**Tabela 1** - Casos autóctones de malária segundo unidade federativa e região, 2018 e 2019

<i>Região de Infecção</i>	<b>UF de Infecção</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>Variação %</b>
<i>Região amazônica</i>	AC	25.806	12.784	-50,5
	AM	73.512	65.382	-11,1
	AP	14.321	9.949	-30,5
	MA	293	88	-70,0
	MT	1.010	2.283	126,0
	PA	46.422	32.791	-29,4
	RO	7.743	9.550	23,3
	RR	18.371	20.387	11,0
	TO	6	1	-83,3
<i>Região extra-amazônica</i>	AL	-	-	-
	BA	77	1	-98,7
	CE	-	1	-
	DF	2	-	-
	ES	145	2	-98,6
	GO	1	-	-
	MG	3	-	-
	MS	5	2	-60,0
	PB	-	22	-
	PE	-	1	-
	PI	3	9	200,0
	PR	2	1	-50,0
	RJ	5	1	-80,0
	RN	-	-	-
	RS	-	-	-
	SE	-	-	-
	SC	-	1	-
SP	9	14	55,6	
<i>Total</i>	<b>Brasil</b>	<b>187.736</b>	<b>153.270</b>	<b>-18,4</b>

Fonte: Ministério da Saúde (2)

Dados do PNCM mostram que no ano de 2019, o Brasil notificou 157.454 casos de malária, uma redução de 19,1% em relação a 2018, quando foram registrados 194.572 casos da doença no país. Em relação à malária por *P. falciparum* e à malária mista, a redução foi de 18,9%, sendo notificados 21.126 casos em 2018 e 17.139 em 2019. Em relação aos casos autóctones, ou seja, que contraíram a infecção no Brasil, os dados apontam queda de 19,1% no período de 2017 a 2019. Ao analisarmos o ano de 2019 em comparação com 2018, observou-se redução de 18,4%, passando de 187.757 para 153.296 casos autóctones da doença. Na comparação do primeiro semestre dos anos de 2019 e 2020, a redução foi de 15,1%, de acordo com dados ainda preliminares (Tabela 1) (149).

Portanto, na Amazônia, a distribuição da malária precisa ser percebida no contexto de suas diversidades culturais, geográficas e ambientais e também na perspectiva do processo migratório. São essas as características necessárias para o entendimento dos diferentes comportamentos da malária dentro do universo amazônico. Tais diversidades refletem, sobremaneira, na transmissibilidade desse agravo, porque a sua propagação está relacionada historicamente com a forma de ocupação da Amazônia produzindo “mudanças climáticas”, “movimentos migratórios”, e a “ocupação desordenada das periferias das grandes cidades”. Além disso, há os projetos de reforma agrária, exploração madeireira, pecuária e agricultura e invasões. Tudo isso traz como consequência o desmatamento, logo o desequilíbrio ambiental refletindo no potencial de transmissão da malária num determinado espaço (101,150).

## **2.5 A História da Malária em Roraima**

O estado de Roraima foi criado na Constituição de 1988, porém, o seu povoamento inicia-se efetivamente com a crise do ciclo da borracha, no Amazonas, entre os anos 1910 a 1920. Essa crise estimulou o movimento migratório de nordestinos para o território, em busca de trabalho, nas fazendas de gado e posteriormente nas atividades de mineração. Em 1943, o Governo Federal criava o Território Federal do Rio Branco, ainda anexado ao Amazonas, tornando-se independente somente em 1962, com mudança em sua nomenclatura para Território Federal de Roraima (151).

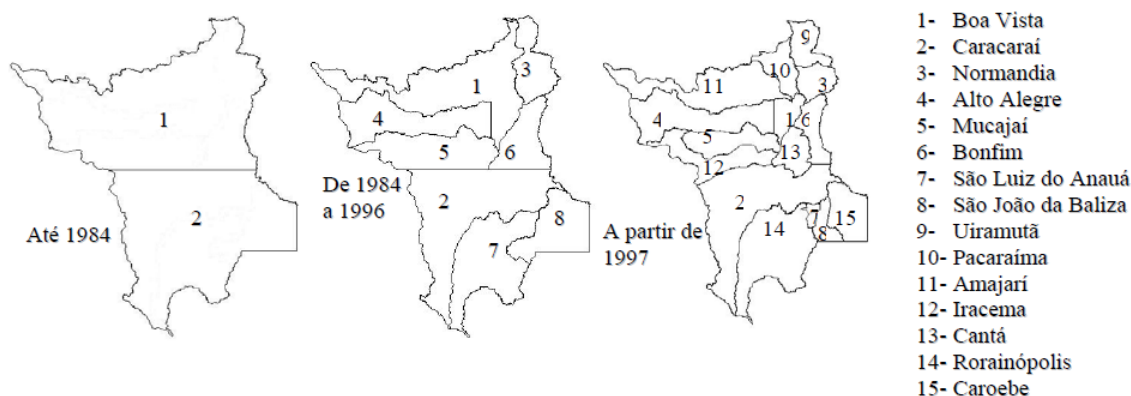


O processo de formação do Território Federal de Roraima, apresentou três missões: a defesa, o povoamento e a “civilização” dos indígenas. Já a urbanização do estado, foi estimulada pela organização das instituições públicas; investimento social e pelo interesse particular de cada indivíduo na formação das cidades (151). Dentro do processo de urbanização alguns fatores foram decisivos para a sua formação e identidade nos dias de hoje. Assim, na criação das cidades, o fator econômico sofreu várias intervenções ao longo da existência do estado. Inicialmente, ainda no território Rio Branco, as fazendas de gado foram responsáveis pelo movimento migratório, tendo o povoamento das zonas rurais ocorrido simultaneamente com as atividades garimpeiras que tiveram seu pico em 1930 (152).

A extração madeireira na economia era flutuante, dependia quase que exclusivamente da exportação para a Venezuela. Quando havia restrição no comércio com este país, restava apenas o mercado interno, fabricações de móveis e construção civil (151,153). Esse fato estabeleceu uma crise social que por sua vez refletiu no processo de garimpagem que nas décadas seguintes, marcaram a exploração ilegal de ouro, principalmente, em terras indígenas. Assim, as atividades de garimpagem foram responsáveis pelo grande fluxo de pessoas no estado, conseqüentemente, em 1980 o que levou também a um maior incremento da malária com 13.590 casos em Roraima nesse ano (150,154).

Segundo Dias (155), até 1984, Roraima possuía apenas dois municípios, Boa Vista e Caracará e ano de 1984 foram criados mais seis municípios: Alto Alegre, Bonfim, Mucajaí, Normandia, São João da Baliza e São Luiz do Anauá. Em 1997 foram criados sete novos municípios: Amajari, Cantá, Caroebe, Iracema, Pacaraima, Rorainópolis e Uiramutã, ficando atualmente o Estado composto por 15 municípios (Figura 3).

**Figura 3 - Evolução da divisão política do Estado de Roraima**



**Fonte:** Malha municipal do IBGE. (155)

Nesse sentido, a forma de ocupação do estado, sobretudo na capital, produziu uma dinâmica espacial em torno do garimpo, haja vista que o monumento principal da cidade de Boa Vista é uma escultura da figura de um garimpeiro. Essa dinâmica estabelecida nesse espaço revela, dentre outros determinantes, o de saúde (malária, mercúrio), o social com as mazelas sociais e ambientais (poluição dos rios, desmatamento). Além disso, populações tradicionais, como os indígenas, vêm sendo expostas às doenças infecciosas como malária e leishmaniose em razão do contato com garimpeiros que migraram para o estado em busca de ouro e brilhantes (156). Um estudo da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e do Instituto Socioambiental (ISA) revelou que, em algumas aldeias yanomami, o índice de pessoas contaminadas por mercúrio chega a 92%. Usado por garimpeiros para facilitar a aglutinação de grãos de ouro, o mercúrio se acumula ao longo de toda a cadeia alimentar, contaminando peixes e quem se alimenta deles. Em humanos, a intoxicação pela substância pode provocar danos neurológicos (153).

Os processos infecciosos ocasionados por estas enfermidades têm ciclos complexos de perpetuação e disseminação, pois, além de dependerem do comportamento biológico dos vetores para sua transmissão, eles também dependem da dinâmica ambiental que possui uma ampla repercussão em seu ciclo de vida e disseminação. A falta de um conhecimento aprofundado entre o comportamento dos vetores e a dinâmica ambiental pode dificultar o controle destas doenças (155).

O comportamento epidêmico da malária nesse estado não é diferente das demais regiões da Amazônia Legal. Entretanto, quando se analisa a malária importada de outros países, Roraima difere dos demais pelo volume de casos de malária procedentes dos países localizados em seu entorno, tais como Venezuela e Guiana. Outros países, a exemplo da Guiana Francesa e Suriname, em menor ocorrência, também contribuem para o incremento da malária importada no estado. Assim, a posição geográfica do estado, bem como aspectos sociais e econômicos em torno da mineração ilegal corroboram para a manutenção da malária importada no estado, promovendo grandes fluxos de pessoas entre os garimpos e a capital Boa Vista, município que absorve os produtos da mineração.

Já a redução da malária autóctone no estado constitui um desafio, dada a dificuldade operacional nas ações de controle vetorial ou mesmo no acesso ao diagnóstico e tratamento precoce na zona rural e área indígena. Essas regiões

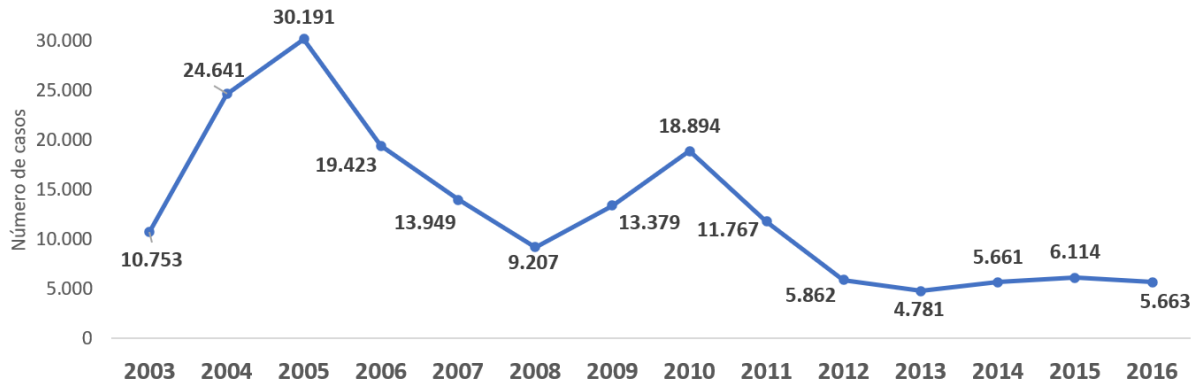
remotas de difícil acesso, contribuem para a manutenção da malária autóctone na maioria dos municípios que possui povos indígenas.

A malária registrada no período entre 2003 a 2005, teve incremento de 197,1% com 10.757 em 2003 contra 31.964 em 2005. Nesse período a malária por *P. falciparum* acompanhou esse incremento apresentando seu maior registro em 2005 com 6.463 casos e com sua menor ocorrência em 2003 quando foram notificados 1.869 casos por esta espécie. A malária causada pelo *P. vivax* também apresentou incremento, com seu maior IPA em 2005 (2). Nesse ano apenas o município de Boa Vista esteve no estrato de baixo risco de transmissão, os demais foram considerados locais de alto risco de transmissão, destacando o município do Cantá como a pior situação com 615,8 de IPA (2).

No período de 2006 a 2008, em relação à IPA, nota-se que dos quinze municípios com transmissão de malária, seis ficaram no estrato de baixo e moderado risco e nove foram notificados com alto risco. Analisando a IPA por ano, observa-se que os municípios de Alto Alegre, Boa Vista, Normandia São Luiz e Uiramutã flutuaram entre baixo a moderado risco de transmissão, os demais ficaram no risco de alta transmissão, exceto Amajari, Bonfim e Pacaraima no ano de 2007, Caroebe e São João da Baliza em 2008 (2). A malária importada teve um percurso difuso durante o período. Nesse triênio foram notificados 1.008 (33,2%) casos de malária procedentes da Venezuela e 2.024 (66,8%) da Guiana. Quando se analisa por município, Boa Vista com 2.636 casos (84,1%) se destaca em números de notificações por ser rota para os demais municípios, além disso é a grande receptora dos produtos dos garimpos. Os demais municípios, em conjunto, registraram 497 casos de malária e Caroebe foi o único onde não houve notificações. Exceto Boa Vista e Pacaraima todos os demais municípios ficaram com uma IPA abaixo de 50/1.000 casos por ano (2).

Na figura 4 é possível observar, de acordo com o Relatório Epidemiológico Anual de 2016 da Coordenadoria Geral de vigilância em Saúde do estado de Roraima, o número de casos autóctones de malária registrados no Estado de Roraima entre janeiro de 2003 e dezembro de 2016. Nessa figura podemos observar que, desde 2003, quando as notificações de malária começaram a ser inseridas no SIVEP–Malária, 2013 foi o ano que apresentou a menor incidência de malária no Estado. Também é relevante identificar a sucessão de aumento e redução da incidência de malária com epidemias registradas em 2005 e 2010, que alcançaram IPA (Incidência Parasitária Anual) de 83,5 e 42,2 (casos por mil habitantes) respectivamente (157).

**Figura 4** - Número de Casos autóctones de malária registrados no Estado de Roraima entre janeiro de 2003 e dezembro de 2016



Excluídas LVC. Dados de 2015 de janeiro a outubro  
Fonte: SIVEP-malária/SVS/MS (atualizado em 7/jan/2016)

**Fonte:** Relatório Epidemiológico Anual 2016 (157)

Boa Vista tem se destacado no Estado de Roraima como principal município em notificação de malária importada dos países vizinhos: Guiana e Venezuela, superando os registros de casos nos municípios fronteiriços, Bonfim e Pacaraima. Em 2015, Bonfim registrou 10 casos de malária, procedentes de outros países ou outro Estado, Pacaraima registrou 340 casos enquanto Boa Vista notificou 1331 casos importados (158).

No Brasil, dados do Ministério da Saúde apontam uma queda na frequência de casos de malária a partir de 2010 até 2016. Porém, em 2017, foi registrado um aumento de aproximadamente 50,4% nos casos em relação ao ano de 2016, com 194.426 casos notificados. Nos anos de 2018 e 2019 foram confirmados, respectivamente, 18.346 e 20.322 casos de malária autóctones do estado de Roraima, o que representa um aumento de 11% de um ano para outro (159).

Em 2019, o Brasil registrou 4.117 casos de malária importados de outros países, o que equivale a 2,6% dos casos notificados no país. Os estados com maior número de casos importados notificados foram Roraima, Amazonas, Maranhão, Acre e Rondônia, que ao todo notificaram 3.783 casos, representando 94,3% do total de casos importados, sendo que apenas Roraima notificou 2.745 (66,7%) dos casos importados, sendo a maior ocorrência de *Plasmodium vivax* (79,3%) (149).

Roraima possui uma rede de saúde mediana no cenário brasileiro, com uma maior concentração dos serviços na capital, Boa Vista, onde também está concentrada mais de 60% da população do Estado. Essa centralização dos serviços leva a que a população das localidades vizinhas procure a capital para efetuar

consultas e exames, o que pode conduzir a conclusões errôneas sobre a distribuição das doenças no Estado, visto que normalmente as notificações são feitas por local de diagnóstico e não por local de residência e de trabalho. O local de trabalho é importante porque nessas regiões é comum o trabalhador se ausentar por vários dias de sua residência por motivos laborais (155). A preferência pelo tratamento na capital, pode estar relacionada com as atividades de comércio local. Em Boa Vista existe a “Rua do Ouro”, assim denominada porque nela estão instalados os empresários que comercializam a produção trazida pelos garimpeiros. Outra questão são as barreiras sanitárias, alfandegária e policial estruturadas na única via de acesso oficial aos países vizinhos. É provável que os garimpeiros procurem rotas alternativas para burlar a vigilância da fronteira internacional a fim de não submeter-se aos critérios estabelecidos pela Polícia Federal de saída e ingresso regular no país, e fiscalização, pela Receita Federal, de bens que podem ingressar legalmente e livre de tributação no país (158).

Desta forma é fundamental identificar os determinantes associados ao processo de transmissão da malária em Roraima, haja vista que o comportamento e a distribuição espacial dessa doença são heterogêneos, apresentando uma relação estreita com a dinâmica de diferentes espaços: zona rural e urbana, área indígena e regiões de fronteira. Esta última constitui um grande problema no processo de produção e intervenção desse agravo, dinâmica associada a malária ainda pouca estudada nesse estado. Por isso é importante entender as vertentes conceituais, assim como a dinâmica dessa região de fronteira e os processos de intervenção e do controle sanitário envolvendo as doenças transmissíveis.

### 3 JUSTIFICATIVA

Roraima é o estado brasileiro do extremo norte que compartilha fronteiras internacionais com Guiana e Venezuela. O município fronteiro de Pacaraima e a capital Boa Vista têm se destacado no estado como os municípios com maior número de casos importados de malária dos países vizinhos e apesar de serem considerados áreas de baixo risco de transmissão, o grande fluxo migratório e os numerosos registros de casos importados principalmente da Venezuela, tornam os municípios fronteiriços e a capital vulneráveis aos surtos de malária e epidemias. Além disso existe a preocupação da circulação de *P. falciparum* importados dos países vizinhos, resistentes aos fármacos utilizados para o tratamento da malária no Brasil.

Em Roraima os últimos trabalhos de levantamentos da fauna anofélica relataram que o *Anopheles darlingi* e *An. albitarsis* são as espécies mais abundantes e incriminadas como os principais vetores da malária no Estado. Entretanto, a maioria dos trabalhos foram realizados em Boa Vista e o papel do *An. albitarsis* s.l. como vetor na transmissão da malária em outros municípios de Roraima não é conhecido.

Portanto, a nossa proposta é avaliar os aspectos ecológicos da transmissão da malária no estado de Roraima com o intuito de identificar características ecológicas nos ambientes de malária autóctone e importada que possam estar relacionadas com a dinâmica de transmissão da malária humana nestas áreas. Esperamos gerar dados que possam contribuir para orientação de medidas de controle e vigilância da malária na região.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Estudar a composição da fauna de anofelinos, alguns aspectos do comportamento hematofágico e da dinâmica sazonal das espécies vetoras em áreas de malária autóctone e importada no estado de Roraima.

### **4.2 Objetivos Específicos**

- 1- Mapear e caracterizar os principais criadouros, segundo a presença de larvas de anofelinos, a frequência e distribuição de espécies nos criadouros de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza;
- 2- Determinar a associação de parâmetros ambientais dos criadouros com as principais espécies de anofelinos coletados;
- 3- Investigar a fauna de anofelinos adultos, o comportamento hematofágico quanto ao horário e tipo de ambiente (intra, peri e extradomiciliares) e a sazonalidade das espécies mais importantes nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza;
- 4- Correlacionar a distribuição espacial dos casos de malária autóctone em São João da Baliza com as espécies de larvas e adultos de anofelinos encontrados.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Área estudada

O presente estudo foi realizado em três municípios do estado de Roraima: Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza (Figura 5), selecionados por apresentarem maior número de casos de malária autóctones e importados notificados no estado nos anos de 2015 e 2016.

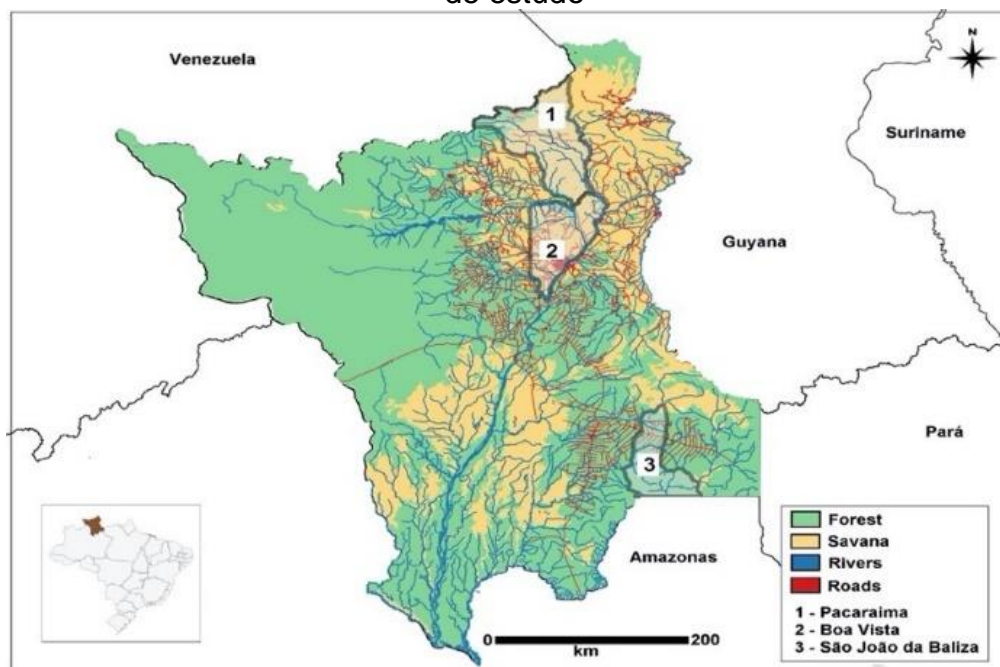
Boa Vista, capital do estado de Roraima, com uma população estimada em 399.213 habitantes para o ano de 2019, está situada no centro do estado, entre latitude 02°49'12"N e longitude 60°40'23"O. Sua localização permite fácil acesso terrestre às fronteiras internacionais e ao estado do Amazonas. A capital Boa Vista situa-se na margem direita do rio Branco a 231,5 km de Santa Elena do Uairén, na Venezuela (BR-174) e a 133,3 km de Lethem, República Cooperativa da Guiana (BR-401), ambas cidades fronteiriças desses países.

Pacaraima está localizada no norte de Roraima, entre latitude 04°25'51"N e longitude 61°08'45"O, em região montanhosa, acima de 1.000 metros de altitude, com população estimada em 17.401 habitantes em 2019, incluindo povos indígenas de três etnias (Makuxi, Taurepang e Wapixana). A condição de fronteira desse município apresenta uma intensa movimentação de pessoas em torno do comércio entre Pacaraima e Santa Elena do Uairén (160,161).

São João da Baliza está localizada no sul do estado (0°57'03"N; 59°54'39"W), fazendo divisa com o estado do Amazonas, distante 326 km de Boa Vista. O município é pouco povoado, com uma população estimada em 8.201 habitantes.



**Figura 5** - Mapa do Estado de Roraima com destaque e localização das três áreas de estudo



## 5.2 Desenho do estudo

Esta pesquisa utilizou um desenho misto que buscou caracterizar o padrão epidemiológico da malária autóctone e importada nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza, pela obtenção de dados prospectivos resultantes das atividades de campo e laboratorial e por meio de análise descritiva dos dados retrospectivos retirados do Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica – SIVEP-MALÁRIA, no estudo da malária urbana em São João da Baliza.

## 5.3 Estudo retrospectivo

O Município de São João da Baliza por ser uma área considerada pela vigilância epidemiológica estadual como área de malária autóctone urbana, foi analisado de forma separada dos demais municípios. Os dados retrospectivos de São João da Baliza foram coletados a partir das informações obtidas através dos registros epidemiológicos do SIVEP-MALÁRIA, relativos ao período 2017-2018. Além disso, foi

solicitado da Plataforma Integrada de Ouvidoria e Acesso à Informação, da Controladoria Geral da União (<https://esic.cgu.gov.br/falabr.html>) dados de casos autóctones, local provável de infecção, endereço dos moradores dos indivíduos com diagnóstico de malária positivo. Estes dados foram copilados em planilhas de Excel para posterior análise e comparação com os dados de campo.

Uma vez realizados os cruzamentos dos dados relativos aos anos de 2017 e 2018, foi possível obter mapas e gráficos comparativos de locais prováveis de infecção comparados com locais de residências, e ainda da relação entre criadouros, local de coletas de anofelinos adultos.

## **5.4 Estudos entomológicos**

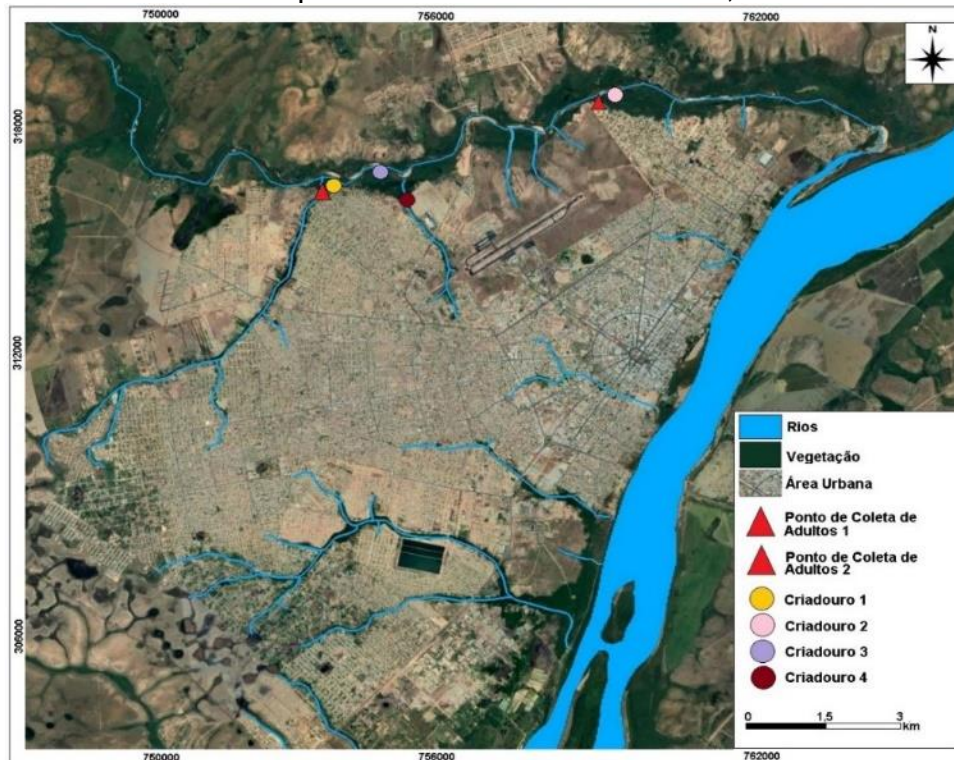
### **5.4.1 Coletas e seleção dos criadouros**

Larvas e mosquitos adultos foram coletados a cada dois meses no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018, incluindo uma pesquisa preliminar em outubro de 2016. As coletas foram realizadas por três dias/noites em cada município selecionado, com participação da equipe de entomologia de cada município.

Os criadouros foram selecionados com base na proximidade das residências (no máximo 300 metros de distância de cada residência), na ocorrência de casos autóctones de malária no bairro no ano anterior ao estudo e na positividade para larvas do gênero *Anopheles* spp. no levantamento preliminar feito por nós ou pelos técnicos da Secretaria da Saúde em 2016. Em cada município, de quatro a seis criadouros foram selecionados e monitorados para amostragem de larvas, e duas residências próximas aos criadouros foram selecionadas para coleta de mosquitos adultos. Assim, cada criadouro foi identificado por um número e georreferenciado a fim de fornecer sua localização.

A hidrografia de Boa Vista é composta pelos rios Branco, Tacutu, Uraricoera, Amajari e Cauamé. De acordo com o cronograma estabelecido, em Boa Vista foram selecionados quatro criadouros, todos em área urbana e de cursos de água naturais, alimentados pelo Rio Cauamé, região que apresentou maior número de casos nos anos anteriores ao estudo (Figura 6).

**Figura 6** - Mapa mostrando a localização dos criadouros e os pontos de coletas de larvas e de captura de adultos em Boa Vista, Roraima.



O criadouro 1 (Jardim Caranã), um córrego com uma extensão maior que 300m, apresentando águas turvas, com fluxo de água lento e parcialmente sombreado. A distância entre o criadouro e as residências mais próximas era de aproximadamente 20 metros.

Criadouro 2 (rio Cauamé), apesar de ser uma lagoa, é conhecida pela população local como rio Cauamé; por isso, mantivemos o nome dado pela população. A lagoa apresentou uma extensão entre 150 e 300m<sup>2</sup>, com água transparente, sem correnteza, parcialmente sombreada. A distância das residências mais próximas do criadouro era de aproximadamente 50 metros.

**Foto 1 - Criadouro Jardim Caranã, Boa Vista, Roraima**



**Foto 2 - Criadouro rio Cauamé, Boa Vista, Roraima**



O criadouro 3 (Lago do Caranã), era um lago com uma extensão de mais de 300m<sup>2</sup>, com águas turvas, correnteza fraca e parcialmente sombreado. A distância das residências mais próximas do criadouro ficava entre 16 e 25m.

O criadouro 4 (Igarapé do Frasco), apresentava uma extensão entre 150 e 300m, com água transparente, correnteza fraca e sombreado. A distância até a

residência mais próxima era menor que 8m. Este criadouro fica próximo a um dos grandes shoppings da cidade e ao lado está sendo feito um loteamento para residências.

**Foto 3** - Criadouro lago Caranã, Boa Vista, Roraima



**Foto 4** - Criadouro igarapé do Frasco, Boa Vista, Roraima



No município de Pacaraima foram selecionados seis criadouros, todos em área urbana (Figura 7).

**Figura 7** - Mapa mostrando a localização dos criadouros e os pontos de coletas de larvas e de captura de adultos em Pacaraima, Roraima



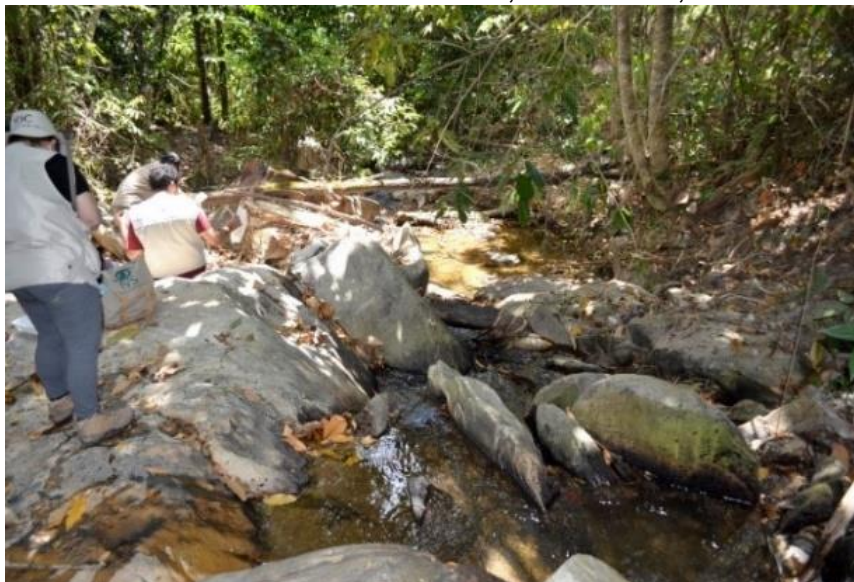
O Criadouro 1 (Nascente), era um lago, com extensão menor ou igual a 150m<sup>2</sup>, apresentando água turva, com correnteza fraca e parcialmente sombreado. A distância até a residência mais próxima era de aproximadamente 8m.

O Criadouro 2 (Cachoeirinha), era um pequeno córrego, com fundo pedregoso e uma extensão variando entre 150 e 300m, águas transparentes e correnteza moderada e totalmente sombreado. A residência mais próxima estava aproximadamente entre 8 e 15m de distância do criadouro.

**Foto 5** - Criadouro nascente, Pacaraima, Roraima



**Foto 6 - Criadouro cachoeirinha, Pacaraima, Roraima**



Criadouro 3 (Casa do Mécânico), era um córrego com uma extensão também variando entre 150 e 300m, apresentando água transparente, correnteza fraca e totalmente sombreado. A residência mais próxima estava a uma distância menor que 8m.

O Criadouro 4 (Sítio do Sossego) era um córrego com extensão menor ou igual a 150m, com água transparente, correnteza moderada e sombreado. As residências mais próximas se localizavam entre 8 e 15m de distância.

**Foto 7 - Criadouro casa do mecânico, Pacaraima, Roraima**



**Foto 8 - Criadouro sítio sossego, Pacaraima, Roraima**



Criadouro 5 (Horta do Japonês) um tanque de criação de peixes localizado dentro de uma propriedade particular de cultivo agrícola com extensão maior que 300m<sup>2</sup>, com águas turvas e é o único criadouro deste município totalmente exposto ao sol. O criadouro ficava a uma distância aproximada de 25 metros das residências.

Criadouro 6 (Florestal) era um córrego com extensão entre 150 e 300m, com água turva, correnteza fraca, e parcialmente sombreado. As residências mais próximas estavam localizadas aproximadamente 15m de distância do criadouro.

**Foto 9 - Criadouro horta do japonês, Pacaraima, Roraima**



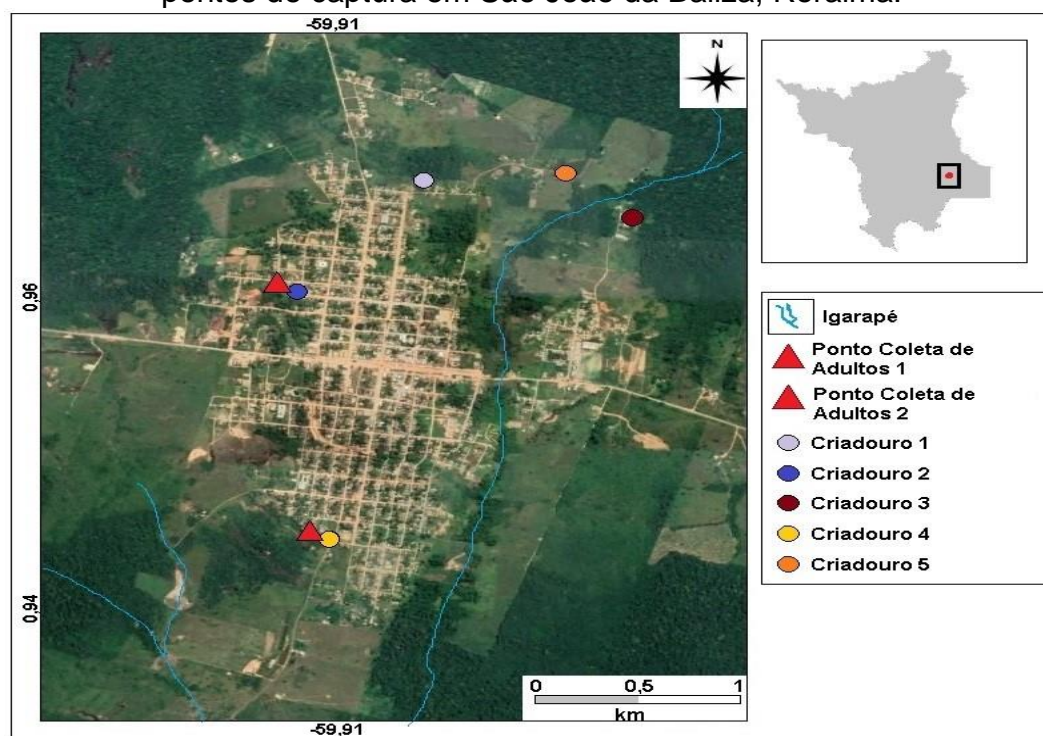


**Foto 10 - Criadouro florestal, Pacaraima, Roraima**



No município de São João da Baliza foram selecionados 05 criadouros (Figura 8).

**Figura 8 - Fotos dos criadouros e mapa mostrando a localização dos criadouros e pontos de captura em São João da Baliza, Roraima.**



O Criadouro 1 (Casa do Professor), um criadouro feito pelo homem (artificial) através do desvio e retenção de um curso de água natural, assim como todos os

outros criadouros, eram permanentes. A água represada, tem uma extensão maior que 300 m<sup>2</sup>, com águas turvas e parcialmente sombreadas. As residências mais próximas do criadouro ficam entre 8 e 15m de distância.

O Criadouro 2 (Casa da Professora), era um córrego de extensão menor ou igual a 150 m, com águas turva, correnteza fraca e um criadouro parcialmente sombreado. As residências mais próximas ficavam a uma distância de aproximadamente 8m.

**Foto 11** - Criadouro casa do professor, São João da Baliza, Roraima



**Foto 12** - Criadouro casa da professora, São João da Baliza, Roraima



Criadouro 3 (Vila Olímpica), um córrego com mais de 300m de extensão, com água transparente e correnteza fraca, parcialmente sombreado situado a uma distância aproximada de 8m das residências mais próximas.

O Criadouro 4 (Parque aquático), um córrego com extensão entre 150 a 300 m, apresentando água turva, correnteza moderada, sombreado, situado a uma distância entre 8 e 15 m de distância das residências.

O Criadouro 5 (Chácara do Betinho), era um reservatório de água para gado com extensão aproximada de 150 m<sup>2</sup>, com água turva, correnteza nula e totalmente exposto ao sol.

**Foto 13** - Criadouro vila olímpica, São João da Baliza, Roraima



**Foto 14** - Criadouro parque aquático, São João da Baliza, Roraima



**Foto 15** - Criadouro chácara do Betinho, São João da Baliza, Roraima



### **5.5 Coleta das formas imaturas e tratamento das amostras**

As coletas das formas imaturas foram realizadas nos mesmos dias das coletas dos adultos – preferencialmente a coleta de formas imaturas ocorria das 7h às 11h e, quando necessário, realizadas também no período da tarde. Foram utilizadas conchas entomológicas padrão (BioQuip, Ranch Dominguez, CA, USA) de 350 ml, cabo retrátil de no mínimo 1 metro. A cada ponto dentro do criadouro foram feitas nove conchadas, três a direita, três a frente e três a esquerda, seguindo o padrão do Ministério da Saúde (162).

Para cada *habitat* com larvas, as seguintes características foram registradas e utilizadas para a análise: nome e número do criadouro (de acordo com o conhecimento local dos técnicos de entomologia dos municípios); localização (latitude e longitude - utilizando aparelho digital de GPS 72H™ Garmin); tipo de *habitat* (Lagoa, Brejo, Açude, Poço, Remanso de Rio, Bromélia, Vala, Pântano, Represa, Escavação, Depressão, Canal, Córrego, Charco, Tanque de peixes, outros); tamanho (medidos em metros quadrado, estimado visualmente); turbidez da água (Transparente - quando a parte inferior da concha branca pôde ser vista, Turva- consideramos uma amostra turva quando a parte inferior da concha branca não pôde ser vista, Poluída - quando existiam resíduos jogados pelo homem); correnteza da água (Forte - movimento constante da água com ondas, Moderada - movimento formando ondulações menores que a classificação anterior, Fraca - pouco movimento ou movimento sem ondulações, Nula - sem correnteza, sem movimento); temperatura da água (registrada com Termômetro Digital Espeto Prova D'água Incoterm 6132);

distância da área mais próxima habitada ou com atividade humana (determinado em metros, estimado visualmente) exposição ao Sol (Sombreado - 0-25%, Parcialmente Sombreado- 25-50% e 50-75%, Ensolarado 75-100%, usando referência de Sánchez-Ribas 2015); detritos (presença de troncos, raízes, folhas, frutos, flores e sem detritos); vegetação (emergente - vegetação com as raízes fixadas no substrato abaixo do nível da água, com a parte superior acima do nível da água; Flutuante - vegetação aquática com raízes fixadas na superfície da água; Submersa - presença de algas e/ou fanerógamas aquáticas submersas; Marginal - presença de árvores, gramíneas ou arbustos o entorno do criadouro). A variável vegetação marginal foi usada como uma medida indireta de exposição ao sol. Todos os equipamentos utilizados foram calibrados e padronizados de acordo com as recomendações dos fabricantes, e as medidas foram realizadas entre 7h e 11h da manhã para cada dia de trabalho de campo, minimizando erros aleatórios para fins de comparação.

As larvas e pupas coletadas foram transferidas para tubos plásticos, etiquetados com o código do criadouro, local, data e coletor. No próprio local da coleta as larvas e pupas foram contabilizadas. O material recebeu etiquetagem no campo e foi transferido para o laboratório de entomologia municipal, onde foi realizado o trabalho de triagem, criação e identificação. As larvas de terceiro e quarto estágio foram mantidas em bandejas para criação (Figura 9). Todas as pupas foram transferidas para copos plásticos de 15 mL e mantidas em gaiolas de criação até a emergência do adulto. As exúvias larval e pupal foram preservadas em álcool 80%, para posterior estudo morfológico. As larvas de 3º e 4º estágio foram identificadas utilizando as chaves dicotômicas para larvas de anofelinos de Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002), e criadas até a fase adulta para conferência da identificação, enquanto que as larvas de estágios mais jovens foram apenas contabilizadas. Entretanto, todas as larvas dos estágios iniciais de *Anopheles darlingi* foram identificadas, baseadas nas características morfológicas da cerda 13 do aparato espiracular.

**Figura 9** - Larvas de terceiro e quarto estágio nos copos plástico e material utilizado para manter as larvas para criação.



## 5.6 Coletas de anofelinos adultos

As coletas de *Anopheles* spp. adultos foram realizadas nos três municípios a cada dois meses (janeiro, abril, julho, outubro), por um período de dois anos consecutivos, iniciado em janeiro de 2017 e finalizado em outubro de 2018. As coletas foram realizadas simultaneamente em dois locais, por três dias consecutivos ao pôr do sol das 18h00 às 22h00 no intradomicílio, peridomicílio e extradomicílio, próximo aos principais criadouros e das habitações dos moradores.

No intradomicílio, os mosquitos foram coletados em repouso nas paredes internas e móveis, no interior da residência, utilizando o aspirador de Nasci (163). As coletas no peridomicílio foram realizadas a uma distância aproximada de 15 metros da casa usando uma armadilha de mosquito com atrativo humano protegido MosqTent (164) (Figura 6) e capturador de Castro. Coletas extradomiciliares foram realizadas a uma distância de mais de 15 metros da residência e do criadouro principal usando a armadilha MosqTent. Quando um cavalo estava disponível, foi utilizado como atrativo na armadilha Shannon no extradomicílio concomitantemente com as coletas utilizando a armadilha MosqTent. Para avaliação do pico de hematofagia, foram realizadas coletas no intradomicílio e extradomicílio, por um período de 12 horas, das 18h00 às 06h00, nos meses de abril (transição da estação seca para a chuvosa) e outubro (transição da estação chuvosa para a seca) em 2017 e 2018. Os coletores se revezaram a cada 4 horas.

**Foto 16 - armadilha MosqTent**



Os espécimes capturados foram mantidos em gaiola de papelão, teladas e identificadas com os dados da coleta. Concomitantemente foram aferidas, a cada hora, a temperatura e umidade local, com o auxílio de um termohigrômetro (Digital Temperatura e Umidade Incoterm 7429.02.0.00).

Todos os dados referentes a cada coleta (temperatura, umidade, ventos, chuva, etc.) foram registrados em uma “ficha de campo”, contendo as seguintes informações: local, data, horário, tipo de coleta (intra, peri ou extradomicílio) e nome do coletor, além de dados abióticos.

Os adultos coletados foram transportados para o Laboratório do Núcleo Estadual de Entomologia, dentro das respectivas gaiolas e acondicionados em uma caixa de isopor própria. No laboratório, os mosquitos foram eutanasiados com acetato de etila, triados, identificados e transferidos individualmente para microtubos plásticos tipo Eppendorf e mantidos em caixas contendo sílica gel, hermeticamente fechadas. A identificação dos espécimes foi realizada com base na morfologia externa, utilizando-se chaves dicotômicas (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002) e artigos que tratam da descrição original das espécies.

## **5.7 Dados Pluviométricos**

Os dados pluviométricos foram retirados do site da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) disponíveis em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/imagens/topo-das-paginas/banner-home/view>.

## **5.8 Espacialização dos dados**

### **5.8.1 Análise espacial**

A localização geográfica dos *habitats* larvais e locais de coleta de adultos foi georreferenciada no sistema de coordenadas UTM (*Universal Transverse Mercator*) usando o *World Geodetic System 84* (WGS84). Todos os dados geográficos foram processados no Laboratório de Métricas da Paisagem do Departamento de Geografia da Universidade Federal de Roraima (UFRR), que possui imagens de satélite disponíveis e uma base cartográfica dos municípios. Os dados foram processados no software QGIS 2.14.17 para gerar os mapas.

### **5.8.2 Produção de Mapas**

Os produtos cartográficos foram gerados no Sistema de Informação Geográfica Quantum Gis versão 3.8 (QGIS), no qual foi possível especializar sobre a base cartográfica as ocorrências dos casos de malária e os criadouros. O processamento dos dados geográficos foi realizado no Laboratório de Métricas da Paisagem (MEPA) do Departamento de Geografia, Universidade Federal de Roraima. Para coleta da localização geográfica dos casos de malária e criadouros foi utilizado receptor GPS 72H™ Garmin no sistema de coordenadas UTM (*Universal Transversa Mercator*) e projeção no sistema SIRGASS2000 (Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas), posteriormente, os dados georreferenciados da localização foram importados para o programa QGIS, com objetivo de espacializar as ocorrências de malária e criadouros junto à base cartográfica. A base cartográfica possui os seguintes planos de informação: limites estaduais, municipais, vegetação, hidrografia e malha urbana, disponível e atualizada no MEPA/UFRR. O processamento dos dados geográficos para geração dos mapas temáticos aqui apresentados seguiu metodologia usual no uso de SIGs, como as descritas nos estudos de (165–167).



### **5.8.3 Análise Estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando *GraphPad InStat*, versão 3 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA) e R versão 4.0.5. A comparação entre as médias de temperatura e pH foi realizada pelo teste de Wilcox. Para avaliar a associação entre os fatores ambientais e a ocorrência de espécies nos criadouros, utilizamos modelos logísticos univariados com espécies como resultado e os fatores ambientais (tipo de *habitat*, área, turbidez da água, corrente da água, pH da água, temperatura da água, distância das casas, exposição à luz solar e detritos) como variáveis independentes. As medidas de associação entre espécies e variáveis ambientais foram apresentadas como *odds ratio* (OR) e seus intervalos de confiança de 95%. As diferenças entre as duas categorias de não referência são em relação às categorias de referência.

## **5.9 Aspectos éticos**

Não foi necessário submeter o projeto aos comitês de Ética visto que nenhuma coleta de anofelinos foi realizada em humanos e as coletas em cavalo foram no ambiente em que o animal se abrigava rotineiramente e onde o animal já estava exposto às picadas independentes de nossa presença.

Todos os coletores que participaram da pesquisa fazem parte da equipe de entomologia da Secretaria Estadual de Saúde de Roraima, treinados e com experiência para a execução das coletas.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Características dos criadouros monitorados em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza

No nosso estudo foram selecionados 15 criadouros permanentes de larvas de *Anopheles* spp., quatro em Boa Vista, seis em Pacaraima e cinco em São João da Baliza. Os três municípios apresentam diferentes paisagens geográficas. Em Boa Vista 100% dos criadouros apresentaram vegetação no entorno, sendo que a paisagem geográfica onde estão inseridos estes criadouros se caracterizam pela existência de vegetação de savana arborizada, com floresta de galeria, savana sem floresta de galeria, e três dos quatro criadouros de Boa Vista, são parcialmente sombreados. Em Pacaraima esse percentual foi de 83,33%, encontrando-se os criadouros em meio a floresta ombrófila e área de serra. Treze dos quinze criadouros se encontravam sombreados ou parcialmente sombreados e aqueles que estavam à sombra apresentaram maior número de larvas quando comparados aos expostos ao sol. Em São João da Baliza, cuja vegetação se caracteriza por ser de floresta ombrófila submontana, 80% dos criadouros apresentavam vegetação em torno deles, além da água estar represada e expostos à sombra, com exceção de apenas um criadouro que se encontrava exposto ao sol.

Na Tabela 2 são mostradas as principais características dos criadouros. Os tipos de criadouros mais frequentes foram riachos (60%), represas (20%), lagos (10%) e lagoas (10%). Larvas de *Anopheles* spp. foram encontradas em todos os criadouros, tanto naqueles de águas transparentes (60%) quanto de águas turvas. A maioria dos criadouros tinha área de superfície maior que 150m<sup>2</sup> (73,3%), com correnteza lenta (53,3%) e em locais parcialmente sombreados ou sombreados (53,3%). Em Boa Vista os tipos de criadouros encontrados foram riachos e lagoa; em Pacaraima riachos, represa e lago e em São João da Baliza riachos e represa.

Em Boa Vista a maioria dos criadouros estava a uma distância de mais de 15 m das casas, enquanto em Pacaraima e São João da Baliza estavam mais próximos entre 8m - 15m. Vale ressaltar que em São João da Baliza, o Criadouro 4 (Parque aquático) está localizado próximo as residências e é uma área de lazer, onde no final da tarde muitas crianças e famílias se reúnem. Da mesma maneira, o Criadouro 1

(Nascente) de Pacaraima, no qual os moradores da casa instalaram mesas ao redor da nascente para lanches ao final do dia.

A média de temperatura da água nos criadouros no município de Pacaraima foi de 20,4°C e o pH 6,0. Comparando com o município de São João da Baliza é possível perceber a diferença entre a temperatura da água dos criadouros que apresentou uma média de 26,4°C, seis graus mais alta que a água dos criadouros de Pacaraima e um pH de 5,7 um valor próximo ao encontrado em Pacaraima. Analisando os mesmos itens em Boa Vista é possível compreender que São João da Baliza apresentou o maior valor em relação a temperatura da água uma vez que em Boa Vista o valor médio foi de 25,5°C e o pH médio de 4,1 muito baixo em relação aos demais municípios.

A média de temperatura da água nos criadouros de Pacaraima foi mais baixa (20,48°C ± 1,0°C) do que em Boa Vista (25,5°C ± 3,2°C;  $p < 0,0001$ ) e São João da Baliza (26,4°C ± 0,95°C;  $p < 0,01$ ). Uma diferença de 5 a 6 °C mais baixa. Já o pH foi maior (6,0 ± 0,75) em Pacaraima do que em Boa Vista (4,1 ± 1,15;  $p < 0,01$ ) mas não foi significativamente diferente de São João da Baliza (5,7 ± 0,44;  $p > 0,05$ )).

Metade dos *habitats* larvais em Pacaraima estava sombreado, enquanto em Boa Vista e São João da Baliza, a maioria estava parcialmente sombreada. Apenas dois criadouros estavam totalmente ensolarados, um deles em Pacaraima e o outro em São João da Baliza. A vegetação marginal estava presente em todos os *habitats* larvais, enquanto a vegetação emergente estava presente em 73,3%, a subaquática em 40% e a vegetação flutuante em 33,3%. Restos como troncos, folhas e raízes foram encontrados em todos os corpos d'água, exceto em um viveiro de peixes em São João da Baliza.

**Tabela 2** - Características dos criadouros de larvas de anofelinos nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza

Municípios	Características	Criadouros					
		Criad. 1	Criad. 2	Criad. 3	Criad. 4	Criad. 5	Criad. 6
Boa Vista	Tipo de <i>habitat</i>	Riacho	Lagoa	Riacho	Riacho	-	-
	Tamanho (m)	>300	>150≤300	>300	>150≤300	-	-
	Aspecto da água	Turva	Transparente	Turva	Transparente	-	-
	Correnteza da água	Sem correnteza	Estagnada	Lenta	Lenta	-	-
	Temperatura água °C (M ± DP)	23.2 ± 10.5	22.3 ± 9.9	28.7 ± 14.9	27.8 ± 14.5	-	-
	pH água (M ± DP)	5.4 ± 2.4	4.7 ± 2.4	2.9 ± 3.1	3.4 ± 2.9	-	-
	Distância das casas (m)	>15	>15	>15	≤8	-	-
	Exposição ao sol	Sombreado parcial	Sombreado parcial	Sombreado parcial	Sombreado total	-	-
	Detritos	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	-	-
	Vegetação	Emergente/marginal	Emergente/Marginal Flutuante/Imersa	Emergente/Flutuante/Marginal	Flutuante/Marginal	-	-
Pacaraima	Tipo de <i>habitat</i>	Lago	Riacho	Riacho	Riacho	Represa*	Riacho
	Tamanho (m)	≤150	>150≤300	>150≤300	≤150	>300	>150≤300
	Aspecto da água	Turva	Transparente	Transparente	Transparente	Turva	Turva
	Correnteza da água	Lenta	Moderada	Lenta	Moderada	Estagnada	Lenta
	Temperatura água °C (M ± DP)	20.9 ± 8.5	20.1 ± 8.1	19.2 ± 8.5	19.5 ± 8.6	22 ± 9.7	21.2 ± 9.4
	pH água (M ± DP)	5.5 ± 1	6.3 ± 2.8	6.9 ± 0.7	5.4 ± 2.4	7 ± 0.8	5.4 ± 2.2
	Distância das casas (m)	≤8	>8≤15	≤8	>8≤15	>15	>15
	Exposição ao sol	Sombreado parcial	Sombreado	Sombreado	Sombreado	Ensolarado	Sombreado parcial
	Detritos	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Sem detritos	Tronco/Raíz/Folha
	Vegetação	Flutuante/Imersa Marginal	Emergente/Flutuante Marginal	Emergente/Marginal	Emergente/Marginal	Imersa	Emergente/Marginal Imersa
S.J. Baliza	Tipo de <i>habitat</i>	Represa	Riacho	Riacho	Riacho	Represa	-
	Tamanho (m)	>300	≤150	>300	>150≤300	≤150	-
	Aspecto da água	Turva	Turva	Transparente	Turva	Turva	-
	Correnteza da água	Lenta	Lenta	Lenta	Moderate	Estagnada	-
	Temperatura água °C (M ± DP)	27 ± 2.3	25.8 ± 1.1	25.1 ± 0.4	27.5 ± 1.7	26.6 ± 2.3	-
	pH água (M ± DP)	5.5 ± 2.3	5.5 ± 2.3	6.5 ± 0.8	5.5 ± 2.3	5.5 ± 3.5	-
	Distância das casas (m)	>8≤15	≤8	≤8	>8≤15	>15	-
	Exposição ao sol	Sombreado parcial	Sombreado parcial	Sombreado parcial	Sombreado	Ensolarado	-
	Detritos	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Tronco/Raíz/Folha	Sem detritos	-
	Vegetação	Emergente/Marginal	Emergente/Marginal	Emergente/Marginal	Emergente/Imersa Marginal	Imersa	-

(-): Não realizado; criad=criadouro

## 6.2 Identificação de formas imaturas de anofelinos

Um total de 544 larvas de *Anopheles* spp. foram coletadas nos 15 criadouros (Tabela 3). No entanto, não foi possível identificar morfologicamente até o nível de espécie, 335 larvas de *Anopheles* spp., por estarem nos estádios iniciais de desenvolvimento ou danificadas. Dentre as 209 larvas identificadas 54% foram capturadas em São João da Baliza e o restante em Boa Vista (30,2%) e Pacaraima (15,8%).

O *An. albitarsis* s.l., *An. nuneztovari* s.l., *An. triannulatus* s.l. e *An. peryassui* foram as espécies mais amplamente distribuídas, coletadas em criadouros de todos os municípios. As larvas de *An. darlingi*, *An. matogrossensis* e *An. oswaldoi* s.l. foram coletados apenas em Boa Vista e São João da Baliza enquanto as larvas de *An. evansae* em Boa Vista e Pacaraima. Já as larvas de *An. mediopunctatus* e *An. argyritarsis* só foram coletados em Pacaraima e *Chagasia bonneae* e *An. strodei* em São João da Baliza.

Em Boa Vista, 99 larvas de oito espécies foram coletadas e o *Anopheles darlingi* (44,4%) foi a espécie mais abundante em 2 dos 4 criadouros, seguida por *An. nuneztovari* s.l. (26,9%), presente em 3 dos 4 criadouros e *An. albitarsis* s.l. (9,5%) coletadas em único criadouro. Em todos os 4 criadouros foram coletadas larvas de *Anopheles* spp. de segundo estágio. O município de São João da Baliza apresentou o maior número de larvas coletadas (n=264) incluindo nove espécies: *An. darlingi* foi coletado em todos os cinco criadouros, *An. nuneztovari* s.l. (18,6%) em 3 dos 5 criadouros e *An. albitarsis* s.l. (8,8%) em 4 dos 5 criadouros. Em Pacaraima foram coletadas 148 larvas de sete espécies e *Anopheles triannulatus* s.l. (33,3%) foi a espécie mais abundante, seguida por *An. albitarsis* s.l. (24,2%) e *An. argyritarsis* (18,1%). Todas as larvas de *An. triannulatus* s.l. foram coletadas em um único criadouro (n=5), uma represa de criação de peixes. Larvas de *An. darlingi* não foram coletadas nos criadouros de Pacaraima.

**Tabela 3** - Total de larvas de anofelinos coletadas por espécie e por criadouro nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza monitorados no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018.

MUNICÍPIOS	CRIADOUROS							Total N(%)
	Criadouro 1 N(%)	Criadouro 2 N(%)	Criadouro 3 N(%)	Criadouro 4 N(%)	Criadouro 5 N(%)	Criadouro 6 N(%)		
Boa Vista	<b>Espécies</b>	<b>Riacho</b>	<b>Lagoa</b>	<b>Riacho</b>	<b>Córrego</b>			
	<i>An. darlingi</i>	13 (65,0)	15 (38,5)	0	0	-	-	28 (44,4)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	6 (15,4)	0	0	-	-	6 (9,5)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	2 (10,0)	11 (28,2)	4 (100)	0	-	-	17 (27,0)
	<i>An. mattogrossensis</i>	4 (20)	0	0	0	-	-	4 (6,3)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	1 (5,0)	0	0	0	-	-	1 (1,6)
	<i>An. evansae</i>	0	5 (12,8)	0	0	-	-	5 (7,9)
	<i>An. peryassui</i>	0	1 (2,6)	0	0	-	-	1 (1,6)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	1 (2,6)	0	0	-	-	1 (1,6)
	<b>Total</b>	<b>20 (31,7)</b>	<b>39 (61,9)</b>	<b>4 (6,4)</b>	<b>0</b>	-	-	<b>63(100)</b>
<i>Anophele. spp.</i>	18	13	3	2	-	-	36	
Pacaraima	<b>Espécies</b>	<b>Lago</b>	<b>Córrego</b>	<b>Córrego</b>	<b>Córrego</b>	<b>Tanque de Peixes</b>	<b>Córrego</b>	
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	0	6 (100)	0	2 (13,33)	0	8 (24,2)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	1 (100)	0	0	0	0	0	1 (3,0)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	0	0	0	0	11 (73,33)	0	11 (33,3)
	<i>An. evansae</i>	0	0	0	0	1 (6,66)	0	1 (3,0)
	<i>An. peryassui</i>	0	0	0	4 (100)	1 (6,66)	0	5 (15,1)
	<i>An. mediopunctatus</i>	0	0	0	0	0	1 (100)	1 (3,0)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	6 (100)	0	0	0	0	6 (18,2)
	<b>Total</b>	<b>1 (3,0)</b>	<b>6 (18,2)</b>	<b>6 (18,2)</b>	<b>4 (12,1)</b>	<b>15 (45,4)</b>	<b>1 (3,0)</b>	<b>33</b>
<i>Anopheles spp.</i>	4	41	32	8	58	5	148	
S.J. Baliza	<b>Espécies</b>	<b>Represa</b>	<b>Córrego</b>	<b>Córrego</b>	<b>Córrego</b>	<b>Represa</b>		
	<i>An. darlingi</i>	8 (38,0)	16 (66,7)	3 (37,5)	31 (86,1)	4 (16,7)	-	62 (62,9)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	1 (4,8)	2 (8,3)	0	1 (2,8)	6 (25,0)	-	10 (8,8)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	9 (42,8)	3 (12,5)	0	0	9 (37,5)	-	21 (18,6)
	<i>An. mattogrossensis</i>	0	0	1 (12,5)	0	0	-	1 (0,9)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	2 (9,5)	1 (4,2)	0	3 (8,3)	3 (12,5)	-	9 (8,0)
	<i>An. peryassui</i>	0	0	1 (12,5)	0	0	-	1 (0,9)
	<i>Chagasia bonneae</i>	0	0	3 (37,5)	0	0	-	3 (2,6)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	1 (4,8)	2 (8,3)	0	1 (2,8)	1 (4,2)	-	5 (4,4)
	<i>An. strodei</i>	0	0	0	0	1 (4,2)	-	1 (0,9)
<b>Total</b>	<b>21 (18,6)</b>	<b>24 (21,2)</b>	<b>8 (7,1)</b>	<b>36 (31,8)</b>	<b>24 (21,2)</b>	-	<b>113</b>	
<i>Anopheles spp.</i>	13	11	5	17	105	-	151	

(-): não coletado

### 6.3 Associação entre as espécies de larvas de anofelinos e as principais características dos criadouros

Os resultados dos modelos logísticos univariados para as quatro espécies de larvas de anofelinos mais frequentes nos três municípios estão resumidos na Tabela 4. Verificamos que *An. darlingi* era mais provável de ser coletado nos riachos (córrego) (OR = 6,85,  $p < 0,01$ ) e *An. nuneztovari s.l.*, em barragem (OR = 0,16,  $p < 0,01$ ) do que em lagoas e tanque de peixes ou represas ( $p > 0,05$ ), o *An. triannulatus s.l.* teve preferência por tanque de peixes (OR = 40,7,  $p < 0,01$ ). Diferindo das espécies acima mencionadas, *An. albitarsis s.l.* não tinha preferência por um *habitat* específico, uma vez que foi encontrado em todos os tipos de habitats larvários.

Quanto ao tamanho dos habitats larvários *An. albitarsis s.l.* e *An. darlingi*, tiveram uma chance maior de serem capturados em criadouros com 150-300 m<sup>2</sup> de área de superfície do que aqueles maiores que 300 m<sup>2</sup> (OR = 3,83,  $p < 0,05$ , e OR = 2,27,  $p < 0,05$ , respectivamente).

*Anopheles darlingi* foi mais abundante em águas com correnteza moderada quando comparada a água estagnada (OR = 0,08,  $p < 0,01$ ) e de correntezas lentas (OR = 0,12,  $p < 0,01$ ). Os modelos logísticos também mostraram uma chance maior das larvas de *An. triannulatus s.l.* serem encontradas em habitats larvais > 300 m<sup>2</sup> (OR = 0,13,  $p < 0,01$ ) do que aqueles <150-300 m<sup>2</sup> (OR = 0,13,  $p < 0,01$ ) e <150m<sup>2</sup> (OR= 0,29,  $p < 0,05$ ). *Anopheles albitarsis s.l.* teve maior preferência por habitats aquáticos com águas transparentes sobre águas turvas (OR = 0,24,  $p < 0,01$ ). Em contraste, *An. darlingi* e *An. nuneztovari s.l.* ocorreram em habitats aquáticos com água transparente e turva respectivamente. Criadouros expostos ao sol foram relacionados à ocorrência de *An. albitarsis s.l.* (OR = 2,93,  $p < 0,05$ ) e *An. triannulatus s.l.* (OR = 15,67,  $p < 0,01$ ) em comparação com aqueles parcialmente sombreados, enquanto *An. darlingi* mostrou preferência por habitats parcialmente sombreados (OR=2,42,  $p < 0,05$ ) em vez de ensolarados (OR = 0,1,  $p < 0,01$ ).

*Anopheles darlingi* foi mais frequentemente observado em criadouros com raízes, troncos de árvores e folhas (OR = 12,58,  $p < 0,01$ ) do que em criadouros sem detritos, enquanto *An. triannulatus s.l.* teve maior chance de ocorrer em habitats sem detritos do que com detritos (OR = 0,08,  $p < 0,01$ ).

**Tabela 4** - Modelos logísticos univariados para estimar a associação entre as principais características dos criadouros e a ocorrência das quatro espécies de larvas *Anopheles* mais frequentes coletadas no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018

		<i>An. albitarsis s.l.</i>	<i>An. darlingi</i>	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	<i>An. triannulatus s.l.</i>
<b>Tipo de <i>Habitat</i></b>	Represa	Ref	Ref	Ref	Ref
	Tanque Peixe	0,91 (0,12;4,46)	0 (0;136,02)	-	40,7 (8,21;322,05)**
	Lagoa	1,15 (0,34;3,88)	2,21 (0,85;5,89)	0,7 (0,26;1,8)	-
	Lago	-	-	-	-
	Riacho	0,58 (0,2;1,75)	6,85 (3,08;16,08)**	0,16 (0,06;0,38)**	0,46 (0,12;1,73)
<b>Tamanho(m<sup>2</sup>)</b>	>300m	Ref	Ref	Ref	Ref
	150-300m	3,83 (1,16;17,35)*	2,27 (1,12;4,67)*	0,48 (0,2;1,15)	0,13 (0,03;0,42)**
	<150m	3,82 (1,03;18,32)	1,07 (0,48;2,36)	1,11 (0,46;2,67)	0,29 (0,08;0,89)*
<b>Turbidez da água</b>	Transparente	Ref	Ref	Ref	Ref
	Turvo	0,24 (0,1;0,59)**	1,51 (0,75;3,08)	0,73 (0,33;1,68)	-
<b>Correnteza da água</b>	Moderada	Ref	Ref	Ref	Ref
	Estagnada	6,9 (1,3;127,59)	0,08 (0,02;0,23)**	-	2,35 (0,71;10,67)
	Fraca	6,51 (1,14;122,92)	0,12 (0,03;0,35)**	-	0,6 (0,11;3,43)
<b>Distância das casas</b>	>15m	Ref	Ref	Ref	Ref
	15-8m	0,2 (0,03;0,74)*	4,19 (2,06;8,85)**	0,46 (0,19;1,04)	0,48 (0,15;1,33)
	<8m	1,74 (0,63;4,59)	2,51 (1,11;5,86)*	0,34 (0,09;0,96)	0,15 (0,01;0,82)
<b>Exposição à luz</b>	Parcialmente sombreado	Ref	Ref	Ref	Ref
	Sombreado	2,04 (0,68;5,9)	2,42 (1,1;5,71)*	-	1,86 (0,35;8,8)
	Ensolarado	2,93 (1,01;8,41)*	0,1 (0,03;0,28)**	0,78 (0,32;1,83)	15,67 (5,06;59,78)**
<b>Detritos</b>	Sem Detritos	Ref	Ref	Ref	Ref
	Tronco/Raíz/Folha	0,44 (0,17;1,18)	12,58 (4,66;44,06)**	0,8 (0,35;1,96)	0,08 (0,03;0,21)**

\*p<0,05; \*\*p<0.01; (-): número pequeno de amostras.



#### 6.4 Distribuição dos anofelinos no intra, peri e extradomicílio nos municípios de Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza

Um total de 1.488 fêmeas de *Anopheles* spp. de 11 espécies foram coletadas em todos os três municípios (Tabela 5). Nove espécies foram identificadas em Boa Vista e *An. albitarsis s.l.* (88,4%) foi a espécie predominante, seguida por *An. darlingi* (6,9%) e *An. peryassui* (3%). Entre as sete espécies coletadas em São João da Baliza, *An. darlingi* (85,6%) foi a espécie mais predominante, seguida por *An. albitarsis s.l.* (9,3%) e *An. nuneztovari s.l.* (3,9%). Pacaraima apresentou menor densidade de *Anopheles* spp. quando comparado com os outros municípios e, das seis espécies identificadas, a mais abundante foi o *An. braziliensis* (64,6%), seguido por *An. peryassui* (18,7%) e *An. albitarsis s.l.* (8,3%). Em todos os três municípios, *An. albitarsis s.l.*, *An. darlingi* e *An. nuneztovari s.l.* estavam presentes, enquanto *An. matogrossensis* e *An. evansae* foram observados apenas em Boa Vista e *An. triannulatus s.l.* apenas em São João da Baliza. A maioria dos anofelinos foram coletados no extradomicílio e peridomicílio. *Anopheles darlingi* foi a única espécie encontrada no intradomicílio em São João da Baliza.

Em Boa Vista, *An. albitarsis s.l.* e *An. darlingi* foram as espécies mais abundantes no extradomicílio e no peridomicílio, ambas coletadas em atrativo humano protegido, mas também foram coletadas na armadilha de *Shannon* em atrativo animal em Pacaraima; *An. braziliensis* foi capturado no peridomicílio (33,8%) e no extradomicílio tanto em atrativo humano protegido (29%) quanto na armadilha de *Shannon* (37,1%). Em contraste, a maioria do *An. peryassui* foi coletado na armadilha de *Shannon* (62,5%).

Em São João da Baliza, 100% dos *An. darlingi* e *An. albitarsis s.l.* foram coletados em atrativo humano. Entretanto, o *An. darlingi* foi a única espécie coletada no intradomicílio. *Anopheles darlingi* e *An. albitarsis s.l.* foram as espécies mais antropofílicas, ambas foram predominantes nas coletas feitas com atrativo humano protegido e apresentaram hábitos essencialmente exofágicos.

**Tabela 5** - Número absoluto e frequência relativa de espécies adultas de anofelinos coletadas no intradomicílio, peridomicílio e extradomicílio por MosqTent (atrativo humano protegido) e armadilha Shannon (cavalo), no período de janeiro de 2017 a outubro de 2018,

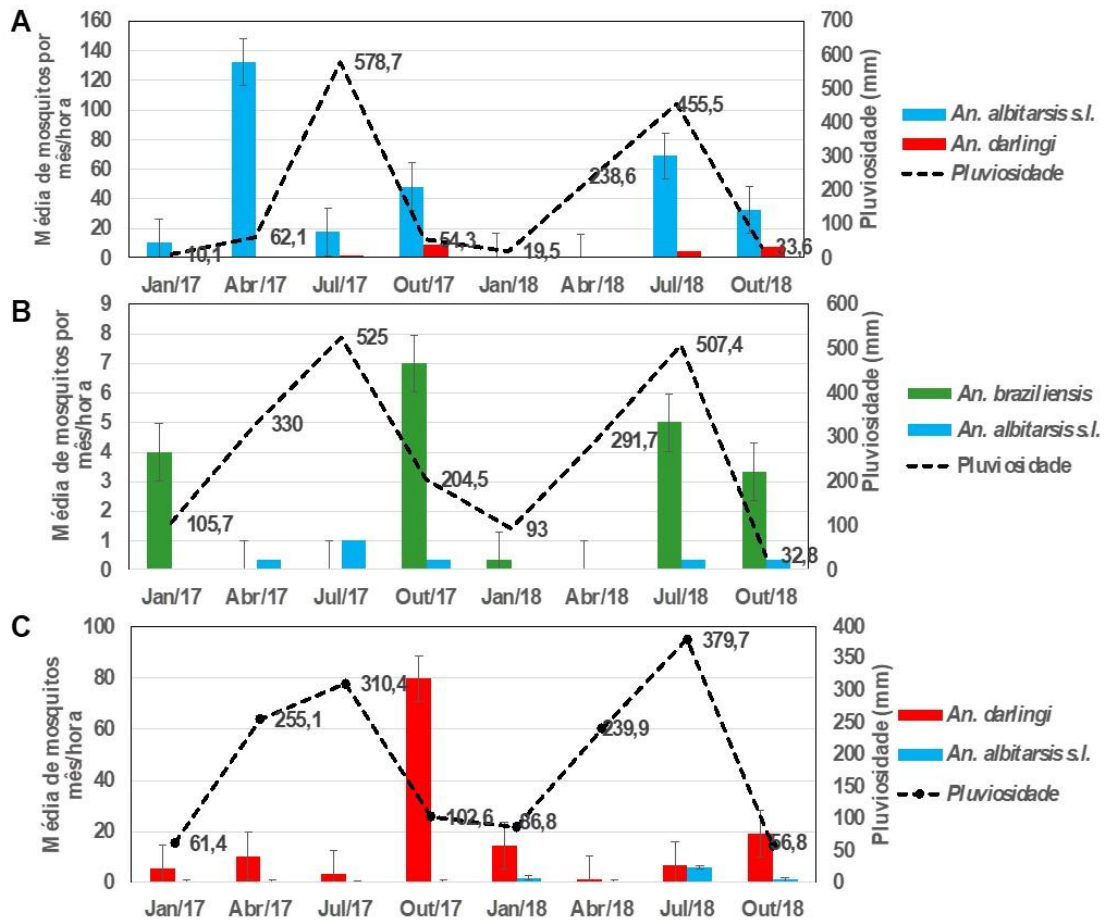
Municípios	Espécies	Modalidades de coleta				Total
		Intradomicílio	Peridomicílio	Extradomicílio		
				Mosquitent	Shannon	
N(%)	N(%)	N(%)	N(%)	N(%)		
Boa Vista	<i>An. darlingi</i>	0	20(27.4)	42(57.5)	11(15.1)	73 (6.9)
	<b><i>An. albitarsis s.l.</i></b>	<b>0</b>	<b>190(20.4)</b>	<b>669(71.9)</b>	<b>71(7.6)</b>	<b>930 (88.4)</b>
	<i>An. braziliensis</i>	0	0	8(100)	0	8 (0.8)
	<i>An. peryassui</i>	0	3(9.4)	28(87.5)	1(3.1)	32 (3.0)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	0	3(60.0)	2(40.0)	5 (0.5)
	<i>An. strodei</i>	0	0	0	1(100)	1 (0.1)
	<i>An. mattogrossensis</i>	0	0	0	1(100)	1 (0.1)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.1)
	<i>An. evansae</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.1)
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>214 (20.3)</b>	<b>751 (71.4)</b>	<b>87 (8.3)</b>	<b>1052</b>
Pacaraima	<i>An. darlingi</i>	0	0	0	1(100)	1 (1.0)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	2(25.0)	1 (12.5)	5(62.5)	8 (8.3)
	<b><i>An. braziliensis</i></b>	<b>0</b>	<b>21(33.8)</b>	<b>18(29.0)</b>	<b>23(37.1)</b>	<b>62 (64.6)</b>
	<i>An. peryassui</i>	0	6(33.3)	1(5.5)	11(61.1)	18 (18.7)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	0	1(100)	0	1 (1.04)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	3(50.0)	1(16.7)	2(33.3)	6 (6.2)
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>32 (33.3)</b>	<b>22 (22.9)</b>	<b>42 (43.8)</b>	<b>96</b>	
S.J. Baliza	<b><i>An. darlingi</i></b>	<b>4(1.39)</b>	<b>108(37.8)</b>	<b>174(60.8)</b>	<b>0</b>	<b>286 (85.6)</b>
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	9(29.0)	22(71.0)	0	31 (9.3)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	3(23.1)	9(69.2)	1(7.7)	13 (3.9)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.3)
	<i>An. strodei</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.3)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.3)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.3)
<b>Total</b>	<b>4 (1.2)</b>	<b>122 (36.5)</b>	<b>207 (62.0)</b>	<b>1 (0.3)</b>	<b>334</b>	

## 6.5 Variação sazonal dos anofelinos em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza

O estudo longitudinal mostrou que a densidade das espécies de *Anopheles* spp. coletadas variou com o período de coleta. Os dados na Fig. 10 representam o número médio de *Anopheles* spp. capturados naquele mês por coletor por hora (4

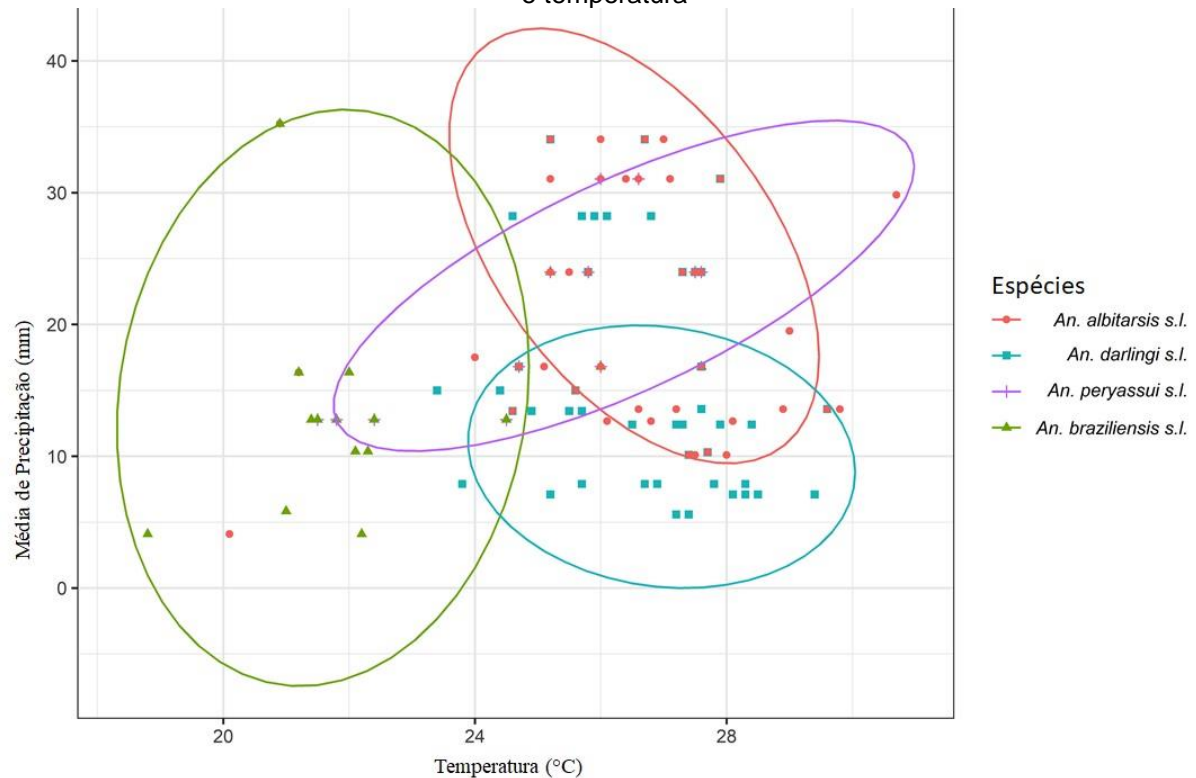
horas de captura por três dias consecutivos) a cada dois meses em cada localidade. O período de chuvas no estado de Roraima ocorre entre abril e setembro. Mesmo assim, em Boa Vista, esse foi o período com maior abundância de *Anopheles* spp. Em Pacaraima e São João da Baliza, essas espécies foram mais frequentes nos meses mais secos. Em Boa Vista (Fig. 10A), *An. albitarsis* s.l. teve a maior densidade durante os meses estudados, com a maior frequência observada em abril na estação seca. O mês de julho para ambos os anos (2017 e 2018) apresentou a maior precipitação de chuvas e um grande número de *An. albitarsis* s.l. foram capturados em 2018. *Anopheles darlingi* não foi abundante durante os meses de estudo, mas apresentou aumento populacional em outubro no final do período chuvoso. Em Pacaraima (Fig. 10B), *An. braziliensis* foi a espécie mais abundante com o maior número coletado no mês de outubro depois de alta precipitação de chuvas enquanto *An. albitarsis* s.l. foi coletado em poucos números durante o período de estudo.

**Figura 10** - Variação sazonal das espécies de anofelinos mais abundantes. A. Boa Vista, B. Pacaraima e C. São João da Baliza



Em São João da Baliza (Fig 10C), *An. darlingi* foi a espécie predominante durante todo o ano, mas foi mais abundante no mês de outubro enquanto o *An. albitarsis s.l.* apesar de ter sido coletado todos os meses, foi em pouca quantidade. A densidade dos anofelinos e a intensidade de chuva e temperatura mostraram que *An. darlingi* foi predominante quando a temperatura estava acima de 24°C e nos períodos com menor pluviosidade, enquanto o *An. albitarsis s.l.* prevaleceu nos períodos de chuva, com temperaturas acima de 23°C. *Anopheles braziliensis* foi coletado em temperaturas mais baixas (18°C e 25°C) durante o período seco e chuvoso. *Anopheles peryassui* foi o vetor intermediário em todos esses períodos e não foi capturado no período extremamente seco como visto na Figura 11.

**Figura 11** - Dispersão das espécies mais abundantes de anofelinos por intensidade média de chuva e temperatura

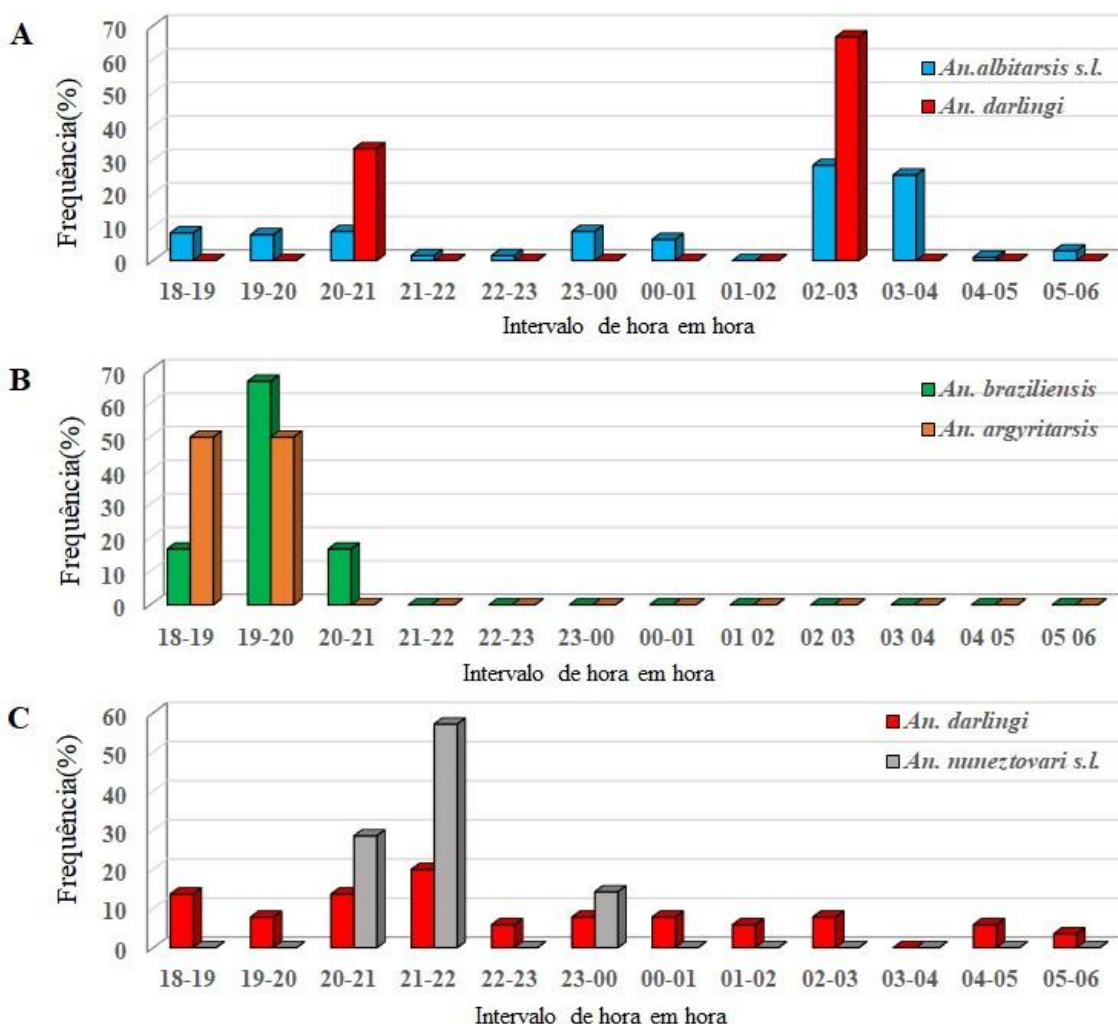


### 6.6 Distribuição das espécies de anofelinos mais abundantes por horário de hematofagia nas capturas de 12h

Quatro coletas de 12 horas foram realizadas em cada município simultaneamente no intradomicílio, no peridomicílio e extradomicílio para análise da atividade de picadas ao homem. Embora todas as coletas tenham sido realizadas nos dois ambientes, nenhum anofelino foi coletado no intradomicílio. A Figura 12 mostra a frequência horária de picadas das duas espécies de *Anopheles* spp. mais frequentes em cada localidade, coletadas no peridomicílio em intervalos de uma hora. Em Boa Vista, *Anopheles albitarsis s.l.*, a espécie mais abundante, apresentou atividade de picada ao entardecer e ao longo da noite, com maior atividade entre 02h00 e 04h00. *Anopheles darlingi* apresentou atividade de picada às 20h00-21h00 e durante toda a noite, mas em menor número com a maioria entre 20h00-21h00 e 02h00-03h00, com apenas um exemplar de *An. peryassui* capturado entre 20h00 e 21h00. Em Pacaraima, a espécie mais frequente foi o *An. braziliensis*, com um pico significativo entre 19h00 e 20h00. *Anopheles argyritarsis* foi capturado entre 18h00-19h00 e

19h00-20h00, e *An. peryassui* às 18h00 às 19h00. No município de São João da Baliza, *An. darlingi* apresentou uma atividade hematofágica crepuscular pronunciada com um pico precoce às 21h00-22h00. No entanto, também foram coletados durante toda a noite até às 6h00. *Anopheles nuneztovari* foi a segunda espécie mais comum, ocorrendo das 20h00 às 21h00, das 21h00 às 22h00 e das 23h00 às 0h00, enquanto o *An. albītarsis s.l.* ocorreu em números maiores entre 5h00 e 6h00.

**Figura 12** - Distribuição das espécies de anofelinos mais abundantes por horários de hematofagia nas capturas de 12h. A. Boa Vista. B. Pacaraima. C. São João da Baliza.



### 6.7 Taxa de Picada Homem/noite no peridomicílio e extradomicílio em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza

A taxa de picada homem/noite (HBR) foi estimada para as espécies mais comuns coletadas em cada município usando o seguinte cálculo: o número total de

anofelinos capturados durante a coleta de 4 horas (17h-21h) dividido pelo número total de dias de coleta e o número de coletores. Os dados estão apresentados na Tabela 6.

Entre todas as espécies coletadas em Boa Vista, *An. albitarsis s.l.* apresentou a maior taxa de picadas por noite no extradomicílio (10,8 picadas) e no peridomicílio (3,8 picadas). Para o *An. darlingi* as taxas de picadas foram baixas: 0,3 picadas/noite no peridomicílio e 0,8 picadas no extradomicílio. Em Pacaraima, *An. braziliensis* também apresentou taxa de picada baixas no peridomicílio (0,26 picadas) e extradomicílio (0,22 picadas). No município de São João da Baliza, *An. darlingi* apresentou taxa de picadas maiores no peridomicílio (1,07 picadas) e no extradomicílio (1,64 picadas) do que em Boa Vista, enquanto *An. albitarsis s.l.* apresentou taxa de picada muito baixa. Vale ressaltar que São João da Baliza foi o único município onde o *An. darlingi* foi coletado no intradomicílio (3 espécimes às 19h às 20h e 1 às 20h às 21h).

**Tabela 6** - Taxa de picadas por noite por espécie no peridomicílio (PD) e extradomicílio (ED) para cada município

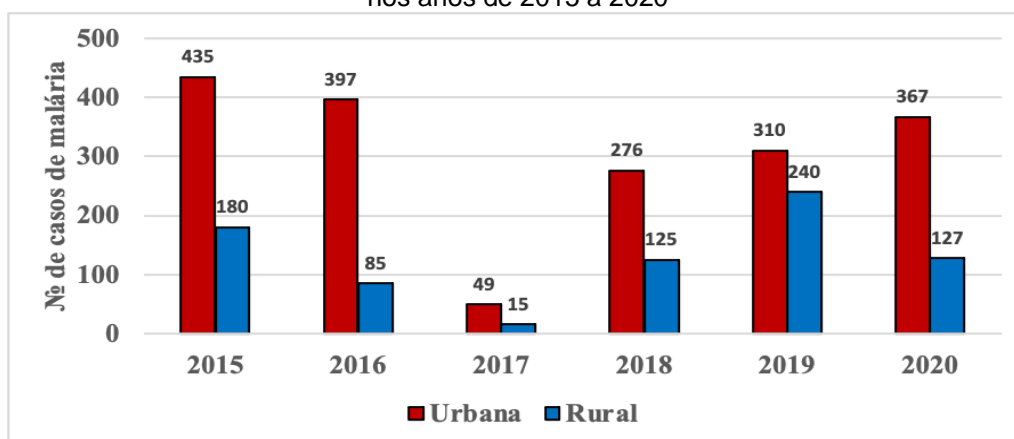
Municípios	Espécies	PD	ED
<b>Boa Vista</b>	<i>An. albitarsis s.l.</i>	3.8	10.8
	<i>An. darlingi</i>	0.3	0.8
<b>Pacaraima</b>	<i>An. braziliensis</i>	0.26	0.22
	<i>An. argyritarsis</i>	0.03	0.01
<b>São João da Baliza</b>	<i>An. darlingi</i>	1.07	1.64
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0.08	0.22

## 6.8 São João da Baliza e a malária urbana

Dentre os municípios de Roraima que apresentam maior número de casos de malária, São João da Baliza concentra a maior incidência de casos urbanos da doença. O município de São João da Baliza é escassamente povoado, com uma população de 8.492 habitantes estimada para 2021 (IBGE), **70,25%** localizados em área urbana e **29,75%** em área rural. Sua área é de **4.284,51 km<sup>2</sup>** e a densidade populacional é de **1,91 hab/km<sup>2</sup>**, enquanto o estado tem, em média **2,70 hab/km<sup>2</sup>**.

Como mostrado na Fig 13, em São Joao da Baliza a malária urbana é recorrente e o número de casos de malária em área urbana foi sempre maior que na área rural. Em 2019 o município notificou 634 casos de malária, 461 autóctones dos quais 310 foram adquiridos no espaço urbano do município, equivalente a 66,2% dos casos registrados no município. Em 2020 foram 638 casos notificados destes 438 casos de malária autóctones, sendo 367 provenientes de área urbana e 71 de área rural. A malária importada em 2019, por sua vez, teve pouca ocorrência com apenas dois casos provenientes da Venezuela e da Guiana Francesa; as notificações de malária adquirida em outros municípios corresponderam a 27,1% do total de 634 notificados no município. Já em 2020 a malária importada permaneceu em dois casos oriundos de outros países e 198 casos (31%) de outros municípios (2). O ano de 2017, quando iniciamos o nosso estudo, o número de casos diminui para 49 casos na área urbana e 15 na área rural. Neste ano houve uma intensificação de busca ativa de casos principalmente nas áreas onde detectávamos criadouros positivo para larvas e adultos de *Anopheles* spp. Infelizmente, em 2018, com a mudança do gestor de malária algumas ações foram abandonadas.

**Figura 13** - Números de casos de malária em área urbana e rural no município de São João da Baliza nos anos de 2015 a 2020



Dados da tabela 7 (2), mostram que dos cinco bairros com o maior número de casos de malária, a coleta de larvas e adultos foram feitas nos Bairros de Manuel Bezerra (Criadouro 4) e Distrito Industrial (Criadouro 2), no Bairro Universo (Criadouro 1) só foi feita a coleta de larvas.

Em 2016 os bairros de São João da Baliza com maior notificação de casos de malária foram Nova Esperança, Centro e Manuel Bezerra. Em 2017 os bairros prevalentes para malária foram os mesmos, só mudando a ordem, sendo: Manuel



Bezerra, Nova Esperança e Centro. No ano de 2018, foram os bairros Universo, Nova Esperança e Centro. É interessante observar que o bairro Manuel Bezerra deixou de figurar como o local de maior ocorrência de casos, entrando em seu lugar o bairro Universo e assim também ocorreu em 2019 estando o bairro Universo com maior número de casos, seguido do Centro e do bairro Nova Esperança. Os bairros Nova Esperança e Centro apesar de variar a quantidade de casos estiveram em todos os quatros anos analisados como um dos três bairros com maior número de casos de malária.

**Tabela 7** - Bairros com maior número de casos de malária autóctone na área urbana de São João da Baliza no período de 2016 a 2019

Município	Bairros	Criadouro	Nº de casos	Nº de casos	Nº de casos	Nº de casos
			2016	2017	2018	2019
São João da Baliza	Manuel Bezerra	4	54	18	23	36
	Nova Esperança	-	213	15	71	47
	Centro	-	69	11	52	61
	Dist. Industrial	2	1	3	19	18
	Universo	1	30	2	111	108

### 6.9 Distribuição espacial dos casos de malária e dos criadouros e das espécies de anofelinos em São João da Baliza

O município de São João da Baliza apresenta uma região de floresta tropical densa e destacada incidência de casos de malária urbana, que se relaciona a determinantes ambientais e socioeconômicos, tendo em vista que as áreas que compõem sua bacia hidrográfica apresentam aspectos ambientais favoráveis ao desenvolvimento de vetores da malária (168). É um município cercado por criadouros de mosquitos, especialmente em razão do represamento de água, que favorece a proliferação de larvas de anofelinos. A figura 14 mostra a distribuição espacial dos criadouros e os locais prováveis de infecção dos casos de malária. Cada criadouro foi identificado com um círculo colorido e as principais espécies de larvas coletadas em cada criadouro com losangos. Os casos autóctones urbanos de 2017 (n=49) foram identificados com círculo vermelhos e em azul claro os casos autóctones urbanos de 2018 (n=276).

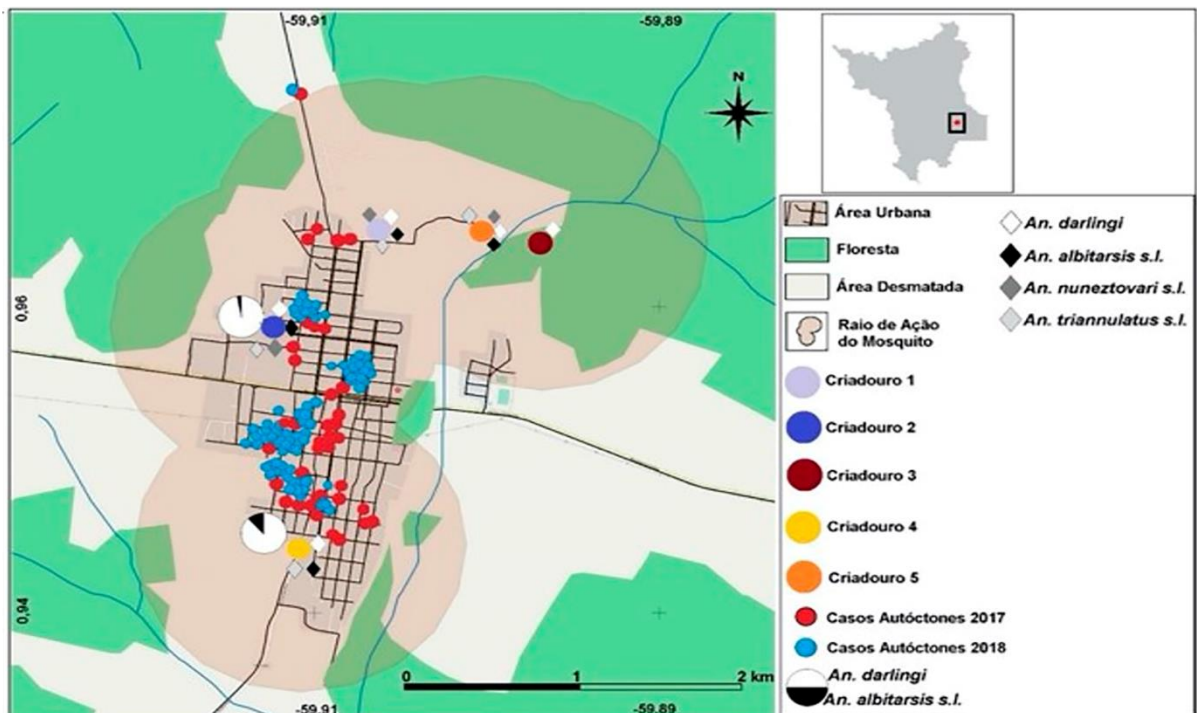
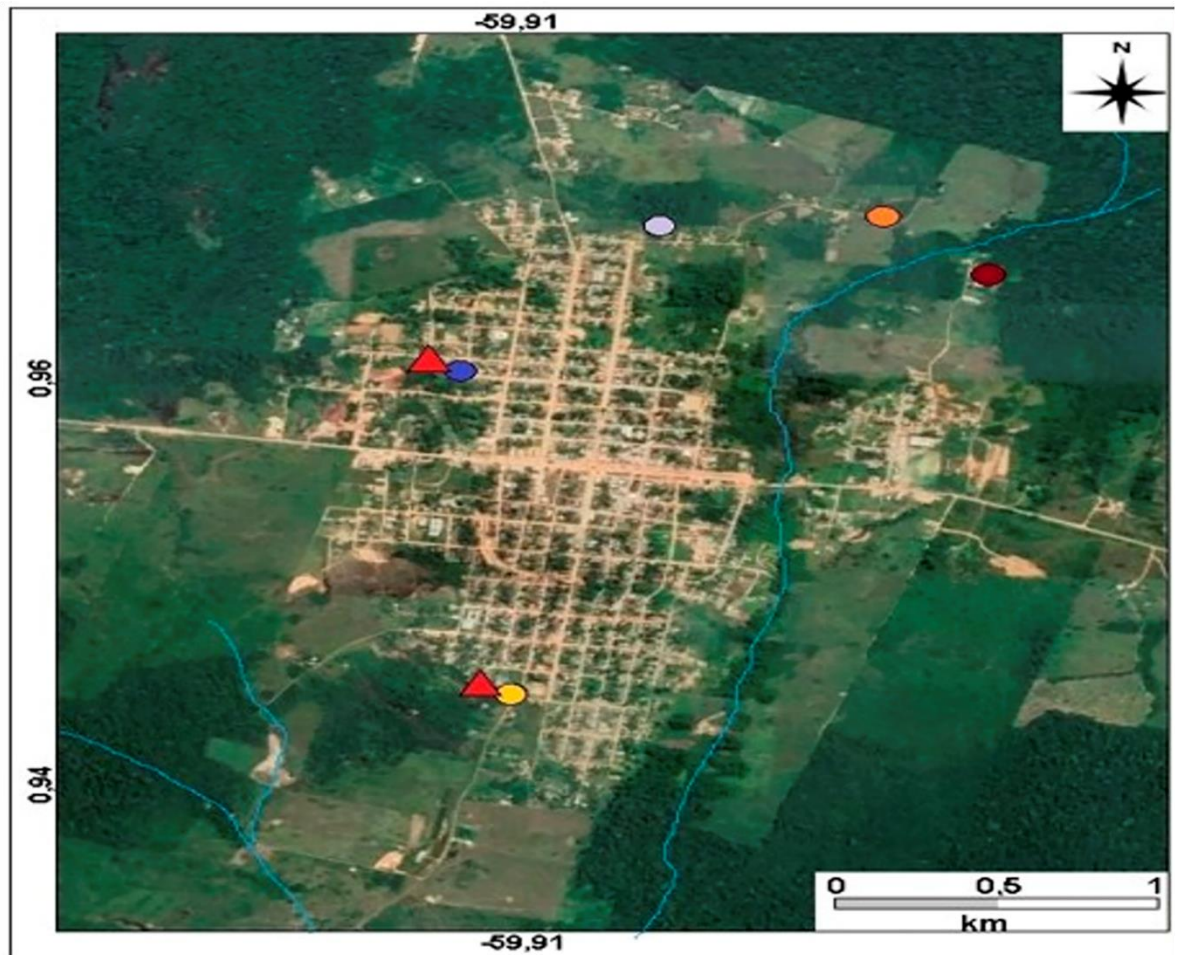
Os gráficos de pizza identificam os pontos de coletas de adultos e a porcentagem de adultos coletados de *An. darlingi* e de *An. albicans* s.l. As áreas do

mapa em rosa representam a distância estimada de voo (raio de ação) de *An. darlingi*. Com isso foi possível identificar que todos os casos de malária urbana deste município aconteceram dentro do raio de 1km traçado no mapa. Precisamos levar em consideração que todo o município é envolto por vegetação e isso influencia na manutenção dos criadouros. É possível observar a existência de áreas de vegetação dentro da cidade, bem como a presença de um igarapé que atravessa toda a zona urbana do município. Adicionalmente, nota-se que – na maioria dos casos – as casas encontram-se próximas aos criadouros da região (Fig. 14).

Todos os cinco criadouros nos diferentes bairros estudados apresentaram larvas de *An. darlingi*. Nos dois bairros onde foram feitas as coletas de adultos, Manuel Bezerra (Criadouro 4) e Distrito Industrial (Criadouro 2) observamos uma maior concentração dos números de casos e o *An. darlingi* foi a espécie predominante. Da mesma maneira estes dois bairros apresentaram o maior número de larvas de *An. darlingi*.

Os nossos resultados mostram que em São João da Baliza a predominância de *An. darlingi* nas coleções hídricas e nas coletas de adultos, próximas às residências facilita o contato homem vetor um fator crucial para consolidar o ciclo de transmissão da doença na área urbana do município.

**Figura 14** - Imagem de satélite da área urbana de São João da Baliza mostrando os pontos de coleta e ilustração da mesma área mostrando a distribuição espacial dos casos de malária, dos criadouros, e das espécies de larvas e adultos coletados na área urbana de São João da Baliza



Criadouro1- Bairro Universo, Criadouro 2 e ponto de coleta de adulto - Bairro Distrito Industrial, Criadouro 3- Bairro Vila Olímpica, Criadouro 4 e ponto de coleta de adulto- Manuel Bezerra, Criadouro 5- Vicinal 27

## 7 DISCUSSÃO

O potencial malariogênico mede o risco de transmissão da malária em uma área e é fundamental para determinar as estratégias para eliminar ou prevenir o restabelecimento da transmissão (169), particularmente em áreas onde o potencial da malária importada é alto. Como parte de uma estratégia integrada de controle e eliminação, as intervenções devem ser implantadas regionalmente com base no conhecimento detalhado dos criadouros locais e da distribuição dos vetores.

No presente estudo foram coletadas amostras de larvas e adultos de anofelinos durante dois anos para determinar a composição de espécies de *Anopheles* spp., ocorrência sazonal e distribuição de vetores em áreas de malária autóctone (São João da Baliza) e com grande número de casos importados (Boa Vista e Pacaraima) no estado de Roraima. A distribuição e densidade das espécies de anofelinos locais pode ser um fator importante para identificar as diferenças na transmissão da malária. O estado de Roraima apresenta uma paisagem ecológica diversa e a transmissão da malária em Boa Vista, que é principalmente uma área de savana difere das áreas de transmissão das reservas indígenas Yanomami nas montanhas do noroeste, que é uma região com densas florestas tropicais (10–12,170,171).

Larvas de anofelinos foram encontradas em todos os criadouros estudados principalmente nos riachos. O *Anopheles darlingi* foi a espécie mais abundante em São João da Baliza e Boa Vista. Em São João da Baliza, área formada por uma floresta tropical de várzea com áreas desmatadas, larvas de *An. darlingi* foram coletadas em todos os cinco criadouros. Em Boa Vista, área de savana esta espécie estava presente em apenas dois criadouros e em menor número. Em Pacaraima, área de montanha, nenhuma larva de *An. darlingi* foi coletada. Os diferentes ambientes ecológicos entre os municípios podem ser responsáveis por isso (170).

Estudos têm mostrado que a presença de *An. darlingi* está frequentemente associada à vegetação baixa ao longo das margens de rios com florestas e o desmatamento favorece esse vetor, aumentando assim os casos de malária e baixando os Índice de Desenvolvimento Humano (103,172–175). *An. darlingi* tem sido encontrado em uma variedade de criadouros, naturais, artificiais, grandes e permanentes ou pequenos e temporários (172,174–176). Em Boa Vista e São João da Baliza, *An. darlingi* foi coletado principalmente em criadouros com água transparente e correnteza moderada com temperaturas entre 22°C a 28°C, em área

parcialmente sombreada com vegetação no entorno. Segundo Hiwat e Bretas (2011), nos criadouros, as larvas de *An. darlingi* são favorecidas por algum grau de desmatamento e se desenvolvem em *habitats* aquáticos com sombreamento parcial, temperatura entre 20 e 28°C e pH variando entre 6,5 e 7 (103).

Em Pacaraima, região montanhosa de floresta ombrófila, nenhuma larva de *An. darlingi* foi coletada, mas um mosquito adulto foi coletado. Esta espécie não é normalmente encontrada em áreas com grandes altitudes e em baixas temperaturas (177). No entanto, recentemente foi coletado em altitudes acima de 800 m, na Venezuela, próximo à fronteira de Roraima (176). Em Pacaraima, larvas de *An. triannulatus s.l.* foram as espécies mais abundantes, encontradas em um único criadouro, viveiro de peixes, exposto ao sol localizado em uma área de horticultura, mas também foram encontradas nos açudes e riachos em área de savana e floresta tropical. *An. triannulatus s.l.* parece ser uma espécie generalista de ampla distribuição e com poucas ou nenhuma restrição (178,179). Esta espécie parece desempenhar um papel importante na transmissão da malária nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Peru (6,7,9).

Larvas de *Anopheles albitarsis s.l.*, *An. nuneztovari s.l.*, *An. triannulatus s.l.*, *An. oswaldoi s.l.* e *An. peryassui* foram encontradas em todos os municípios, mas em números baixos. Com exceção do *An. peryassui*, todas as espécies coletadas já foram incriminadas como vetores da malária na Amazônia brasileira (7,180,181).

Além da composição das espécies de larvas de anofelinos, um total de 1.488 fêmeas adultas de *Anopheles* de 11 espécies foram coletadas nos três municípios. Em São João da Baliza, onde ocorre malária autóctone, a espécie mais abundante foi o *An. darlingi* (85,6%), enquanto em Boa Vista, os municípios com elevado número de casos importados, o *An. albitarsis s.l.* (88,4%) foi predominante, enquanto *An. braziliensis* (64,6%) foi abundante em Pacaraima. Estudos anteriores em Boa Vista corroboram os nossos dados quanto à composição das espécies encontradas, a maior abundância de *An. albitarsis s.l.* e baixa densidade de *An. darlingi* [24, 26, 52]. *Anopheles albitarsis s.l.* também teve a taxa de picada mais alta com 10,8 picadas/noite no extradomicílio e 3,8 no peridomicílio. Entretanto, nas coletas de 12 horas apresentou atividade de picadas ao longo da noite, com maior pico de picadas entre 2h e 4h, o que difere de relatos anteriores (10–12). *Anopheles albitarsis s.l.* tem sido citado como importante vetor no Pará, Roraima, Amapá e Rondônia (9,13,181). No nosso estudo, como não fizemos a diferenciação molecular entre as espécies dos

complexos *An. albitarsis*, *An. nuneztovari*, *An. triannulatus* e *An. oswaldoi*, não foi possível confirmar a presença de *An. janconnae* ou outras espécies destes complexos nos municípios estudados. Atualmente, a única espécie do *Complexo Albitarsis* identificada no Estado de Roraima, foi o *An. janconnae*, considerada um importante vetor da malária no *habitat* de savana ao redor de Boa Vista (12). Portanto, a identificação dos membros componentes destes complexos é obrigatória para atualizar a distribuição geográfica, os aspectos ecológicos e biológicos, e seu possível papel como vetor regional de parasitos da malária em Roraima.

Em Boa Vista, *An. darlingi* foi coletado em menor número das 20h às 21h e das 2h às 3h, e sua presença emerge com a taxa de picada abaixo de 0,3 picadas no peridomicílio e 0,8 picadas no extradomicílio. A presença de *An. darlingi*, mesmo em baixas densidades em Boa Vista, pode contribuir significativamente para a transmissão da malária por causa de sua alta antropofilia e suscetibilidade ao *Plasmodium* spp. Índices mínimos de picadas podem ser suficientes para manter o ciclo de transmissão em Boa Vista (6,10).

Em São João da Baliza, *An. darlingi* foi a espécie mais abundante ao longo do ano, com atividade crepuscular pronunciada no peridomicílio e extradomicílio com um pico precoce às 21h-22h e presente ao longo da noite até o início da manhã. Tadei et al. (1998) também encontraram atividade semelhante de picadas, enquanto no Amapá esta espécie mostrou um amplo padrão de atividade de picadas (180,182). Na Venezuela, esta espécie tem atividade de picar durante toda noite com um pequeno pico às 23h-0h e 3h-4h (183). O horário de atividade de picada dos anofelinos depende de vários fatores, como a espécie, densidade, sazonalidade e disponibilidade de hospedeiros (35,39).

Em relação à sazonalidade em nenhuma das localidades estudadas, foi observada uma correlação entre o número de espécies coletadas e a precipitação ( $p > 0,05$ ). A falta de correlação entre as espécies de anofelinos e quantidade de chuvas pode ser devido a variabilidade na densidade de anofelinos entre as localidades. Em Boa Vista, a maior densidade de *An. albitarsis* s.l. ocorreu durante a estação seca, mas também foi coletada no período de alta precipitação de chuvas em 2018. *Anopheles darlingi* apresentou um pico após a estação chuvosa (transição da estação chuvosa para a seca), em ambos os anos de coleta, e um pico ligeiramente inferior no meio da estação chuvosa, apenas em 2018.

Em Rondônia, diferenças genéticas entre as populações de *An. darlingi* foram caracterizados por microssatélites com padrões sazonais distintos (184). Uma delas, a população A, apresentou uma maior densidade no final do período chuvoso, caracterizando-se como população menos abundante em regiões do interior do que em matas ciliares. Outra subpopulação, a população B, atingiu o pico no início da estação chuvosa e foi mais abundante no interior. A variabilidade genética observada nas populações desses *An. darlingi* revelou maior plasticidade, o que confere a esta espécie maior adaptabilidade às mudanças ambientais e/ou medidas de controle (185).

Em São João da Baliza, *An. darlingi* foi a espécie mais abundante ao longo do ano, com atividade crepuscular pronunciada com pico precoce às 21h-22h e durante a noite até o início da manhã. Isso provavelmente contribui para a transmissão neste município. A taxa de picada por noite para *An. darlingi* também foi considerada alta neste município, com 1,64 picadas no extradomicílio e 1,07 no peridomicílio. Comportamento heterogêneo de picada do *An. darlingi* dentro e fora das casas e variações no horário picada foram mostradas por numerosos estudos realizados na Amazônia e na Venezuela e Guiana Francesa (6,116,175,177,183,186,187). Este comportamento é considerado a principal causa da ineficácia do inseticida borrifado dentro das casas, assim como da estratégia de distribuição de mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração (43,44). Em Roraima, uma das medidas de controle utilizadas no programa de controle da malária é a borrifação residual de inseticidas dentro das casas, o que pode explicar o comportamento exofílico dessa espécie nas áreas de estudo.

Além da presença de *An. darlingi*, *An. nuneztovari s.l.* e *An. albitarsis s.l.* também foram observados no peridomicílio e no extradomicílio; no entanto, em números mais baixos quando comparados com *An. darlingi*. O *An. nuneztovari s.l.* foi a segunda espécie mais abundante em São João da Baliza. Esta espécie é considerada um vetor primário da malária na Venezuela, Peru e Colômbia (176,188,189). No Brasil, *An. nuneztovari s.l.* foi encontrada naturalmente infectada com *P. vivax* e *P. falciparum* na região Amazônica e tem sido incriminado como vetor primário no Amapá (7,180,181,190). Entretanto, a maioria das populações brasileiras de *An. nuneztovari s.l.* são predominantemente zoofílica e parece não conseguir sustentar a transmissão da malária na ausência do vetor primário, *An. darlingi* (186,191). Nas áreas urbanas de Roraima, estudos anteriores mostraram uma baixa

densidade populacional e um baixo número de *An. nuneztovari* s.l. encontrados infectados (8,9).

A abundância de *An. darlingi* ao longo do ano em São João da Baliza, juntamente com a sua capacidade de buscar hospedeiros durante a noite, e a sua capacidade de se adaptar ao comportamento do hospedeiro nos ambientes locais contribui para o seu impacto como o vector mais importante neste município. Em contraste, em Pacaraima, apesar do *An. braziliensis* ter sido a espécie predominante, a maioria foi coletada na armadilha de *Shannon*, onde um cavalo foi usado como atração. *An. braziliensis* está presente na maioria dos estados amazônicos, mas é primariamente zoofílico e exofílico. Portanto, é considerado um vetor secundário e raramente está envolvido na transmissão da malária (11,177). Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994) (177), afirmaram que o *An. braziliensis* pode ser encontrado picando durante o dia, especialmente quando o hospedeiro está relativamente próximo do criadouro e foi encontrado infectado nos estados do Amazonas, Amapá, Rondônia e Roraima (177,181,186,192,193). Apenas um espécime de *An. darlingi* foi coletado em Pacaraima, mas é provável que ele ocorra em áreas indígenas neste município, onde ocorre a maioria dos casos autóctones (2,194).

Embora a malária seja tipicamente considerada um problema de áreas rurais, esta doença tem sido uma preocupação em ambientes urbanos há séculos (195,196). São João da Baliza é o município do estado com maior número de casos de malária urbana no estado. Desde 2008 os números de casos urbanos ultrapassam a ocorrência de casos registrados na área rural, se mantendo em números elevado até 2020, exceto o ano de 2017.

A urbanização de São João da Baliza ocorreu em condições socioeconômicas difíceis, como infraestrutura habitacional inadequada, falta de serviços públicos, saneamento inadequado e sistema precário de drenagem de água em áreas ricas em vegetação, condições ecológicas propícias à criação de mosquitos e transmissão da malária, no ambiente urbano. Entretanto, nenhum estudo entomológico havia sido feito para confirmar a presença de vetores potenciais nas áreas onde e ocorriam os casos autóctones.

Os nossos dados mostraram a presença de criadouros positivos para larvas e adultos de *An. darlingi*. O *An. darlingi* foi a espécie predominante o ano inteiro e foi coletado dentro das casas, no peri e extradomicílio. Os pontos de coletas de *An. darlingi* coincidem com a proximidade das casas dos residentes urbanos infectados



(indivíduos sem histórico de viagens ou pernoite em outro local que não tenha sido sua residência nos últimos 15 dias) em 2017 e 2018.

Embora no nosso estudo não tenha sido possível avaliar a infecção no mosquito para o estabelecimento de uma relação com os casos de malária, a presença de *An. darlingi* em abundância em ambientes urbanos onde humanos são infectados é fortemente sugestivo de transmissão urbana. A construção de espaços residenciais próximos às margens de cursos de água, essas estruturas construtivas, na maioria dos casos, não impede o contato homem/vetor, e favorece o ciclo de transmissão da doença nesses locais (168).

A transmissão da malária em áreas urbanas deve levar em consideração os locais de reprodução de vetores e as estratégias de controle devem, portanto, adotar um elemento de direcionamento espacial. De acordo com o Programa Global de Malária da OMS, o uso de larvicida deve ser incluído como uma medida adicional nos criadouros urbanos (197).

Este estudo mostrou uma diversidade de espécies e criadouros de larvas de anofelinos em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza. *An. darlingi* é o vetor principal em São João da Baliza, área de malária autóctone e *An. albitarsis s.l.* e *An. braziliensis* em áreas de baixa transmissão, embora haja cada vez mais relatos de malária importada. Considerando o comportamento dos vetores em Boa Vista, Pacaraima e São João da Baliza, intervenções como borrifação intradomiciliar provavelmente serão insuficientes para reduzir a transmissão da malária. Pode-se especular que a população local de vetores em Boa Vista é suficiente para manter os baixos números de casos autóctone e também para mitigar os efeitos que os casos importados teriam se o *An. darlingi* fosse mais prevalente. Assim, esta circunstância oferece uma oportunidade para reduzir os efeitos da malária transfronteiriça através do diagnóstico precoce e tratamento oportuno. Além disso, são indicadas a gestão ambiental de *habitats* de larvas de vetores e ações de educação em saúde voltadas para as formas de prevenção individuais e coletivas.

## 8 PERSPECTIVAS

Avaliar infecção nos anofelinos coletados nos três municípios.

Fazer a diferenciação molecular entre as espécies dos complexos *An. albitarsis*, *An. nuneztovari*, *An. triannulatus* e *An. oswaldoi*.

## 9 CONCLUSÕES

1 Larvas de anofelinos foram encontradas em todos os criadouros estudados principalmente nos riachos. O *Anopheles darlingi* foi a espécie mais abundante em São João da Baliza e Boa Vista, enquanto em Pacaraima a espécie predominante foi o *Anopheles triannulatus s.l.*

2 Em Boa Vista e São João da Baliza, *An. darlingi* foi coletado principalmente em criadouros com água transparente e correnteza moderada com temperaturas entre 22°C a 28°C, em área parcialmente sombreada com vegetação no entorno. Em Pacaraima, *An. triannulatus s.l.* foi a espécie mais abundante, encontradas em um único criadouro, viveiro de peixes, exposto ao sol localizado em uma área de horticultura.

3 Em São João da Baliza, onde ocorre malária autóctone, a espécie mais abundante foi o *An. darlingi* enquanto em Boa Vista, o município com elevado número de casos importados, o *An. albitarsis s.l.* foi predominante, enquanto *An. braziliensis* foi abundante em Pacaraima.

4 *Anopheles darlingi* e *An. albitarsis s.l.* foram as espécies mais antropofílicas, ambas foram predominantes nas coletas feitas com atrativo humano protegido e apresentaram hábitos essencialmente exofágicos. Já a maioria de espécimes de *An. braziliensis* foi coletada na armadilha de *Shannon*, em isca animal.

5 A distribuição espacial dos habitats larvários e das espécies de vetores onde se concentram os locais prováveis de infecção dos casos de malária indicam a transmissão urbana da malária no município de São João da Baliza.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arisco NJ, Peterka C, Castro MC. Cross-border malaria in Northern Brazil. *Malar J.* 2021;20(1):135.
2. Brasil M da S. SIVEP - MALÁRIA Notificação de Casos [Internet]. 2020 [citado 7 de julho de 2021]. Disponível em: [http://200.214.130.44/sivep\\_malaria/](http://200.214.130.44/sivep_malaria/)
3. Grillet ME, Hernández-Villena JV, Llewellyn MS, Paniz-Mondolfi AE, Tami A, Vincenti-Gonzalez MF, et al. Venezuela's humanitarian crisis, resurgence of vector-borne diseases, and implications for spillover in the region. *Lancet Infect Dis.* maio de 2019;19(5):e149–61.
4. UNICEF. Crise migratória venezuelana no Brasil [Internet]. 2019 [citado 11 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.unicef.org/brazil/crise-migratoria-venezuelana-no-brasil>
5. Wangdi K, Gatton ML, Kelly GC, Clements ACA. Cross-border malaria: a major obstacle for malaria elimination. *Adv Parasitol.* junho de 2015;89:79–107.
6. Deane LM. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1986;81:5–14.
7. Dearruda M, Carvalho MB, Nussenzweig RS, Maracic M, Ferreira TAW, Cochranef AH. Cochranef, AH. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in northern Brazil identified by immunoassay. *Am J Trop Med Hyg.* 1986;87:3–81.
8. Barros F, Honorio N, Arruda M. Mosquito anthropophily: implications on malaria transmission in the Northern Brazilian Amazon. *Amaz Neotrop Entomol.* 2010;39:1039–43.
9. Oliveira-Ferreira J, Lourenço-de-Oliveira R, Teva A, Deane L, Daniel-Ribeiro C. Natural Malaria Infections in Anophelines in Rondonia State, Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;43:6–10.
10. Barros FSM de, Honório NA. Man biting rate seasonal variation of malaria vectors in Roraima, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102:299–302.
11. Silva-Vasconcelos A da, Kató MYN, Mourão EN, Souza RTL de, Lacerda RN da L, Sibajev A, et al. Biting Indices, Host-seeking Activity and Natural Infection Rates of Anopheline Species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97:151–61.
12. Póvoa MM, Souza RTL de, Lacerda RN da L, Santa Rosa E, Galiza D, Souza JR de, et al. The importance of *Anopheles albitarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006;101:163–8.
13. Santos E de A, Sucupira IMC, de Oliveira Martins BM, de Paula Souza e Guimarães RJ, Catete CP, de Souza RTL, et al. VK210 and VK247 genotypes of

- Plasmodium vivax* in anopheline mosquitoes from Brazilian Amazon. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–6.
14. Neves DP. *Parasitologia Humana*. 12<sup>o</sup> ed. São Paulo: Atheneu; 2011. 498 p.
  15. Camargo EP. Malária, maleita, paludismo. *Ciênc E Cult* [Internet]. janeiro de 2003 [citado 11 de julho de 2021];55(1):26–9. Disponível em: [http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0009-67252003000100021&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0009-67252003000100021&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)
  16. World Health Organization, Global Malaria Programme. *World malaria report 2013*. Geneva: World Health Organization; 2014.
  17. Stephens JWW. A New Malaria Parasite of Man. *Ann Trop Med Parasitol* [Internet]. 1922 [citado 25 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00034983.1922.11684331>
  18. Sutherland CJ, Tanomsing N, Nolder D, Oguike M, Jennison C, Pukrittayakamee S, et al. Two nonrecombining sympatric forms of the human malaria parasite *Plasmodium ovale* occur globally. *J Infect Dis*. 15 de maio de 2010;201(10):1544–50.
  19. Calderaro A, Piccolo G, Gorrini C, Rossi S, Montecchini S, Dell’Anna ML, et al. Accurate identification of the six human *Plasmodium* spp. causing imported malaria, including *Plasmodium ovale wallikeri* and *Plasmodium knowlesi*. *Malar J* [Internet]. 13 de setembro de 2013 [citado 25 de julho de 2021];12(1):321. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-321>
  20. Knowles R, Gupta BM. *Clinical Studies in Malaria by Cultural and Enumerative Methods*. *Indian Med Gaz*. 1931;
  21. Singh B, Daneshvar C. Human infections and detection of *Plasmodium knowlesi*. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. abril de 2013;26(2):165–84. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23554413/>
  22. Imwong M, Madmanee W, Suwannasin K, Kunasol C, Peto TJ, Tripura R, et al. Asymptomatic Natural Human Infections With the Simian Malaria Parasites *Plasmodium cynomolgi* and *Plasmodium knowlesi*. *J Infect Dis* [Internet]. 1<sup>o</sup> de março de 2019 [citado 25 de julho de 2021];219(5):695–702. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6376906/>
  23. Lalremruata A, Magris M, Vivas-Martínez S, Koehler M, Esen M, Kempaiah P, et al. Natural infection of *Plasmodium brasilianum* in humans: Man and monkey share quartan malaria parasites in the Venezuelan Amazon. *EBioMedicine*. setembro de 2015;2(9):1186–92.
  24. Brasil P, Zalis MG, de Pina-Costa A, Siqueira AM, Júnior CB, Silva S, et al. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. *Lancet Glob Health*. outubro de 2017;5(10):e1038–46.

25. Oliveira-Ferreira J, Lacerda MV, Brasil P, Ladislau JL, Tauil PL, Daniel-Ribeiro CT. Malaria in Brazil: an overview. *Malar J* [Internet]. 30 de abril de 2010 [citado 5 de julho de 2021];9(1):115. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-115>
26. White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. *Lancet Lond Engl*. 22 de fevereiro de 2014;383(9918):723–35.
27. Tauil PL. Estudo de alguns aspectos da epidemiologia da malária em Porto Nacional, Estado de Goiás, Brasil(1981). *Estudo Alguns Asp Epidemiol Malária Em Porto Nac Estado Goiás Bras* [Internet]. 1981 [citado 11 de julho de 2021];(Universidade Federal de Goiás):82. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-73949?src=similardocs>
28. World Health Organization. World malaria report 2019 [Internet]. 2019 [citado 11 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/yaws/diagnosis-and-treatment/global-malaria-programme>
29. Tadei WP, Thatcher BD, Santos JM, Scarpassa VM, Rodrigues IB, Rafael MS. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. agosto de 1998;59(2):325–35.
30. Tadei WP, Dutary Thatcher B. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: Anopheles of the subgenus Nyssorhynchus. *Rev Inst Med Trop São Paulo* [Internet]. abril de 2000 [citado 11 de julho de 2021];42:87–94. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rimtsp/a/xCvS8B5JnxxHtv8yXLchN3w/?lang=en>
31. Tadei WP, Mascarenhas BM, Podestá MG, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil. BIOLOGIA DE ANOFELINOS AMAZÔNICOS. VIII. Conhecimentos sobre a distribuição de espécies de Anopheles na região de Tucuruí-Marabá (Pará). *Acta Amaz* [Internet]. fevereiro de 1983 [citado 11 de julho de 2021];13(1):103–40. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0044-59671983000100103&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59671983000100103&lng=pt&tlng=pt)
32. Tadei WP, Santos JMM dos, Costa WL de S, Scarpassa VM. Biologia de anofelinos amazônicos: XII. Ocorrência de espécies de Anopheles, dinâmica da transmissão e controle da malária na zona urbana de Ariquemes (Rondônia). *Rev Inst Med Trop São Paulo* [Internet]. junho de 1988 [citado 4 de julho de 2021];30:221–51. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/9Dk9v3RfP9kf3HLGmQTZKqB/?lang=pt>
33. Francischetti IM, Ribeiro JM, Champagne D, Andersen J. Purification, cloning, expression, and mechanism of action of a novel platelet aggregation inhibitor from the salivary gland of the blood-sucking bug, *Rhodnius prolixus*. *J Biol Chem*. 28 de abril de 2000;275(17):12639–50.
34. Ricci F. Social implications of malaria and their relationships with poverty. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2012;4(1):e2012048.

35. Somi MF, Butler JRG, Vahid F, Njau J, Kachur SP, Abdulla S. Is there evidence for dual causation between malaria and socioeconomic status? Findings from rural Tanzania. *Am J Trop Med Hyg.* dezembro de 2007;77(6):1020–7.
36. Amino R, Thiberge S, Martin B, Celli S, Shorte S, Frischknecht F, et al. Quantitative imaging of Plasmodium transmission from mosquito to mammal. *Nat Med.* fevereiro de 2006;12(2):220–4.
37. Sturm A, Amino R, van de Sand C, Regen T, Retzlaff S, Rennenberg A, et al. Manipulation of host hepatocytes by the malaria parasite for delivery into liver sinusoids. *Science.* 1º de setembro de 2006;313(5791):1287–90.
38. Krotoski WA. Discovery of the hypnozoite and a new theory of malarial relapse. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1985;79(1):1–11.
39. Kovats RS, Bouma MJ, Hajat S, Worrall E, Haines A. El Niño and health. *Lancet Lond Engl.* 1º de novembro de 2003;362(9394):1481–9.
40. Patz JA, Campbell-Lendrum D, Holloway T, Foley JA. Impact of regional climate change on human health. *Nature [Internet].* novembro de 2005 [citado 25 de julho de 2021];438(7066):310–7. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature04188>
41. Thomson MC, Mason SJ, Phindela T, Connor SJ. Use of rainfall and sea surface temperature monitoring for malaria early warning in Botswana. *Am J Trop Med Hyg.* julho de 2005;73(1):214–21.
42. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis.* junho de 2004;4(6):327–36.
43. Castro MC de, Singer BH. Meio ambiente e saúde: metodologia para análise espacial da ocorrência de malária em projetos de assentamento. *Rev Bras Estud Popul [Internet].* 31 de dezembro de 2007 [citado 11 de julho de 2021];24(2):247–62. Disponível em: <https://www.rebep.org.br/revista/article/view/188>
44. Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends Ecol Evol.* junho de 2005;20(6):328–36.
45. Prist PR, Uriarte M, Tambosi LR, Prado A, Pardini R, D’Andrea PS, et al. Landscape, Environmental and Social Predictors of Hantavirus Risk in São Paulo, Brazil. *PLOS ONE [Internet].* 25 de outubro de 2016 [citado 11 de julho de 2021];11(10):e0163459. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0163459>
46. Turner MG. Landscape Ecology: What Is the State of the Science? | Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics [Internet].* 2005 [citado 11 de julho de 2021];36: 319–344. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152614>
47. Gething PW, Van Boeckel TP, Smith DL, Guerra CA, Patil AP, Snow RW, et al. Modelling the global constraints of temperature on transmission of Plasmodium

- falciparum and *P. vivax*. *Parasit Vectors* [Internet]. 26 de maio de 2011 [citado 25 de julho de 2021];4(1):92. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-92>
48. Macdonald G. The Epidemiology and Control of Malaria. *Epidemiol Control Malar* [Internet]. 1957 [citado 25 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19582900392>
49. Warrell DA, Gilles HM. *Essential Malariology*, 4Ed [Internet]. 4º ed. CRC Press; 2002 [citado 25 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.routledge.com/Essential-Malariology-4Ed/Warrell-Gilles/p/book/9780367396169>
50. Martens P, Kovats RS, Nijhof S, de Vries P, Livermore MTJ, Bradley DJ, et al. Climate change and future populations at risk of malaria. *Glob Environ Change* [Internet]. 1º de outubro de 1999 [citado 25 de julho de 2021];9:S89–107. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959378099000205>
51. Service MW. Anopheles mosquitoes (Order Diptera: Family Culicidae, Subfamily Anophelinae). In: Service MW, organizador. *A Guide to Medical Entomology* [Internet]. London: Macmillan Education UK; 1980 [citado 25 de julho de 2021]. p. 44–52. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-349-16334-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-349-16334-2_5)
52. Mordecai EA, Paaijmans KP, Johnson LR, Balzer C, Ben-Horin T, de Moor E, et al. Optimal temperature for malaria transmission is dramatically lower than previously predicted. *Ecol Lett*. janeiro de 2013;16(1):22–30.
53. Craig MH, Snow RW, le Sueur D. A climate-based distribution model of malaria transmission in sub-Saharan Africa. *Parasitol Today Pers Ed*. março de 1999;15(3):105–11.
54. Martens WJM, Jetten TH, Focks DA. Sensitivity of malaria, schistosomiasis and dengue to global warming. *Clim Change* [Internet]. 1997 [citado 25 de julho de 2021];35:145–56. Disponível em: <https://research.wur.nl/en/publications/sensitivity-of-malaria-schistosomiasis-and-dengue-to-global-warmi>
55. Parham PE, Michael E. Modeling the effects of weather and climate change on malaria transmission. *Environ Health Perspect*. maio de 2010;118(5):620–6.
56. Paaijmans KP, Wandago MO, Githeko AK, Takken W. Unexpected High Losses of *Anopheles gambiae* Larvae Due to Rainfall. *PLOS ONE* [Internet]. 7 de novembro de 2007 [citado 25 de julho de 2021];2(11):e1146. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0001146>
57. Yamana TK, Eltahir EAB. Projected Impacts of Climate Change on Environmental Suitability for Malaria Transmission in West Africa. *Environ Health Perspect* [Internet]. 1º de outubro de 2013 [citado 25 de julho de 2021];121(10):1179–86. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3801455/>



58. Kilian AH, Langi P, Talisuna A, Kabagambe G. Rainfall pattern, El Niño and malaria in Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* fevereiro de 1999;93(1):22–3.
59. Lindblade KA, Walker ED, Onapa AW, Katungu J, Wilson ML. Highland malaria in Uganda: prospective analysis of an epidemic associated with El Niño. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* outubro de 1999;93(5):480–7.
60. Loevinsohn ME. Climatic warming and increased malaria incidence in Rwanda. *Lancet Lond Engl.* 19 de março de 1994;343(8899):714–8.
61. Lindsay SW, Bødker R, Malima R, Msangeni HA, Kisinza W. Effect of 1997-98 El Niño on highland malaria in Tanzania. *Lancet Lond Engl.* 18 de março de 2000;355(9208):989–90.
62. Singh N, Sharma VP. Patterns of rainfall and malaria in Madhya Pradesh, central India. *Ann Trop Med Parasitol.* junho de 2002;96(4):349–59.
63. Kovats RS, Bouma MJ, Haines A. Protection of the Human Environment Task Force on Climate and Health. 1999;54. Disponível em: [https://www.who.int/globalchange/publications/en/el\\_nino.pdf](https://www.who.int/globalchange/publications/en/el_nino.pdf)
64. Ludescher J, Gozolchiani A, Bogachev MI, Bunde A, Havlin S, Schellnhuber HJ. Very early warning of next El Niño. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1º de fevereiro de 2014 [citado 26 de julho de 2021];111(6):2064–6. Disponível em: <https://europepmc.org/articles/PMC3926055>
65. Bombliès A, Duchemin J-B, Eltahir EAB. Hydrology of malaria: Model development and application to a Sahelian village. *Water Resour Res* [Internet]. 2008 [citado 26 de julho de 2021];44(12). Disponível em: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2008WR006917>
66. Peixoto A. O problema sanitário da Amazônia. 1917; Disponível em: <http://www.dichistoriasaude.coc.fiocruz.br/iah/pt/pdf/julafpeix.pdf>
67. Dida GO, Gelder FB, Anyona DN, Abuom PO, Onyuka JO, Matano A-S, et al. Presence and distribution of mosquito larvae predators and factors influencing their abundance along the Mara River, Kenya and Tanzania. *SpringerPlus* [Internet]. 20 de março de 2015 [citado 26 de julho de 2021];4(1):136. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0905-y>
68. Jawara M, Pinder M, Drakeley CJ, Nwakanma DC, Jallow E, Bøgh C, et al. Dry season ecology of *Anopheles gambiae* complex mosquitoes in The Gambia. *Malar J.* dezembro de 2008;7(1):156.
69. Watson JT, Gayer M, Connolly MA. Epidemics after Natural Disasters. *Emerg Infect Dis* [Internet]. janeiro de 2007 [citado 26 de julho de 2021];13(1):1–5. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725828/>
70. Gagnon AS, Smoyer-Tomic KE, Bush ABG. The El Niño southern oscillation and malaria epidemics in South America. *Int J Biometeorol.* maio de 2002;46(2):81–9.

71. Sáenz R, Bissell RA, Paniagua F. Post-disaster malaria in Costa Rica. *Prehospital Disaster Med.* setembro de 1995;10(3):154–60.
72. Erlanger TE, Krieger GR, Singer BH, Utzinger J. The 6/94 gap in health impact assessment. *Environ Impact Assess Rev.* maio de 2008;28(4–5):349–58.
73. Sawyer DR. Malaria on the Amazon frontier: economic and social aspects of transmission and control. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* [Internet]. 1986 [citado 26 de julho de 2021]; Disponível em: <http://imsear.searo.who.int/handle/123456789/34050>
74. Deane LM, Ribeiro CD, Oliveira RL de, Oliveira-Ferreira J, E. Guimarães A. Study on the natural history of malaria in areas of the Rondonia State - Brazil and problems related to its control. *Rev Inst Med Trop São Paulo* [Internet]. junho de 1988 [citado 4 de julho de 2021];30:153–6. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/kyb3tpV5KGd5RznwyMQsxCR/?lang=en>
75. de Castro MC, Monte-Mór RL, Sawyer DO, Singer BH. Malaria risk on the Amazon frontier. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 14 de fevereiro de 2006 [citado 26 de julho de 2021];103(7):2452–7. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1413719/>
76. Gryseels C, Durnez L, Gerrets R, Uk S, Suon S, Set S, et al. Re-imagining malaria: heterogeneity of human and mosquito behaviour in relation to residual malaria transmission in Cambodia. *Malar J* [Internet]. 24 de abril de 2015 [citado 26 de julho de 2021];14(1):165. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0689-0>
77. Castro MC, Kanamori S, Kannady K, Mkude S, Killeen GF, Fillinger U. The Importance of Drains for the Larval Development of Lymphatic Filariasis and Malaria Vectors in Dar es Salaam, United Republic of Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 25 de maio de 2010 [citado 26 de julho de 2021];4(5):e693. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000693>
78. Castro MCD, Yamagata Y, Mtasiwa D, Tanner M, Utzinger J, Keiser J, et al. Integrated Urban Malaria Control: A Case Study in Dar Es Salaam, Tanzania [Internet]. *The Intolerable Burden of Malaria II: What's New, What's Needed: Supplement to Volume 71(2) of the American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2004 [citado 26 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3748/>
79. De Silva PM, Marshall JM. Factors Contributing to Urban Malaria Transmission in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *J Trop Med* [Internet]. 18 de outubro de 2012 [citado 26 de julho de 2021];2012:e819563. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jtm/2012/819563/>
80. Chinery WA. Effects of ecological changes on the malaria vectors *Anopheles funestus* and the *Anopheles gambiae* complex of mosquitoes in Accra, Ghana. *J Trop Med Hyg.* abril de 1984;87(2):75–81.

81. Keiser J, Utzinger J, Caldas de Castro M, Smith TA, Tanner M, Singer BH. Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control. *Am J Trop Med Hyg.* agosto de 2004;71(2 Suppl):118–27.
82. Gamage-Mendis AC, Carter R, Mendis C, De Zoysa AP, Herath PR, Mendis KN. Clustering of malaria infections within an endemic population: risk of malaria associated with the type of housing construction. *Am J Trop Med Hyg.* julho de 1991;45(1):77–85.
83. Tusting LS, Ippolito MM, Willey BA, Kleinschmidt I, Dorsey G, Gosling RD, et al. The evidence for improving housing to reduce malaria: a systematic review and meta-analysis. *Malar J* [Internet]. 9 de junho de 2015 [citado 26 de julho de 2021];14(1):209. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0724-1>
84. Stromquist WG. MALARIA CONTROL FROM THE ENGINEERING POINT OF VIEW. *Am J Public Health N Y N* 1912. junho de 1920;10(6):497–501.
85. World Health Organization. Manual on environmental management for mosquito control, with special emphasis on malaria vectors [Internet]. World Health Organization; 1982 [citado 26 de julho de 2021]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37329>
86. Boyd MF. The Influence of Obstacles unconsciously erected against Anophelines (Housing and Screening) upon the Incidence of Malaria. *Am J Trop Med* [Internet]. 1926 [citado 30 de agosto de 2021];6:157–60. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19272701327>
87. Neiva A. Profilaxia da malária e trabalhos de engenharia - notas, comentários, recordações. In: *Malária e mosquitos: coletânea II, 1906-1940* [Internet]. 1940 [citado 30 de agosto de 2021]. p. 167–98. Disponível em: <http://www.fgv.br/CPDOC/acervo/arquivo-pessoal/AHN/impresso/profilaxia-da-malaria-e-trabalhos-de-engenharia-notas-comentarios-recordacoes>
88. Pomeroy AWJ. The Prophylaxis of Malaria in Dar-es-Salaam, East Africa. *J R Army Med Corps* [Internet]. 1920 [citado 30 de agosto de 2021];35(1). Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19201000432>
89. Utzinger J, Tozan Y, Doumani F, Singer BH. The economic payoffs of integrated malaria control in the Zambian copperbelt between 1930 and 1950. *Trop Med Int Health* [Internet]. 2002 [citado 30 de agosto de 2021];7(8):657–77. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3156.2002.00916.x>
90. Watson M. African Highway. The Battle for Health in Central Africa. *Afr Highw Battle Health Cent Afr* [Internet]. 1953 [citado 30 de agosto de 2021]; Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19532902228>
91. Watson M, Sir, 1873-. prevention of malaria in the Federated Malay States [Internet]. Dutton; 1921 [citado 30 de agosto de 2021]. Disponível em: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=prevention+of+malaria+in+the+Federated+Malay+States&author=Watson%2C+Malcolm&publication\\_year=1921](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=prevention+of+malaria+in+the+Federated+Malay+States&author=Watson%2C+Malcolm&publication_year=1921)

92. Pinotti M. The biological basis for the campaign against the malaria vectors of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* junho de 1951;44(6):663–82.
93. Carter R, Mendis KN. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. *Clin Microbiol Rev.* outubro de 2002;15(4):564–94.
94. Lindsay SW, Emerson PM, Charlwood JD. Reducing malaria by mosquito-proofing houses. *Trends Parasitol.* novembro de 2002;18(11):510–4.
95. Baolin L. Environmental management for the control of ricefield-breeding mosquitoes in China. In: *Vector-borne disease control in humans through rice agroecosystem management* [Internet]. 1989 [citado 30 de agosto de 2021]. p. 228–9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0169475889902779>
96. Singer BH, Castro MCD. Reassessing multiple-intervention malaria control programs of the past: Lessons for the design of contemporary interventions. In: *Water and Sanitation-Related Diseases and the Environment: Challenges, Interventions, and Preventive Measures.* John Wiley & Sons; 2011.
97. Keiser J, De Castro MC, Maltese MF, Bos R, Tanner M, Singer BH, et al. Effect of irrigation and large dams on the burden of malaria on a global and regional scale. *Am J Trop Med Hyg.* abril de 2005;72(4):392–406.
98. Konradsen F, van der Hoek W, Amerasinghe FP, Mutero C, Boelee E. Engineering and malaria control: learning from the past 100 years. *Acta Trop.* janeiro de 2004;89(2):99–108.
99. Rosa-Freitas MG, Lourenço-de-Oliveira R, Carvalho-Pinto CJ de, Flores-Mendoza C, Silva-do-Nascimento TF. Anopheline Species Complexes in Brazil. Current Knowledge of Those Related to Malaria Transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* setembro de 1998;93(5):651–5.
100. Pimenta PF, Orfano AS, Bahia AC, Duarte AP, Ríos-Velásquez CM, Melo FF, et al. An overview of malaria transmission from the perspective of Amazon Anopheles vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. fevereiro de 2015 [citado 11 de julho de 2021];110(1):23–47. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762015000100023&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762015000100023&lng=en&tlng=en)
101. Deane LM. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 1986 [citado 5 de julho de 2021];81:5–14. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/FXGnLY9qMtPz8p9K7ryfKbz/?lang=en#>
102. Naranjo-Diaz N, Rosero DA, Rua-Uribe G, Luckhart S, Correa MM. Abundance, behavior and entomological inoculation rates of anthropophilic anophelines from a primary Colombian malaria endemic area. *Parasit Vectors* [Internet]. 7 de março de 2013 [citado 11 de julho de 2021];6(1):61. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-61>
103. Hiwat H, Bretas G. Ecology of *Anopheles darlingi* Root with respect to vector importance: a review. *Parasit Vectors.* 2011;4(1):177.

104. Calado DC, Foster PG, Bergo ES, Santos CL dos, Galardo AKR, Sallum MAM. Resurrection of *Anopheles goeldii* from synonymy with *Anopheles nuneztovari* (Diptera, Culicidae) and a new record for *Anopheles dunhami* in the Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. dezembro de 2008 [citado 4 de julho de 2021];103:791–9. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/PYzBftgTGCZt69NQRMdYdwr/?lang=en>
105. Hiwat H, Bretas G. Ecology of *Anopheles darlingi* Root with respect to vector importance: a review. Parasit Vectors [Internet]. dezembro de 2011 [citado 11 de julho de 2021];4(1):177. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-177>
106. Tauil PL. The prospect of eliminating malaria transmission in some regions of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. agosto de 2011 [citado 5 de julho de 2021];106:105–6. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/yDtD99WG5FzBYqGJVq8L4gt/?lang=en>
107. Branquinho MS, Lagos CB, Rocha RM, Natal D, Barata JM, Cochrane AH, et al. Anophelines in the state of Acre, Brazil, infected with *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, the variant *P. vivax* VK247 and *P. malariae*. Trans R Soc Trop Med Hyg. agosto de 1993;87(4):391–4.
108. Sinka ME, Bangs MJ, Manguin S, Rubio-Palis Y, Chareonviriyaphap T, Coetzee M, et al. A global map of dominant malaria vectors. Parasit Vectors. 4 de abril de 2012;5:69.
109. Dusfour I, Issaly J, Carinci R, Gaborit P, Girod R. Incrimination of *Anopheles (Anopheles) intermedius* Peryassú, An. (Nyssorhynchus) *nuneztovari* Gabaldón, An. (Nys.) *oswaldoi* Peryassú as natural vectors of *Plasmodium falciparum* in French Guiana. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. maio de 2012 [citado 2 de julho de 2021];107(3):429–32. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762012000300021&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000300021&lng=en&tlng=en)
110. Póvoa MM, Souza RTL de, Lacerda RN da L, Santa Rosa E, Galiza D, Souza JR de, et al. The importance of *Anopheles albitarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. março de 2006 [citado 11 de julho de 2021];101:163–8. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/Cq7wK4RXzBpJkWf3gdYMBVx/abstract/?lang=en>
111. Consoli RAGB, Oliveira RL. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil [Internet]. 1ª. FIOCRUZ; 1994. Disponível em: [https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/2708/1/Rotraut\\_Consoli\\_Oliveira.pdf](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/2708/1/Rotraut_Consoli_Oliveira.pdf)
112. Póvoa MM, Wirtz RA, Lacerda RNL, Miles MA, Warhurst D. Malaria vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. fevereiro de 2001 [citado 4 de julho de 2021];96:179–84. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/bXv6swQLGDX9ZQPsSP5vMyG/?lang=en>
113. Silva-Vasconcelos A da, Kató MYN, Mourão EN, Souza RTL de, Lacerda RN da L, Sibajev A, et al. Biting Indices, Host-seeking Activity and Natural Infection

- Rates of Anopheline Species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. março de 2002 [citado 11 de julho de 2021];97(2):151–61. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762002000200002&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762002000200002&lng=en&tlng=en)
114. Ruiz-Lopez F, Wilkerson RC, Ponsonby DJ, Herrera M, Sallum MAM, Velez ID, et al. Systematics of the oswaldoi complex (*Anopheles*, *Nyssorhynchus*) in South America. Parasit Vectors. 12 de novembro de 2013;6(1):324.
  115. Faran. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). 1981;13:81.
  116. Vezenegho SB, Adde A, Santi VP de, Issaly J, Carinci R, Gaborit P, et al. High malaria transmission in a forested malaria focus in French Guiana: How can exophagic *Anopheles darlingi* thwart vector control and prevention measures? Mem Inst Oswaldo Cruz. 2016;111(9):561–9.
  117. Rubio-Palis Y. Variation of the vectorial capacity of some anophelines in western Venezuela. Am J Trop Med Hyg. abril de 1994;50(4):420–4.
  118. Sallum M a. M, Marrelli MT, Nagaki SS, Laporta GZ, Dos Santos CLS. Insight into *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae) species from Brazil. J Med Entomol. novembro de 2008;45(6):970–81.
  119. de Barros FSM, de Aguiar DB, Rosa-Freitas MG, Luitgards-Moura JF, Gurgel H da C, Honório NA, et al. Distribution summaries of malaria vectors in the northern Brazilian Amazon. J Vector Ecol J Soc Vector Ecol. dezembro de 2007;32(2):161–7.
  120. Dixon K, Roberts DR, Llewellyn CH. Contribuição ao estudo epidemiológico da malária em trechos da rodovia transamazônica, Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1979;21:287–92.
  121. Galardo AKR, Arruda M, D’Almeida Couto AAR, Wirtz R, Lounibos LP, Zimmerman RH. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. Am J Trop Med Hyg. março de 2007;76(3):461–9.
  122. Faran ME. Mosquito studies (Diptera: Culicidae) XXXIV. A revision of the *Albimanus* section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. 1980;15(7):216.
  123. Bergo ES, Souto RNP, Galardo AKR, Nagaki SS, Calado DC, Sallum MAM. Systematic notes on *Anopheles* Meigen (Diptera: Culicidae) species in the state of Amapá, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. junho de 2007 [citado 4 de julho de 2021];102:373–6. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/ZvRzCL6whbsXVYGRpG93Tpp/?lang=en>
  124. Montoya-Lerma J, Solarte YA, Giraldo-Calderón GI, Quiñones ML, Ruiz-López F, Wilkerson RC, et al. Malaria vector species in Colombia: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. agosto de 2011;106 Suppl 1:223–38.

125. Barros FSM, Honório NA. Deforestation and Malaria on the Amazon Frontier: Larval Clustering of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) Determines Focal Distribution of Malaria. 2015 [citado 4 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/13189>
126. Gil LHS, Rodrigues M de S, Lima AA de, Katsuragawa TH. SEASONAL DISTRIBUTION OF MALARIA VECTORS (DIPTERA: CULICIDAE) IN RURAL LOCALITIES OF PORTO VELHO, RONDÔNIA, BRAZILIAN AMAZON. *Rev Inst Med Trop São Paulo* [Internet]. junho de 2015 [citado 4 de julho de 2021];57(3):263–7. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46652015000300263&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652015000300263&lng=en&tlng=en)
127. Pimentel IF. Infecção natural por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* em *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) capturados nas áreas de influência direta da usina hidrelétrica de Jirau em Rondônia. 2014 [citado 4 de julho de 2021]; Disponível em: <https://ri.unir.br/jspui/handle/123456789/1206>
128. Martins LM de O. Bionomia de *Anopheles* spp. (Diptera:Culicidae) em diferentes ecótipos no município de Cruzeiro do Sul: uma abordagem de pequena escala para a epidemiologia da malária no estado do Acre, Amazônia Ocidental [Internet] [Thesis]. 2018 [citado 4 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/29380>
129. Brasil M da S. Guia para Gestão Local do Controle da Malária. Ministério da Saúde; 2009.
130. Gomes A de C. Vigilância entomológica. *Inf Epidemiológico Sus* [Internet]. junho de 2002 [citado 4 de julho de 2021];11(2):79–90. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0104-16732002000200004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0104-16732002000200004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
131. Lourenço-de-Oliveira R, Guimarães AE da G, Arlé M, Silva TF da, Castro MG, Motta MA, et al. Anopheline species, some of their habits and relation to malaria in endemic areas of Rondônia State, Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. dezembro de 1989 [citado 4 de julho de 2021];84:501–14. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/RnS34dMN5LBHr5xgwNqf4Tp/abstract/?lang=en>
132. Hochman G, Mello MTB de, Santos PRE dos. A malária em foto: imagens de campanhas e ações no Brasil da primeira metade do século XX. *História Ciênc Saúde-Manguinhos*. 2002;9(supl):233–73.
133. Barreto ML, Teixeira MG, Bastos FIPM, Ximenes RA de A, Barata R de CB, Rodrigues LC. Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs. 2011 [citado 5 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/2727>
134. Benchimol JL, Silva AFC da. Ferrovias, doenças e medicina tropical no Brasil da Primeira República. *História Ciênc Saúde-Manguinhos* [Internet]. setembro de

- 2008 [citado 5 de julho de 2021];15:719–62. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hcsm/a/rLs9rqxhNpdPYyvVpvcHvqK/abstract/?lang=pt>
135. Rocha M de NA, Ferreira EAP, Souza JM de. Aspecto histórico da malária. *Rev Para Med* [Internet]. setembro de 2006 [citado 5 de julho de 2021];20(3):81–2. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0101-59072006000300018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0101-59072006000300018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
136. Pina-Costa A de, Brasil P, Santi SMD, Araujo MP de, Suárez-Mutis MC, Santelli ACF e S, et al. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. agosto de 2014 [citado 5 de julho de 2021];109:618–33. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/YgG7dkVH6YHJLcYZr5WcfTR/?lang=en>
137. Ferreira MU, Castro MC. Challenges for malaria elimination in Brazil. *Malar J* [Internet]. 20 de maio de 2016 [citado 5 de julho de 2021];15(1):284. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1335-1>
138. Silva R da, Paiva CHA. O governo JK e o Grupo de Trabalho de Controle e Erradicação da Malária no Brasil: encontros e desencontros nas agendas brasileira e internacional de saúde, 1958-1961. *História Ciênc Saúde-Manguinhos* [Internet]. março de 2015 [citado 5 de julho de 2021];22:95–114. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hcsm/a/QQQGr4JJJs3GzhqQsJKr8sh/abstract/?lang=pt>
139. Greenwood BM, Fidock DA, Kyle DE, Kappe SHI, Alonso PL, Collins FH, et al. Malaria: progress, perils, and prospects for eradication. *J Clin Invest*. abril de 2008;118(4):1266–76.
140. Loiola CCP, Silva CJM da, Tauil PL. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. *Rev Panam Salud Pública* [Internet]. abril de 2002 [citado 5 de julho de 2021];11:235–44. Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2002.v11n4/235-244/>
141. Deane LM. Malaria studies and control in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. março de 1988;38(2):223–30.
142. Brasil M da S. Vigilância em Saúde no Brasil 2003|2019 Da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais [Internet]. 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/25/boletim-especial-21ago19-web.pdf>
143. Amazon Malaria Initiative [Internet]. [citado 5 de julho de 2021]. Disponível em: <http://linksglobal.org/AMI/#sthash.Oi8Jg8Yw.dpbs>
144. Brasil M da S. Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2000 a 2011 [Internet]. Ministério da Saúde; 2013. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim\\_epidemiologico\\_numero\\_1\\_2013.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_epidemiologico_numero_1_2013.pdf)
145. Reis IC dos, Honório NA, Barros FSM de, Barcellos C, Kitron U, Camara DCP, et al. Epidemic and Endemic Malaria Transmission Related to Fish Farming Ponds in the Amazon Frontier. *PLOS ONE*. 11 de setembro de 2015;10(9):e0137521.



146. Brasil M da S. Malária: Monitoramento dos casos no Brasil em 2014. Boletim epidemiológico. [Internet]. 2015 [citado 6 de julho de 2021]. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/18/2015-009---Mal--ria-para-publica----o.pdf>
147. Agência Brasil. Brasil registra menor número de casos de malária em 35 anos [Internet]. Agência Brasil. 2016 [citado 7 de julho de 2021]. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2016-04/malaria-em-2015-brasil-teve-menor-numero-de-casos-dos-ultimos-35-anos>
148. Brasil M da S. Vigilância Epidemiológica da Malária no Brasil, 2017 a 2019. Boletim Epidemiológico. [Internet]. 2019. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2019/novembro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-35.pdf>
149. Brasil M da S. Malária 2020. Boletim Epidemiológico. [Internet]. Secretaria de Vigilância em Saúde; 2020. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim\\_especial\\_malaria\\_1dez20\\_final.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf)
150. da Silva-Nunes M, Codeço CT, Malafronte RS, da Silva NS, Juncansen C, Muniz PT, et al. Malaria on the Amazonian frontier: transmission dynamics, risk factors, spatial distribution, and prospects for control. *Am J Trop Med Hyg.* outubro de 2008;79(4):624–35.
151. Marques A. Migrações internas e grandes endemias. *Rev Bras Malariol E Doenças Trop.* 1979;31:137–58.
152. Fellet J. Roraima exporta 194 kg de ouro à Índia sem ter nenhuma mina operando legalmente. *BBC News Brasil* [Internet]. 16 de junho de 2019 [citado 11 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-48534473>
153. *BBC News Brasil* [Homepage na internet]. Roraima exporta 194 kg de ouro à Índia sem ter nenhuma mina operando legalmente [Internet]. 2019 [citado 9 de fevereiro de 2022]. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-48534473>
154. Marques A. Migrações internas e grandes endemias. 1979;31:58.
155. Dias RC. UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA MALÁRIA NO ESTADO DE RORAIMA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA NO PERÍODO DE 1985 A 1996. [Internet]. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz,; 2003. Disponível em: <http://teses.icict.fiocruz.br/pdf/diasrcd.pdf>
156. Barcellos C, Bastos FI. Geoprocessamento, ambiente e saúde: uma união possível? *Cad Saúde Pública* [Internet]. setembro de 1996 [citado 11 de julho de 2021];12:389–97. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/csp/a/hLyfcmLFTbHR9PrVPJwTwbj/abstract/?lang=pt>

157. Relatório Epidemiológico Anual 2016 [Internet]. Boa Vista, Roraima: Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde; 2016 p. 172. Disponível em: <https://saude.rr.gov.br/cgvs/index.php/sport/travel/relatorios-epidemiologicos>
158. Relatório Epidemiológico Anual 2015. Boa Vista, Roraima: Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde; 2015 p. 138.
159. Relatório Epidemiológico Anual 2019 [Internet]. Boa Vista, Roraima: Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde; 2019 p. 322. Disponível em: <https://saude.rr.gov.br/cgvs/index.php/sport/travel/relatorios-epidemiologicos>
160. IBGE. Censo Demográfico 2010. Características da população e dos domicílios: resultados do universo. [Internet]. Roraima: IBGE; 2010 [citado 6 de fevereiro de 2020]. Disponível em: [Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/](https://cidades.ibge.gov.br/)
161. Louzada J. Caracterização epidemiológica da malária autóctone e importada no estado de Roraima [Tese]. [Rio de Janeiro]: Instituto Oswaldo Cruz. Pós-Graduação em Biologia Parasitária; 2020.
162. SVS-MS: Secretaria de Vigilância em Saúde M da S. Padronização dos métodos utilizados em pesquisa larvária de Anopheles na rotina dos laboratórios de entomologia. Nota Técnica no. 012-GPNCM/DIGES/SVS/MS. Registro Número: 25000. 2011. 2011.
163. Nasci RS. A lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. *Mosq News*. 1981;41(4):808–11.
164. Lima JBP, Galardo AKR, Bastos LS, Lima AW da S, Rosa-Freitas MG. MosqTent: An individual portable protective double-chamber mosquito trap for anthropophilic mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis*. 9 de março de 2017;11(3):e0005245.
165. Carvalho TM. Sistemas de informações geográficas aplicadas à descrição de habitats Geographic information systems applied to habitats descriptions. *Acta Sci Hum Soc Sci*. 1º de janeiro de 2012;34:79–90.
166. Louzada J, de Almeida NCV, de Araujo JLP, Silva J, Carvalho TM, Escalante AA, et al. The impact of imported malaria by gold miners in Roraima: characterizing the spatial dynamics of autochthonous and imported malaria in an urban region of Boa Vista. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 10 de julho de 2020 [citado 21 de setembro de 2021];115. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/FQVPsKQcdYtxthkKsYkFv5p/?lang=en>
167. Sampaio TVM. Cartografia Temática [Internet]. 1ª. Curitiba, PR; 2019. Disponível em: <http://www.prppg.ufpr.br/site/ppggeografia/wp-content/uploads/sites/71/2018/03/cartografia-temtica.pdf>
168. Silva PR, Silva MS da. Geografia da saúde: um estudo sobre a malária na zona urbana de São João da Baliza-Roraima. *Rev Eletrônica Casa Makunaima*. 2019;2(3):76–90.

169. Nasir SMI, Amarasekara S, Wickremasinghe R, Fernando D, Udagama P. Prevention of re-establishment of malaria: historical perspective and future prospects. *Malar J.* 2020;19(1):452.
170. Rosa-Freitas MG, Tsouris P, Peterson AT, Honório NA, Barros FSM de, Aguiar DB de, et al. An ecoregional classification for the state of Roraima, Brazil: the importance of landscape in malaria biology. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102:349–58.
171. Sánchez-Ribas J, Oliveira-Ferreira J, Gimnig JE, Pereira-Ribeiro C, Santos-Neves MSA, Silva-do-Nascimento TF. Environmental variables associated with anopheline larvae distribution and abundance in Yanomami villages within unaltered areas of the Brazilian Amazon. *Parasit Vectors.* 2017;10(1):571.
172. Hiwat H, Issaly J, Gaborit P, Somai A, Samjhawan A, Sardjoe P, et al. Behavioral heterogeneity of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) and malaria transmission dynamics along the Maroni River, Suriname, French Guiana. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104(3):207–13.
173. Rubio-Palis Y, Bevilacqua M, Medina DA, Moreno JE, Cárdenas L, Sánchez V, et al. Malaria entomological risk factors in relation to land cover in the Lower Caura River Basin, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108:220–8.
174. Barros FSM de, Honorio NA, Arruda ME. Survivorship of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) in Relation with Malaria Incidence in the Brazilian Amazon. *PLoS ONE.* 2011;6(8):e22388–e22388.
175. Charlwood JD. Biological variation in *Anopheles darlingi* root. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91:391–8.
176. Sinka M, Rubio-Palis Y, Manguin S, Patil A, Temperley W, Gething P, et al. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic precis - Documento - Gale Academic OneFile. 2010 [citado 19 de janeiro de 2022];3(72). Disponível em: <https://go-gale.ez24.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&u=capes&id=GALE|A236829706&v=2.1&it=r>
177. Consoli RAGB, Oliveira RL de. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro, RJ: Editora FIOCRUZ; 1994. 225 p.
178. McKeon SN, Schlichting CD, Povoá MM, Conn JE. Ecological Suitability and Spatial Distribution of Five *Anopheles* Species in Amazonian Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88(6):1079–86.
179. Ramirez PG, Stein M, Etchepare EG, Almiron WR. Diversity of anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) and classification based on the characteristics of the habitats where they were collected in Puerto Iguazú, Misiones, Argentina. *J Vector Ecol J Soc Vector Ecol.* 2016;41(2):215–23.
180. Tadei W, Thatcher B, Santos J, Scarpassa V, Rodrigues I, Rafael M. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:325–35.

181. Póvoa MM, Wirtz RA, Lacerda RNL, Miles MA, Warhurst D. Malaria vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96:179–84.
182. Voorham J. Intra-population plasticity of *Anopheles darlingi*'s (Diptera, Culicidae) biting activity patterns in the state of Amapá, Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2002;36:75–80.
183. Moreno J, Rubio-Palis Y, Paez E, Perez E, Sanchez V. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. *Med Vet Entomol.* 2007;21:339–49.
184. Angella A, Salgueiro P, Vicente J, Pinto J, Ribolla P. Seasonal genetic partitioning in the neotropical malaria vector, *Anopheles darlingi*. *Malar J.* 2014;13(1).
185. de Barros FSM, Arruda ME, Vasconcelos SD, Luitgards-Moura JF, Confalonieri U, Rosa-Freitas MG, et al. Parity and age composition for *Anopheles darlingi* root (Diptera: Culicidae) and *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribáizaga (Diptera: Culicidae) of the northern Amazon Basin, Brazil. *J Vector Ecol J Soc Vector Ecol.* 2007;32(1):54–68.
186. Tadei WP, Dutary Thatcher B. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2000;42:87–94.
187. Forattini OP. Comportamento exófilo de *Anopheles darlingi* Root, em região meridional do Brasil. *Rev Saúde Pública.* 1987;21:291–304.
188. Rubio-Palis Y, Wirtz RA, Curtis CF. Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. *Acta Trop.* 1992;52(2–3):167–74.
189. Naranjo-Díaz N, Altamiranda-Saavedra M, Correa MM. *Anopheles* species composition and entomological parameters in malaria endemic localities of North West Colombia. *Acta Trop.* 2019;190:13–21.
190. Galardo AKR, Arruda M, Couto A a. RD, Wirtz R, Lounibos LP, Zimmerman RH. MALARIA VECTOR INCRIMINATION IN THREE RURAL RIVERINE VILLAGES IN THE BRAZILIAN AMAZON. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;76(3):461–9.
191. Marrelli M, Floeter-Winter L, Malafronte R, Tadei W, Lourenco-de-Oliveira R, Flores-Mendoza C, et al. Amazonian malaria vector anopheline relationships interpreted from ITS2 rDNA sequences. *Med Vet Entomol.* 2005;19:208–18.
192. Martins-Campos KM, Pinheiro WD, Vitor-Silva S, Siqueira AM, Melo GC, Rodrigues AC, et al. Integrated vector management targeting *Anopheles darlingi* populations decreases malaria incidence in an unstable transmission area, in the rural Brazilian Amazon. *Malar J.* 2012;11(1).
193. Lourenço-de-Oliveira R, Guimarães AE da G, Arlé M, Silva TF da, Castro MG, Motta MA, et al. Anopheline species, some of their habits and relation to malaria in

- endemic areas of Rondônia State, Amazon region of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1989;84:501–14.
194. de Barros FSM, de Aguiar DB, Rosa-Freitas MG, Luitgards-Moura JF, Gurgel H da C, Honório NA, et al. Distribution summaries of malaria vectors in the northern Brazilian Amazon. J Vector Ecol J Soc Vector Ecol. 2007;32(2):161–7.
195. Wilson ML, Krogstad DJ, Arinaitwe E, Arevalo-Herrera M, Chery L, Ferreira MU, et al. Urban Malaria: Understanding its Epidemiology, Ecology, and Transmission across Seven Diverse ICEMR Network Sites. Am J Trop Med Hyg. 2015;93(3 Suppl):110–23.
196. Chaparro PE, Molina K, Alzate A, Padilla J, Arévalo-Herrera M, Herrera S. Urban malaria transmission in a non-endemic area in the Andean region of Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(12):797–804.
197. WHO - World Health Organization. Larval source management: a supplementary measure for malaria vector control [Internet]. [citado 10 de fevereiro de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241505604>

## **ANEXOS**


Anexo 1 – artigo publicado na Malaria Journal em 2022

RESEARCH

Open Access



# Larval habitats, species composition and distribution of malaria vectors in regions with autochthonous and imported malaria in Roraima state, Brazil

Nathália Coelho Vargas de Almeida<sup>1</sup>, Jaime Louzada<sup>2</sup>, Maycon Sebastião Alberto Santos Neves<sup>3</sup>, Thiago M. Carvalho<sup>1</sup>, Júlio Castro-Alves<sup>4</sup>, Teresa Fernandes Silva-do-Nascimento<sup>3</sup>, Ananias A. Escalante<sup>5</sup> and Joseli Oliveira-Ferreira<sup>1\*</sup> 

## Abstract

**Background:** Malaria control requires local action. Assessing the vector diversity and abundance provides information on the local malariogenic potential or risk of transmission. This study aimed to determine the *Anopheles* species composition, habitats, seasonal occurrence, and distribution in areas with autochthonous and imported malaria cases in Roraima State.

**Methods:** A longitudinal study was conducted from January 2017 to October 2018, sampling larvae and adult mosquitoes in three municipalities of Roraima State: Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza. These areas have different risks of malaria importation. Four to six mosquito larval habitats were selected for larval sampling at each municipality, along with two additional sites for adult mosquito collection. All larval habitats were surveyed every two months using a standardized larval sampling methodology and MosqTent for adult mosquitoes.

**Results:** A total of 544 *Anopheles* larvae and 1488 adult mosquitoes were collected from the three municipalities studied. Although the species abundance differed between municipalities, the larvae of *Anopheles albiparvus* s.l., *Anopheles nuneztovari* s.l. and *Anopheles triannulatus* s.l. were collected from all larval habitats studied while *Anopheles darlingi* were collected only from Boa Vista and São João da Baliza. Adults of 11 species of the genus *Anopheles* were collected, and the predominant species in Boa Vista was *An. albiparvus* (88.2%) followed by *An. darlingi* (6.9%), while in São João da Baliza, *An. darlingi* (85.6%) was the most predominant species followed by *An. albiparvus* s.l. (9.2%). In contrast, the most abundant species in Pacaraima was *Anopheles braziliensis* (6.2%), followed by *Anopheles peryassui* (18%). Overall, the majority of anophelines exhibited greater extradomicile than peridomicile-biting preference. *Anopheles darlingi* was the only species found indoors. Variability in biting times was observed among species and municipalities.

**Conclusion:** This study revealed the composition of anopheline species and habitats in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza. The species sampled differed in their behaviour with only *An. darlingi* being found indoors. *Anopheles darlingi* appeared to be the most important vector in São João da Baliza, an area of autochthonous malaria, and

\*Correspondence: lila@ioc.fiocruz.br

<sup>1</sup> Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação

Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

*An. albitarsis s.l.* and *An. braziliensis* in areas of low transmission, although there were increasing reports of imported malaria. Understanding the diversity of vector species and their ecology is essential for designing effective vector control strategies for these municipalities.

**Keywords:** Malaria vectors, Larval habitats, *Anopheles darlingi*, *Anopheles albitarsis s.l.*, Human biting rate, Imported malaria

## Background

Malaria incidence in the Brazilian Amazon reduced from 333,461 cases in 2010 to 156,916 in 2019 [1]. Regardless of such regional progress, control interventions have not been successful in states sharing international borders, where malaria cases continue to increase [2–4]. Roraima is a Brazilian state in the extreme north of the country that shares international borders with Guyana and Venezuela. Since 2016, this region has been experiencing an unprecedented flow of migrants from Venezuela due to that country's economic, social and political crises [3, 5–7]. This uncontrolled migration translates into a larger number of imported cases [2, 8].

Data from the Ministry of Health, Epidemiological Surveillance Information System—malaria (SIVEP-malaria), shows that the number of cases reported in Roraima almost tripled from 8969 in 2016 to 23,369 in 2018. Of those, 34% were imported cases from other states in Brazil (3,630 cases) and other countries (5513 cases) [1, 2], particularly from Venezuela (4478 cases) and Guyana (610 cases) [1]. Two municipalities in Roraima, Boa Vista (the capital) and Pacaraima (bordering Venezuela), reported more than half of the imported malaria cases in Brazil across international borders between 2007 and 2018. Although these municipalities are considered areas of low transmission risk, the influx of migrants and cases makes them vulnerable to malaria outbreaks and epidemics [2, 8]. The municipality of São João da Baliza (SJB) is located in the south of the state of Roraima, a region of tropical rainforest, endemic for malaria. In 2019, 634 cases were reported, of which 310 were acquired in the urban area of the municipality [1]. Furthermore, in Roraima state, *Plasmodium falciparum* infections were responsible for 9.8% of the autochthonous cases and 26% of the imported cases from other countries. Cross-border and autochthonous falciparum malaria threatens the Brazilian plan to eliminate this parasite from the country [2, 8], fuelling concern about importing parasites that are resistant to the drugs used to treat malaria in Brazil [9–12]. Therefore, characterizing the vector species involved in local transmission in these border municipalities and their larval habitats is considered a priority.

*Anopheles darlingi*, the most important malaria vector in the Brazilian Amazon is highly anthropophilic compared to other Amazonian anophelines,

transmitting both *P. falciparum* and *Plasmodium vivax* [13–17]. *Anopheles darlingi* are found in a wide variety of larval habitats, such as streams, margin rivers, flooding areas, and dams surrounded by vegetation [14, 18–20]. Besides *An. darlingi*, other malaria vectors in the northern region include *Anopheles albitarsis s.l.*, *Anopheles nuneztovari s.l.*, *Anopheles triannulatus s.l.* and *Anopheles braziliensis*, which are mostly of local importance [4, 21–23].

In Roraima, previous studies conducted in Boa Vista reported that *An. darlingi* and *An. albitarsis s.l.* were the most relevant local vectors [24–27]. *Anopheles darlingi* had the highest infection rate, followed that of *An. albitarsis s.l.*, *An. braziliensis* and *An. nuneztovari s.l.* *Anopheles albitarsis s.l.* has been reported as the most common anopheline with the highest biting rate [22, 25–27]. Although *An. darlingi* and *An. albitarsis s.l.* are considered the primary malaria vectors in Boa Vista [24–27], *An. albitarsis s.l.* constitutes a complex of at least 10 species that are widely distributed in South America [25, 28–32]. However, only four species were incriminated as a vector of malaria parasites: *Anopheles deaneorum* [33] *Anopheles janconnae* (= *An. albitarsis* E) [26], *Anopheles marajoara* [34–36] and *Anopheles albitarsis* F [32, 37]. *Anopheles albitarsis* E (= *An. janconnae*) has been reported as a malaria vector in Boa Vista. This species was abundant in the savannah biome, anthropophilic and showed biting behaviour predominantly in the early evening [26].

Considering the ongoing high levels of imported malaria in Roraima [1, 2], and the diverse ecological landscape in the state [38], this study aimed to identify anopheline larval habitats and mosquito species distribution and behaviour in areas with imported (Boa Vista and Pacaraima) and autochthonous malaria (São João da Baliza). The identification of potential larval habitats and the ecological conditions that determine the presence of *Anopheles* species competent to transmit *Plasmodium* is an important contribution for the control and elimination of malaria in Roraima.

This information will allow for the assessment of potential local malaria vectors in each municipality and may explain differences in transmission patterns. The long-term goal is to direct vector control measures as part of integrated policies to reduce the region's



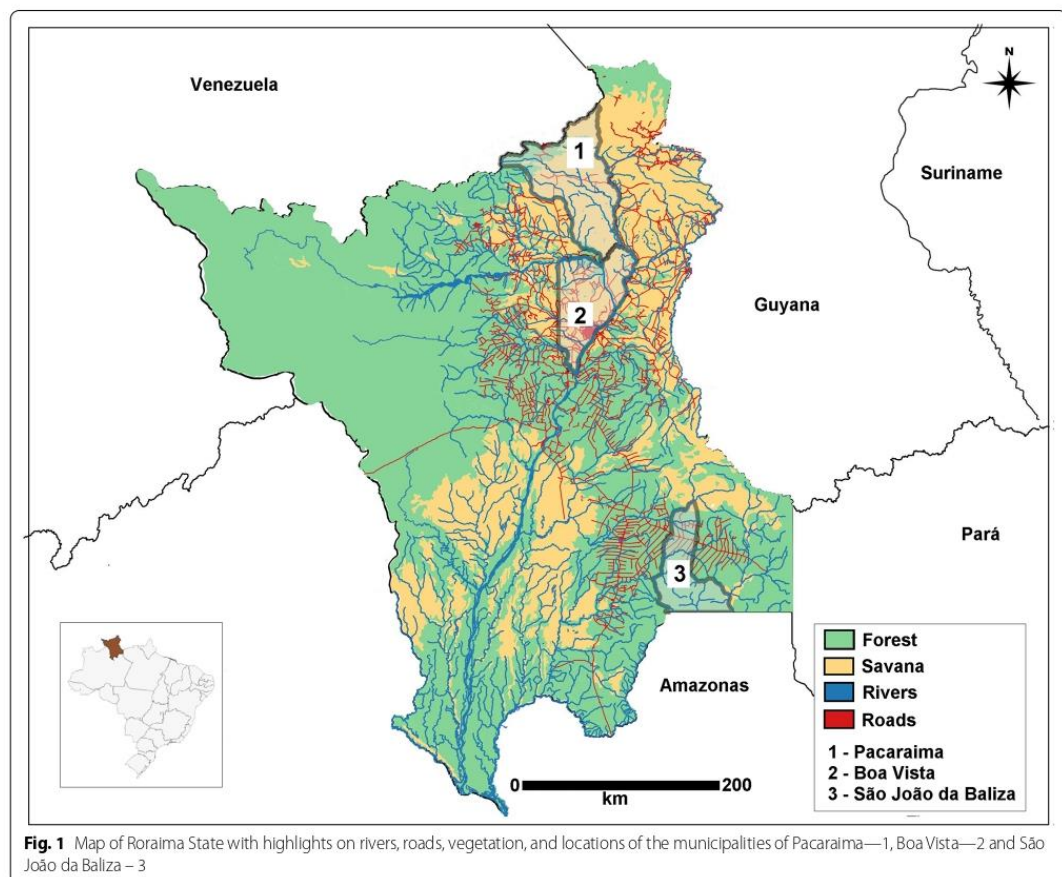
maliariogenic potential and mitigate, if possible, the effect of imported malaria cases.

## Methods

### Study areas

The study was conducted in the municipalities of Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza, Roraima State (Fig. 1). These three municipalities were chosen because of their numbers of autochthonous and imported malaria cases, and their status in annual parasite incidence (IPA), a risk indicator for malaria transmission used by the Ministry of Health in Brazil. This indicator expresses the number of confirmed new infections, considering the likely place of infection, per year per 1,000 inhabitants. The urban areas of Boa Vista had a very low risk (IPA 0.4), while Pacaraima had a low risk (IPA 1.0) and São João da Baliza was considered a region with medium risk (IPA 37.8) for the year 2018. Boa Vista had

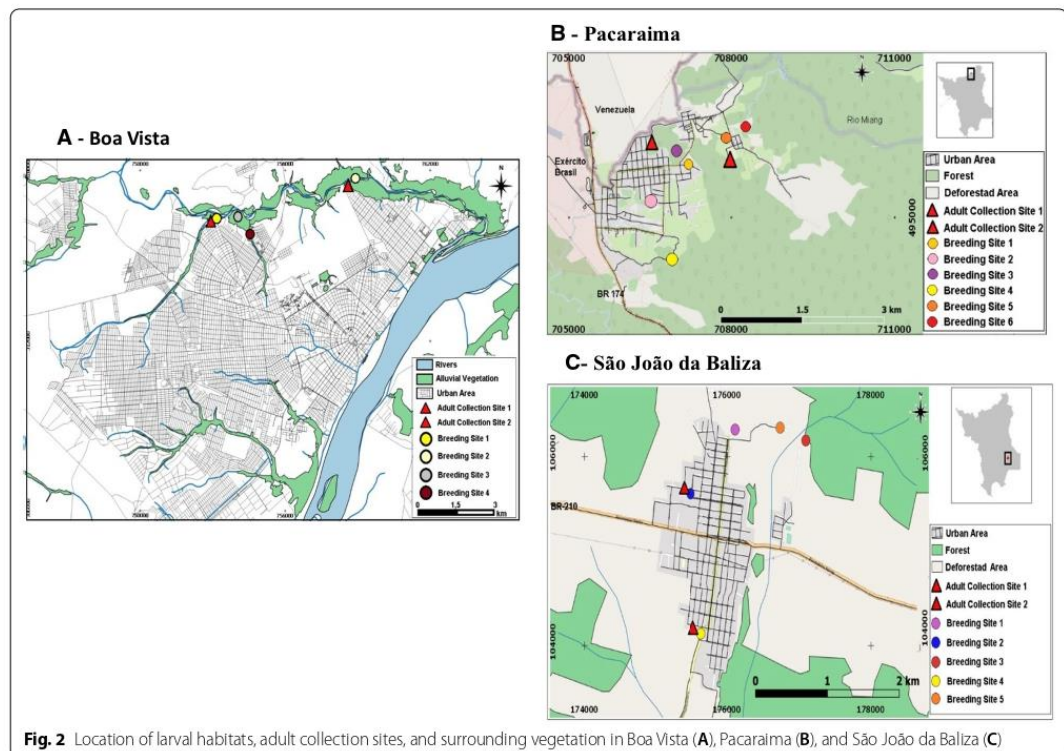
an estimated population of 399,213 in 2019 and is located in the centre of the state ( $02^{\circ}49'12''$  N;  $60^{\circ}40'23''$  W). It is 231 km from the main Venezuelan town in the country's malaria-endemic region (Santa Elena do Uairén), and it is 133 km from Guyana (Lethem). Its location allows easy access to the international borders and the state of Amazonas by highways. Indeed, Boa Vista predominated as the municipality with the most reported cases imported from neighbouring countries. In 2018, it registered 5,545 cases. Of these, 168 were autochthonous, 2115 were imported from Venezuela, and 533 from Guyana. *Plasmodium falciparum* infection imported from Venezuela (481 cases) and Guyana (97 cases) represented 80% of the *P. falciparum* registered in the city (722 cases) (1). Pacaraima is located in the north of the state ( $04^{\circ}25'51''$  N;  $61^{\circ}08'45''$  W), in a mountainous region, above 1000 m altitude with an estimated population of 17,401 inhabitants, including 5838 indigenous peoples



**Fig. 1** Map of Roraima State with highlights on rivers, roads, vegetation, and locations of the municipalities of Pacaraima—1, Boa Vista—2 and São João da Baliza—3

of three ethnicities (Makuxi, Taurepang, Wapixana). This municipality presents an intense movement of people between Pacaraima and Santa Elena do Uairén. The imported malaria in this municipality is almost exclusively from Venezuela. Migration fluctuates according to the treatment offered in Santa Elena do Uairén, a border town with Pacaraima, or according to local political tensions; for example, in 2019, several conflicts in the region caused the closure of the border, with a decrease in the number of imported malaria cases from 2137 cases in 2018 to 268 cases in 2019. However, there has been an increase in autochthonous malaria cases in the indigenous communities (1577 cases) [1]. São João da Baliza is located in the south of the state (0°57'03" N; 59°54'39" W), bordering Amazonas state, at a distance of 326 km from Boa Vista. The municipality is sparsely populated, with an estimated population of 8,201. In 2019, São João da Baliza reported 634 malaria cases; 461 were autochthonous, of which 310 were acquired in the urban area of the municipality, equivalent to 66.2%, against 151 in the rural area. Imported malaria cases were low, with only two cases from Venezuela and French Guiana [1].

Study design and larval habitat collection larval and adult mosquitoes were collected every two months from January 2017 to October 2018. In each municipality, four to six mosquito larval habitats were selected and sampled for larvae and pupae, and two residences near the larval habitats were selected for adult mosquito collection (Fig. 2). The larval habitats were selected based on their proximity to houses where autochthonous cases occurred the year prior to the study and were positive for *Anopheles* spp. larvae in a preliminary survey conducted in October 2016. For each larval habitat, the following physicochemical and environmental parameters were determined: habitat type, size, water temperature, water pH, degree of water turbidity, sun exposure, stream current, and vegetation. GPS estimated the distance from the larval habitat to the nearest house. Millimetric rods were used to measure the depth and size of the water bodies. The pH was determined using coloured dipsticks (Merck™), and sun exposure and stream currents were visually estimated. Each larval habitat was identified by a number and georeferenced to determine its location (Fig. 2). In Boa Vista, the four larval habitats presented



surrounding vegetation, and their geographical landscapes were characterized by the existence of savannah with and without gallery forests. In Pacaraima, 83% of the six larval habitats were located in the mountainous region of an ombrophilous forest. In São João da Baliza, 80% of the six larval habitats were surrounded by lowland tropical rainforest vegetation in a deforested area [38, 39].

#### Larval surveys

Larval surveys were performed on the same days as adult collections, from 07:00 to 13:00 h and in the afternoon, when necessary. Larval collection was performed using a 350-mL manual dipper (BioQuip, Ranch Dominguez, CA, USA) following a standardized larval sampling methodology recommendation of the Health Surveillance Secretariat of the Ministry of Health. The larvae and pupae collected were transferred to plastic tubes labelled with the larval habitat code, location, date, and collector's name. Larvae and pupae were either placed in 80% ethanol or reared in the laboratory to fourth instars or to adults, respectively, for identification using in Consoli and Lourenço-de-Oliveira dichotomous key for anopheline larvae [40].

#### Adult survey

Adult mosquitoes were collected in January, April, July and October of 2017 and 2018, comprising dry (November to April) and rainy (May to October) seasons. In each municipality, the collections were performed simultaneously at two sites, for three consecutive days at sunset from 18:00 to 21:00 and compared in the intradomicile, peridomicile and extradomicile areas. Sampling efforts throughout the studied period consisted of 480 h in each site: 144 h in the intradomicile (Nasci aspirator), 144 h in the peridomicile (MosqTent), and 192 h in the extradomicile (96 h with MosqTent and 96 h with Shannon).

In the intradomicile, mosquitoes were collected at rest on the internal walls and furniture, inside the residence, using a Nasci aspirator [41]. Peridomicile collections were performed approximately 15 m from the house using a protected human-baited mosquito trap (MosqTent) [42]. Extradomicile collections were carried > 15 m from the residence and the main larval habitat using MosqTent. When a horse was available, a baited Shannon trap was also used in the extradomicile concomitantly with the MosqTent collections. In order to assess the peak of haematophagy, collections were also performed in the intradomicile and extradomicile, for a 12-h period, from 18:00 to 06:00, in the months of April (transition from dry to rainy season) and October (transition from rainy to dry season) of 2017 and 2018. All data in relation to each collection (temperature, humidity, wind, rain) were recorded. Mosquitoes were collected using a manual

Castro aspirator, placed in paper cages and transported to the Laboratory of the State Entomology Centre in an appropriate Styrofoam box. The specimens were then euthanized with ethyl acetate. Individuals were transferred to plastic tubes (Eppendorf type) and kept in boxes containing hermetically sealed silica gels [40].

Species were morphologically identified using dichotomous keys for the Neotropical *Anopheles* species. Members of the *An. albitarsis*, *An. nuneztovari* and *An. triannulatus* complexes were not identified in this study; these species are referred to as *sensu lato*. Daily and monthly rainfall data were obtained from the National Water Agency (Agência Nacional de Águas, ANA).

#### Geographical location of studied sites

The geographic locations of larval habitats and adult collection sites were georeferenced in the Universal Transverse Mercator (UTM) coordinate system using the World Geodetic System 84 (WGS84). All geographic data were processed in the Landscape Metrics Laboratory of the Department of Geography of the Federal University of Roraima (UFRR), using satellite images and a cartographic basis of the municipalities. The data were processed in the QGIS 2.14.17 software to generate the maps such as those previously described [8].

#### Statistical analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad InStat, version 3 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) and R version 4.0.5. Comparisons between mean temperature and pH were performed using the Wilcoxon test. To evaluate the association of environmental factors with the occurrence of species in larval habitats, univariate logistic models was used with species as the outcome. In particular, the environmental factors (habitat type, area, water turbidity, water current, water pH, water temperature, house distance, sunlight exposure, and debris) were used as independent variables. The associations between species and environmental variables were presented as odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals. Differences between the two non-reference categories were related to reference categories.

## Results

#### Characteristics of larval habitats

*Anopheles* spp. larvae were found in all 15 permanent larval habitats in the studied municipalities: four sites in Boa Vista, six in Pacaraima, and five in São João da Baliza. Table 1 shows the main characteristics of each larval habitat and larvae of *Anopheles* spp. were found in all four types of water collection. Streams were widely distributed (66.6%) in the study area, followed by dams (13.3%), ponds (13.3%) and lakes (6.6%). In Boa Vista,

**Table 1** Characteristics of the larval habitats in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza

Municipalities	Characteristics	Larval Habitats					
		Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6
Boa Vista	Habitat type	Stream	Lake	Stream	Stream	-	-
	Area (sq m)	> 300	> 150 ≤ 300	> 300	> 150 ≤ 300	-	-
	Water turbidity	Turbid	Transparent	Turbid	Transparent	-	-
	Water current	Stagnant	Stagnant	Slow	Slow	-	-
	Water temperature °C (M ± SD)	23.2 ± 10.5	22.3 ± 9.9	28.7 ± 14.9	27.8 ± 14.5	-	-
	Water pH (M ± SD)	5.4 ± 2.4	4.7 ± 2.4	2.9 ± 3.1	3.4 ± 2.9	-	-
	Distance from houses (m)	> 15	> 15	> 15	≤ 8	-	-
	Sunlight exposure	Partly shaded	Partly shaded	Partly shaded	Shaded	-	-
	Debris	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	-	-
	Vegetation	Emerging/Marginal	Emerging/Marginal Floating/Underwater	Emerging/Floating Marginal	Floating/Marginal	-	-
Pacaraima	Habitat type	Pond	Stream	Stream	Stream	Fishpond	Stream
	Area (sq m)	≤ 150	> 150 ≤ 300	> 150 ≤ 300	≤ 150	> 300	> 150 ≤ 300
	Water turbidity	Turbid	Transparent	Transparent	Transparent	Turbid	Turbid
	Current water	Slow	Moderate	Slow	Moderate	Stagnant	Slow
	Water temperature °C (M ± SD)	20.9 ± 8.5	20.1 ± 8.1	19.2 ± 8.5	19.5 ± 8.6	22 ± 9.7	21.2 ± 9.4
	Water pH (M ± SD)	5.5 ± 1	6.3 ± 2.8	6.9 ± 0.7	5.4 ± 2.4	7 ± 0.8	5.4 ± 2.2
	Distance from houses (m)	≤ 8	> 8 ≤ 15	≤ 8	> 8 ≤ 15	> 15	> 15
	Sunlight exposure	Partly shaded	Shaded	Shaded	Shaded	Sunny	Partly shaded
	Debris	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Nothing	Trunk/Roots/Leaves/Fruits
	Vegetation	Floating/Underwater Marginal	Emerging/Floating Marginal	Emerging/Marginal	Emerging/Marginal	Underwater	Emerging/Marginal Underwater
S.J. Baliza	Habitat type	Dam	Stream	Stream	Stream	Dam	-
	Area (sq m)	> 300	≤ 150	> 300	> 150 ≤ 300	≤ 150	-
	Water turbidity	Turbid	Turbid	Transparent	Turbid	Turbid	-
	Current water	Slow	Slow	Slow	Moderate	Stagnant	-
	Water temperature °C (M ± SD)	27 ± 2.3	25.8 ± 1.1	25.1 ± 0.4	27.5 ± 1.7	26.6 ± 2.3	-
	Water pH (M ± SD)	5.5 ± 2.3	5.5 ± 2.3	6.5 ± 0.8	5.5 ± 2.3	5.5 ± 3.5	-
	Distance from houses (m)	> 8 ≤ 15	≤ 8	≤ 8	> 8 ≤ 15	> 15	-
	Sunlight exposure	Partly shaded	Partly shaded	Partly shaded	Shaded	Sunny	-
	Debris	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Trunk/Roots/Leaves	Nothing	-
	Vegetation	Emerging/Marginal	Emerging/Marginal	Emerging/Marginal	Emerging/Underwater Marginal	Underwater	-

- Not done

the types of water collections were streams and lakes; in Pacaraima, streams, ponds and fishponds, and São João da Baliza, streams and dams. Furthermore, 26.7% of the habitats had a surface area of <150 sq m, while 40% were >150 <300 sq m and 33.3% had a surface area greater than 300 sq m. The majority of the larval habitats in Boa Vista were located at a distance >15 m from houses, while in Pacaraima and São João da Baliza, they were <15 m. *Anopheles* spp. larvae were found in both transparent (60%) and turbid (40%) water habitats. In most larval habitats, the water current was slow-moving (53.3%) or stagnant (26.7%), and the temperature and pH were distinct in the habitats sampled. In the municipality of Pacaraima, the larval habitats presented a lower water temperature ( $20.48 \pm 1.0$ ) than in Boa Vista ( $25.5 \pm 3.2$ ;  $p < 0.0001$ ) and São João da Baliza ( $26.4 \pm 0.95$ ;  $p < 0.01$ ), and a higher pH ( $6.0 \pm 0.75$ ) when compared to Boa Vista ( $4.1 \pm 1.15$ ;  $p < 0.01$ ). This study further observed that 53.3 and 33.3% of the habitats were partially shaded and shaded, respectively. Half of the larval habitats in Pacaraima were shaded, while in Boa Vista and São João da Baliza the majority were partially shaded. Only two larval habitats were in full sun, one of which was in Pacaraima and the other in São João da Baliza. Marginal vegetation was present in all larval habitats, while emerging vegetation was present in 73.3%, underwater in 40%, and floating vegetation in 33.3%. Debris such as tree trunks, leaves and roots, were found in all water bodies except in one fishpond in São João da Baliza.

#### Identification of immature forms of anophelines

A total of 544 *Anopheles* spp. specimens were obtained from 15 larval habitats, and the relative abundance of each larval species encountered is presented in Table 2. A total of 12 species were identified from 209 late-instar larvae (third and fourth stages). However, 335 *Anopheles* spp. larvae were not identified at the species level and considered for statistical analysis, mainly because they were early instar larvae (first and second stages) or were damaged. Collections of the immature forms showed that *An. albitarsis s.l.*, *An. nuneztovari s.l.*, *An. triannulatus s.l.*, and *Anopheles peryassui* were collected from larval habitats from all municipalities while *An. darlingi*, *Anopheles matogrossensis* and *Anopheles oswaldoi s.l.* were only observed in Boa Vista and São João da Baliza. *Anopheles evansae* was present in Boa Vista and Pacaraima, *Anopheles mediopunctatus* and *Anopheles argyritarsis* only in Pacaraima and *Chagasia bonneae* and *Anopheles strodei* were only found in São João da Baliza.

In Boa Vista, 99 larvae of eight species were collected mainly from two larval habitats; *An. darlingi* (44.4%) was the most abundant species, followed by *An. nuneztovari*

*s.l.* (26.9%) and *An. albitarsis s.l.* (9.5%). During the study period, in the larval habitats 3 and 4, larvae of *An. nuneztovari s.l.* were collected, while at site 4, only a few second stage *Anopheles* larvae were collected. The municipality of São João da Baliza presented the highest number of larvae collected (264) of nine species and *An. darlingi* was present in all five larval habitats, whereas in Boa Vista, this species was present in only two larval habitats. In São João da Baliza, *An. nuneztovari s.l.* (18.6%) and *An. albitarsis s.l.* (8.8%) were also prevalent. Pacaraima showed a total of 148 larvae of seven species collected, and *An. triannulatus s.l.* (33.3%) was the most abundant species, followed by *An. albitarsis s.l.* (24.2%) and *An. argyritarsis* (18.1%). All *An. triannulatus s.l.* were collected from a single larval habitat (5) in a fishpond. Immature forms of *An. darlingi* were present in streams, lakes, and dams with transparent or turbid water, in partially shaded or sunny habitats. However, in these larval habitats, the water had a lower pH and higher water temperature.

#### Association between anopheline larvae and environmental factors

The univariate logistic models for the four most frequent *Anopheles* species are summarized in Table 3. *Anopheles darlingi* was more likely to occur in the stream larval habitat (OR = 6.85,  $p < 0.01$ ) compared with *An. nuneztovari s.l.*, which was found in a dam (OR = 0.16,  $p < 0.01$ ). *Anopheles triannulatus s.l.* had a preference for fishponds (OR = 40.7,  $p < 0.01$ ). Larvae of *An. albitarsis s.l.* and *An. darlingi* had a higher chance of being captured in larval habitats with 150–300 sq m of surface area than those larger than 300 sq m (OR = 3.83,  $p < 0.05$ , and OR = 2.27,  $p < 0.05$ , respectively). *Anopheles darlingi* was also less abundant in stagnant water (OR = 0.08,  $p < 0.01$ ) and slow currents (OR = 0.12,  $p < 0.01$ ) than in moderate water currents. The logistic models also showed a higher chance of *An. triannulatus s.l.* to be found in larval habitats > 300 sq m (OR = 0.13,  $p < 0.01$ ) than those < 150–300 sq m (OR = 0.29,  $p < 0.05$ ). *Anopheles albitarsis s.l.* had a greater preference for aquatic habitats with transparent waters over turbid water (OR = 0.24,  $p < 0.01$ ). In contrast, *An. darlingi* and *An. nuneztovari s.l.* occurred in aquatic habitats with both transparent and turbid water. Habitats exposed to the sun were related to the occurrence of *An. albitarsis s.l.* (OR = 2.93,  $p < 0.05$ ), and *An. triannulatus s.l.* (OR = 15.67,  $p < 0.01$ ) in comparison to those partially shaded, while *An. darlingi* showed a preference for partially shaded over full sun habitats (OR = 0.1,  $p < 0.01$ ). *Anopheles darlingi* was more frequently observed in the presence of roots, tree trunks and leaves (OR = 12.58,  $p < 0.01$ ) than in the absence of

debris, while *An. triannulatus s.l.* was less likely to occur in habitats with debris (OR = 0.08,  $p < 0.01$ ).

#### Species distribution of adult anopheline

A total of 1,488 female *Anopheles* from 11 species were collected from all three municipalities (Table 4). Nine species were identified in Boa Vista and *An. albitarsis s.l.* (88.4%) was the predominant species, followed by *An. darlingi* (6.9%) and *An. peryassui* (3%). Among the seven species collected from São João da Baliza, *An. darlingi* (85.6%) was the most predominant species, followed by *An. albitarsis s.l.* (9.3%), and *An. nuneztovari s.l.* (3.9%). Pacaraima showed lower vector density than the municipalities of Boa Vista, and of the six species identified, the most abundant was *An. braziliensis* (64.6%), followed by *An. peryassui* (18.7%) and *An. albitarsis s.l.* (8.3%). In all three municipalities *An. albitarsis s.l.*, *An. darlingi* and *An. nuneztovari s.l.* were present, whereas *An. matogrossensis* and *An. evansae* were observed only in Boa Vista and *An. triannulatus s.l.* only in São João da Baliza. Overall, the majority of anophelines exhibited greater extradomicile than peridomicile biting preferences. *Anopheles darlingi* was the only species found in the intradomicile. In Boa Vista and São João da Baliza *An. darlingi* and *An. albitarsis s.l.* were more abundant in the extradomicile than in the peridomicile. However, in Pacaraima and Boa Vista *An. darlingi* and *An. albitarsis s.l.* were also collected in the Shannon trap. In Pacaraima, *An. braziliensis* was captured in the peridomicile (33.8%), and in the extradomicile by MosqTent (29%) and by the Shannon trap collection (37.1%).

#### Seasonal variation of *Anopheles* in each municipality

The longitudinal study showed variation in the abundance of *Anopheles* species according to the period studied (Fig. 3). The collection each month represents the mean number of *Anopheles* captured in that month per collector per hour (4 h of capture for three consecutive days) for every two months in each locality.

The rainy season in the state of Roraima occurs between April and September. Even so, in Boa Vista this was the period with the greatest abundance of *Anopheles*. In Pacaraima and São João da Baliza these species were more frequent in the driest months. In Boa Vista (Fig. 3A) *An. albitarsis s.l.* had the highest density during the studied months, with the greatest frequency observed in April in the dry season. The month of July for both years (2017 and 2018) had the greatest rainfall, and a large number of *An. albitarsis s.l.* were captured in 2018. *Anopheles darlingi* was not abundant during the study

months but showed a population increase in October at the end of the rainy season.

In Pacaraima (Fig. 3B), *An. braziliensis* was the most abundant species collected in higher numbers in October, two months after the high record for rain precipitation, while *An. albitarsis s.l.* were collected in fewer numbers during most of the months of collection. In São João da Baliza (Fig. 3C), *An. darlingi* was predominant throughout the year, and this species was more abundant in October, whereas *An. albitarsis s.l.* was also collected in every month but in lower numbers.

The dispersion of *Anopheles* by average rainfall intensity and temperature showed that *An. darlingi* was predominant when the temperature was above 24°C and in the periods with less rainfall, while *An. albitarsis s.l.* prevailed during periods of rain, with temperatures above 23°C. *Anopheles braziliensis* was collected at lower temperatures (18°C and 25°C) during both the dry and rainy periods. *Anopheles peryassui* was the vector that was intermediate to all these periods and was not captured in the extremely dry period (Additional file 1: Fig. S1).

#### Biting activity and human bite rate

Four 12-h collections were conducted in each municipality simultaneously in the intradomicile and peridomicile to analyse biting activity. Although all collections were performed in both environments, no samples were collected in the intradomicile. Figure 4 shows the frequency (%) of the two more frequent *Anopheles* species in each locality occurring in the peridomicile at hourly intervals. Variability in biting times was observed among species and municipalities. In Boa Vista, *An. albitarsis s.l.*, the most abundant species, presented biting activity at dusk and throughout the night, with most of the activity between 02:00 and 04:00. *Anopheles darlingi* presented biting activity at 20:00–21:00 and throughout the night, but in lower numbers with the majority between 20:00 and 21:00 and 02:00–3:00, with only one specimen of *An. peryassui* captured at 20:00–21:00. In Pacaraima, the most frequently occurring species was *An. braziliensis*, with a significant peak at 19:00–20:00. *Anopheles argyritarsis* was caught between 18:00 and 19:00 and 19:00–20:00, and *An. peryassui* at 18:00–19:00. In the municipality of São João da Baliza, *An. darlingi* exhibited a pronounced crepuscular biting activity with an early peak at 21:00–22:00. However, they were also collected throughout the night until 06:00. *Anopheles nuneztovari* was the second-most common species, occurring from 20:00 to 21:00, 21:00 to 22:00 and from 23:00 to 00:00, while *An. albitarsis s.l.* occurred in higher numbers at 05:00 to 06:00.

**Table 2** The relative abundance of each larvae species collected at larval habitats in the municipalities of Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza

Municipalities	Species	Larval habitats						Total N (%)
		Site 1 N (%)	Site 2 N (%)	Site 3 N (%)	Site 4 N (%)	Site 5 N (%)	Site 6 N (%)	
Boa Vista		Stream	Lake	Stream	Stream	–	–	
	<i>An. darlingi</i>	13 (65.0)	15 (38.5)	0	0	–	–	28 (44.4)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	6 (15.4)	0	0	–	–	6 (9.5)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	2 (10.0)	11 (28.2)	4 (100)	0	–	–	17 (27.0)
	<i>An. mattogrossensis</i>	4 (20)	0	0	0	–	–	4 (6.3)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	1 (5.0)	0	0	0	–	–	1 (1.6)
	<i>An. evansae</i>	0	5 (12.8)	0	0	–	–	5 (7.9)
	<i>An. peryassui</i>	0	1 (2.6)	0	0	–	–	1 (1.6)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	1 (2.6)	0	0	–	–	1 (1.6)
	Total	20 (31.7)	39 (61.9)	4 (6.4)	0	–	–	63 (100)
	* <i>Anopheles</i> spp.	18	13	3	2	–	–	36
Pacaraima		Pond	Stream	Stream	Stream	Fishpond	Stream	
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	0	6 (100)	0	2 (13.33)	0	8 (24.2)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	1 (100)	0	0	0	0	0	1 (3.0)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	0	0	0	0	11 (73.33)	0	11 (33.3)
	<i>An. evansae</i>	0	0	0	0	1 (6.66)	0	1 (3.0)
	<i>An. peryassui</i>	0	0	0	4 (100)	1 (6.66)	0	5 (15.1)
	<i>An. mediopunctatus</i>	0	0	0	0	0	1 (100)	1 (3.0)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	6 (100)	0	0	0	0	6 (18.2)
	Total	1 (3.0)	6 (18.2)	6 (18.2)	4 (12.1)	15 (45.4)	1 (3.0)	33
		* <i>Anopheles</i> spp.	4	41	32	8	58	5
S.J. Baliza		Dam	Stream	Stream	Stream	Dam	–	
	<i>An. darlingi</i>	8 (38.0)	16 (66.7)	3 (37.5)	31 (86.1)	4 (16.7)	–	62 (62.9)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	1 (4.8)	2 (8.3)	0	1 (2.8)	6 (25.0)	–	10 (8.8)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	9 (42.8)	3 (12.5)	0	0	9 (37.5)	–	21 (18.6)
	<i>An. mattogrossensis</i>	0	0	1 (12.5)	0	0	–	1 (0.9)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	2 (9.5)	1 (4.2)	0	3 (8.3)	3 (12.5)	–	9 (8.0)
	<i>An. peryassui</i>	0	0	1 (12.5)	0	0	–	1 (0.9)
	<i>Chagasia bonneae</i>	0	0	3 (37.5)	0	0	–	3 (2.6)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	1 (4.8)	2 (8.3)	0	1 (2.8)	1 (4.2)	–	5 (4.4)
	<i>An. strodei</i>	0	0	0	0	1 (4.2)	–	1 (0.9)
Total	21 (18.6)	24 (21.2)	8 (7.1)	36 (31.8)	24 (21.2)	–	113	
	* <i>Anopheles</i> spp.	13	11	5	17	105	–	151

– Not done

\**Anopheles* spp.: *Anopheles* that were not identified at the species level, mainly because they were early instar larvae (first and second stages) or were damaged

The human biting rate (HBR) was estimated for the most common species collected in each municipality using the following calculation: the total number of anophelines captured during the 4-h collection (16:00 to 21:00) divided by the total number of collection days and the number of collectors. The data are presented in Table 5. Among all species collected in Boa Vista, *An. albitarsis s.l.* showed the highest rate in the extradomicile (10.8 bites per night) followed by 3.8 in the peridomicile.

The presence of *An. darlingi* predominates with a low HBR in the peridomicile (0.3 bites) and in the extradomicile (0.8 bites). In Pacaraima, HBR was low in both the peridomicile (0.26) and extradomicile (0.22) for *An. braziliensis*. In the municipality of São João da Baliza, *An. darlingi* presented higher HBR in the peridomicile (1.07) and in the extradomicile (1.64) than in Boa Vista while *An. albitarsis s.l.* had a very low HBR. Moreover, São João da Baliza was the only municipality where *An. darlingi*

**Table 3** Univariate model to estimate OR (CI 95%) for the association of environmental factors in larval habitats with the occurrence of *Anopheles* species

Variables		<i>Anopheles</i> species			
		<i>An. albittarsis</i> s.l.	<i>An. darlingi</i>	<i>An. nuneztovari</i> s.l.	<i>An. triannulatus</i> s.l.
Habitat type	Dam	Ref	Ref	Ref	Ref
	Fishpond	0.91 (0.12;4.46)	0 (0;136.02)	-	40.7 (8.21;322.05)**
	Lake	1.15 (0.34;3.88)	2.21 (0.85;5.89)	0.7 (0.26;1.8)	-
	Pond	-	-	-	-
	Stream	0.58 (0.2;1.75)	6.85 (3.08;16.08)**	0.16 (0.06;0.38)**	0.46 (0.12;1.73)
Area (Sq m)	> 300 m	Ref	Ref	Ref	Ref
	150-300 m	3.83 (1.16;17.35)*	2.27 (1.12;4.67)*	0.48 (0.2;1.15)	0.13 (0.03;0.42)**
	< 150 m	3.82 (1.03;18.32)	1.07 (0.48;2.36)	1.11 (0.46;2.67)	0.29 (0.08;0.89)*
Water turbidity	Transparent	Ref	Ref	Ref	Ref
	Turbid	0.24 (0.1;0.59)**	1.51 (0.75;3.08)	0.73 (0.33;1.68)	-
Water current	Moderate	Ref	Ref	Ref	Ref
	Stagnant	6.9 (1.3;127.59)	0.08 (0.02;0.23)**	-	2.35 (0.71;10.67)
	Slow	6.51 (1.14;122.92)	0.12 (0.03;0.35)**	-	0.6 (0.11;3.43)
Distance houses	> 15 m	Ref	Ref	Ref	Ref
	15-8 m	0.2 (0.03;0.74)*	4.19 (2.06;8.85)**	0.46 (0.19;1.04)	0.48 (0.15;1.33)
	< 8 m	1.74 (0.63;4.59)	2.51 (1.11;5.86)*	0.34 (0.09;0.96)	0.15 (0.01;0.82)
Sunlight exposure	Partly shaded	Ref	Ref	Ref	Ref
	Shaded	2.04 (0.68;5.9)	2.42 (1.1;5.71)*	-	1.86 (0.35;8.8)
	Full sun	2.93 (1.01;8.41)*	0.1 (0.03;0.28)**	0.78 (0.32;1.83)	15.67 (5.06;59.78)**
Debris	Nothing	Ref	Ref	Ref	Ref
	Trunk/Roots/Leaves	0.44 (0.17;1.18)	12.58 (4.66;44.06)**	0.8 (0.35;1.96)	0.08 (0.03;0.21)**

Statistically significant (\*p < 0.05; and \*\*p < 0.01; - small sample size)

was collected in the intradomicile (three specimens at 19:00–20:00 and one at 20:00–21:00).

## Discussion

Malariogenic potential measures the risk of transmission in a given area. It is critical for determining strategies to eliminate and prevent the re-establishment of malaria transmission [43], particularly in areas where the potential of imported malaria is high. As part of an integrated strategy for control and elimination, interventions should be deployed regionally based on detailed knowledge of local vector habitats and distribution. Here, during two years, the larval habitat and adults were sampled to determine the *Anopheles* species composition, seasonal occurrence and distribution of vectors in areas of autochthonous (São João da Baliza) and with high numbers of imported (Boa Vista and Pacaraima) malaria in Roraima. Differences in mosquito distribution and richness among sites may be the most important factors for identifying local variation in malaria transmission. Roraima presents a diverse ecological landscape and malaria transmission in Boa Vista, which is mainly savannah, which differs from that of the Yanomami Indian reserves in the

northwestern mountains, which is a region with dense rainforest [24–26, 38, 44].

In all municipalities, the most-encountered larval habitats were streams. *Anopheles darlingi* was the most abundant larval species in São João da Baliza and Boa Vista. However, in São João da Baliza, where vegetation consists of a lowland tropical rainforest in a deforested area, *An. darlingi* occurred at all five larval habitats, while in Boa Vista, a savannah vegetation, this species was present in only two larval habitats and in lower numbers. The differences in the ecological environment between Boa Vista and São João da Baliza may account for this [38]. Studies have shown that *An. darlingi* is often associated with low-lying vegetation along forested river margins and deforestation provides favourable conditions for this vector, thereby increasing malaria cases and decreasing scores of the Human Development Index [14, 45–48].

*Anopheles darlingi* has been found in a variety of larval habitats, both natural and man-made, and from large and permanent to small and temporary water bodies [13, 46–48]. In Boa Vista and São João da Baliza, *An. darlingi* were collected mainly in aquatic habitats with transparent water and moderate current with temperatures



**Table 4** Absolute number and relative frequency of adult anopheline species collected in the intradomicile, peridomicile and extradomicile by MosqTent (protected human baited) and Shannon trap (horse baited) from January 2017 to October 2018 in the municipalities of Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza

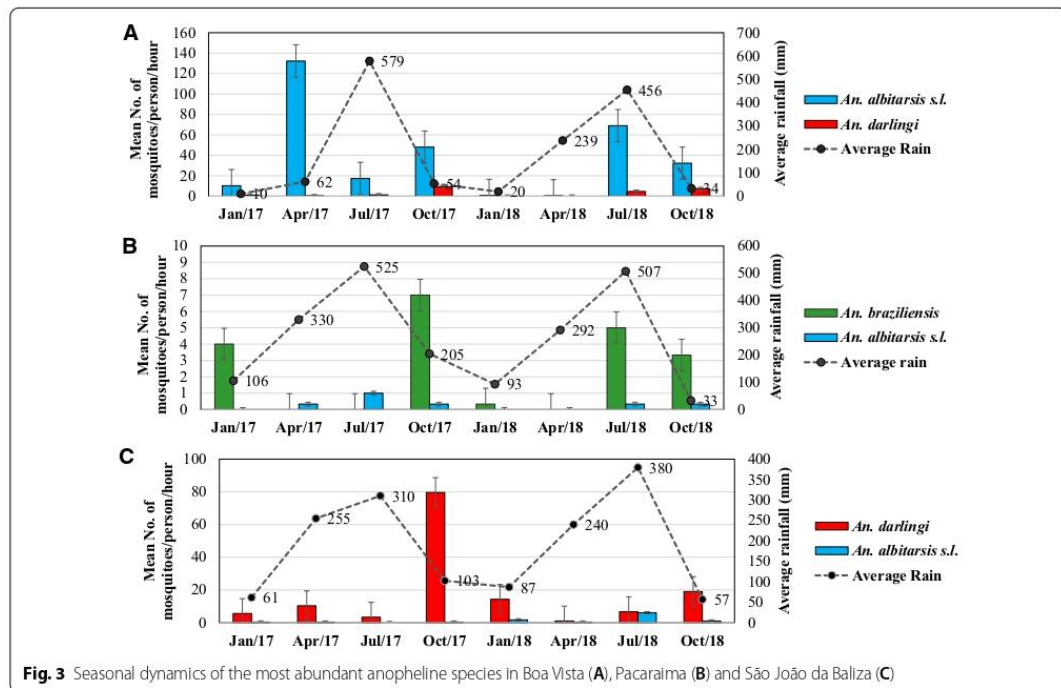
Municipalities	Species	Sampling environments				Total N(%)
		Intradomicile N(%)	Peridomicile N(%)	Extradomicile		
				Mosquitent N(%)	Shannon N(%)	
Boa Vista	<i>An. darlingi</i>	0	20(27.4)	42(57.5)	11(15.1)	73 (6.9)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	190(20.4)	669(71.9)	71(7.6)	930 (88.4)
	<i>An. braziliensis</i>	0	0	8(100)	0	8 (0.8)
	<i>An. peryassui</i>	0	3(9.4)	28(87.5)	1(3.1)	32 (3.0)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	0	3(60.0)	2(40.0)	5 (0.5)
	<i>An. strodei</i>	0	0	0	1(100)	1 (0.1)
	<i>An. mattogrossensis</i>	0	0	0	1(100)	1 (0.1)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.1)
	<i>An. evansae</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.1)
	Total	0	214 (20.3)	751 (71.4)	87 (8.3)	1052
Pacaraima	<i>An. darlingi</i>	0	0	0	1(100)	1 (1.0)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	2(25.0)	1 (12.5)	5(62.5)	8 (8.3)
	<i>An. braziliensis</i>	0	21(33.8)	18(29.0)	23(37.1)	62 (64.6)
	<i>An. peryassui</i>	0	6(33.3)	1(5.5)	11(61.1)	18 (18.7)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	0	1(100)	0	1 (1.04)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	3(50.0)	1(16.7)	2(33.3)	6 (6.2)
	Total	0	32 (33.3)	22 (22.9)	42 (43.8)	96
S.J. Baliza	<i>An. darlingi</i>	4(1.39)	108(37.8)	174(60.8)	0	286 (85.6)
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0	9(29.0)	22(71.0)	0	31 (9.3)
	<i>An. nuneztovari s.l.</i>	0	3(23.1)	9(69.2)	1(7.7)	13 (3.9)
	<i>An. argyritarsis</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.3)
	<i>An. strodei</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.3)
	<i>An. oswaldoi s.l.</i>	0	0	1(100)	0	1 (0.3)
	<i>An. triannulatus s.l.</i>	0	1(100)	0	0	1 (0.3)
	Total	4 (1.2)	122 (36.5)	207 (62.0)	1 (0.3)	334

between 22 °C and 28 °C, in partially shaded areas with surrounding vegetation. According to Hiwat and Bretas [14], the immature stages of *An. darlingi* develop in aquatic habitats partial shaded, with temperature and pH varying, respectively, between 20 and 28 °C, and 6.5 and 7 [14].

In Pacaraima, a mountainous region of an ombrophilous forest, *An. darlingi* larvae were not observed but one adult mosquito was collected. This species is not normally found in areas with high altitudes and in low temperatures [40]. However, recently it was collected at altitudes above 800 m in Venezuela, close to the border of Roraima [13]. Instead, *An. triannulatus s.l.* was the most abundant species collected in a single fishpond exposed to the sun that was located in a horticultural area and also in dams and streams in savannah and tropical forest larval habitats. *Anopheles triannulatus s.l.* seems to

be a generalist as it demonstrated both widespread distribution and little if any environmental constraints [20, 49, 50]. This species appears to play an important role in malaria transmission in the states of Amapá, Amazonas, Pará and Peru [21, 23, 51, 52].

*Anopheles albitarsis s.l.*, *An. nuneztovari s.l.*, *An. triannulatus s.l.*, *An. oswaldoi s.l.*, and *An. peryassui* were found in all municipalities but in low numbers. In addition to the composition of anopheline larval species, a total of 1488 adult female *Anopheles* of 11 species were collected from all three municipalities. In São João da Baliza, where autochthonous malaria occurs, the most abundant species was *An. darlingi* (85.6%), while in Boa Vista, the municipality with a high number of imported cases, *An. albitarsis s.l.* (88.4%) was predominant, while *An. braziliensis* (64.6%) was abundant in Pacaraima. Except for *An. peryassui*, all species collected have been



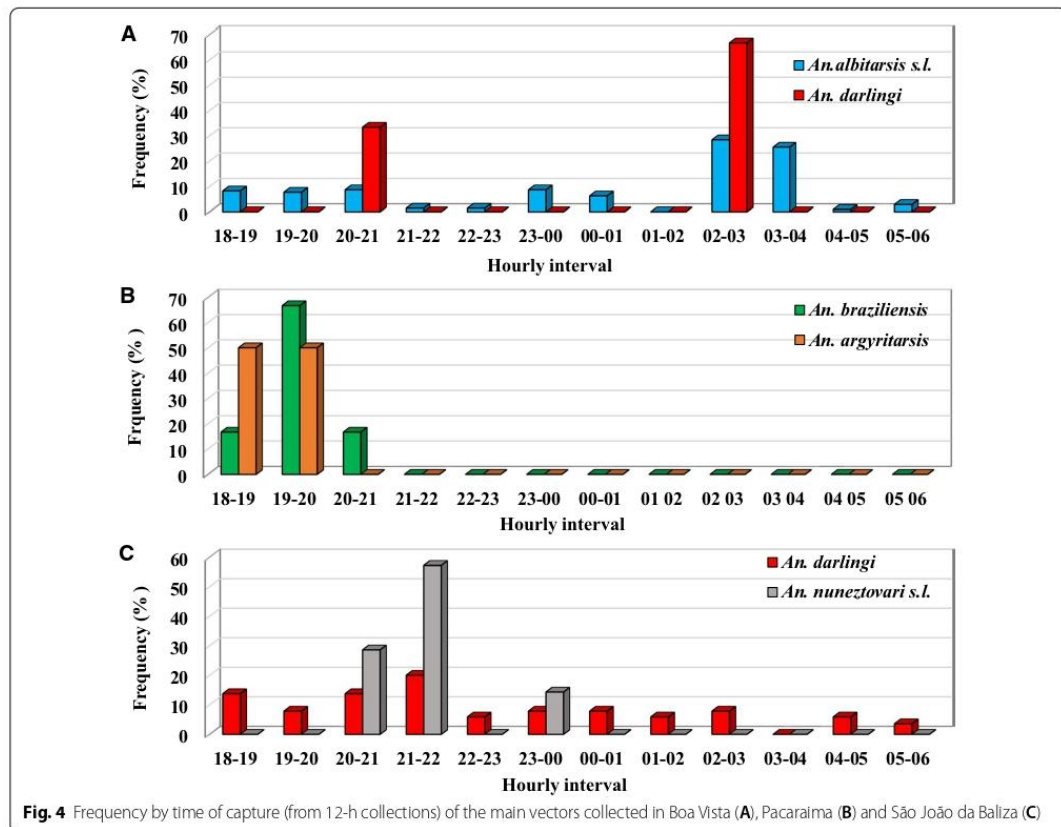
**Fig. 3** Seasonal dynamics of the most abundant anopheline species in Boa Vista (A), Pacaraima (B) and São João da Baliza (C)

implicated as malaria vectors in the Brazilian Amazon [21, 53, 54]. Previous studies in Boa Vista corroborate this report regarding the composition of species found, with a greater abundance of *An. albitarsis s.l.* and a lower density of *An. darlingi* [24–26]. *Anopheles albitarsis s.l.* also had the highest HBR with 10.8 bites in the extradomicile and 3.8 in the peridomicile. However, in the 12-h collection period it presented biting activity throughout the night, with the highest biting peak between 02:00 and 04:00, which differs from that previously reported [24–26]. *Anopheles albitarsis s.l.* has been assigned as an important vector in Para, Roraima, Amapá and Rondonia [23, 27, 54]. Because molecular analysis between members of *An. albitarsis*, *An. nuneztovari*, *An. triannulatus*, and *An. oswaldoi* complexes were not defined in this study, the presence of *An. janconnae* or other species from this complex could not be confirmed in the studied municipalities. Presently, the only species of the *An. albitarsis* complex identified in the state of Roraima, has been *An. janconnae*, considered an important malaria vector in savannah habitat around Boa Vista [26]. Entomological surveillance to identify the component members of these complexes are mandatory to update the geographic distribution, ecological and biological aspects, and its

possible role as a regional vector of malaria parasites in Roraima.

In Boa Vista, *An. darlingi* were collected in smaller numbers from 20:00 to 21:00 and 02:00 to 03:00, and its presence emerges with low HBR of 0.3 bites in the peridomicile, and 0.8 bites in the extradomicile. The presence of *An. darlingi*, even at low density in Boa Vista, can significantly contribute to transmission because it is highly anthropophilic and susceptible to *Plasmodium* parasites. Minimal biting indices could be sufficient to maintain the transmission cycle in Boa Vista [24, 51].

In São João da Baliza, *An. darlingi* was the most abundant species throughout the year, with a pronounced crepuscular biting activity in the peridomicile and extradomicile with early peak at 21:00–22:00 and throughout the night until early morning. Tadei et al. also found similar biting activity, whereas in Amapá this species showed a wide range of blood-feeding pattern [53–55]. In Venezuela, this mosquito bites throughout the night, with minor peaks at 23:00–00:00 and 03:00–04:00 [56]. The time of biting activity of anophelines depends on several factors, such as species density, seasonality and host availability [53, 57].



**Fig. 4** Frequency by time of capture (from 12-h collections) of the main vectors collected in Boa Vista (A), Pacaraima (B) and São João da Baliza (C)

**Table 5** Human biting rate per night by species in the peridomicile (PD) and extradomicile (ED) for each municipality

Municipalities	Species	PD	ED
Boa Vista	<i>An. albitarsis s.l.</i>	3.8	10.8
	<i>An. darlingi</i>	0.3	0.8
Pacaraima	<i>An. braziliensis</i>	0.26	0.22
	<i>An. argyritarsis</i>	0.03	0.01
São João da Baliza	<i>An. darlingi</i>	1.07	1.64
	<i>An. albitarsis s.l.</i>	0.08	0.22

Regarding seasonality, there was no significant correlation between abundance (of the species) and rainfall or the abundance of each species with locality or rainfall ( $p > 0.05$ ). The lack of correlation between anopheline species and rainfall could be due to the variability in mosquito abundance among localities. In Boa Vista, the highest density of *An. albitarsis s.l.* occurred during the dry

season but it was also collected in the period of high rainfall in 2018. *Anopheles darlingi* showed a peak after the rainy season (transition from rainy to dry season), in both years of collection, and a slightly lower peak in the middle of the rainy season, only in 2018. In Rondonia, genetic differences between the populations of *An. darlingi* were characterized by microsatellites with distinct seasonal patterns [58], one of which, population A, presented the highest density at the end of the rainy season, and was characterized as a less abundant population in interior regions than in riparian areas. Another sub-population, population B, peaked at the beginning of the rainy season and was more abundant in the interior.

The HBR per night for *An. darlingi* was also considered high in this municipality with 1.64 bites in the extradomicile and 1.07 in the peridomicile. This likely contributes to transmission in this municipality. Heterogeneous biting behaviour of *An. darlingi* in terms of blood feeding inside and outside houses and variations in the peak time

of biting have been shown by numerous studies carried out across the Amazon and in Venezuela and French Guiana [15, 40, 47, 51, 56, 59, 60]. This behaviour is considered the main cause of the ineffectiveness of insecticide sprayed inside houses [61, 62]. One of the control measures used in the malaria control programme in Roraima is indoor residual spraying, which may explain the exophilic behaviour of this species in the studied area.

In addition to the presence of *An. darlingi*, *An. nuneztovari s.l.* and *An. albitarsis s.l.* were observed in the peridomicile and the extradomicile, but in low numbers compared to that of *An. darlingi*; *An. nuneztovari s.l.* was the second-most abundant species in São João da Baliza. This species is considered a primary malaria vector in Venezuela, Peru and Colombia [13, 63–65]. In Brazil, *An. nuneztovari s.l.* has been found naturally infected with *P. vivax* and *P. falciparum* in the Amazonian region and it has been incriminated as local vector in Amapá [21, 35, 53, 54]. However, most of Brazilian populations of *An. nuneztovari s.l.* are predominantly zoophilic and seem not to sustain malaria transmission in the absence of the primary vector *An. darlingi* [15, 66]. In the urban areas of Roraima, studies have shown a low population density and a low number of infectious *An. nuneztovari s.l.* [25].

The abundance of *An. darlingi* throughout the year in São João da Baliza, along with their propensity to seek hosts throughout the night, and their ability to adapt host-seeking behaviour to local environments contributes to their impact as the most important vector in this municipality. In contrast in Pacaraima, since *An. braziliensis* was the predominant species, most adults were collected in the Shannon trap, where a horse was used for attraction. *Anopheles braziliensis* is present in most Amazonian states and is considered a secondary vector because it is primarily zoophilic and exophilic and are rarely involved in malaria transmission [25, 40]. Consoli and Lourenço-de-Oliveira [40], claimed that *An. braziliensis* can be found biting during the day, especially when the host is relatively close to its larval habitat [40]. Importantly, it has been found to be infected with human malaria parasites in the states of Amazonas, Amapá, Rondônia and Roraima [15, 19, 54, 67]. Only one specimen of *An. darlingi* was collected in Pacaraima, but there is a report predicting the presence of this vector in indigenous areas in this municipality, where most of the autochthonous cases occur [1, 68]. Taken together, *An. braziliensis* may play some role in malaria transmission in Pacaraima when at high densities.

## Conclusion

This study showed a diversity of anopheline larvae species and habitats in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza. *Anopheles darlingi* appeared to be the most

important vector in São João da Baliza, the area of autochthonous malaria, and *An. albitarsis s.l.* and *An. braziliensis* in areas of low transmission, although there are increasing reports of imported malaria. Considering the behaviour of the vectors in Boa Vista, Pacaraima and São João da Baliza, interventions such as intradomiciliary spraying will likely be insufficient to reduce malaria transmission. It can be speculated that the local vector assemblage in Boa Vista is sufficient to sustain the disease, and also provides a time buffer to mitigate the effects that imported cases would otherwise have if *An. darlingi* were more prevalent. This circumstance offers an opportunity to reduce the effects of cross-border malaria via early diagnosis and timely treatment. In addition, environmental management of vector larval habitats and health education actions addressing individual and collective forms of prevention are indicated.

## Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12936-021-04033-1>.

**Additional file 1: Fig. S1.** Dispersion graph of anopheline mosquitoes by mean intensity of rain, temperature and species.

## Acknowledgements

We thank the technical team of the State Entomology Center for their support in the fieldwork and the mapping of larval habitats and the Secretary of Health of Roraima—General Coordination for Health Surveillance for fieldwork support. We also appreciate the reviewers for providing helpful comments and suggestions.

## Authors' contributions

JOF, TFSN, and AAE conceived the idea and participated in the study design. TFSN, NCVA, MSASN, and JL were responsible for the sample collection. MSASN, JOF, NCVA, JL, TMC, and JS performed the experiments and analysed the data. NCVA drafted the manuscript, and JOF, TFSN and AAE performed revisions. All authors read, corrected and approved the final manuscript.

## Funding

The study received financial support from PAEF (IOC-023-FIO-18-2-47 and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001. JOF was the recipient of a Research Productivity Fellowship from the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq). AAE was supported by a grant from the US National Institutes of Health, U19AI089681. The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation.

## Availability of data and materials

The datasets during and/or analysed during the current study available from the corresponding author on reasonable request.

## Declarations

### Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

### Consent for publication

Not applicable.

### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

**Author details**

<sup>1</sup>Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, Brasil. <sup>3</sup>Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>4</sup>Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>5</sup>Department of Biology/Institute for Genomics and Evolutionary Medicine (iGEM), Temple University, Philadelphia, PA, USA.

Received: 14 December 2021 Accepted: 18 December 2021  
Published online: 14 January 2022

**References**

- Ministério da Saúde, Brasil. Datasus. Sivep Malária. Sistema Eletrônico do Serviço de Informações ao Cidadão (e-SIC). 2021 [Available from: <https://esic.cgu.gov.br/sistema/site/index.aspx>]. Information
- Arisco NJ, Peterka C, Castro MC. Cross-border malaria in Northern Brazil. *Malar J*. 2021;20:135.
- Grillet ME, Moreno JE, Hernandez-Villena JV, Vincenti-Gonzalez MF, Noya O, Tami A, et al. Malaria in Southern Venezuela: the hottest hotspot in Latin America. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0008211.
- Carlos BC, Rona LDP, Christophides GK, Souza-Neto JA. A comprehensive analysis of malaria transmission in Brazil. *Pathog Glob Health*. 2019;25:834–6.
- Grillet ME, Hernandez-Villena JV, Llewellyn MS, Paniz-Mondolfi AE, Tami A, Vincenti-Gonzalez MF, et al. Venezuelan humanitarian crisis, resurgence of vector-borne diseases, and implications for spillover in the region. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:e149–61.
- Jaramillo-Ochoa R, Sippy R, Farrell DF, Cueva-Aponte C, Beltran-Ayala E, Gonzaga JL, et al. Effects of political instability in Venezuela on malaria resurgence at Ecuador-Peru border, 2018. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:834–6.
- Grillet ME, Villegas L, Oletta JF, Tami A, Conn JE. Malaria in Venezuela requires response. *Science*. 2018;359:528.
- Louzada J, de Almeida NCV, de Araujo JLP, Silva J, Carvalho TM, Escalante AA, et al. The impact of imported malaria by gold miners in Roraima: characterizing the spatial dynamics of autochthonous and imported malaria in an urban region of Boa Vista. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2020;115:e200043.
- Vreden SG, Jitan JK, Bansie RD, Adhin MR. Evidence of an increased incidence of day 3 parasitaemia in Suriname: an indicator of the emerging resistance of *Plasmodium falciparum* to artemether. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108:968–73.
- Chenet SM, Akinyi Okoth S, Huber CS, Chandrasekhar J, Lucchi NW, Talundzic E, et al. Independent emergence of the *Plasmodium falciparum* kelch propeller domain mutant allele C580Y in Guyana. *J Infect Dis*. 2016;213:1472–5.
- Pacheco MA, Forero-Pena DA, Schneider KA, Chavero M, Gamardo A, Figueroa L, et al. Malaria in Venezuela: changes in the complexity of infection reflects the increment in transmission intensity. *Malar J*. 2020;19:176.
- Lucchi NW, Abdallah R, Louzada J, Udhayakumar V, Oliveira-Ferreira J. Molecular surveillance for polymorphisms associated with artemisinin-based combination therapy resistance in *Plasmodium falciparum* isolates collected in the State of Roraima. *Brazil Am J Trop Med Hyg*. 2020;102:310–2.
- Sinka ME, Rubio-Palis Y, Manguin S, Patil AP, Temperley WH, Gething PW, et al. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic precis. *Parasit Vectors*. 2010;3:72.
- Hiwat H, Bretas G. Ecology of *Anopheles darlingi* Root with respect to vector importance: a review. *Parasit Vectors*. 2011;4:177.
- Tadei WP, Dutary TB. Malaria vectors in the Brazilian amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2000;42:87–94.
- Povoa MM, Conn JE, Schlichting CD, Amaral JC, Segura MN, Da Silva AN, et al. Malaria vectors, epidemiology, and the re-emergence of *Anopheles darlingi* in Belem, Para. *Brazil J Med Entomol*. 2003;40:379–86.
- Moutinho PR, Gil LH, Cruz RB, Ribolla PE. Population dynamics, structure and behavior of *Anopheles darlingi* in a rural settlement in the Amazon rainforest of Acre. *Brazil Malar J*. 2011;10:174.
- Rufalco-Moutinho P, Schweigmann N, Bergamaschi DP, Mureb Sallum MA. Larval habitats of *Anopheles* species in a rural settlement on the malaria frontier of southwest Amazon. *Brazil Acta Trop*. 2016;164:243–58.
- Lourenco-de-Oliveira R, Guimaraes AE, Arle M, da Silva TF, Castro MG, Motta MA, et al. Anopheline species, some of their habits and relation to malaria in endemic areas of Rondonia State, Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1989;84:501–14.
- McKeon SN, Schlichting CD, Povoa MM, Conn JE. Ecological suitability and spatial distribution of five *Anopheles* species in Amazonian Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;88:1079–86.
- de Arruda M, Carvalho MB, Nussenzweig RS, Maracic M, Ferreira AW, Cochrane AH. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in northern Brazil identified by immunoassay. *Am J Trop Med Hyg*. 1986;35:873–81.
- Barros FS, Honorio NA, Arruda ME. Mosquito anthropophily: implications on malaria transmission in the Northern Brazilian Amazon. *Neotrop Entomol*. 2010;39:1039–43.
- de Oliveira-Ferreira J, Lourenco-de-Oliveira R, Teva A, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT. Natural malaria infections in anophelines in Rondonia State, Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 1990;43:6–10.
- de Barros FS, Honorio NA. Man biting rate seasonal variation of malaria vectors in Roraima. *Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:299–302.
- Silva-Vasconcelos A, Kato MY, Mourao EN, de Souza RT, Lacerda RN, Sibajev A, et al. Biting indices, host-seeking activity and natural infection rates of anopheline species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:151–61.
- Povoa MM, de Souza RT, Lacerda RN, Rosa ES, Galiza D, de Souza JR, et al. The importance of *Anopheles albittarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101:163–8.
- Santos EA, Sucupira IMC, de Oliveira Martins BM, de Paula SEGRJ, Catete CP, de Souza RTL, et al. VK210 and VK247 genotypes of *Plasmodium vivax* in anopheline mosquitoes from Brazilian Amazon. *Sci Rep*. 2019;9:9391.
- Motoki MT, Linton YM, Conn JE, Ruiz-Lopez F, Wilkerson RC. Phylogenetic network of mitochondrial COI gene sequences distinguishes 10 taxa within the neotropical Albitarsis Group (Diptera: Culicidae), confirming the separate species status of *Anopheles albittarsis* H (Diptera: Culicidae) and revealing a novel lineage *Anopheles albittarsis* J. *J Med Entomol*. 2021;58:599–607.
- Brochero HH, Li C, Wilkerson RC. A newly recognized species in the *Anopheles (Nyssorhynchus) albittarsis* complex (Diptera: Culicidae) from Puerto Carreno. Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76:1113–7.
- Wilkerson RC, Foster PG, Li C, Sallum MA. Molecular phylogeny of neotropical *Anopheles (Nyssorhynchus) Albitarsis* species complex (Diptera: Culicidae). *Ann Entomol Soc Am*. 2005;98:918–25.
- Gutierrez LA, Orrego LM, Gomez GF, Lopez A, Luckhart S, Conn JE, et al. A new mtDNA COI gene lineage closely related to *Anopheles janconnae* of the Albitarsis complex in the Caribbean region of Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105:1019–25.
- Zuniga MA, Rubio-Palis Y, Brochero H. Updating the bionomy and geographical distribution of *Anopheles (Nyssorhynchus) albittarsis* F: a vector of malaria parasites in northern South America. *PLoS One*. 2021;16:e0253230.
- Klein TA, Lima JB, Tada MS. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes to *Plasmodium falciparum* in Rondonia. *Brazil Am J Trop Med Hyg*. 1991;44:598–603.
- Conn JE, Wilkerson RC, Segura MN, de Souza RT, Schlichting CD, Wirtz RA, et al. Emergence of a new neotropical malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;66:18–22.
- Galardo AK, Arruda M, D'Almeida Couto AA, Wirtz R, Lounibos LP, Zimmerman RH. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76:461–9.
- Moreno JE, Rubio-Palis Y, Paez E, Perez E, Sanchez V, Vaccari E. Malaria entomological inoculation rates in gold mining areas of Southern Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:764–8.

37. Jiménez PCJ, Wirtz R, Brochero H. *Anopheles* (Diptera: Culicidae) vectores de malaria en el municipio de Puerto Carreño, Vichada. *Colombia Biomédica*. 2012;32:13–21.
38. Rosa-Freitas MG, Tsouris P, Peterson AT, Honorio NA, de Barros FS, de Aguiar DB, et al. An ecoregional classification for the state of Roraima, Brazil: the importance of landscape in malaria biology. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:349–57.
39. Barni PE, Manzi AO, Condé TM, Barbosa RI, Fearnside PM. Spatial distribution of forest biomass in Brazil's state of Roraima, northern Amazonia. *Forest Ecol Manag*. 2016;377:170–81.
40. Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro, Brazil: Fiocruz; 1994.
41. Nasci RS. A lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. *Mosq News*. 1981;41:808–11.
42. Lima JB, Galardo AK, Bastos LS, Lima AW, Rosa-Freitas MG. MosqTent: An individual portable protective double-chamber mosquito trap for anthropophilic mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11:e0005245.
43. Nasi SMI, Amarasekara S, Wickremasinghe R, Fernando D, Udagama P. Prevention of re-establishment of malaria: historical perspective and future prospects. *Malar J*. 2020;19:452.
44. Sanchez-Ribas J, Oliveira-Ferreira J, Gimnig JE, Pereira-Ribeiro C, Santos-Neves MSA, Silva-do-Nascimento TF. Environmental variables associated with anopheline larvae distribution and abundance in Yanomami villages within unaltered areas of the Brazilian Amazon. *Parasit Vectors*. 2017;10:571.
45. Rubio-Palis Y, Bevilacqua M, Medina DA, Moreno JE, Cardenas L, Sanchez V, et al. Malaria entomological risk factors in relation to land cover in the Lower Caura River Basin, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108:220–8.
46. Barros FS, Arruda ME, Gurgel HC, Honorio NA. Spatial clustering and longitudinal variation of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) larvae in a river of the Amazon: the importance of the forest fringe and of obstructions to flow in frontier malaria. *Bull Entomol Res*. 2011;101:643–58.
47. Charlwood JD. Biological variation in *Anopheles darlingi* Root. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996;91:391–8.
48. Hiwat H, Issaly J, Gaborit P, Somai A, Samjhawan A, Sardjoe P, et al. Behavioral heterogeneity of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) and malaria transmission dynamics along the Maroni River, Suriname, French Guiana. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104:207–13.
49. Ramirez PG, Stein M, Etchepare EG, Almiron WR. Diversity of anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) and classification based on the characteristics of the habitats where they were collected in Puerto Iguazu, Misiones, Argentina. *J Vector Ecol*. 2016;41:215–23.
50. Moreno JE, Rubio-Palis Y, Sanchez V, Martínez Á. Population fluctuation and larval habitat of anopheline in the Municipality of Sifontes, Bolívar State, Venezuela. *Bol Mal Salud Amb*. 2015;55:52–68.
51. Deane LM. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1986;81:5–14.
52. Hayes J, Calderon G, Falcon R, Zambrano V. Newly incriminated anopheline vectors of human malaria parasites in Junin Department, Peru. *J Am Mosq Control Assoc*. 1987;3:418–22.
53. Tadei WP, Thatcher BD, Santos JM, Scarpassa VM, Rodrigues IB, Rafael MS. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;59:325–35.
54. Povoia M, Wirtz R, Lacerda R, Miles M, Warhurst D. Malaria vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96:179–84.
55. Voorham J. Intra-population plasticity of *Anopheles darlingi*'s (Diptera, Culicidae) biting activity patterns in the state of Amapá. *Brazil Rev Saude Publica*. 2002;36:75–80.
56. Moreno JE, Rubio-Palis Y, Paez E, Perez E, Sanchez V. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. *Med Vet Entomol*. 2007;21:339–49.
57. de Barros FS, Arruda ME, Vasconcelos SD, Luitgards-Moura JF, Confalonieri U, Rosa-Freitas MG, et al. Parity and age composition for *Anopheles darlingi* root (Diptera: Culicidae) and *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribalza (Diptera: Culicidae) of the northern Amazon Basin. *Brazil J Vector Ecol*. 2007;32:54–68.
58. Angella AF, Salgueiro P, Gil LH, Vicente JL, Pinto J, Ribolla PE. Seasonal genetic partitioning in the neotropical malaria vector *Anopheles darlingi*. *Malar J*. 2014;13:203.
59. Forattini OP. Exophilic behavior of *Anopheles darlingi* Root in a southern region of Brazil. *Rev Saude Publica*. 1987;21:291–304.
60. Vezeneho SB, Adde A, Pommier de Santi V, Issaly J, Carinci R, Gaborit P, et al. High malaria transmission in a forested malaria focus in French Guiana: how can exophagic *Anopheles darlingi* thwart vector control and prevention measures? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016;111:561–9.
61. Prussing C, Moreno M, Saavedra MP, Bickersmith SA, Gamboa D, Alava F, et al. Decreasing proportion of *Anopheles darlingi* biting outdoors between long-lasting insecticidal net distributions in peri-Iquitos, Amazonian Peru. *Malar J*. 2018;17:86.
62. Prado CC, Alvarado-Cabrera LA, Camargo-Ayala PA, Garzon-Ospina D, Camargo M, Soto-De Leon SC, et al. Behavior and abundance of *Anopheles darlingi* in communities living in the Colombian Amazon riverside. *PLoS One*. 2019;14:e0213335.
63. Rubio-Palis Y, Wirtz RA, Curtis CF. Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. *Acta Trop*. 1992;52:167–74.
64. Naranjo-Diaz N, Altamiranda-Saavedra M, Correa MM. *Anopheles* species composition and entomological parameters in malaria endemic localities of North West Colombia. *Acta Trop*. 2019;190:13–21.
65. Fajardo P, Alzate A. *Anopheles nuñeztovari* como vector de malaria en el Bajo Calima, Buenaventura. *Col Med*. 1987;18:14–8.
66. Marrelli MT, Floeter-Winter LM, Malafrente RS, Tadei WP, Lourenço-de-Oliveira R, Flores-Mendoza C, et al. Amazonian malaria vector anopheline relationships interpreted from ITS2 rDNA sequences. *Med Vet Entomol*. 2005;19:208–18.
67. Martins-Campos KM, Pinheiro WD, Vitor-Silva S, Siqueira AM, Melo GC, Rodrigues IC, et al. Integrated vector management targeting *Anopheles darlingi* populations decreases malaria incidence in an unstable transmission area, in the rural Brazilian Amazon. *Malar J*. 2012;11:351.
68. de Barros FS, de Aguiar DB, Rosa-Freitas MG, Luitgards-Moura JF, Gurgel HC, Honorio NA, et al. Distribution summaries of malaria vectors in the northern Brazilian Amazon. *J Vector Ecol*. 2007;32:161–7.

#### Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

#### Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more [biomedcentral.com/submissions](https://biomedcentral.com/submissions)



