



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado

**PADRONIZAÇÃO E USO DA ARMADILHA LUMINOSA
SILVA À BASE DE LEDS (LIGHT-EMITTING DIODES)
NAS CAPTURAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS NO
ESTADO DO MARANHÃO**

EUDIMARA CARVALHO DE ARAUJO

São Luís – MA

2021

EUDIMARA CARVALHO DE ARAUJO

**PADRONIZAÇÃO E USO DA ARMADILHA LUMINOSA
SILVA À BASE DE LEDS (LIGHT-EMITTING DIODES)
NAS CAPTURAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS NO
ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Francinaldo Soares Silva

São Luís – MA

2021

CARVALHO DE ARAUJO, EUDIMARA.

PADRONIZAÇÃO E USO DA ARMADILHA LUMINOSA SILVA À BASE DE LEDS LIGHT-EMITTING DIODES NAS CAPTURAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS NO ESTADO DO MARANHÃO / EUDIMARA CARVALHO DE ARAUJO. - 2021.

83 f.

Orientador(a): FRANCINALDO SOARES SILVA.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

1. Altura. 2. Armadilha Silva. 3. Atração. 4. Malária. I. SOARES SILVA, FRANCINALDO. II. Título.

EUDIMARA CARVALHO DE ARAUJO

**PADRONIZAÇÃO E USO DA ARMADILHA LUMINOSA
SILVA À BASE DE LEDS (LIGHT-EMITTING DIODES)
NAS CAPTURAS DE MOSQUITOS ANOFELINOS NO
ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Data: 10 / 06 /2021

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^o Dr. Francinaldo Soares Silva
Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia

Memória: Prof^o Dr. José Manuel Macário Rebêlo
Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia)

Titular: Prof^a Dra. Maisa da Silva Araújo
Doutora em Biologia Experimental

Titular: Prof^a Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro
Doutora em Ciências Biológicas (Entomologia)

Em cada busca, uma Gratidão
.... Em cada caminho, uma Reverência
.... Em cada processo, uma Evolução
.... Em cada evolução, uma Cura
.... Em cada cura, uma Resiliência
.... Em cada resiliência, uma Fé ...
Kiko Sorrentino

A Deus pelo dom da vida.

Ao meu orientador Francinaldo Soares Silva pelos ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde, força e oportunidade de me permitir concluir mais uma etapa importante da minha vida.

Ao meu orientador uma pessoa maravilhosa e um ótimo profissional, pela confiança, paciência, incentivo, ensinamentos e principalmente pela amizade. Obrigada por me ensinar que sem persistência, dedicação, estímulo e prazer naquilo que se faz elas não acontecem. Por ser uma pessoa positiva, alegre e confiante, por me mostrar o lado positivo das situações. Obrigada por tudo! Professor, amigo e pai científico.

As meninas do Laboratório de Entomologia médica (LEME) Mayara, Raísa e Joane pela companhia, por aguentarem o sol, a chuva e a poeira, pela coragem de ir de moto comigo e ajudar nas primeiras coletas deste estudo.

A prima Cleildes por abrir as portas de sua casa e nos ajudar a chegar nos povoados nas primeiras tentativas de encontrar locais para a realização de coletas de anofelinos no município de Cachoeira Grande-MA.

A prima Carmen pela recepção e orientação em sua casa na segunda tentativa de encontrar um local para a realização de coletas de anofelinos em área endêmica de malária no município de Centro Novo- MA. E aos agentes de endemia deste município pela colaboração com transporte, estadia e alimentação.

A dona Maria e seu esposo Sr. Benedito pela receptividade e por aceitarem a realização das coletas em sua propriedade.

Ao Sr. Elton por permitir a continuidade desse trabalho em sua propriedade.

A minha mãe que está ao meu lado em todos os momentos, pelo amor, carinho, incentivo, dedicação, por me fortalecer e apoiar nos meus sonhos.

Ao meu irmão Evyson por me ajudar nas minhas coletas durante esse período tão complicado que estamos vivendo que é a pandemia.

A minha vó Raimunda por sempre me receber tão bem em sua casa (São Luís), pelo carinho, auxílio, conselhos e pelas nossas longas conversas.

A Benedita e o Jefferson pela amizade, sinceridade, atenção, ajuda em todos os momentos e por contribuírem na minha formação, vocês foram essenciais no desenvolvimento desse estudo.

Aos professores Manuel Macário e Prof. Hermes Luz da banca de qualificação pela disposição e contribuição na minha formação acadêmica e pelas correções e dicas enriquecedoras para a melhoria deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, ótimos profissionais e pessoas maravilhosas, por todo cuidado, respeito, atenção e tratamento oferecido, que nos motiva a seguir com os estudos apesar das dificuldades.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pelas instruções e auxílio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa que foi muito importante para a realização deste estudo.

A Universidade Federal do Maranhão (UFMA) em especial ao Centro de Ciências Agrárias e ambientais (CCAA) pela oportunidade e por mais essa conquista na minha vida.

A todos que de alguma forma me ajudaram com a realização desse estudo.

Minha Gratidão a todos.

RESUMO

A malária caracteriza-se como uma doença infecciosa parasitária, transmitida ao homem durante a picada da fêmea de mosquitos anofelinos infectada. Essa doença tem permanecido ao longo do tempo como um problema persistente causando elevada mortalidade e morbidade principalmente entre as populações de países em desenvolvimento. Em razão da dinâmica de transmissão da malária ser variável em diferentes partes do mundo, destaca-se a importância de um dos componentes essenciais para o controle da malária que é a vigilância entomológica. Assim várias ferramentas têm sido empregadas como CDC (*Center for Disease Control and Prevention*, USA), HP, BG Sentinel, BG-Malaria. Essas armadilhas apresentam custo elevado e necessitam do uso de atrativo químicos para que ocorra a atração desses mosquitos, além de danificar os espécimes, dificultando o uso desse material para outras determinações entomológicas importantes para o conhecimento de aspectos relacionados à doença. Nesse sentido a presente pesquisa teve como finalidade a padronização e o uso da armadilha luminosa Silva para captura de mosquitos anofelinos. Esta armadilha mostrou-se eficiente na captura desses mosquitos em estudo prévio em área de criação de porcos, restando conhecer a sua eficiência na captura das espécies vetores em outros ambientes como na mata e no peridomicílio. Assim no primeiro momento, avaliou-se a fonte atrativa luminosa os diodos emissores de luz (LEDs), em três cores o azul (470 nm, 15.000 mcd), verde (520 nm, 20.000 mcd,) e ultravioleta (395 nm, 3000 mcd,) em ambiente peridomiciliar. No segundo momento, foi verificada a altura para melhor captura desses mosquitos, testando assim diferentes alturas como 0.5, 1.0, 1.5 e 2.0 metros, acima do solo em área de mata. E por fim, no terceiro momento, foi utilizada a armadilha Silva com a fonte luminosa e a altura mais efetiva, já encontrada. Realizou-se nesse último momento uma comparação com a armadilha convencional HP (controle), também em área de mata. Como resultado, obteve-se 9.009 espécimes de anofelinos em todo o estudo, com as seguintes espécies encontradas *Anopheles triannulatus* s.l, *An. argyritarsis*, *An. goeldii*, *An. rangeli*, *An. galvaoi*, *An. evansae*, *An. darlingi*, *An. mediopunctatus*, *An. neomaculipalpus*. Em relação ao primeiro momento um total de 3750 espécimes de anofelinos foram capturados, o verde atraiu (48.21%, 58.32 ± 13.93), seguido do LED azul (44.93%, 56.17 ± 14.44) e o ultravioleta (6.85%, 9.88 ± 1.74). No segundo momento foram coletados 2955 na seguinte ordem de captura 0.5m (17.63%, 30.65 ± 4.79), 1.0 m (28,29%, 44 ± 7.61), 1.5 m (32,04%, 47.35 ± 8.53), 2.0 m (22,03%, 34.26 ± 7.60). E no último momento armadilha Silva com LED verde 38,88% (59.73 ± 6.69), armadilha HP com LED verde 36,37% (55.87 ± 11.43), armadilha HP com luz incandescente 24,73% (38 ± 6.54). Maiores capturas ocorreram com armadilhas Silva com LEDs verdes na altura de 1,5 m acima do solo e o desempenho da armadilha Silva em comparação a armadilha HP com luz incandescente foi estatisticamente significativo. Ressaltando a importância da armadilha Silva e o uso dos LEDs em programas de monitoramento e possivelmente como um método de controle.

Palavras-chave: Malária; Armadilha Silva; Altura; Atração.

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease transmitted to man after exposure by the bites of infected anopheline females. For a long time, malaria has been a persistent health problem with high mortality and morbidity occurring mainly in the developing countries. As the transmission cycle of malaria varies worldwide, entomological surveillance is an important component in the fight against malaria. Thus, several collecting tools, such as the Center for Disease and Control and Prevention light trap (CDC), the light trap (HP), the BioGents® Sentinel and Malaria trap (BG-Sentinel; BG-Malaria) have been employed extensively. Such traps have some disadvantages such as high costs, need of chemical odors to attract mosquitoes and the problems of damaging the collected specimens, causing difficulties to species identification. Hence, this research aims at standardizing a passive light trap, the Silva Trap (ST), for the captures of anopheline mosquitoes in peridomicile and forest environments. This light trap was efficiently used for sampling anopheline mosquitoes in pig pens, but its efficiency in peridomicile and forest areas needs to be evaluated. Thus, in the first moment, three LED colors (blue, 470 nm, 15,000 mcd; green, 470 nm, 20,000 mcd; ultraviolet, 395 nm, 3,000 mcd) had their efficiency as light sources for sampling anopheline mosquitoes in the peridomicile settings evaluated. In the second moment, different heights (0,5m; 1,0m; 1,5m; 2,0m) for a better use of the Silva trap were evaluated. In the third moment, the most attractive color and the best height for installing the Silva trap were chosen to capture anopheline mosquitoes in a forest environment. In this later case, HP light traps were used as “control”. In total, 9,009 specimens and nine species were collected: *Anopheles triannulatus* s.l., *An. argyritarsis*, *An. goeldii*, *An. rangeli*, *An. galvaoi*, *An. evansae*, *An. darlingi*, *An. mediopunctatus* and *An. neomaculipalpus*. In the first moment, a total of 3,750 specimens was captured and the green LED attracted 48.21% (58.32 ± 13.93) followed by the blue LED (44.93%, 56.17 ± 14.44) and ultraviolet (6.85%, 9.88 ± 1.74). In the second moment, 2,955 anopheline mosquitoes were captured, with the following results: 0,5m (17.63%, 30.65 ± 4.79 /media $\pm$ SEM), 1,0 m (28,29%, 44 ± 7.61), 1,5 m (32,04%, 47.35 ± 8.53) and 2,0 m (22,03%, 34.26 ± 7.60). In the last moment, the Silva trap, with green LED, attracted 38,88% (59.73 ± 6.69), followed by the HP with green LED 36,37% (55.87 ± 11.43) and HP with incandescent light 24,73% (38 ± 6.54). The Silva trap with the green LED and deployed at 1,5m above soil was the most efficient mode of operation of the Silva light trap, with a significant statistical result only observed between the Silva trap with a green LED and the HP with incandescent light, demonstrating that the use of the Silva trap and LEDs in the monitoring and, possibly, controlling programs should be considered.

Key- words: Malaria; Trap Silva; Height; Attraction

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mapa do Brasil mostrando às áreas de transmissão da malária com variados níveis de risco no ano de 2018.....	21
Figura 2. Mapa da distribuição dos principais vetores da malária nas Américas.....	23
Figura 3. Ciclo de transmissão do parasita da malária.....	30
Figura 4. Captura de mosquitos por meio de atração humana em uma área de mata.....	33
Figura 5. Armadilhas utilizadas nas capturas de mosquitos anofelinos. (A) Armadilha Silva. (B) Armadilha HP.....	37
Figura 6. Fluxograma dos experimentos, mostrando cada etapa das atividades realizadas.....	38
Figura 7. Área próxima aos pontos de coleta. (A e B) fotos das áreas próximas aos pontos de coleta, mostrando (A) o açude e a (B) horta da vila Emídio.....	39
Figura 8. Localização geográfica da Vila Emídio, próximo a Chapadinha-MA.....	39
Figura 9. Fazenda Cantinho (A) entrada da fazenda e em (B) foto do caminho que dá acesso ao local onde se colocavam as armadilhas Silva.....	40
Figura 10. Localização geográfica da Fazenda Cantinho em Chapadinha-MA.....	41
Figura 11. Armadilhas Silva utilizadas no primeiro experimento. (A) Armadilha Silva com LEDs na cor verde, (B e C) Armadilhas Silva com LEDs na cor azul, (D) Armadilha Silva com LEDs na cor ultravioleta.....	42
Figura 12. Local de coleta utilizado no segundo experimento, mostrando dois pontos em (A) Armadilha Silva a 2 metros do solo e em (B) armadilha Silva a 0,5 m do solo.....	43

Figura 13. Armadilhas utilizadas no terceiro experimento. (A) Armadilha HP com luz incandescente, (B) Armadilhas Silva com LEDs na cor verde (C) Armadilha HP com LED na cor verde.....	44
Figura 14. Algumas características morfológicas utilizadas na identificação das espécies de <i>Anopheles</i> adulto. (A) Tarso e (B) Asa, características morfológicas utilizadas na identificação da espécie.....	45
Figura 15. Média ($\pm$ SEM) do número de indivíduos machos e fêmeas totais capturados com o auxílio da armadilha luminosa Silva com luz artificial o diodo emissor de luz utilizando as três cores verde, azul e ultravioleta.....	47
Figura 16. Média ($\pm$ SEM) do número de anofelinos capturados com armadilhas Silva utilizando as três cores de LEDs em área peridomiciliar do município de Chapadinha-MA.....	48
Figura 17. Média ($\pm$ SEM) de indivíduos de <i>An. darlingi</i> capturado pelos diferentes tratamentos utilizados que foram os LEDs verde, azul e ultravioleta em uma área de peridomicílio no município de Chapadinha-MA.....	49
Figura 18. Média ($\pm$ SEM) de mosquitos machos e fêmeas totais coletados em armadilha luminosa Silva com LED verde, utilizando todos os tratamentos (0.5m, 1.0m, 1.5m e 2.0m) no período de setembro a outubro de 2020.....	51
Figura 19. Média ($\pm$ SEM) do número de anofelinos coletados utilizando armadilhas Silva com LEDs verde em quatro alturas diferentes em área de mata no município de Chapadinha-MA.....	52
Figura 20. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos machos e fêmeas totais capturados com diferentes tipos de armadilhas, armadilha Silva com LED verde, armadilha HP com luz incandescente e armadilha HP com LED verde, em uma área de mata em Chapadinha-MA.....	53
Figura 21. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos capturados com dois tipos de armadilhas: a HP e a Silva e em três opções de tratamentos, armadilha HP com LED verde, armadilha HP com luz incandescente e armadilha Silva com LED verde em uma área de mata no	

município de Chapadinha-MA, entre os meses de novembro a janeiro de 2021.....54

Figura 22. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos coletados utilizando dois tipos de tratamentos armadilha HP com LED Verde e armadilha Silva com LED verde.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de Anofelinos coletados na armadilha Silva em três configurações de tratamentos que foram LEDs verde, azul e ultravioleta no município de Chapadinha-MA.....	46
Tabela 2. Espécies de anofelinos coletados com a armadilha Silva usando as três cores de fontes luminosas de LEDs verde, azul e ultravioleta em uma área peridomiciliar do município de Chapadinha- MA.....	47
Tabela 3. Espécies de anofelinos capturados em uma área de mata no município de Chapadinha- MA, por meio de armadilhas luminosas Silva com LED verde, dispostas em alturas diferentes (0,5m, 1,0m, 1,5m e 2,0m)	50
Tabela 4. Abundância de espécies de anofelinos coletados com auxílio da armadilha Silva acoplada com Led verde em diferentes alturas nos meses de setembro a outubro de 2020 na fazenda Cantinho em Chapadinha-MA.....	51
Tabela 5. Quantidade de espécies de anofelinos capturados nos meses de novembro a janeiro de 2021 em área de mata em Chapadinha-MA, com o auxílio das armadilhas Silva com LED verde e armadilha HP com luz incandescente e armadilha HP com LED verde.....	53
Tabela 6. Quantidade total de anofelinos por tratamento e espécies capturados com auxílio de armadilha Silva e armadilha HP, em área de mata no município de Chapadinha-MA.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Malária	19
2.2 Vetores da malária	21
2.3 Subgênero <i>Nyssorhynchus</i> Blanchard, 1902.....	22
2.4 Subgênero <i>Kerteszia</i>	26
2.5 Ciclo de transmissão da malária	28
2.6 Medidas de controle da malária e do vetor	30
2.7 Monitoramento entomológico.....	31
3 OBJETIVOS	35
3.1 Geral.....	35
3.2 Específicos	35
4 MATERIAL E METÓDOS	35
4.1 Área de estudo	35
4.2 Amostragem.....	36
4.5 Delineamento experimental	37
4.6 Áreas de coletas	38
5 IDENTIFICAÇÃO DOS ANOFELINOS.....	44
6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	45
7 RESULTADOS	46
Momento 1.....	46
Momento 2.....	49
Momento 3.....	52
8 DISCUSSÃO	56
9 CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXO.....	71

1 INTRODUÇÃO

A malária humana é uma doença que se mantém como um dos principais problemas de saúde pública do mundo, vem atingindo principalmente as populações dos países em desenvolvimento, com diferentes padrões de transmissão e intensidade, o que dificulta a sua erradicação em áreas endêmicas (WHO, 2018). Conforme WHO (2016) 132 milhões de pessoas vivem em áreas consideradas de risco e 21 milhões de pessoas em áreas de alto risco. Estima-se que em 2019, 229 milhões de pessoas tenham contraído o protozoário da malária e 409.000 casos de mortes tenham ocorrido no mundo. Os países da África respondem mundialmente por 94% dos casos e morte por malária (WHO, 2020).

A malária é caracterizada como uma doença infecciosa desencadeada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium*. É transmitida aos seres humanos durante a atividade hematofágica das fêmeas dos mosquitos anofelinos quando suas glândulas salivares estão infectadas. Dos parasitas que causam a malária humana, dois ocasionam maiores impactos para a saúde pública e respondem pela maioria dos casos de mortalidades e morbidade pelo mundo, sendo eles o *Plasmodium falciparum* e o *P. vivax*, ambos com capacidade de desencadear a forma grave da doença (RECHT et al., 2017).

Os mosquitos transmissores de malária pertencem à ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Anophelinae e gênero *Anopheles* Meigen (1818), (BRASIL, 2019). Este gênero possui 480 espécies descritas, sendo que dessas, aproximadamente 70 são capazes de transmitir a malária humana e 41 são designadas como espécies principais ou dominantes (HAY et al., 2010; SERVICE; TOWSON, 2002; SINKA et al., 2012; HARBACH, 2020).

Considerando que a dinâmica de transmissão da malária é variável em diferentes partes do mundo, destaca-se a importância da realização da vigilância entomológica, a fim de conhecer e monitorar os insetos vetores, definir os riscos de transmissão como também a dinâmica da infecção na área. Esses dados são necessários não só para direcionar os programas de controle vetorial, como também, verificar a efetividade dessas intervenções quando aplicadas (GUEYE et al., 2016).

Atualmente os esforços para o controle e prevenção contra os insetos vetores da malária é feito por meio do uso de produtos químicos pertencentes à classe dos piretróides, como a pulverização residual interna e o uso de mosquiteiros impregnados com inseticidas. No entanto, o uso constante tem levado à diminuição de sua efetividade,

com um aumento considerável de 71% em 2010 para 81% em 2016 dos países que relataram resistência a esse tipo de controle (WHO, 2017).

As medidas de controle dos anofelinos abrangem técnicas para o levantamento da abundância das espécies. Exemplos de armadilhas usualmente empregadas para estudos entomológicos são as do tipo CDC (*Center for Disease Control and Prevention*, USA), HP, Mosquito Magnet Liberty Plus™ (MMLP), BG Sentinel (Biogents, A.G. Regensburg, Germany), BG-Malaria (BGM) (RUBIO-PALIS et al., 2012; BATISTA et al., 2017; LIMA et al., 2014; COSTA-NETA et al., 2017; PONLAWAT et al., 2017). Para melhorar a eficiência de captura destas armadilhas, geralmente são combinadas com diferentes tipos de atrativos, como químico (dióxido de carbono, octenol, ácido lático, etc.), físico (cor e luz) e o biológico (animal) entre outros (LIMA et al., 2014).

As armadilhas luminosas do tipo CDC e HP, comumente empregadas na captura de mosquitos entre eles os vetores da malária, apresentam várias desvantagens (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1962; GAMA et al., 2007; SILVA et al., 2019). Essas armadilhas utilizam motor e hélices para a sucção dos insetos, o que danifica os espécimes que estão sendo capturados, prejudicando na identificação taxonômica. Outra desvantagem no uso da CDC é a sua dependência de eletricidade, como fonte de energia para o motor e a lâmpada (LIMA et al., 2014; COSTA-NETA et al., 2017). Além disto, existem as complicações de montagem, peso, manutenção e usabilidade em campo.

As alternativas disponíveis para monitoramentos como Mosquito Magnet Liberty Plus, BG Sentinel, BG-Malaria contém não só motores de sucção, como também empregam atrativos químicos (RUBIO PALIS et al., 2012; BATISTA et al., 2017; PONLAWAT et al., 2017). O uso dos atrativos químicos apresenta várias limitações como, por exemplo, a indisponibilidade comercial nas áreas de estudo; a substituição frequente destes compostos, de acordo com as condições climáticas da região; elevado custo de aquisição, o que torna seu uso um desafio logístico inviável considerando a alta carga global da malária (SMALLEGANGE et al., 2010).

Os métodos biológicos utilizados para captura e monitoramento dos vetores da malária utilizam o ser humano ou animais como fonte atrativa para os mosquitos. Esta técnica é classificada como método efetivo de coleta. Contudo, por questões de segurança, foi por algum tempo motivo de debates nos comitês de ética por expor o coletor ao risco de contrair a doença, além da desvantagem de que a quantidade de insetos coletados pode variar com a atratividade do coletor, ou seja, pela quantidade de substâncias químicas

liberadas e a sua agilidade na captura (MUKABANA et al., 2002; LIMA et al., 2014; ACHEE et al., 2015).

Ao longo do tempo, devido à constância dos casos de malária e a necessidade de desenvolver métodos mais eficientes para a captura de mosquitos anofelinos e que não venham colocar o coletor em riscos (MALITI et al., 2015; WHO, 2017), tem se buscado o aperfeiçoamento das armadilhas luminosas (COSTA-NETA et al., 2017, SILVA et al., 2019). Nesse contexto, destacamos o estudo realizado por Costa-Neta et al. (2017) utilizando armadilhas HP com a tecnologia LED (Light- Emitting Diode), que constatarem a eficiência do uso desse atrativo luminoso na captura de mosquitos anofelinos em comparação as lâmpadas incandescentes.

É importante notar que o uso dessa tecnologia apresenta várias vantagens frente às fontes luminosas usuais como, por exemplo, não quebram com facilidade, vida útil prolongada, baixo custo econômico e emite luz em um comprimento de cor específica. Outro fato importante é que as lâmpadas incandescentes dispersam a maior parte de sua energia no espectro do infravermelho, espectro este sem responsividade pelos fotorreceptores da maioria dos insetos (BRISCOE; CHITTKA, 2001; COHNSTAEDT et al., 2008), assinalando o uso dos LEDS como sendo um método de atração de uso viável em monitoramentos entomológicos (COSTA-NETA et al., 2017).

Considerando que a busca de técnicas de captura de anofelinos deve ser contínua, foi desenvolvida uma nova armadilha luminosa chamada de armadilha Silva (depósito de patente nº BR1020150256710, data de depósito 08/10/2015; inventor: Francinaldo Soares Silva, UFMA) para captura de pequenos insetos voadores. Essa armadilha apresenta várias vantagens como fácil manuseio, fácil montagem, baixo peso, utiliza como fonte luminosa os LEDS, ausência de motor ou aparato similar, além de manter os insetos vivos o que possibilita ainda utilizá-los para outras determinações entomológicas (SILVA et al., 2019).

Quando testada em campo, a armadilha Silva apresentou uma eficiência de captura maior em relação à armadilha luminosa do tipo CDC nas capturas dos mosquitos anofelinos (SILVA et al., 2019). Tomando como referência tais vantagens, o presente estudo visa verificar a eficiência de captura da armadilha Silva em diferentes panoramas ecológicos, e por meio de testes experimentais definir a forma adequada de uso e possivelmente encontrar uma estratégia que auxiliará em estudos de monitoramento e controle desses vetores para proteção da saúde humana.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Malária

A malária é uma das doenças parasitárias que mais afligem as populações das regiões tropicais e subtropicais, ocorrendo com maior frequência nos países do continente africano. Segundo a Organização Mundial de Saúde, essa enfermidade atinge pelo menos 81 países, e aproximadamente 228 milhões de casos de malária foram registrados no mundo no ano de 2018, relacionados a uma estimativa de 405.000 mil mortes. Com bases nesses registros de dados, 93% desses casos clínicos e 94% das mortes por malária foram originados na África (WHO, 2019).

Essa enfermidade tem como agentes etiológicos cinco espécies de parasitas pertencentes ao gênero *Plasmodium*, sendo eles o *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* (LALLOO et al., 2016; LEBUT et al., 2020). Esses parasitas apresentam distribuição geográfica variável pelo mundo, assim o *P. falciparum* é geralmente associado aos episódios clínicos de malária na região da África; o *P. vivax* é o agente biológico mais comum da malária nas Américas e Ásia (WHO, 2019); o *P. malariae* tem registros pela África, Ásia e América do Sul (YERLIKAYA et al., 2018); o *P. ovale*, coexistindo com outro importante protozoário, possui a maior incidência de infecções por essa espécie na África subsaariana, porém, ocorre em outros continentes embora com uma menor frequência (ZHOU et al., 2019); e o *P. knowlesi* com predominância alta na Ásia (ZAW; LIN, 2019).

Embora seja possível a ocorrência simultânea dessas espécies no mesmo continente, é importante destacar as limitações de alguns países afetados por essa doença, em grande parte são áreas que estão em desenvolvimento. Nesse sentido, carentes de infraestrutura, tecnologias, recursos financeiros e profissionais de saúde especializados e experientes, necessários para lidar com a correta identificação desses protozoários, o que pode resultar na subestimação de muitos casos de malária mundialmente, pela falta de diagnósticos mais eficientes e completos (YERLIKAYA et al., 2018; ZHOU et al., 2019).

Dos parasitas responsáveis pela malária humana, particularmente dois, o *P. falciparum* e o *P. vivax*, respondem pela maioria dos casos globais de infecções. O *P. falciparum* é o protozoário que contribuiu com a maioria dos casos clínicos e mortalidade por malária, principalmente na África, com 99, 7% dos casos. Em 2018, seguiu-se com o

maior número de infecções por essa espécie na região do mediterrâneo oriental, com uma prevalência de 50% sobre os casos determinados. Quanto ao *P. vivax*, estima-se que 53% dos casos de malária que ocorreram no mundo estejam associados ao Sudeste Asiático, sendo que deste total 47% foram diagnosticados na Índia. As infecções por este parasita prevalecem na região das Américas, com uma estimativa de 75% dos casos de malária atribuídos a esta espécie de plasmódio (WHO, 2019).

A apresentação clínica da malária varia segundo a espécie de protozoário parasita infectante. Desta forma, classifica-se a doença em dois tipos, podendo ser a malária não complicada ou malária complicada (LALLOO et al., 2016; LEBUT et al., 2020). Os sintomas da malária se manifestam de acordo com o histórico de vida do indivíduo, se já foi acometido outras vezes pelo protozoário, se possui comorbidades, se está gestante ou não, profilaxia, como também a idade, entre outras situações, que possuem relação com as manifestações clínicas (LALLOO et al., 2016).

A população em risco de adquirir essa infecção no continente americano é aproximadamente 138 milhões de pessoas, localizadas em 19 países classificados como endêmicos. Dos países atingidos pelo *Plasmodium*, três são responsáveis por 80% dos casos de malária nas Américas, sendo eles Brasil, Colômbia e Venezuela. É importante destacar que dentre os continentes que são afetados por essa infecção, apenas a América e o Mediterrâneo Oriental registraram aumento na taxa de incidência de casos. Esse aumento na transmissão de malária na América está distribuído em nove países, incluindo o Brasil (WHO, 2019).

No Brasil, a transmissão da malária é relativamente alta na região amazônica que abrange os seguintes estados: Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (Figura 1). Os outros estados brasileiros pertencem à região extra-amazônica, que registra consideravelmente menos casos de malária no país (CARLOS et al., 2019). Para o ano de 2019, o Brasil registrou em torno de 157.452 casos de malária, sendo 156.918 na região Amazônica. Deste número de casos que afetou a bacia amazônica, o *P. vivax* foi a espécie mais prevalente nas infecções, com uma representação de 140.290 casos de malária por esta espécie (BRASIL, 2020a).

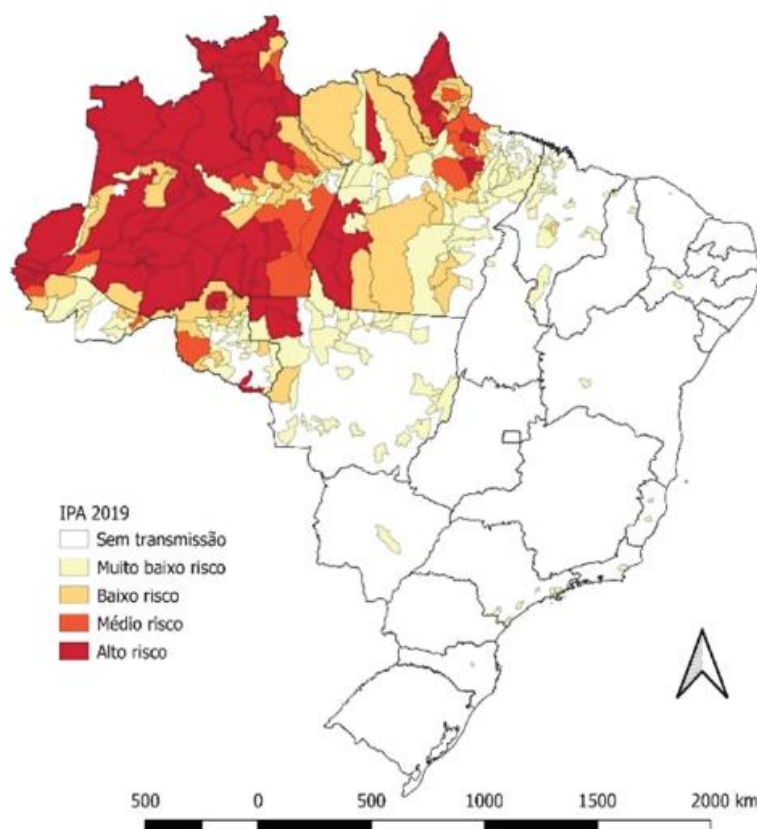


Figura 1. Mapa do Brasil mostrando às áreas de transmissão da malária com variados níveis de risco no ano de 2019. Fonte: Brasil, Sivep-Malária, Sinan/SVS/MS e IBGE, 2020b.

No estado do Maranhão, o número de notificações dessa doença no ano de 2019 foi de 615 casos distribuídos em diferentes municípios, sendo o *P. vivax* o agente etiológico mais comum nessa região. O maior registro de casos ocorreu no município de Lago da Pedra, com uma taxa de registro de 59 casos de malária (BRASIL, 2020a).

2.2 Vetores da malária

Os anofelinos são insetos epidemiologicamente importantes para a saúde pública, porque muitas espécies deste grupo atuam como vetores naturais dos protozoários parasitas causadores da infecção malárica humana. Esses insetos pertencem à ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Anophelinae e gênero *Anopheles*. Esse gênero abrange oito subgêneros: *Anopheles* Meigen (185 espécies), *Baimaia* Harbach, Rattanarithikul & Harrison (1 espécie), *Cellia* Theobald (224 espécies), *Christya* Theobald (2 espécies), *Kerteszia* Theobald (12 espécies), *Lophopodomyia* Antunes (6 espécies), *Nyssorhynchus* Blanchard (40 espécies), *Stethomyia* Theobald (5 espécies).

Desses subgêneros apenas quatro, *Cellia*, *Anopheles*, *Nyssorhynchus* e *Kerteszia*, englobam espécies de interesse médico (HARBACH, 2018).

O gênero *Anopheles* é constituído por 480 espécies, sendo que destas, somente 60 possuem registros no Brasil, e 11 com capacidade vetorial: *An. (Nyssorhynchus) darlingi* Root, 1926; *An. (Nys.) aquasalis* Curry, 1932; *An. (Nys.) albitarsis* s. l.; *An. (Nys.) marajoara* Galvão & Damasceno, 1942; *An. (Nys.) janconnae* Wilkerson & Sallum, 2009; *An. (Nys.) albitarsis* s. s. Rosa-Freitas & Deane, 1989; *An. (Nys.) deaneorum* Rosa-Freitas, 1989; *An. (Nys.) oswaldoi*; *An. (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908; *An. (K.) bellator* Dyar & Knab, 1906 e *An. (K.) homunculus* Komp, 1937 (HARBACH, 2020; BRASIL, 2019). Esses vetores, responsáveis pelo panorama malárico no Brasil, pertencem aos subgêneros *Nyssorhynchus* e *Kerteszia* (DEANE, 1986).

2.3 Subgênero *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902

O subgênero *Nyssorhynchus* inclui espécies que se encontram amplamente distribuídas pelas Américas. Dentre estas, Sinka et al. (2012) anunciam 9 espécies como sendo vetores principais ou dominantes de malária nesses continentes. E para o Brasil, destacam-se as seguintes espécies *An. darlingi*, *An. aquasalis* e as do complexo *An. albitarsis* s. l, e (Figura 2).

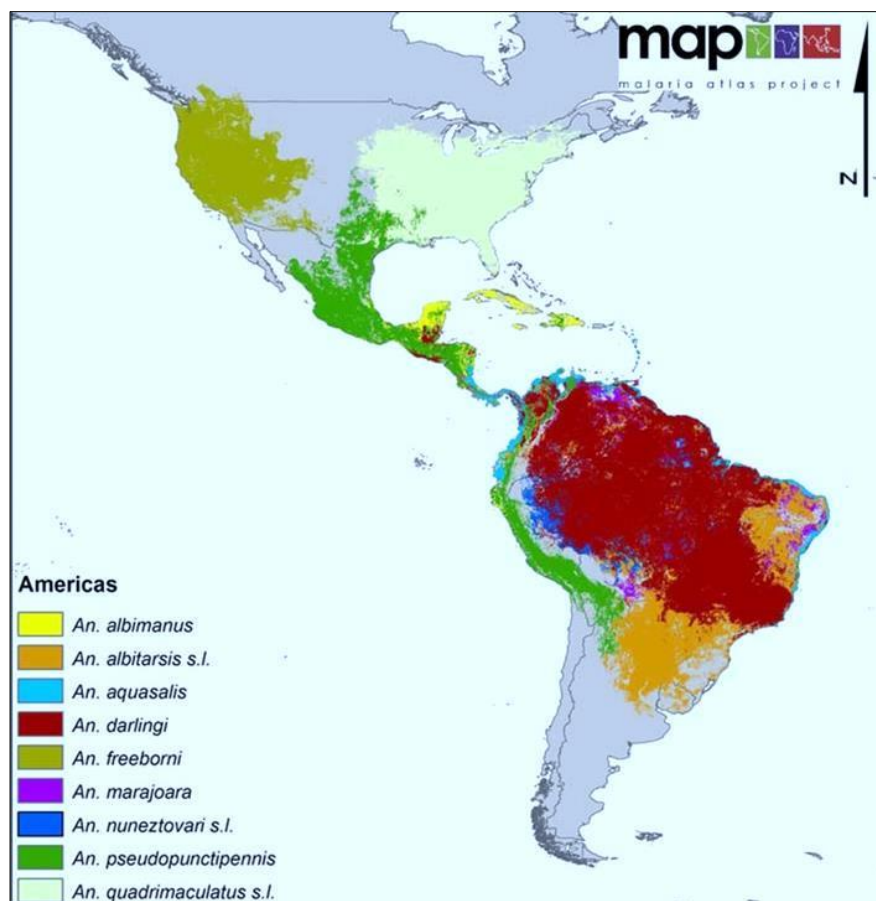


Figura 2. Mapa da distribuição dos principais vetores da malária nas Américas. Fonte: Sinka et al., 2012.

Com grande importância epidemiológica para a bacia amazônica tem-se o *An. darlingi* (HIWAT; BRETAS, 2011). Essa espécie é identificada como vetor primário de malária no Brasil, em virtude de seus aspectos ecológicos e comportamentais diversificados, incluindo a hematofagia, o habitat e a abundância, que estão diretamente relacionados com as características ambientais de seu local de ocorrência. Além disto, possuem a capacidade de permanecer em áreas modificadas por ações antropogênicas (CONSOLI; LOURENÇO 1994; TADEI et al., 1998; RIBAS et al., 2017; PRUSSING et al., 2018).

A distribuição geográfica de *An. darlingi* é extensa com registros em vários países como Brasil, Colômbia, Venezuela, Bolívia, Peru, Paraguai, Argentina, Guiana, México, entre outros (HIWAT; BRETAS, 2011). Sua distribuição pelo Brasil é limitada, em especial a região Nordeste, determinada por fatores climáticos. Sendo assim, essa espécie não possui registros em locais considerados secos (DEANE et al., 1948; CONSOLI; LOURENÇO, 1994).

A diversidade dos criadouros dessa espécie foi mostrada em alguns trabalhos realizados na região amazônica brasileira, e são caracterizados como naturais ou artificiais (DEANE et al., 1948; HIWAT; BRETAS, 2011; ARCOS et al., 2018). Resumidamente, Deane et al. (1948) afirmam que os locais que esses mosquitos depositam os ovos podem ser em lagoas, represas, igarapés entre outros, que variam conforme os períodos anuais de seca ou de chuvas. Esses criadouros devem possuir as seguintes características: águas profundas, limpas, ou com baixa turbidez; presença de plantas aquáticas superficiais, que recebam luz solar e que não sejam completamente sombreados (RIBAS et al., 2017).

Além desses ambientes já mencionados, Arcos et al. (2018) encontraram larvas de *An. darlingi* em três tipos de ambientes, como os viveiros de peixes, fossas de argila e uma área de represa. O número de larvas coletado desse mosquito foi consideravelmente maior nos habitats localizados nos viveiros de peixes, que possuíam uma maior variedade de gêneros de macrófitas. Já Ribas et al. (2017) observaram não só a importância dos fatores já citados pelos autores Deane et al. (1948), mais que maiores percentuais de amostras de larvas de *An. darlingi* foram obtidas de habitats situados aos arredores das habitações indígenas, evidenciando o hábito domiciliar desta espécie.

Em se tratando do repasto sanguíneo realizado pelo *An. darlingi* e sua implicação epidemiológica, este difere segundo a disponibilidade de tipos de hospedeiro sua localização geográfica e medidas de controle já implementadas (DEANE et al., 1949; CHARLWOOD; HAYES, 1978; MORENO et al., 2017; PRUSSING et al., 2018). Uma investigação realizada no Brasil na cidade de Belém-Pará mostrou que os *An. darlingi* é uma espécie que pode ser antropofílica e zoofílica. Nesse estudo, foram feitos testes por meio de reação de precipitina e concluíram que uma variedade de hospedeiros pode ser utilizada como fontes alimentares sanguíneas, como o boi, o cavalo, o cão, o porco, a galinha, e, especialmente, os humanos. Do total de mosquitos coletados em residências, mais de 80% realizaram a hematofagia em humanos, realçando os hábitos mais antropofílicos dessa espécie (DEANE et al., 1949).

Os horários que esses mosquitos encontram-se mais ativos para o repasto sanguíneo podem ser distintos. Desse modo, o pico de atividade hematofágica distribui-se de forma desigual ao longo da noite, nos diferentes locais em que essa espécie ocorre (OLIVEIRA et al., 2021; CHARLWOOD; HAYES, 1978). Em um trabalho realizado na Amazônia brasileira com coletas realizadas no estado do Acre, a hematofagia foi mais acentuada das 18:00 às 21:00 h, com uma redução desse pico ao longo da noite,

especialmente entre 03:00 e às 06:00 (OLIVEIRA et al., 2021). No Peru esse mosquito apresentou, durante três anos consecutivos, taxa de picada mais elevada antes da meia noite e um segundo pico também foi observado às 02:00 h da manhã (PRUSSING et al., 2018). Períodos de atividade hematofágica mais intensos de *An. darlingi* também foram registrados na região de Aripuanã, no estado do Mato Grosso. Esse pico se sucedeu em dois tempos, o primeiro aconteceu das 21:00 h às 23:00h e o segundo foi pela manhã, por volta de 05:35 h às 05:45 h (CHARLWOOD; HAYES, 1978).

A infecção natural desses anofelinos foi descrita em um relatório recente produzido no Brasil por Barros et al. (2020), no qual o *An. darlingi* estava infectado pelas espécies *P. vivax* e *P. falciparum*, nos três ambientes estudados, intradomicílio, peridomicílio e extradomicílio. Já na Amazônia Colombiana, foi detectado, além das espécies de *Plasmodium* citadas anteriormente presentes nos *An. darlingi*, a infecção desse mosquito pelo *P. malariae* (PRADO et al., 2019).

Entre outros vetores de destaque do subgênero *Nyssorhynchus*, em áreas onde a abundância de *An. darlingi* é menor, a transmissão de parasitas da malária pode ser mantida pelas espécies do complexo *An. albitarsis* em regiões Amazônicas. Esse complexo de espécies envolve algumas já determinadas como *An. albitarsis sensu stricto*, *An. marajoara* e *An. deaneorum*, que ocorrem em vários países como o Brasil, a Venezuela, o Paraguai e a Argentina (TADEI; THATCHER, 2000). Para enfatizar a importância desses anofelinos como vetores de malária, esses autores ainda analisaram a positividade de infecção pelo *Plasmodium* desse complexo de espécies e obtiveram resultados positivos para *P. vivax* e *P. falciparum*. Resultados semelhantes também foram relatados por Barros et al. (2020). Além disso, algumas de suas características biológicas foram anunciadas por esses autores, como a capacidade de frequentar habitações humanas e seus arredores, como peridomicílio, e possuir comportamento crepuscular, com destaque para o repasto sanguíneo entre 18:00 e 19:00 horas (TADEI et al., 1998).

Outra espécie de interesse do grupo *Nyssorhynchus* é *An. aquasalis*. Como já colocado anteriormente, é uma das espécies dominantes que contribuem na disseminação de parasitas da malária nas áreas litorâneas da América Central e do Sul (SINKA et al., 2012). A antropofilia e a zoofilia dessa espécie foi demonstrado no trabalho de Barros et al. (2020), no qual foi identificado, por meio de reação de precipitina, que *An. aquasalis* havia realizado o repasto sanguíneo em humanos, aves e felinos domésticos.

2.4 Subgênero *Kerteszia*

O subgênero *Kerteszia* possui uma ampla distribuição de suas espécies pela América Central e do Sul (HARBACH, 2018). Em se tratando das espécies envolvidas em casos autóctones de malária no Brasil, em especial na Mata Atlântica, destacam-se, *An. cruzii*, *An. bellator* e *An. homunculus*. Dentre estes, o *An. cruzii* é considerado vetor primário, com base na sua vasta abundância por esse bioma, sendo as demais espécies consideradas vetores secundários por responder por uma menor taxa de transmissão do parasito da malária e sua baixa densidade populacional nesse ambiente (CHAVES et al., 2016).

As espécies do subgênero *Kerteszia* apresentam características ecológicas e comportamentais variadas, que possuem relação com seu ambiente larval, em que a conformação da paisagem estabelece a sua ocorrência e dispersão pela área. Considerando os aspectos ecológicos do grupo *Kerteszia*, a maior parte das espécies desse subgênero depende exclusivamente da água retida entre as folhas das plantas de bromélias para seu desenvolvimento larval, exceto a espécie *An. bambusicolus* que tem o seu ciclo biológico associado às coleções de água acumuladas nos internódios de bambu (CHAVES et al., 2016). Por conseguinte, a infecção malárica transmitida por esses vetores na mata atlântica é comumente conhecida como malária dependente de bromélia (DEANE, 1986).

A ocorrência geográfica das principais espécies vetoradas de *Kerteszia*, em especial de *An. cruzii*, se dá ao longo do litoral brasileiro, com registros do Rio Grande do Sul até o Nordeste no estado de Sergipe (CONSOLI; LOURENÇO, 1994). A distribuição dos seus habitats pela Mata Atlântica, segundo uma pesquisa realizada por Chaves et al. (2016), apresentou uma maior prevalência na floresta tropical com vegetação densa, em relação à área rural e de restinga. Sendo assim, o criadouro em bromélias, seja na forma epífita ou terrestre, está localizado em áreas que possuem uma menor exposição solar e um índice elevado de umidade (CONSOLI; LOURENÇO, 1994).

As fêmeas de *An. cruzii* apresentam atividade hematofágica durante as 24 horas diárias, mas, no entanto, tendem a picar com mais frequência nos dois períodos crepusculares, o vespertino e o matutino (BRANQUINHO et al., 1997), haja vista que essas fêmeas se alimentam de modo contínuo ao longo do dia. Rezende et al. (2009)

evidenciam que o período de maior risco de contato com o mosquito é entre as 18:00 e 22:00 horas da noite em áreas próximas as florestas.

Em um estudo realizado para verificar a fonte sanguínea e o papel das fêmeas de *An. cruzii* na disseminação de parasitas da malária, constatou-se que o sangue humano constituiu a única fonte sanguínea alimentar utilizada em área peridomiciliar, o que mostra a atração e a relação desse mosquito com esse tipo de hospedeiro (KIRCHGATTER et al., 2014). Entretanto, devido a um comportamento comum apresentado por essa espécie, a acrodendrofilia, e como mostrado no trabalho de Rezende et al. (2009), em que *An. cruzii* foi capturado em maior abundância nas armadilhas que estavam localizadas na copa das árvores, acrescenta-se que esses mosquitos utilizem outras fontes sanguíneas alimentares como, por exemplo, as espécies de símios e aves (DEANE, 1986).

Considerando o papel de *An. cruzii* como um importante vetor de *Plasmodium* que causa a malária na mata atlântica, Kirchgatter et al. (2014) encontraram, em uma área montanhosa no sudeste do Brasil, esta espécie infectada pelo *P. malariae* e *P. vivax*. Já Branquinho et al. (1997) constataram, entre as espécies de *An. cruzii* coletadas também na região sudeste, a presença de *P. vivax* e a forma variante desse *Plasmodium*, conhecida como *P. vivax* VK247.

Deane (1986) afirma que existem características comuns entre as espécies do subgênero *Kerteszia*, como já mencionado em parágrafo anterior, com relação ao comportamento acrodendrófilico de *An. cruzii*. Outras espécies desse subgênero como *An. bellator* e *An. homunculus*, também já foram encontradas na parte superior das árvores, como evidenciado no trabalho de Ueno et al. (2007) e Rezende et al. (2009). Outra característica compartilhada entre as espécies deste subgênero é que após o ato hematofágico no interior de uma habitação humana elas preferem repousar em ambientes externos, ou seja, em locais ao livre, embora existam alguns representantes desse subgênero que possam ser endofílicos (DEANE, 1986).

Considerando a importância de *An. bellator* como vetor secundário da malária, esta espécie apresenta um nível de endofagia e endofilia mais acentuado em comparação ao *An. cruzii* (FORATTINI et al., 1993). Quanto à sua distribuição no Brasil, *An. bellator* tem ocorrência ao longo do litoral, sendo encontrado em áreas que se estende do Rio Grande do Sul até a Paraíba. Seu registro geográfico se estende além dos limites territoriais brasileiros, incluindo Guiana, Trinidad e o leste da Venezuela (CONSOLI; LOURENÇO, 1994).

O habitat *An. bellator* pela mata atlântica está localizado em áreas que recebem uma maior radiação solar (CONSOLI; LOURENÇO, 1994). Assim, conforme os achados de Chaves et al. (2016), o *An. bellator* possui melhores registros em ambientes de restinga. Esses autores ainda evidenciam algumas características comuns dos criadouros (bromélias) desse mosquito, como a elevada capacidade de armazenamento de água em suas estruturas foliares e certas adaptações que evitam a perda de água para o ambiente.

2.5 Ciclo de transmissão da malária

A transmissão da malária compreende um complexo ciclo heteróximo de desenvolvimento das espécies de *Plasmodium*, com estágios ocorrendo em hospedeiros vertebrado (assexuado) e invertebrado (sexuado). Para que ocorra tal ciclo é necessário que a fêmea do mosquito *Anopheles*, ao realizar o repasto sanguíneo, tenha em suas glândulas salivares a forma infectante do protozoário *Plasmodium*, os esporozoítos, e inocule na pele do hospedeiro sadio (COWMAN et al., 2016).

Seguidamente a infecção, os esporozoítos, devido sua capacidade móvel, alcançam a circulação sanguínea. Da corrente sanguínea são levados até o fígado, com a posterior infecção das células hepáticas. Para que os esporozoítos adentrem os hepatócitos é necessário que eles passem pelas células endoteliais e células de Kupffer até realizarem a invasão completa do hepatócito (SINNIS; COPPI, 2007). Dentro dos hepatócitos os esporozoítos se reproduzem assexuadamente no vacúolo parasitóforo. Esse processo de reprodução também é conhecido como esquizogonia pré-eritrocítica, gerando milhares de outras formas do parasita, os merozoítos filhos. O período de esquizogonia hepática apresenta duração variável com base no tipo de *Plasmodium*. Em se tratando do *P. falciparum*, o período pode ter duração de aproximadamente sete dias e cada hepatócito infectado contém em média 40.000 merozoítos desenvolvidos (NILSSON et al., 2015; COWMAN et al., 2016). No entanto, dependendo da espécie de parasita injetada, existem casos em que os esporozoítos podem ter um desenvolvimento tardio, tornando-se latente no fígado e a sua reativação pode provocar a multiplicação do *Plasmodium* e a ocorrência da infecção por recidiva, a exemplos de infecções pelo *P. vivax* (MUELLER et al., 2009; GETTING et al., 2012).

Os merozoítos originados na fase pré-eritrocítica saíram das células hepáticas para a corrente sanguínea através de estruturas membranosas vesiculares chamadas merossomos. Os merossomos possibilitam o transporte dos merozoítos diretamente para

a corrente sanguínea, evitando assim a ação de macrófagos presentes nos sinusóides hepáticos (STURM et al., 2006). Na corrente sanguínea, os merozoítos irão invadir as hemácias dando início à fase sanguínea ou eritrocitária da infecção. Nessa fase, os eventos de replicação, liberação dos novos merozoítos e a invasão de novas hemácias, ocorrem geralmente ao longo de 48 horas tanto para o *P. falciparum* quanto para o *P. vivax*, com variação de tempos para os demais tipos de espécies (NILSSON et al., 2015; COWMAN et al., 2016). Durante a sua permanência em uma hemácia o parasita passa por alguns estágios, como por exemplo, o estágio de anel, trofozoítos até chegar a esquizonte com a formação de novos merozoítos. Após a ocorrência desses estágios, a membrana das hemácias sofre ruptura e novos merozoítos são liberados na corrente sanguínea e infectam outras hemácias. Alguns merozoítos liberados pelas hemácias não apresentam mais atividade de esquizogonia e se diferenciam em gametócitos masculinos ou femininos, as quais são as formas infectantes do parasita para o mosquito (NILSSON et al., 2015).

No caso de *plasmodium vivax*, a maturação e o desenvolvimento dos gametócitos na circulação sanguínea ocorrem antes do surgimento da doença clínica. (MCCARTHY et al., 2013). Os gametócitos desse parasita penetram quase que exclusivamente em reticulócitos imaturos e todo o seu processo de desenvolvimento pode ser verificado na circulação do sangue periférico. Uma característica notavelmente importante é que há uma rápida deformação dos reticulócitos parasitados por *P. vivax* ao longo do seu processo de maturação. Postula-se que a deformação dessa célula facilite sua passagem pelo baço, como também a sua saída da medula óssea para circulação sanguínea periférica (MUELLER et al., 2009; MALLERET et al., 2015).

Quanto aos gametócitos do *P. falciparum*, a sua maturação envolve 5 estágios de desenvolvimento (I a V) com características estruturais variadas, em um período maior quando comparado ao *P. vivax*, ocorrendo em aproximadamente 15 dias. Durante esse tempo, os gametócitos masculino e feminino se abrigam nos espaços extravasculares da medula óssea até alcançarem o estágio V e serem liberados para o sangue periférico, agora com capacidade de causar infecção ao próximo hospedeiro quando ingeridos (JOICE et al., 2014; COWMAN et al., 2016).

Os gametócitos, ao serem sugados pelo mosquito durante a hematofagia, darão início à reprodução sexual do parasito no hospedeiro invertebrado. No intestino do mosquito os gametócitos se desenvolvem em microgameta e macrogameta. Em seguida, acontecerá a união gamética resultando na formação de um oocineto móvel. O oocineto se dirige para a parede do intestino do mosquito ficando retido no epitélio para se

diferenciar em oocisto. O oocisto corresponde à fase esporogônica do ciclo, originando milhares de esporozoítas, que, ao serem liberados, se localizaram nas glândulas salivares do mosquito (MUELLER et al., 2009) (Figura 3).

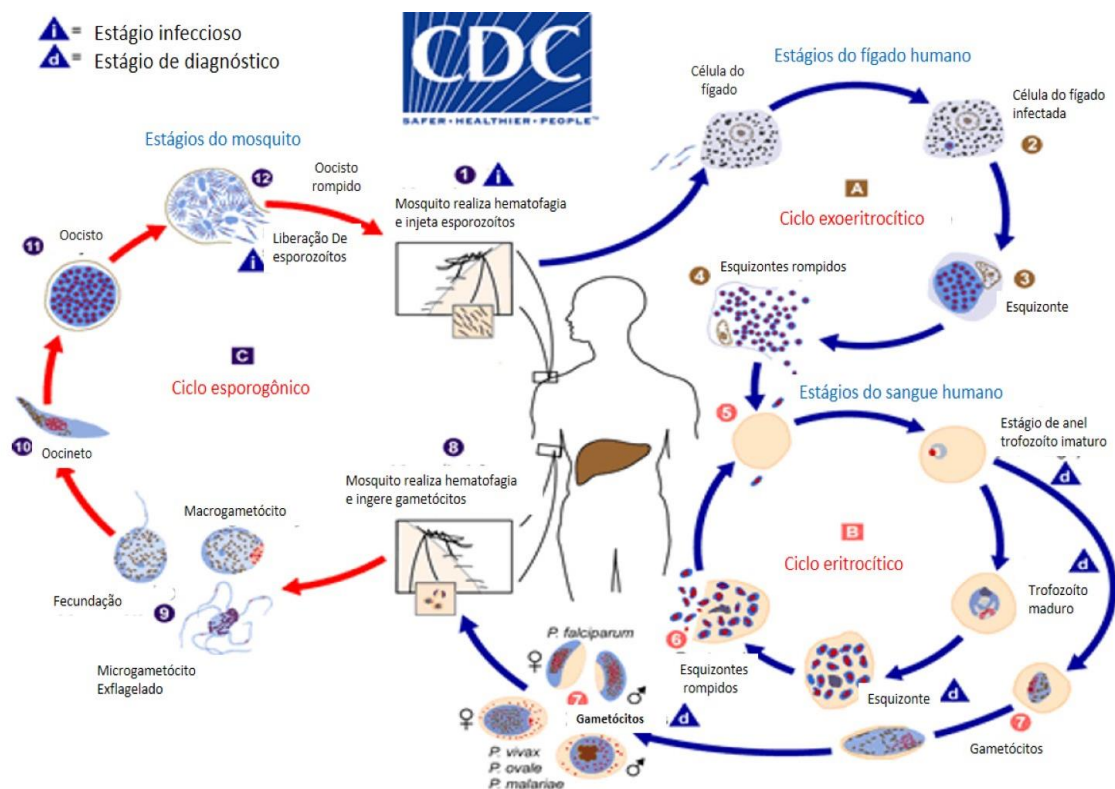


Figura 3. Ciclo de transmissão do parasita da malária. Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2020.

2.6 Medidas de controle da malária e do vetor

O controle da malária envolve estratégias que visam reduzir ou eliminar a transmissão e a mortalidade pela doença. Desta forma, contém diferentes medidas, como o tratamento dos já infectados, o diagnóstico da infecção na população assintomática, quimioprevenção, a ampliação dos serviços de saúde, a capacitação contínua dos profissionais envolvidos, a vigilância epidemiológica, as orientações em saúde às comunidades, além de estratégias para controle de vetores e o monitoramento entomológico (OMS, 2015; SOUGOUFARA et al., 2020).

Reconhecida mundialmente a importância de atuar no combate à malária, a OMS (2015) formulou a “Estratégia Técnica Mundial para o Paludismo 2016-2030”, sustentada em três pilares que são: possibilitar acesso universal aos recursos de prevenção como

diagnóstico e tratamento da malária; fortalecer e aumentar os esforços para eliminação com o objetivo de se obter o país livre da doença; e tornar a vigilância como uma das formas de intervenção mais necessária, à medida que avalia os trabalhos já realizados como também auxilia em ações futuras.

As medidas geralmente utilizadas para controle e prevenção da malária incluem a pulverização residual interna (IRS) e a distribuição de mosquiteiros impregnados com inseticida de longa duração (LLINs), as quais buscam atuar diretamente no controle de vetores adultos, seja eliminando ou evitando o contato do vetor ao homem em suas residências (GUEYE et al., 2016). As distribuições desses métodos no mundo têm atingido a população de forma heterogênea. Entre 2010 e 2018, 578 milhões de mosquiteiros tratados com inseticidas foram entregues aos países endêmicos. Entretanto, o total de pessoas beneficiadas pelo método mais recomendado, a pulverização residual interna, tem diminuído a cada ano, e uma explicação possível a isso é a resistência dos vetores aos inseticidas já utilizados e a mudança para novos compostos de valores mais altos (WHO, 2019).

O manejo das fontes larvais é recomendado em alguns lugares como método de controle da malária conforme as características de transmissão da infecção na área e em combinação aos outros métodos, consequentemente reduzindo a população de mosquitos adultos na área, que venham a se infectar e transmitir o parasita. Essa redução de larvas em uma região é feita por meio do uso de larvicidas químicos, ou através de métodos biológicos ou ambientais, que buscam a interrupção do desenvolvimento larval, seja introduzindo um predador ou fazendo modificações ambientais (GUEYE et al., 2016).

Enfatizando que as técnicas de controle de vetores disponíveis e mais difundidas são à base de inseticidas, a IRS e LLINs. É extremamente necessário que se avalie a eficácia desses métodos ao longo do tempo, assim, é proposto que se faça o uso de indicadores para uma melhor análise dessas medidas, a exemplo, frequência de uso, duração física, grupos de risco se estão recebendo assistência com a IRS e LLINs e os efeitos dos inseticidas empregados (BURKOT et al., 2019).

2.7 Monitoramento entomológico

O monitoramento entomológico se constitui como um conjunto de atividades essenciais para o controle e combate à malária. Através do monitoramento é possível

conhecer as espécies de vetores dominantes na área, que estão mantendo o ciclo de transmissão da doença, assim como definir o horário de maior risco à exposição do vetor e conhecer o potencial de receptividade da área, levando em conta fatores ambientais como o tamanho da população e, através destes, fazer uma análise das intervenções já realizadas, como também auxiliar os programas em possíveis mudanças de decisões e implementação de novas ferramentas (GUEYE et al., 2016).

Os indicadores entomológicos utilizados em um levantamento permitem monitorar e conhecer vários aspectos do comportamento do vetor adulto, como a sua abundância, os locais de maior ocorrência, as principais características que favorecem sua permanência, os hábitos hematofágicos (exofagia, endofilia, exofilia, antropofilia, zoofilia), a presença de parasitas e se apresentam resistência às medidas de intervenções adotadas (BURKOT et al., 2019).

Para a coleta de mosquitos anofelinos, existem várias técnicas que utilizam diferentes tipos de atrativos que podem ser biológicos, químicos ou físicos (ACHEE et al., 2015; MWANGA et al 2019; SOUGOUFARA et al., 2020). Baseado em uma pesquisa de Burkot et al. (2019) sobre análise global da vigilância vetorial do programa nacional de controle da malária, foi estabelecido que o método de atração humana conhecido como padrão ouro ainda permanece como um dos mais utilizados. Nesse método, os mosquitos são capturados quando pousam em qualquer parte do copo. Entretanto, por outro lado, nesse método há uma maior exposição do ser humano ao risco de contrair a infecção (ACHEE et al., 2015) (Figura 4).



Figura 4. Captura de mosquitos por meio de atração humana em uma área de mata.
Fonte: ACHEE et al., 2015.

Entre os modelos de armadilhas utilizados temos a CDC (*Center for Disease Control and Prevention*, USA), uma armadilha bem documentada na literatura científica sobre seu uso em programas de monitoramentos, destacando a sua capacidade em capturar uma diversidade de insetos, nos quais, alguns são de interesse médico (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1962; BURKOT et al., 2019). Mais quando relacionada à um segundo tipo de armadilha a Mosclean, a CDC não mostrou diferenças significativas nas capturas de diferentes tipos de vetores, incluindo os da malária e ambas possuem como desvantagem o custo para o funcionamento da fonte atrativa luminosa e motor (MWANGA et al., 2019).

Outra ferramenta disponível para a captura de insetos vetores é a armadilha Mosclean. Ela funciona a base de eletricidade e usa dois tipos de atrativos, o gás CO₂ e o LED ultravioleta e, quando comparada ao método de atração humana (HLC), em uma situação de semi- campo, as avaliações mostraram resultados equivalentes. Mas, quando comparada a armadilhas como a Suna e BG-Sentinel, ambas com CO₂, apenas capturou mais mosquitos que a BG-Sentinel quando o CO₂ também estava presente, e nessa configuração os resultados de captura da Mosclean eram aproximados com os obtidos pela Suna (MWANGA et al., 2019).

A Mosquito Magnet Liberty Plus é outra armadilha para a coleta de mosquitos anofelinos. Contudo, seu desempenho foi menor quando comparado ao método de atração humana, sem contar os detalhes para a sua operação como o uso de bateria e de gás propano para produzir CO₂, que serve para atração dos mosquitos (RUBIO-PALIS et al., 2012).

Outra proposta para capturar mosquitos no ambiente externo é a barraca de Furvella MK. Nesse tipo de armadilha, é preciso à presença do homem, como fonte de atração para os mosquitos, e um segundo tipo de armadilha que seria a CDC, sem atrativo luminoso, para a captura dos insetos quando tentassem entrar na barraca (CHARLWOOD et al., 2017). Mesmo que se constitua uma opção em monitoramento, o tipo de atração e o tamanho da armadilha tornam seu uso complexo (SOUGOUFARA et al., 2020).

Além das armadilhas mencionadas, outro método de amostragem existente é a Suna que possui um motor de sucção e pode ser utilizada com diferentes tipos de atrativos químicos para intensificar a captura de mosquitos. Uma pesquisa relacionada à eficiência dessa armadilha, em comparação à armadilha MM-X, na captura de mosquitos em ambiente de laboratório, revelou que as maiores capturas ocorreram na armadilha Suna (HISCOX et al., 2014).

Sougoufara et al. (2020) destacam a necessidade do desenvolvimento de técnicas para a captura de mosquitos da malária que mostrem a diversificação de comportamento desses vetores, que seja de simples manuseio e de custo acessível, levando em conta o cenário global da malária.

Pesquisas feitas no Brasil mostraram bons resultados a partir da modificação de armadilhas luminosas, como também, a criação de uma ferramenta para captura e atração de insetos vetores. Tratam-se de armadilhas luminosas convencionais utilizando diodos emissores de luz (LEDs). Os LEDs, como fontes luminosas, foram testados em estudo de campo em que se utilizaram armadilhas HP sem a fonte original à base de luz incandescente, mas sim com LEDs. A comparação foi feita com armadilhas CDC em sua configuração original, nas capturas de insetos flebotomíneos e mosquitos anofelinos. Os resultados encontrados mostraram que a atratividade das armadilhas com LEDs foi significativamente maior que as armadilhas que usavam lâmpadas incandescentes (COSTA-NETA et al., 2017; COSTA-NETA et al., 2018; DA SILVA et al., 2019a; SILVA et al., 2019).

Apesar da existência de várias técnicas para a captura de insetos vetores da malária que podem ser usadas em programas de controle e monitoramento, essas, em sua maioria, apresentam configurações trabalhosas algumas limitam o uso do material coletado devido à forma como capturam ou necessitam de compostos químicos que fazem com que o preço da armadilha se torne elevado. Assim, é desejável não só a criação de técnicas para capturas desses mosquitos, mais também, o aperfeiçoamento das já existentes. Nesse sentido, iremos buscar melhores formas de uso para armadilha Silva (SILVA et al., (2019) com o intuito de contribuir com uma medida simples, de custo acessível, para uso em programas de controle e monitoramento de vetores da malária.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Padronização e uso da armadilha luminosa Silva na captura de mosquitos anofelinos em diferentes áreas no estado do Maranhão.

3.2 Específicos

- ✓ Verificar a altura de instalação da armadilha Silva para a melhor captura de mosquitos anofelinos;
- ✓ Avaliar a atratividade dos LEDs verde, azul e ultravioleta na captura de anofelinos;
- ✓ Conhecer as espécies de anofelinos capturados no peridomicílio e da área de mata da região de estudo;
- ✓ Verificar a eficiência da armadilha Silva em ambientes externos;
- ✓ Comparar o número de espécimes danificados capturados nas armadilhas Silva com a armadilha HP;

4 MATERIAL E METÓDOS

4.1 Área de estudo

O estudo de campo foi realizado no município de Chapadinha, situada na Mesorregião leste do estado do Maranhão, sob as coordenadas 3°44'30'' Sul e 43°21'37'' Oeste, na região nordeste do Brasil (PASSOS et al., 2016). O município possui uma

extensão territorial de 3.247,385 km², com uma estimativa de população para 2020 de 80.195 pessoas e densidade demográfica de 22,59 hab/km² (IBGE, 2020).

O município possui altitude de 105 metros acima do nível do mar, e o clima, de acordo com a classificação de Thornthwaite, é C2s2A, isto é, subúmido, megatérmico com grande déficit hídrico no verão. Há duas estações climáticas definidas relacionadas à ocorrência das chuvas: a chuvosa de janeiro a maio e a seca de junho a dezembro. A temperatura média para o município é de 27,9 °C e com um índice pluviométrico médio anual de 1613,2 mm (PASSOS et al., 2016).

4.2 Amostragem

O estudo foi desenvolvido em três momentos. Para a coleta dos espécimes foram utilizados dois tipos de armadilhas luminosas, a armadilha Silva (SILVA et al., 2019) e a armadilha HP (PUGEDO et al., 2005).

A armadilha Silva tem como características o uso de LEDs como fonte luminosa e corpo contendo duas partes, uma superior e uma inferior. A superior tem formato cilíndrico e é onde os insetos ficam aprisionados. Nessa porção, há a presença de uma tampa removível para retirada do material coletado. Essa tampa contém um suporte com um cordão para que possa ser pendurada em uma árvore ou em qualquer outro lugar. Nessa porção superior, ainda há também áreas de ventilação em lados opostos cobertas com tecido de malha fina para impedir a saída dos insetos capturados (SILVA et al., 2019). A porção inferior da armadilha também é removível e tem a forma de meia-esfera, onde fica localizada a fonte atrativa luminosa. Além disso, essa porção constitui a porta de acesso dos mosquitos para o interior da armadilha (SILVA et al., 2019) (Figura 5- A).

O segundo tipo de armadilha utilizada foi a HP. Essa armadilha tem o corpo em formato cilíndrico, que é construído com material termoplástico PVC. Na porção superior está situada uma tela protetora, em forma convexa. Usa como fonte de energia quatro pilhas grandes tipo D de 1,5 volts cada, duas para o funcionamento da lâmpada incandescente (3V) e duas para o motor (3V). O motor aciona uma hélice para a sucção dos insetos para a bolsa coletora de nylon, quando estes se aproximam da fonte luminosa que é incandescente (Figura 5-B).



Figura 5. Armadilhas utilizadas nas capturas de mosquitos anofelinos. (A) Armadilha Silva (B) Armadilha HP. Fonte: E.C.Araujo; Google imagens.

4.5 Delineamento experimental

As coletas de mosquitos anofelinos foram realizadas em dias consecutivos, com um total de três noites de coleta por semana. As coletas ocorreram durante sete meses. As armadilhas foram colocadas no local de estudo às 17:00 horas da tarde e recolhidas às 6:00 horas da manhã seguinte, conforme o trabalho de Costa-Neta et al. (2017) e Silva et al. (2019).

Os tratamentos estavam distribuídos na área de estudo de acordo com o delineamento de quadrado latino para cada tipo de experimento realizado (BATISTA et al., 2017). Desta forma, na primeira noite de coleta as armadilhas tiveram suas posições definidas por meio de sorteio e nas noites seguintes foram alteradas em sentido horário. Essa pesquisa foi desenvolvida em dois ambientes sendo eles: peridomiciliar e no interior da mata. Para cada tipo de experimento realizado foram feitas pelo menos 5 repetições (Figura 6).

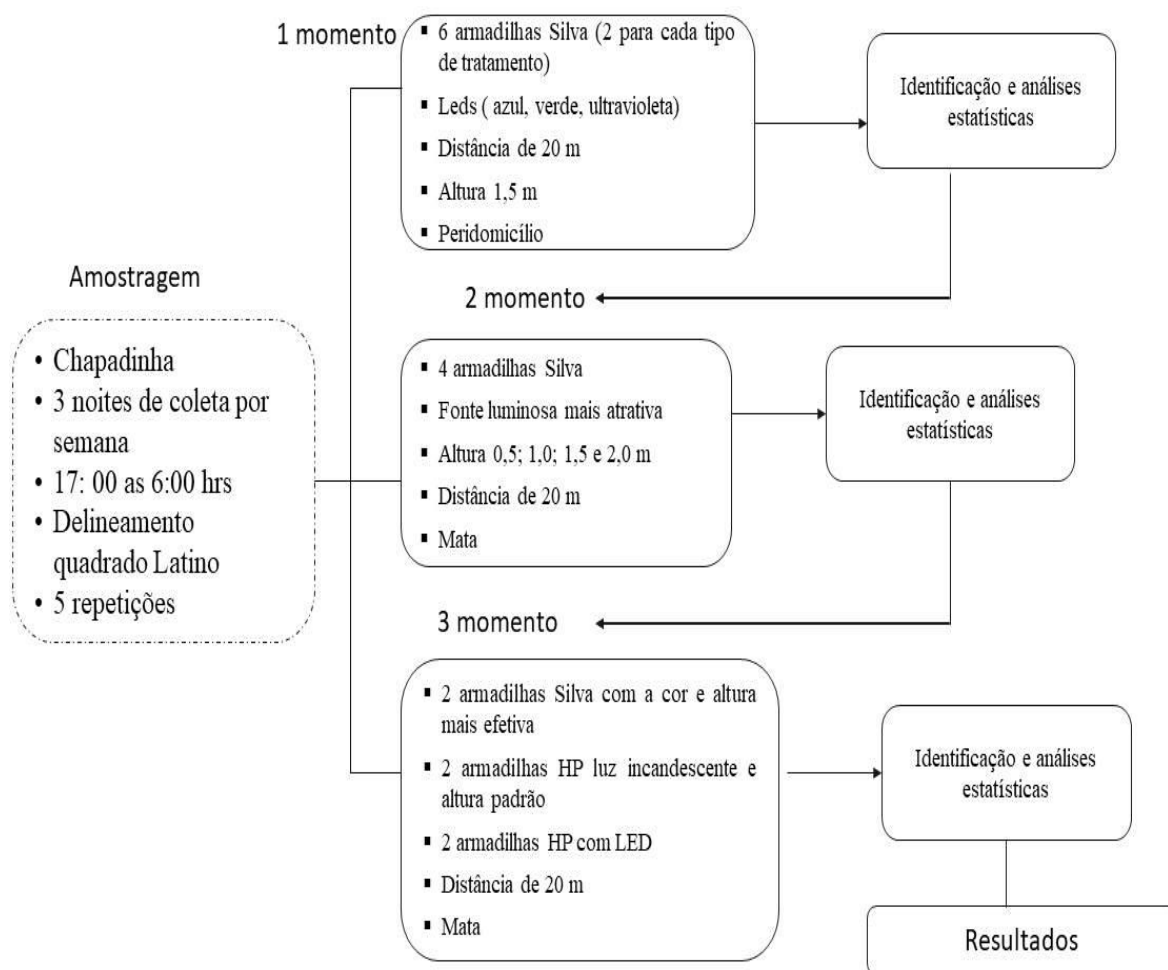


Figura 6. Fluxograma dos experimentos, mostrando cada etapa das atividades.

4.6 Áreas de coletas

O primeiro momento foi realizado no povoado São Raimundo, especificadamente na localidade conhecida por Vila Emídio, distante 32 km do município de Chapadinha-MA. A Vila Emídio é formada por residências e presença de animais domésticos, como galinhas, patos, cavalos, jumentos, porcos, bois, gatos e cachorros entre outros. Quanto à vegetação, a vila é um espaço aberto com a presença de árvores frutíferas e pasto.

A área em que as armadilhas foram colocadas no primeiro experimento foi no peridomicílio, localizado próximo a um curral. Porém, durante a realização do estudo não havia animais no ambiente de curral, estavam circulando livremente pela área. Essa área de coleta fica no caminho de um açude e de uma horta, e está a 15 metros de distância da casa de forno (Figura 7 e 8).



Figura 7. Área próxima aos pontos de coleta. (A e B) fotos das áreas próximas aos pontos de coleta, mostrando (A) o açude e a (B) horta da vila Emídio. Fonte: E.C.Araujo.



Figura 8. Localização geográfica da Vila Emídio, próximo a Chapadinha-MA. Fonte: Google Maps.

O segundo e terceiro momento foram realizados na fazenda Cantinho que está a 8 km de distância da cidade de Chapadinha-MA (Figura 9 e 10). A fazenda possui uma grande plantação de eucalipto em um dos seus lados e do lado oposto tem a presença de mata fechada. Segundo Brito et al. (2020) a área de estudo é classificada como floresta secundária e com fisionomia de paisagem similar a uma savana.

Há diferentes animais no local como bois, cavalos, porcos, galinhas, entre outros animais silvestres. A fazenda conta com apenas uma moradia e no fundo dessa casa tem um chiqueiro grande e um curral.



Figura 9. Fazenda Cantinho (A) entrada da fazenda e em (B) foto do caminho que dá acesso ao local onde se colocavam as armadilhas Silva. Fonte: E.C.Araujo.

16/04/2021

Google Maps

Google Maps



<https://www.google.com/maps/@-3.7380615,-43.2863663,847a,35y,39.23t/data=!3m1!1e3>

1

Figura 10. Localização geográfica da Fazenda Cantinho em Chapadinha-MA. Fonte: Google Maps.

MOMENTO I:

No primeiro momento foram utilizadas seis armadilhas Silva, com variação na cor dos LEDs. As cores avaliadas foram o azul (470 nm, 15.000 mcd, 20mA, 5mm), o verde (520 nm, 20.000 mcd, 20mA, 5mm), e o ultravioleta (395 nm, 3000 mcd, 20 mA, 5mm). Para cada cor, foram utilizados dois exemplares da armadilha Silva, dispostas na a 1,5m acima do solo, distantes 20m entre as armadilhas. Foram utilizados três LEDs da mesma cor em cada armadilha Silva. O ambiente de estudo para a realização desse primeiro momento foi o peridomicílio. As armadilhas foram colocadas na área de estudo há uma distância de 40 metros das residências.

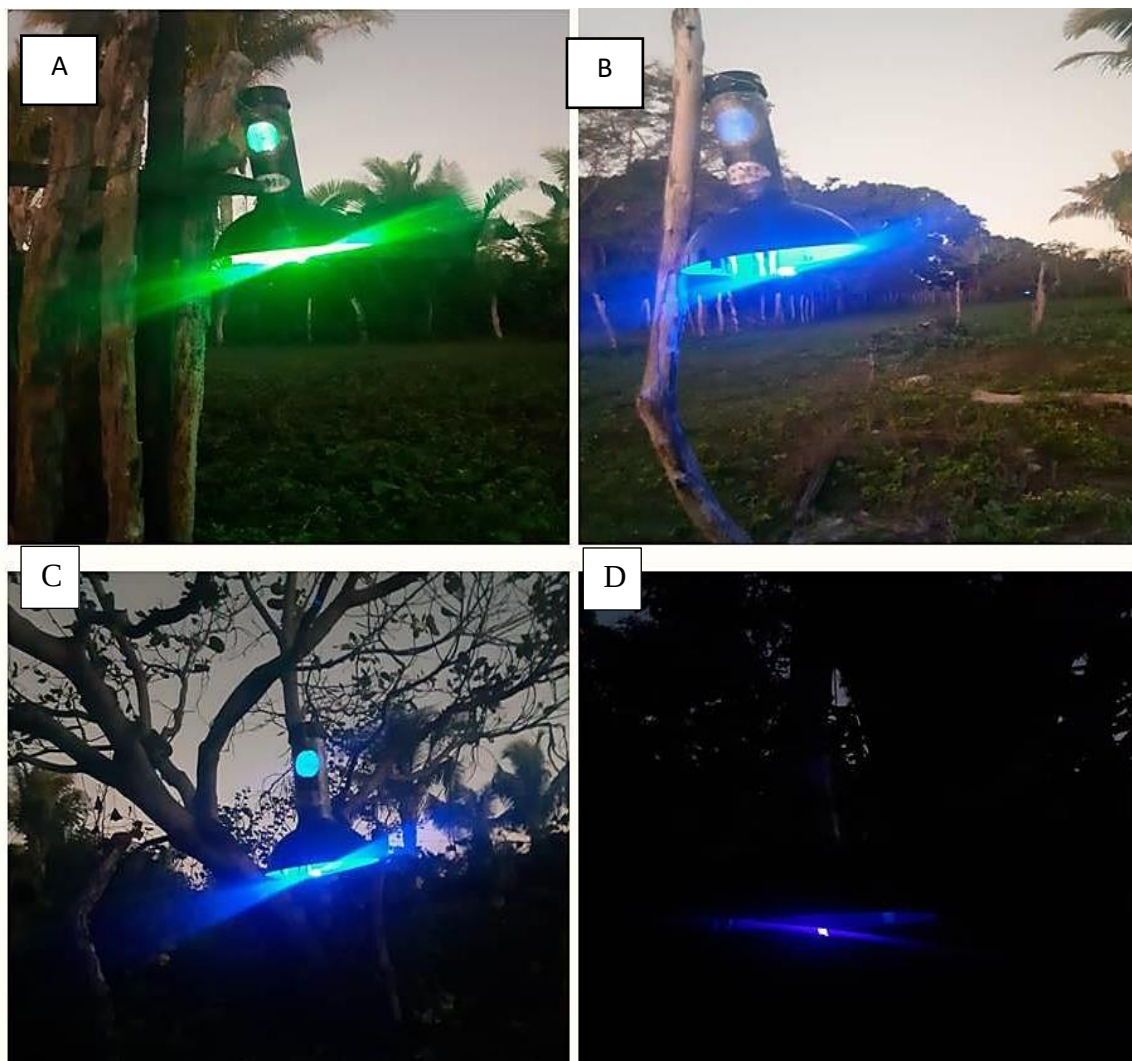


Figura 11. Armadilhas Silva utilizadas no primeiro experimento. (A) Armadilha Silva com LEDs na cor verde, (B e C) Armadilhas Silva com LEDs na cor azul, (D) Armadilha Silva com LEDs na cor ultravioleta. Fonte: E.C.Araujo.

MOMENTO II:

Neste segundo experimento foram utilizadas quatro armadilhas Silva com a fonte luminosa mais atrativa verificada no primeiro momento. Nesta etapa, as armadilhas estavam colocadas na área de estudo em alturas diferentes: 0.5m, 1.0m, 1.5m e 2.0m acima do solo e com uma distância de 20m entre as armadilhas. Para cada altura analisada, utilizou-se apenas uma armadilha Silva que foi exposta em ambiente de mata.



Figura 12. Local de coleta utilizado no segundo experimento, mostrando dois pontos em (A) Armadilha Silva a 2m do solo e em (B) armadilha Silva a 0,5m do solo. Fonte: E.C.Araujo.

MOMENTO III:

No terceiro momento foi utilizada a armadilha Silva com a cor do LED mais atrativa, como também a altura mais efetiva para a melhor captura de mosquitos anofelinos de acordo com o primeiro e o segundo experimento, respectivamente. Na realização do terceiro experimento, foram utilizadas duas armadilhas Silva com as características mencionadas anteriormente e quatro armadilhas HP, duas modificadas pela substituição da fonte incandescente por LEDs (um LED por armadilha) e duas com a fonte incandescente (controle), todas distantes 20m entre si. A armadilha HP com luz incandescente foi utilizada como controle em função da mesma já ter sido comprovada em estudos anteriores em capturar diferentes tipos de vetores (COSTA-NETA et al., 2017; LIMA-NETO et al., 2018). As armadilhas HP foram montadas no local de estudo na altura padrão de 1,5m. Esse terceiro experimento foi desenvolvido em área de mata.



Figura 13. Armadilhas utilizadas no terceiro experimento. (A) armadilha HP com luz incandescente, (B) armadilhas Silva com LEDs na cor verde e (C) armadilha HP com LED na cor verde. Fonte: E.C.Araujo.

5 IDENTIFICAÇÃO DOS ANOFELINOS

Após a realização das coletas, os insetos foram transportados para o laboratório, sacrificados por congelamento (-20°C) em seguida realizada a triagem. Posteriormente, os espécimes foram armazenados em potes de plásticos e adequadamente etiquetados com o nome da área, data da coleta, tipo de armadilha e o ponto amostral em que a armadilha foi montada. Para a identificação dos espécimes, utilizou-se as características morfológicas dos mosquitos até o nível de espécie, seguindo a chave taxonômica de Consoli; Lourenço (1994) e Sallum et al. (2020). Essa etapa foi realizada no Laboratório de Entomologia Médica (LEME) do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão (CCAA-UFMA), Chapadinha-MA. Após a identificação, todo o material coletado foi guardado na coleção entomológica do LEME (Figura 14).

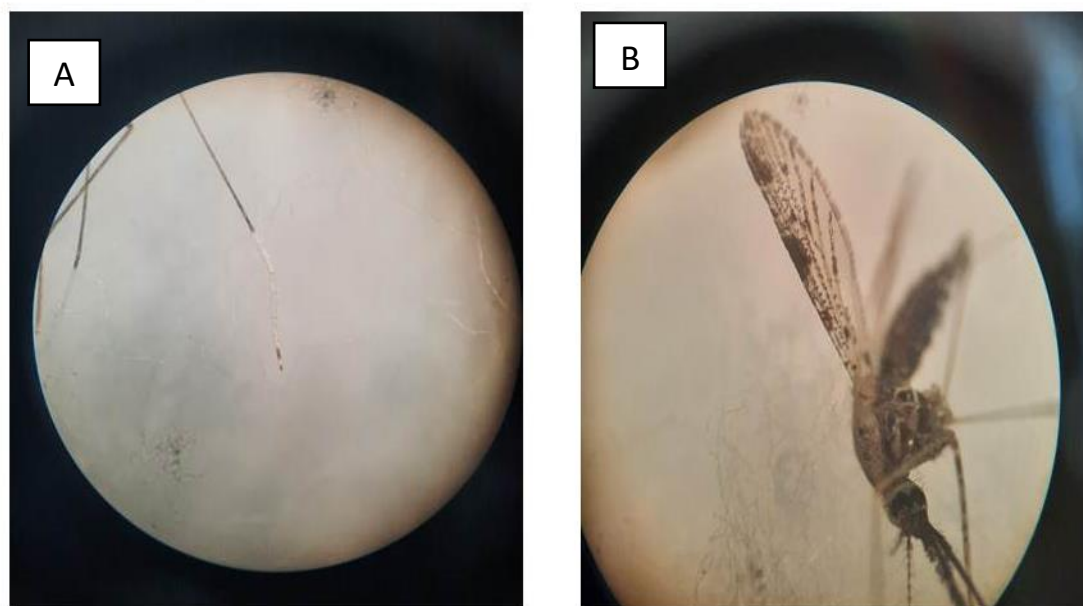


Figura 14. Algumas características morfológicas utilizadas na identificação das espécies de *Anopheles* adulto. (A) Tarso e (B) Asa. Fonte: E.C.Araujo.

6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análises dos resultados obtidos, foi utilizado o programa software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.®). Para verificação da normalidade dos dados entre os experimentos, foi realizado o teste Kolmogorov-Smirnov. Em caso de distribuição normal no teste comparativo, utilizou-se teste t-Student e análise de variância (ANOVA), e, quando o critério de normalidade não foi atendido, optou-se por realizar os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. A significância dos resultados foi considerada quando o valor de “p” foi menor do que 0,05 ($p < 0,05$).

7 RESULTADOS

Momento 1

Considerando os três experimentos realizados, foram capturados no período de estudo (julho de 2020 a janeiro de 2021) um total de 9.009 espécimes de anofelinos nos dois locais de estudos, o peridomicílio e no interior da mata de áreas rurais do município de Chapadinha-MA. Sendo assim, o primeiro momento realizado em uma área peridomiciliar nos meses de julho a agosto resultou na captura de 3.750 espécimes. As coletas foram feitas com armadilhas Silva em seis pontos amostrais com cada tipo de tratamento duplicado. Deste total de 3.750 apenas 5,54% estavam morfologicamente danificados, não sendo possível a identificação.

Os espécimes coletados no primeiro momento pertencem a 7 espécies, em que *Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus* (45,09%) foi a mais representada, seguida, nessa ordem, por *An. (Nys.) argyritarsis* (24,26 %), *An. (Nys.) goeldii* (17,38%), *An. (Nys.) rangeli* (2,16%), *An. (Nys.) galvaoi* (1,94%), *An. (Nys.) evansae* (1,89%) e *An. (Nys.) darlingi* (1,70%) (Tabela 1e 2).

Tabela 1. Espécies de Anofelinos coletados na armadilha Silva em três configurações de tratamentos que foram LEDs verde, azul e ultravioleta no município de Chapadinha-MA.

ESPÉCIES	N	F	M	%
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	1691	1686	5	45,09%
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	910	858	52	24,26 %
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	652	649	3	17,38%
<i>An. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	81	81	0	2,16%
<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	73	73	0	1,94%
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	71	71	0	1,89
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	64	60	4	1,70%
<i>Anopheles</i> spp.*	208	195	13	5,54%
TOTAL	3750	3673	77	100
%	100	97,94	2,05	

Número total (N), Fêmeas (F), Machos (M), Porcentagem (%), espécimes danificados (*).

Relacionando o número total de fêmeas e machos para esse primeiro experimento, resultado significativo foi encontrado, no qual a média de fêmeas (118,5 ±

26,52/ média $\pm$ SEM) foi maior que a dos machos ($3,85 \pm 0,7989$ / média $\pm$ SEM) ($U=2$: $P=0,0001$) (Tabela 1 e Figura 15).

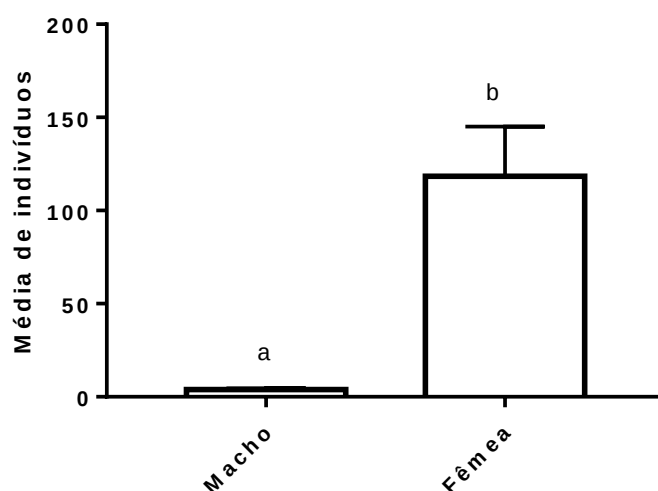


Figura 15. Média ($\pm$ SEM) do número de indivíduos machos e fêmeas totais capturados com o auxílio da armadilha luminosa Silva com luz artificial o diodo emissor de luz utilizando as três cores verde, azul e ultravioleta. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$ (Mann Whitney U-test).

Das espécies coletadas nesse primeiro experimento com o uso do LEDs, nas cores verde, azul e ultravioleta, obteve-se, uma frequência comum de espécies nos três tratamentos utilizados, porém em quantidades variáveis, a maior abundância de indivíduos ocorreu nas armadilhas Silva que tinham o LED verde na seguinte ordem *An. (Nys.) triannulatus* s.l. (48,17%), *An. (Nys.) argyritarsis* (23,45%), e *An. (Nys.) goeldii* (15,65%), no Led azul *An. (Nys.) triannulatus* s.l. (43,56%), *An. (Nys.) argyritarsis* (23,32%), *An. (Nys.) goeldii* (20,47%) e no Led ultravioleta *An. (Nys.) argyritarsis* (36,18%), *An. (Nys.) triannulatus* s.l. (33,46%) e *An. (Nys.) goeldii* (9,33%) (Tabela 2).

Tabela 2. Espécies de anofelinos coletados com a armadilha Silva usando as três cores de fontes luminosas de LEDs verde, azul e ultravioleta em uma área peridomiciliar do município de Chapadinha- MA.

Espécies	Verde	Azul	Ultravioleta	Total (%)
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	871	734	86	1691 (45,09)
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	424	393	93	910 (24,26)
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	283	345	24	652 (17,38)
<i>An. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	35	35	11	81 (2,16)

<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	27	36	10	73 (1,94)
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	32	35	4	71 (1,89)
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	26	28	10	64 (1,70)
<i>Anopheles</i> spp.*	110	79	19	208 (5,54)
	1808	1685	257	3750 (100)

Espécimes danificados (*), porcentagem (%).

Analisando os dados obtidos pelos experimentos utilizados, as armadilhas Silva com a fonte luminosa LED verde obteve uma média de captura maior que os demais tratamentos utilizados com uma representatividade de anofelinos capturados de 48.21%, 58.32 ± 13.93 / média $\pm$ SEM, seguido do LED azul 44.93%, 56.17 ± 14.44 / média $\pm$ SEM e o ultravioleta 6.85%, 9.88 ± 1.74 / média $\pm$ SEM. Diferenças estatísticas foram encontradas entre os tratamentos utilizados (Kruskal-Wallis = 19.68; $P=0,0001$) (Tabela 2, Figura16).

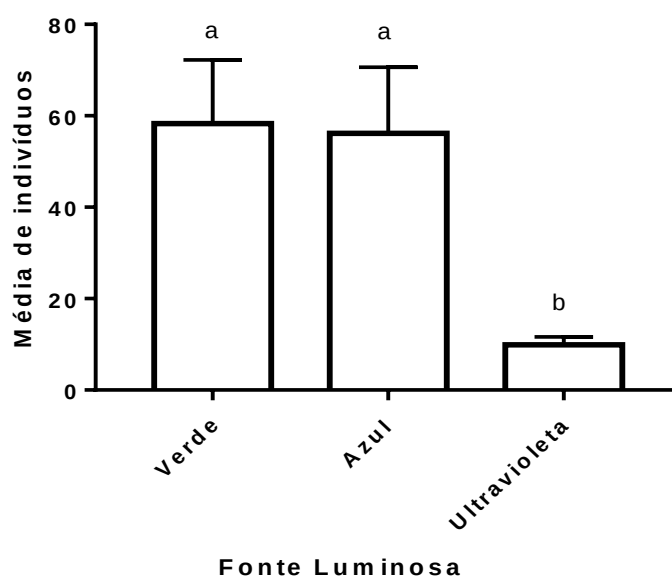


Figura16. Média ($\pm$ SEM) do número de anofelinos capturados com armadilhas Silva utilizando as três cores de LEDs em área peridomiciliar do município de Chapadinha-MA. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Kruskal-Wallis e Mann Whitney U-test).

Variações significativas foram encontradas quando se relacionou os dados da fonte luminosa do LED verde com a quantidade de mosquitos capturados com o Led ultravioleta ($U=134,5$, $P=0,0001$). Não se obteve diferenças estatísticas entre a fonte

luminosa verde e azul, ambas apresentaram uma média aproximada, porém quantidades maiores de mosquitos foram obtidos através das armadilhas com o LED verde. Também foi encontrado diferença estatística entre a fonte luminosa azul e ultravioleta ($U=191$, $P=0,0008$) (Figura 16).

Outra diferença estatística significativa encontrada entre os tratamentos utilizados foi para *An. darlingi*, onde o LED verde (2.6 ± 0.52 / média $\pm$ SEM) atraiu mais espécimes do que o LED ultravioleta (1.11 ± 0.11 / média $\pm$ SEM) ($U=20.5$, $P=0,0257$). Nas análises estatísticas não foi encontrada diferenças significativas entre o LED verde (2.6 ± 0.52 / média $\pm$ SEM) e o azul (2 ± 0.33 / média $\pm$ SEM). Ainda que a armadilha Silva com LED azul tenha apresentado uma atratividade maior de espécimes que as armadilhas Silva com LED ultravioleta, também não houve diferença significativa entre o LED azul (2 ± 0.33 / média $\pm$ SEM) e o LED ultravioleta (1.11 ± 0.11 / média $\pm$ SEM) (Figura 17).

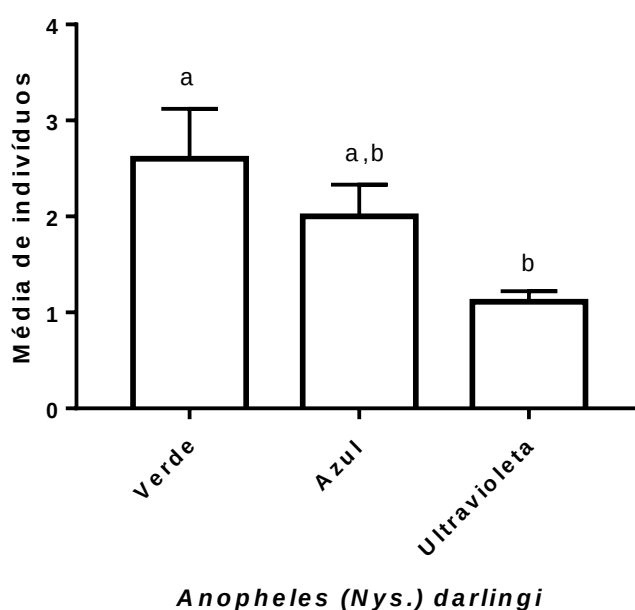


Figura 17. Média ($\pm$ SEM) de indivíduos de *An. darlingi* capturado pelos diferentes tratamentos utilizados que foram os LEDs verde, azul e ultravioleta em uma área de peridomicílio no município de Chapadinha-MA. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Mann Whitney U-test).

Momento 2

No segundo momento, onde as armadilhas foram montadas em alturas diferentes, foram coletados 2.955 espécimes de anofelinos em uma área de mata, usando para isso quatro tipos de tratamentos, que foram as diferentes alturas 0.5m, 1.0m, 1.5m e

2.0m, com uma só cor de fonte luminosa o verde. O LED verde foi utilizado neste experimento, com base nos resultados encontrados na primeira parte do estudo, pois o mesmo apresentou padrão de atratividade maior que as outras cores utilizadas.

Neste segundo momento foram coletadas 9 espécies distribuídas entre os quatro tipos de tratamentos utilizados. Destas, as espécies mais frequentes no estudo foram *An. (Nys.) triannulatus* s.l (65,54%), *An. (Nys.) argyritarsis* (16,20%), *An. (Nys.) goeldii* (10,28%) e *An. (Nys.) evansae* (2,47%), as demais espécies compreendem 3,63% dos espécimes coletados (Tabela 3 e 4).

Tabela 3. Espécies de anofelinos capturados em uma área de mata no município de Chapadinha- MA, por meio de armadilhas luminosas Silva com LED verde, dispostas em alturas diferentes (0,5m, 1,0m, 1,5m e 2,0 m).

Espécies	N	M	F	%
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	1937	27	1910	65,54
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	479	5	474	16,20
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	304	9	295	10,28
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	73	3	70	2,47
<i>Na. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	65	2	63	2,19
<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	21		21	0,71
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	13		13	0,43
<i>An. (An.) mediopunctatus</i> (Lutz, 1903)	6		6	0,20
<i>An. (An.) neomaculipalpus</i> (Curry, 1932)	3		3	0,10
<i>Anopheles</i> spp.*	54	4	50	1,82
	2955	50	2905	100

Número total (N), fêmeas (F), machos (M), porcentagem (%), espécimes danificados (*).

Quando comparado o número total dos espécimes machos e fêmeas, a análise estatística mostrou diferenças significativas ($U=0$; $P=0,0001$), com a média de fêmeas consideravelmente maior ($145,3 \pm 22,77$ / média $\pm$ SEM) que a dos machos ($4,16 \pm 1,16$ / média $\pm$ SEM) (Tabela 3 e Figura 18).

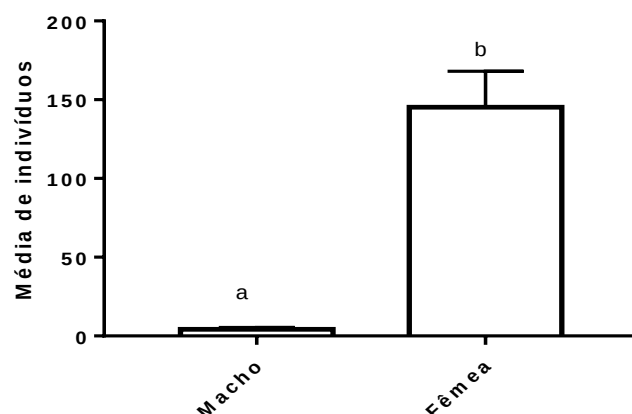


Figura 18. Média ($\pm$ SEM) de mosquitos machos e fêmeas totais coletados em armadilha luminosa Silva com LED verde, utilizando todos os tratamentos (0.5m, 1.0m, 1.5m e 2.0m) no período de setembro a outubro de 2020. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Mann Whitney U-test).

Não se observou diferenças estatisticamente significativas na quantidade de espécimes capturados pelos quatros tratamentos utilizados, que foram armadilhas Silva em diferentes alturas a 0.5m (17.63%, 30.65 ± 4.79 / média $\pm$ SEM), 1.0 m (28,29%, 44 ± 7.61 / média $\pm$ SEM), 1.5 m (32,04%, 47.35 ± 8.53 / média $\pm$ SEM), 2.0 m (22,03%, 34.26 ± 7.60 / média $\pm$ SEM) do solo (Kruskal-Wallis statistic=3,062; $P= 0,3821$). No entanto a abundância obtida por meio da armadilha Silva a 1,5m foi maior que os demais tratamentos empregados, (Tabela 4 e Figura 19).

Tabela 4. Abundância de espécies de anofelinos coletados com auxílio da armadilha Silva acoplada com Led verde em diferentes alturas nos meses de setembro a outubro de 2020 na fazenda Cantinho em Chapadinha-MA.

Espécies	0,5m	1,0m	1,5m	2,0m	Total (%)
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	358	545	609	425	1937(65,54)
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	76	143	164	96	479(16,20)
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	50	78	108	68	304 (10,28)
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	8	29	19	17	73 (2,47)
<i>An. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	11	24	17	13	65 (2,19)
<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	2	6	8	5	21 (0,71)
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	4	1	5	3	13 (0,43)
<i>An. (An.) mediopunctatus</i> (Lutz, 1903)		2	2	2	6 (0,20)

<i>An. (An.) neomaculipalpus</i> (Curry, 1932)	1	2	3 (0,10)		
<i>Anopheles</i> spp.*	12	7	15	20	54 (1,82)
	521	836	947	651	2955 (100)

Porcentagem (%), espécimes danificados (*).

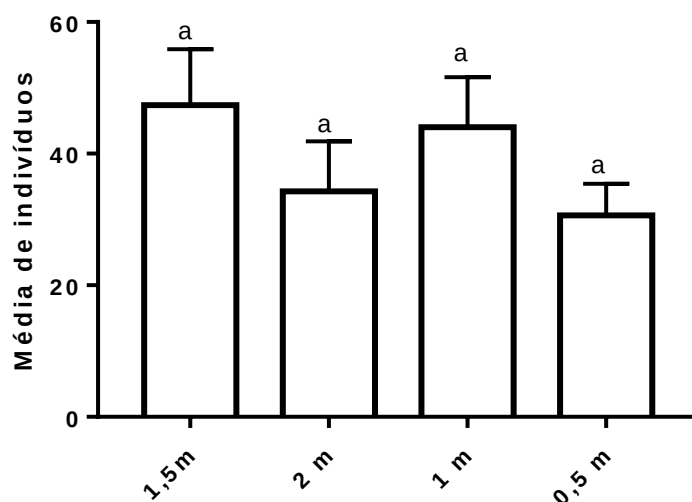


Figura 19. Média ($\pm$ SEM) do número de anofelinos coletados utilizando armadilhas Silva com LEDs verde em quatro alturas diferentes em área de mata no município de Chapadinha-MA. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Kruskal-Wallis test e Mann Whitney U-test).

Momento 3

Foram capturados um total de 2.304 espécimes no terceiro momento, realizado nos meses de novembro a janeiro de 2021, com pelo menos 5 repetições em uma área de mata. Os indivíduos capturados estão distribuídos entre 9 espécies com abundância variável. Destes, 20,92% estavam danificados, impossibilitando a identificação morfológica (Tabela 5 e 6).

Segundo a ordem de abundância, as espécies com maior prevalência foram *An. (Nys.) triannulatus* s.l (53,51%), *An. (Nys.) argyritarsis* (11,19%), *An. (Nys.) goeldii* (10,72) e *An. (Nys.) evansae* (1,47%). As demais espécies correspondem a 2,15% do total capturado (Tabela 5).

Tabela 5. Quantidade de espécies de anofelinos capturados nos meses de novembro a janeiro de 2021 em área de mata em Chapadinha-MA, com o auxílio das armadilhas Silva com LED verde, armadilha HP com luz incandescente e armadilha HP com LED verde.

Espécies	N	M	F	%
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	1233	10	1223	53,51
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	258	26	232	11,19
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	247	12	235	10,72
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	34		34	1,47
<i>An. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	26		26	1,12
<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	11		11	0,47
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	9		9	0,39
<i>An. (An.) mediopunctatus</i> (Lutz, 1903)	3		3	0,13
<i>An. (An.) neomaculipalpus</i> (Curry, 1932)	1		1	0,04
<i>Anopheles</i> spp.*	482	11	471	20,92
	2304	59	2245	100

Número total (N), fêmeas (F), machos (M), porcentagem (%), espécimes danificados (*).

Resultados significativos foram encontrados comparando-se a média total de machos (2,56%, 4.53 ± 1.37 / média $\pm$ SEM) com as fêmeas (97,43% 149.7 ± 22.02 / média $\pm$ SEM), sendo que o número de fêmeas foi significativamente maior ($U=0$; $P<0,0001$) (Figura 20).

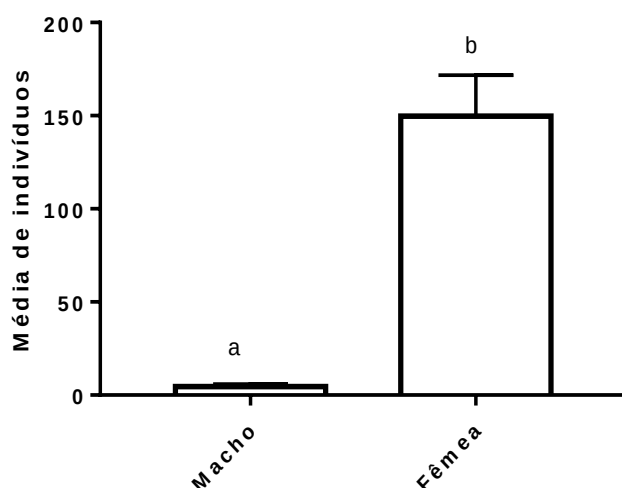


Figura 20. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos machos e fêmeas totais capturados com diferentes tipos de armadilhas, armadilha Silva com LED verde, armadilha HP com luz incandescente e armadilha HP com LED verde, em uma área de mata em Chapadinha-MA. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Mann Whitney U-test).

Em relação à quantidade capturada por cada tipo de tratamento, obtivemos o seguinte: a armadilha Silva com LED verde contribuiu com 38,88% (59.73 ± 6.69 / média

$\pm$ SEM), seguida pela armadilha HP com LED verde 36,37% (55.87 ± 11.43 / média $\pm$ SEM) e a armadilha HP com luz incandescente 24,73% (38 ± 6.54 / média $\pm$ SEM). A análise estatística mostrou diferença significativa entre dois tratamentos utilizados, que foi entre a armadilha Silva e a armadilha HP com luz incandescente ($U= 60.5$; $P= 0,0303$) (Figura 21 e Tabela 6).

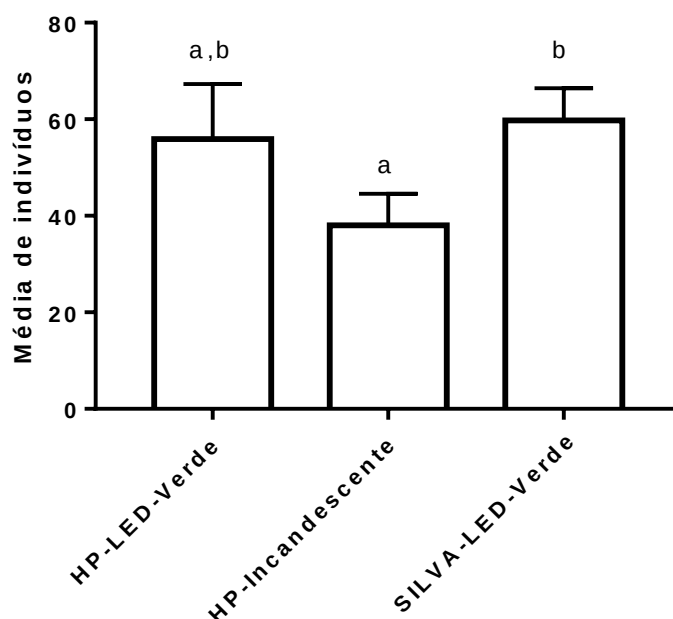


Figura 21. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos capturados com dois tipos de armadilhas: a HP e a Silva e em três opções de tratamentos, armadilha HP com LED verde, armadilha HP com luz incandescente e armadilha Silva com LED verde em uma área de mata no município de Chapadinha-MA, entre os meses de novembro a janeiro de 2021. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística $p < 0,05$. (Mann Whitney U-test).

Uma outra diferença estatística significativa foi encontrada quando se retirou a quantidade de anofelinos danificados nos dois tipos de tratamentos e comparou-se o restante total capturado. A média para armadilha Silva com LED verde foi de 58.47 (± 6.37 /média $\pm$ SEM) que coletou estatisticamente mais anofelinos sem danificá-los que a armadilha HP com LED verde (37.6 ± 7.34 / média $\pm$ SEM) ($t=2,146$ $df=28$; $P=0,0407$) (Figura 22).

Tabela 6. Quantidade total de anofelinos por tratamento e espécies capturados com auxílio de armadilha Silva e armadilha HP, em área de mata no município de Chapadinha-MA.

Espécies	HP com LED	Incandescente	Silva	Total (%)
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> s.l. (Neiva & Pinto, 1922)	376	272	585	1233 (53,51)
<i>An. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	80	40	138	258 (11,19)
<i>An. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom & Gabaldón, 1941)	88	59	100	247 (10,72)
<i>An. (Nys.) rangeli</i> (Gabaldón, Cova-Garcia & Lopez, 1940)	8	3	15	26 (1,12)
<i>An. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	7	3	24	34 (1,47)
<i>An. (Nys.) galvaoi</i> (Causey, Deane & Deane, 1943)	3	1	7	11 (0,47)
<i>An. (An.) mediopunctatus</i> (Lutz, 1903)	2		1	3 (0,13)
<i>An. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)		3	6	9 (0,39)
<i>An. (An.) neomaculipalpus</i> (Curry, 1932)			1	1 (0,04)
<i>Anopheles</i> spp.*	274	189	19	482 (20,92)
	838	570	896	2304

Porcentagem (%), espécimes danificados (*).

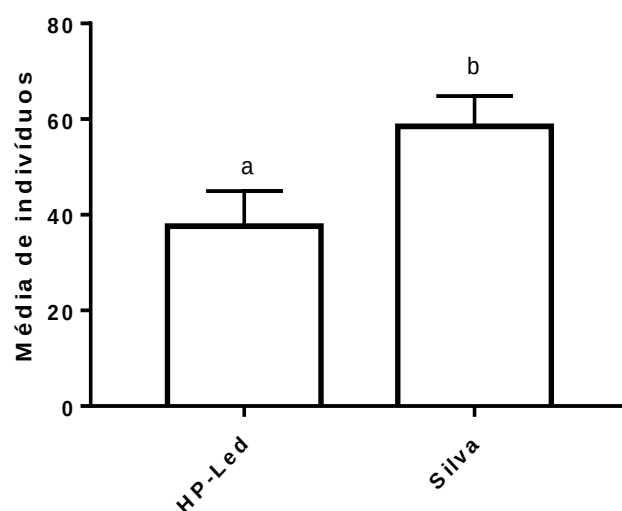


Figura 22. Média ($\pm$ SEM) de anofelinos coletados utilizando dois tipos de tratamentos armadilha HP com LED Verde e armadilha Silva com LED verde, nesse gráfico foram excluídos os espécimes danificados da amostra e comparou-se o restante dos indivíduos capturados pelos dois tratamentos. Letras “a” e “b” referem-se à diferença estatística ($p < 0,05$), teste t-Student.

8 DISCUSSÃO

As espécies encontradas no presente estudo possuem ocorrências já registradas na literatura para o estado do Maranhão e município de Chapadinha (REBÊLO et al., 2007). As espécies obtidas com maior frequência se assemelham aos resultados denotados por Costa-Neta et al. (2017, 2018) e Silva et al. (2019).

A alta prevalência de algumas espécies como o *An. triannulatus* s.l, nos dois ambientes de estudo, peridomicílio e mata, e em diferentes meses também foram observados por Silva et al. (2018), que capturaram essa espécie em diferentes espaços, como o peridomicílio, intradomicílio e o extradomicílio, com ocorrência maior no extradomicílio, fazendo referência a um comportamento mais zoofílico. Segundo dados desses autores, a maior abundância dessa espécie ocorreu no fim da estação seca até o começo do período chuvoso. Por outro lado, essa espécie já foi encontrada infectada por dois tipos de *Plasmodium* o *vivax* e o *P. malarie* em áreas antropizadas no sudeste do Brasil, atribuindo possivelmente o papel de vetor secundário (DUARTE et al., 2013).

Destacando a segunda espécie mais capturada neste estudo, o *An. argyritarsis*, tanto no peridomicílio como na mata é um mosquito que também já foi encontrado no intradomicílio por meio do método de atração humana como mostrado no estudo de Oliveira-Pereira e Rebêlo (2000). Porém, associado à sua ocorrência ao longo do ano e a sua frequência dentro da habitação humana como nos anexos, como observado no estado do Maranhão por Oliveira-Pereira e Rebêlo (2000), tal bionomia poderia ser um determinante na classificação dessa espécie como um vetor secundário nessa região, ainda que a capacidade de infecção pelo parasita seja baixa. Devido à falta de informações suficientes que sustentem sua competência vetorial, esse mosquito passa a não estar relacionado à transmissão da malária em alguns locais da Bolívia (LARDEUX et al., 2013). Juri et al. (2015) descrevem o *An. argyritarsis* como vetor secundário na Argentina, com padrão de distribuição e condições ambientais favoráveis à sua ocorrência, sendo comum, ao vetor primário de malária nesse país o *Anopheles pseudopunctipennis*, com o aumento no número de ambas as espécies na primavera e sua relação positiva com o aumento da temperatura média.

Outra espécie frequente no estudo, encontrada também em dois ambientes no peridomicílio e mata com alta abundância, foi *An. goeldii*. Esta espécie faz parte do Complexo *nuneztovari* e, de modo geral, foi por algum tempo registrada na literatura

como *An. nuneztovari*, em consequência de erros na identificação morfológica, comprometendo a definição dos registros da distribuição geográfica desta espécie. Apesar desse ocorrido e baseado nas definições posteriormente estabelecidas, para a correta identificação desta espécie, a *An. goeldii* já foi coletada em algumas regiões do Brasil como Amapá, Pará, na bacia do rio Amazonas (SANT'ANA et al., 2015) e no Maranhão.

Capturado em menor abundância em relação às outras espécies na área de estudo, o *An. darlingi*, o principal vetor de malária na Amazônia, possui comportamento diversificado, como mostrado no presente estudo, podendo ser encontrado no interior das residências ou nos ambientes próximos como peridomicílio ou na mata, acrescentado a isso, é um mosquito que permanece ativo ao longo da noite, aumentando assim, as chances do ser humano ser picado, o que complica e compromete o sucesso das principais medidas de controle utilizadas, que são os mosquiteiros tratados com inseticidas e a pulverização residual interna (VEZENEGHO et al., 2016; MOSNIER et al., 2020).

Considerando a importância epidemiológica de *An. darlingi*, destaca-se a necessidade de compreender como os aspectos ecológicos favorecem o aumento da densidade desse vetor, os seus locais de ocorrência, bem como a estrutura organizacional e o modo de vida das pessoas que estão frequentemente expostas a fim de delimitar medidas acessíveis e assim melhorar as estratégias de vigilância, se constituem como fatores essenciais em um trabalho de combate a transmissão da malária (VEZENEGHO et al., 2016). Esses autores ainda complementam que é importante a criação de métodos que também considerem o comportamento exofílico e exofágico dessa espécie. Assim, conforme os achados deste estudo, a armadilha Silva é uma proposta favorável de uso, pois a mesma mostrou bom desempenho em todos os ambientes estudados principalmente em considerar o comportamento desse mosquito em ambientes externos, ainda, que a densidade de mosquitos no local de estudo tenha sido baixa, além de ser uma armadilha econômica, o que permite essa ferramenta ser amplamente utilizada.

Nesse contexto, destacamos a essencialidade dos resultados encontrados no presente estudo por se caracterizar em uma medida alternativa a ser adotada na captura de *An. darlingi* em programas de monitoramento, pois armadilhas Silva com diodo emissor de luz (LED) verde capturaram números significativos desta espécie em uma área próxima às habitações humanas, quando comparado às armadilhas Silva com LED ultravioleta. Faltando assim relacionar ou comparar em um possível estudo futuro a

armadilha Silva ao método de atração humana, visto que, esse último é o padrão ouro no estudo desse tipo de mosquito.

Dando continuidade aos nossos achados, enfatizando o total de espécimes capturados, as armadilhas Silva com LEDs na cor verde apresentaram alta atratividade em comparação as outras armadilhas com LEDs azul e ultravioleta nas mesmas condições ambientais. Resultados semelhantes foram observados por Costa Neta et al. (2017) testando armadilhas do tipo CDC com LEDs, em que a intensidade da luz verde de 15.000mcd pode ter influenciado de forma positiva na quantidade de anofelinos capturados, em relação ao desempenho do LED azul com intensidade luminosa de 6.000 mcd, embora sem diferenças estatísticas significativas.

Considerando a variedade de insetos existentes e o comportamento de atração à luz, foi observado que o comprimento de onda do LED na cor ultravioleta (395 nm), em detrimento das outras cores utilizadas verde e azul, apresentou uma alta atratividade as mariposas em relação aos mosquitos *Anopheles*, o que torna seu uso desvantajoso e não recomendado quando o objetivo do estudo for a captura de vetores da malária, além de que, a presença das mariposas polui e danifica o material amostral. Contudo a eficácia e sensibilidade a esse comprimento de onda menor já havia sido demonstrado em uma pesquisa de campo por Langevelde et al. (2011) onde a abundância e a riqueza de espécies de mariposas estavam relacionadas a espectros de luz de comprimento de onda mais curto. A eficiência da fonte luminosa na cor ultravioleta também tem se destacado em investigações que tem como objetivo capturar *Culicoides*, sendo assim, sugerido como luz padrão, além disso, como mostrado por Probst et al. (2015), a potência da luz pode gerar efeitos significativos no total de espécimes capturados, onde as armadilhas com luz de potência 8 watts, apresentaram maiores capturas em relação àquelas com luz ultravioleta de potência 4 watts.

Semelhante ao presente trabalho em que as cores verde e azul se sobressaíram sobre a cor do LED ultravioleta, Silva et al. (2014) testaram em seu estudo utilizando várias armadilhas do tipo CDC com diferentes cores de LEDs, na condição padrão com luz incandescente e outras modificadas com a inserção de LEDs nas cores azul (430nm), verde (570 nm), vermelho (660 nm) e ultravioleta (390 nm), e nesse experimento as armadilhas com LEDs verdes e azuis registraram maior ocorrência e diversidade de espécies de *Anopheles* e *Culex*, sobre as demais cores investigadas. Entretanto, nesse estudo os autores não especificaram a intensidades dos LEDs utilizados, apenas que

comprimento de onda mais elevado apresentou-se pouco atrativo como o LED vermelho, enfatizando a importância do uso do LED verde e azul nas técnicas de coletas assim como os achados dessa pesquisa.

A importância da intensidade dos LEDs no número de espécimes capturados verificado na pesquisa atual, já havia sido analisada em estudos anteriores por Costa Neta et al. (2018), em que as capturas de *Anopheles* aumentavam conforme a intensidade luminosa do LED utilizado, com atração relativamente alta com LED verde de 20.000 mCD em comparação ao verde de 10.000 mCD. Essa preferência por intensidades mais alta foi igualmente constatada para outras espécies de insetos como os flebotomíneos (LIMA NETO et al., 2018). Diferente dos nossos dados esses estudos não investigaram o comportamento desses insetos a comprimento de onda na cor ultravioleta de 3.000 mCD.

O sucesso de uma armadilha na captura de *Anopheles* em determinadas alturas está sujeito à variação conforme o modelo de armadilha utilizado como será mostrado nos parágrafos seguintes, na presente pesquisa apesar da armadilha Silva ter coletado mais anofelinos a 1,5 m acima do solo, não se encontrou diferenças estatísticas com as demais alturas testadas, mostrando que a eficiência dessa armadilha em coletar mosquitos independe da altura. Já os autores Hiscox et al. (2014) testaram a eficiência da armadilha Suna em diferentes alturas (15, 30, 45, 60, 75, 90 e 105cm) acima do solo e notaram que a partir de 45 cm as armadilhas Sunas capturavam menos *Anopheles gambiae* em comparação a quantidade obtida a 30 cm. Dados obtidos por meio do uso da armadilha de tela de barreira mostraram que a proporção de 83,9% do total de mosquitos, foram capturados até 1 m de altura acima do solo (DAVIDSON et al., 2018). O que torna o uso desses tipos de armadilhas limitados a alturas específicas, e o que é importante seguir com recomendações e orientações a população quanto ao uso dessas armadilhas em campo, ao contrário destas, a armadilha Silva teve eficácia em todas as alturas testadas.

A dificuldade de se encontrar um método que seja altamente eficiente e abrangente para capturar os mosquitos da malária que possa ser utilizado em qualquer altura, concorre com ampla capacidade de voo e dispersão desse mosquito pelos ambientes. Características importantes sobre esse contexto foram descritas por Braack et al. (2015) onde esses autores mostraram a influência da altura nas atividades hematofágicas de *Anopheles* por meio de capturas com atrativo humano a captura de aterrissagem humana. Os autores notaram que quando um indivíduo estava sentado, as regiões abaixo do joelho eram mais propensas a serem picadas, mas quando esse

indivíduo se colocava em uma posição paralela ao solo, os mosquitos *A. arabiensis* passaram a picar outras partes do corpo como braços, mãos, ombros entre outros locais. Essas variações ecológicas de comportamento dos mosquitos da malária, juntamente com as situações econômicas desfavoráveis dos países mais afetados e as condições precárias de repouso ao anoitecer, se configuram em barreiras que dificultam a eliminação da doença e do vetor nessas áreas. Pensando nessa problemática foi que se buscou descobrir e mostrar a potencialidade de uso da armadilha Silva e a eficiência dessa ferramenta em todas as alturas testadas, além da vantagem de ser feita em materiais acessíveis para atender a essa população.

Seguindo essa variação de altura na captura de vetores da malária e parcialmente similar aos nossos resultados, só que feito em área endêmica de malária os autores Jawara et al. (2009) analisaram a taxa de captura da armadilha MM-X com atrativo de odores humanos em alturas distintas (15, 30, 50, 100 e 150cm) acima do solo, e concluíram em suas análises que densidades maiores de *A. gambiae* (sl) eram coletadas nas armadilhas que estavam a 15 cm do solo, sem diferirem significativamente das que estavam a 150 cm. O que vai de encontro aos nossos dados em que altura de 1,5 m não diferiu estatisticamente das demais testadas, entretanto, posteriormente os autores Jawara et al. (2009) optaram por excluir as demais alturas em um novo teste e verificaram que entre 15 e 150 cm acima do solo, capturas significativas foram conseguidas com armadilha MM-X a 15 cm. Ao contrário de nosso trabalho não se testou a armadilha Silva a 15 cm e nem em área endêmica, ficando essa lacuna a ser respondida possivelmente em novas investigações futuras.

Os resultados do terceiro momento do presente trabalho e a interação significativa do tipo de fonte luminosa com o número de mosquitos coletados, nas capturas feitas com armadilhas HP com lâmpadas incandescentes e armadilha Silva com LED verde com maior atratividade, estão de acordo com as descobertas de Silva et al. (2019) em que armadilhas Silva com LED azul capturaram mais *Anopheles* que as armadilhas luminosas do tipo CDC, com luz incandescente, além da vantagem da armadilha Silva em ambos estudos não comprometerem de forma significativa a identificação morfológica desses espécimes.

Semelhantes aos resultados do presente estudo, Bishop et al. (2004) detectaram que as eficácias das armadilhas de luz aumentaram quando estavam vinculadas a luz LED verde e de altas intensidades em contraste ao desempenho inferior de lâmpadas

incandescentes nas capturas de *Culicoides brevitarsis*. Essa observação também foi comum nessa investigação com quantidades significativas de *Anopheles* em armadilhas SILVA com LED verde em relação às luzes incandescentes. Da mesma forma, Silva et al. (2015) relataram maior atratividade dos LEDs verde 15.000 mCD, sobre as lâmpadas incandescentes nas coleções de *Culicoides*, embora não tenham encontrado diferenças estatísticas entre essas fontes de luz utilizadas.

Em contraste aos resultados desta pesquisa, Ponlawat et al. (2017) verificaram que os mosquitos exibiram preferência significativa pelas lâmpadas incandescentes em armadilhas CDC, ao invés da CDC com outras fontes luminosas como os LEDs nas cores verde e vermelho. Contudo, cabe destacar a dificuldade de relacionar esse estudo aos nossos resultados, pela falta de detalhamento das fontes luminosas utilizadas, como tamanho do LED, comprimento de onda e intensidade. Já em nosso estudo quando a lâmpada incandescente da armadilha HP foi substituída por LED ocorreu um aumento de *Anopheles* capturados, não existindo diferenças estatísticas na quantidade obtida através das armadilhas Silva.

Apesar da existência de vários trabalhos científicos publicados na literatura que abordam as diferentes sensibilidades aos comprimentos de onda, com variações na atração pelos diferentes gêneros e também entre as espécies do mesmo gênero, enfatizamos que para fins de comparações mais padronizadas, percebeu-se a necessidade de informações mais específicas das fontes luminosas utilizadas nos trabalhos já publicados, a fim de relacionar estes aos nossos achados. Desta forma, é importante mencionar que ao realizar uma pesquisa o tipo de luz, o espectro de cores e a intensidade da luz empregada sejam detalhados na metodologia.

Em suma, os dados encontrados sugerem uma alternativa de técnica metodológica para ser empregada em programas de vigilância e monitoramento de vetores da malária. A armadilha Silva, como já citado e demonstrado, é eficiente de baixo valor econômico, pode ser manuseada por qualquer adulto por ser de fácil montagem, é resistente em via de ser confeccionado com materiais duráveis e faz uso de fontes luminosas que emitem comprimentos de cores específicas. Destacamos ainda, a necessidade de avaliação dessa armadilha em área endêmica de malária, visto que, em nossa investigação encontramos a melhor altura e o tipo de fonte luminosa a ser aderido como padrão no uso dessa armadilha.

9 CONCLUSÃO

Visando uma das problemáticas que os países menos desenvolvidos enfrentam que é a persistência da transmissão dos protozoários da malária pelos mosquitos anofelinos para as pessoas em diferentes idades, e com as atuais medidas de controle mais centradas para os ambientes internos, propor e melhorar técnicas de capturas desse vetor é uma forma de incentivar e contribuir no combate e controle do vetor e da doença. Desta forma, nossos dados mostram uma alternativa para a realização de coletas de anofelinos, pois quantidades consideráveis desse vetor podem ser obtidas através de armadilhas Silva que são de baixo custo, o que ficou evidenciado pelos resultados atingidos, onde maiores capturas ocorreram em armadilhas Silva com LED verde a uma altura de 1,5 m acima do solo e em diferentes sítios de coleta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHEE NL, YOUNGBLOOD L, BANGS MJ, LAVERY JV, JAMES S. Considerations for the Use of Human Participants in Vector Biology Research: A Tool for Investigators and Regulators. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 2015; 15: 89- 102.

ARCOS AN, FERREIRA FAS. CUNHA, HB, TADEI WP. Characterization of artificial larval habitats of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) in the Brazilian Central Amazon. **Revista Brasileira de Entomologia** 2018; 62: 267- 274.

BARROS VLL, COSTA FM, SILVA AR, GONÇALVES EGR, BEZERRA DS, LOROSA ES, TADEI WP. Study of behavioral patterns and infection analyses in anopheline species involved in the transmission of malaria in Buriticupu and São José de Ribamar municipality, Maranhão State. **Brazil Entomobrasilis** 2020; 13: 1-12.

BATISTA EPA, NGOWO HS, OPIYO M, SHUBIS G K, MEZA FC, OKUMU FO, EIRAS AE. Semi field assessment of the BG-Malaria trap for monitoring the African malaria vector, *Anopheles arabiensis*. **Plos One** 2018; 13:1-18.

BISHOP AL, WORRALL R, SPOHR LJ, MCKENZIE HJ, BARCHIA IM. Response of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) to light- emitting diodes. **Australian Journal of Entomology** 2004; 43: 184-188.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Mapa de risco da malaria por município de infecção, 2020b. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf. Acesso em: 16-de junho de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde. 740 p. – 3ª ed. atual. rev.- Brasília: Ministério da Saúde 2019.

BRASIL. Ministério Da Saúde, Secretaria de vigilância em saúde. Malária: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção. Ministério da Saúde, Brasília 2020a. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria> >. Acesso em: 16 de junho de 2020.

BRAACK L, HUNT R, KOEKEMOER L, GERICKE A, MUNHENG G, HADDOW AD, BECKER P, OKIA M, KIMERA I, COETZEE M. Biting behaviour of African malária vectors: 1. Where do the main vector species bite on the human body. **Parasites & Vectors** 2015; 8: 76: 2-10.

BRANQUINHO MS, MARRELLI MT, CURADO I, NATAL D, BARATA JM, TUBAKI R, CARRÉRI-BRUNO GC, MENEZES RT, KLOETZEL JK. Infection of *Anopheles* (Kerteszia) *cruzei* by *Plasmodium vivax* and *Plasmodium vivax* variant VK247 in the municipalities of São Vicente and Juquitiba, São Paulo. **Revista Panamericana de Salud Pública** 1997; 2:3: 189-93.

BRISCOE AD, CHITTKA L. 2001. The evolution of color vision in insects. **Annual Review of Entomology** 2001; 46: 471-510.

BRITO GS, AGUIAR JVV ALMEIDA MS, PONTE IS, NETA BMC, SILVA FS. Influence of Moonlight on Male Mating Aggregations of *Nyssomyia whitmani*, a Vector

of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology** 2020; 20 (10): 1–5.

BURKOT TR, FARLOW R, MIN M, ESPINO E, MNZAVA A, RUSSEL TL. A global analysis of National Malaria Control Programme vector surveillance by elimination and control status in 2018. **Malaria Journal** 2019; 18:1-12.

CARLOS BC, RONA LDP, CHRISTOPHIDES GK, SOUZA-NETO JÁ. A comprehensive analysis of malaria transmission in Brazil. **Pathogens and Global Health** 2019; 113: 1-13.

CHARLWOOD JD, HAYES J. Variações geográficas no ciclo de picada de *Anopheles darlingi* Root no Brasil. **Acta Amazônica**, 1978; 8:4: 601-603.

CHARLWOOD DJ, ROWLAND M, PROTOPOPOFF N, CLAIR LC. The Furvela tent-trap Mk 1.1 for the collection of outdoor biting mosquitoes. **PeerJ** 2017; 5: 1-16.

CHAVES LSM, SÁ ILR, BERGAMASCHI DP, SALLUM MAM. Kerteszia Theobald (Diptera: Culicidae) mosquitos and bromeliads: A landscape ecology approach regarding two species in the Atlantic rainforest. **Acta Tropica** 2016; 164: 303-313.

COHNSTAEDT LW, GILLEN e MUNSTERMANN LE. Light-Emitting diode technology improves insect trapping. **Journal of the American Mosquito Association** 2008; 24: 331–334.

COWMAN AF, HEALER J, MARAPANA D, MARSH K. Malaria: Biology and Disease. **Cell** 2016; 167: 610-624.

CONSOLI RAGB, LOURENÇO DE OLIVEIRA R. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: **Editores Fiocruz** 1994; 1-224.

COSTA RNM. Cobertura vegetal e evolução do uso agrícola do solo da região de Chapadinha-MA. **Revista Acta Tecnológica** 2011; 6: 26-61.

COSTA-NETA BM, DA SILVA AA, BRITO JM, MORAES JLP, REBÊLO J MM, SILVA FS. Light-Emitting Diode (LED) Traps Improve the Light-Trapping of Anopheline Mosquitoes. **Journal of Medical Entomology** 2017; 54: 1699–1703.

COSTA-NETA BM, LIMA-NETO AR, DA SILVA AA, BRITO JM, AGUIAR JVC, PONTE IS, SILVA FS. Centers for disease control- type light traps equipped with high-intensity light- emitting diodes as light sources for monitoring *Anopheles* mosquitos. **Acta Tropica** 2018; 163: 61-63.

DA SILVA AA, REBÊLO JMM, CARNEIRO BF, CASTRO MPP, ALMEIDA MS, PONTE IS, AGUIAR JVC, SILVA FS. Exploiting the Synergistic Effect of Kairomones and Light-Emitting Diodes on the Attraction of Phlebotomine Sand Flies to Light Traps in Brazil. **Journal of Medical Entomology** 2019a; 56: 1441-1445.

DAVIDSON JR, SUKOWATI S, SHINTA, ASIH PBS, SYAFRUDDIN D, BASKIN RN, LAURENT B ST, HAWLEY WA, LIU F, BURKOT TR, COLLINS FH, LOBO NF. Using barrier screens to characterize mosquito composition, activity flight, and abdominal status in south Lampung, Indonesia. **Parasites & Vectors** 2018; 11:220: 2-11.

DEANE LM, CAUSEY OR, DEANE MP. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das regiões nordestina e amazônica do Brasil. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública** 1948; 1:4: 827-965.

DEANE LM, VERNIN CS, DAMASCENO RG. Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* em Belém, Pará, por meio de provas de precipitina. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública** 1949; 2: 793-808.

DEANE LM. Malaria vectors in Brasil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz** 1986; 81: 5-14.

DUARTE AMRC, PEREIRA DM, PAULA MB, FERNANDES A, URBINATTIPR, RIBEIRO AF, MELLO MSH, MATOS JRMO, MUCCI LF, FERNANDES LN, NATAL D, MALAFRONTES RS. Natural infection in anopheline species and its implications for autochthonous malaria in the Atlantic forest in Brazil. **Parasites & Vectors** 2013; 6:2-6.

FORATTINI OP, KAKITANI I, MASSAD E, GOMES AC. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae and antropic environment. 1- Parity of blood seeking *Anopheles* (Kerteszia) in South- Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública** 1993; 27(1); 1-8.

GAMA RA, ANDRADE AJ, ANDRADE MCR, EIRAS AE. Avaliação da armadilha HP iscada com diferentes taxas de liberação de octenol na captura de anofelinos (Diptera: Culicidae) em Brejo do Mutambal município de Varzelândia, estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 2007; 40: 408-410.

GETTING PW, ELYAZAR IRF, MOYES CL, SMITH DL, BATTLE KE, GUERRA CA, PATIL AP, TATEM AJ, HOWES RE, MYERS MF, GEORGE DB, HORBY P, WERTHEIM HFL, PRICE RN, MUELLER I, BAIRD JK, HAY SI. A long neglected world malaria map: *Plasmodium vivax* endemicity in 2010. **Plos Neglected Tropical Diseases** 2012; 6: 1-12.

GUEYE CS, NEWBY G, GOSLING RD, WHITTAKER MA, CHANDRAMOHAN D, SLUTSKER L, TANNER M. Strategies and approaches to vector control in nine malaria eliminating countries: a cross-case study analysis. **Malaria Journal** 2016; 15: 2-14.

HAY SI, SINKA MR, OKARA RM, KABARIA CW, MBITHI PM, TAGO CC, BENZ D, GETTING PW, HOWES RE, PATIL AP, TEMPERLEY WH, BANGS MJ, CHAREONVIRIYAPHAP T, ELYAZAR IRF, HARBACH RE, HEMINGWAY J, MANGUIN S, MBOGO CM, RUBIO-PALIS Y, GODRAY HCJ. Developing global maps of the dominant *anopheles* vectors of human malária. **Plos Medicine** 2010; 7:1-6.

HARBACH R. Inventário taxonômico de mosquitos 2018. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6047/> Acesso em 10 de abril de 2019.

HISCOX A, OTIENO B, KIBET A, MWERESA CK, OMUSULA P, GEIER M, ROSE A, MUKABANA WR, TAKKEN W. Development and optimization of the suna trap as a tool for mosquito monitoring and control. **Malaria Journal** 2014; 13:257: 2-14.

HIWAT H, BRETAS G. Ecology of *Anopheles darlingi* Root with respect to vector importance: a review. **Parasites & Vectors** 2011; 4: 1-13.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatísticas 2020. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/chapadinha.html>>: Acesso em 20 de maio de 2021.

JAWARA M, SMALLEGANGE RC, JEFFRIES D, NWAKANMA DC, AWOLOLA TS, KNOIS BGJ, TAKKEN W, CONWAY DJ. Optimizing odor-baited trap methods for collecting mosquitos during the malária season in the Gambia. **Plos One** 2009;4: 1-6.

JOICE R, NILSSON SK, MONTGOMERY J, DANKWA S, EGAN E, MORAHAN, B, SEYDEL KB, BERTUCCINI L, ALANO P, WILLIAMSON KC, DURASINGH MT, TAYLOR TE, MILNER DA, MARTI M. *Plasmodium falciparum* transmission stages accumulate in the human bone marrow. **Science Translational Medicine** 2014; 6: 244; 2-16.

JURI MJD, ESTALLO E, ALMIRÓN W, SANTANA M, SARTOR P, LAMFRI M, ZAIDENBERG M. Satellite-derived NDVI, LST, and climatic factors driving the distribution and abundance of *Anopheles* mosquitoes in a former malarious area in northwest Argentina. **Journal of Vector Ecology** 2015; 40:36-45.

KIRCHGATTER K, TUBAKI RM, MALAFRONTA RM, ALVES IC, LIMA GFMC, GUIMARÃES LO, ZAMPAULO RA, WUNDERLICH G. *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera: Culicidae) in peridomiliary area during asymptomatic malaria transmission in the Atlantic Forest: molecular identification of blood-meal sources indicates humans as primary intermediate hosts. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 2014; 56:5; 403-9.

LANGEVELDE FV, ETTEMA JÁ, DONNERS M, WALLISDEVRIES MF, GROENENDIJK D. Effect of spectral composition of artificial light on the attraction of moths. **Biological Conservation** 2011; 144:2274-2281.

LARDEUX F, ALIAGA C, TEJERINA R, TORREZ L. Comparison of transmission parameters between *Anopheles argyritarsis* and *Anopheles pseudopunctipennis* in two ecologically diferente localities of Bolivia. **Malaria Journal** 2013; 12:282:2-14.

LALLOO DG, SHINGADIA D, BELL DJ, BEECHING NJ, WHITTY CJM, CHIODINI PL. UK malaria treatment guidelines 2016. **Journal of Infection** 2013 72: 635-649.

LEBUT J, MOURVILLIER B, ARGY N, DUPUIS C, VINCLAIR C, RADJOU, MONTMOLLIN E, SINNAH F, PATRIER J, BIHAN LC, MAGALAHES E, SMONIG R, KENDJO E, THELLIER M, RUCKLY S, BOUADMA L, WOLFF, SONNEVILLE R, HOUZÉ S, TIMSIT JF. Changes in the clinical presentation and outcomes of patients treated for severe malaria in a referral French university intensive care unit from 2004 to 2017. **Annals of Intensive Care** 2020; 10: 2-11.

LIMA JBP, ROSA-FREITAS MG, RODOVALHO CM, SANTOS F, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R. Is there an efficient trap or collection method for sampling *Anopheles darlingi* and other malaria vectors that can describe the essential parameters affecting transmission dynamics as effectively as human landing catches?- A Review. **Memória Instituto Oswaldo Cruz** 2014; 109: 685-705.

LIMA-NETO AR, COSTA-NETA BM, DA SILVA AA, BRITO JM, AGUIAR JVC, PONTE IS, SILVA FS. The effect of luminous intensity on the attraction of phlebotomine sand flies to light traps. **Journal of Medical Entomology** 2018; 55: 731-734.

MALLERET B, LI A, ZHANG R, TAN KSW, SUWANARUSK R, CLASER C, CHO JS, KOH EGL, CHU CS, PUKRITTAYAKAMEE S, NG M.L, GINHOUX F, NG LG, LIM CT, NOSTEN F, SNOUNOU G, RÉNIA L, RUSSELL B. *Plasmodium vivax*: restricted tropism and rapid remodeling of CD71-positive reticulocytes. **Blood** 2015; 125:1314–1324.

MALITI DV, GOVELLA N J, KILLEEN GF, MIRZAI N, JOHNSON PCD, KREPPEL K, FERGUSON H M. Development and evaluation of mosquito-electrocuting traps as alternatives to the human landing catch technique for sampling host-seeking malaria vectors. **Malaria Journal** 2015; 14:1-15.

MCCARTHY JS, GRIFFIN PM, SEKULOSKI S, BRIGHT AT, ROCKETT R, LOOKE D, ELLIOTT S, WHILEY D, SLOOTS T, WINZELER EA, TRENHOLME KR. Experimentally induced blood-stage *Plasmodium vivax* infection in healthy volunteers. **Journal of Infectious Diseases** 2013; 208:1688–1694.

MORENO M, SAAVEDRA MP, BICKERSMITH AS, PRUSSING C, MICHALSKI A, RIOS CT, VINETZ JM, CONN JE. Intensive trapping fo blood-fed *Anopheles darlingi* in Amazonian Peru reveals unexpectedly hihg proportions of avian blood-meals.**Plos Neglected Tropical Diseases** 2017;1-19.

MOSNIER E, DUSFOUR I, LACOUR G, SALDANHA R, GUIDEZ A, GOMES MS, SANNA A, EPELBOIN Y, RESTREPO J, DAVY D, DEMAR M, DJOSSOU F, DOUINE M, ARDILLON V, NACHER M, MUSSET L, ROUX E. Resurgence risk for malaria, and the characterization of a recent outbreak in na Amazonian border area between French Guiana and Brazil. **Infectious Diseases** 2020; 20:2-14

MUELLER I, GALINSKI MR, BAIRD JK, CARLTON JM, KOCHAR DK, ALONSO PL, PORTILLO HA. Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. **The Lancet Infectious Diseases** 2009; 9: 555–66.

MUKANA WR, TAKKEN W, COE R, KNOLS BG. Host-specific cues cause differential attractiveness of Kenyan men to the African malaria vector *Anopheles gambiae*. **Malaria Journal** 2002; 1:1-8.

NILSSON SK, CHILDS LM, BUCKEE C, MARTI M. Targeting human transmission biology for malaria elimination. **Plos Pathogens** 2015; 11(6): 1-17.

OLIVEIRA-PEREIRA YN, REBÊLO JMM. Espécies de *Anopheles* no município de Pinheiro (Maranhão), área endêmica de malária. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 2000; 33: 443-450.

OLIVEIRA TMP, LAPORTA GZ, BERGO ES, CHAVES LSM, ANTUNES JLF, BICKERSMITH AS, CONN JE, MASSAD E, SALLUM MAM. Vector role and human biting activity of anophelinae mosquitos in diferente landscapes in the Brazilian Amazon. **Parasites Vectors** 2021; 14:2-13.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Estratégia Técnica Mundial para o Paludismo 2016–2030: Malária – prevenção e controle. 2. Controle de Mosquitos. 3. Doenças Endêmicas. 4. Planejamento em Saúde. **OMS**, Suíça 2015; 1-35.

PASSOS MLV, ZAMBRZYCKI GC, PEREIRA RS. Balanço hídrico e classificação climática para uma determinada região de Chapadinha-MA. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada** 2016; 10: 758-766.

PONLAWAT A, KHONGTAK P, JAICHAPOR B, PONGSIRI A, EVANS BP. Field evaluation of two commercial mosquito traps baited with different attractants and colored lights for malaria vector surveillance in Thailand. **Parasites e Vectors** 2017; 10: 2-9.

PRADO CC, ALVARADO- CABRERA L A, CAMARGO-AYALA PA GARZÓN-OSPINA D, CAMARGO M, SOTO- DE LEÓN SC, CUBIDES JR, CELIS-GIRALDO CT, PATARROYO ME, PATORROYO MA. Behavior and abundance of *Anopheles darlingi* in communities living in the Colombian Amazon Riverside. **Plos One** 2019; 14: 1-17.

PROBST C, GETHMAN JM, KAMPEN H, WERNER D. A comparison of four light traps for collecting *Culicoides* biting midges. **Parasitology Research** 2015; 114: 4717-4724.

PRUSSING C, MORENO M, SAAVEDRA MP, BICKERSMITH SA, GAMBOA D, ALAVA F, SCHLICHTING CD, EMERSON KJ, VINETZ JM, CONN JE. Decreasing proportion of *Anopheles darlingi* biting outdoors between long-lasting insecticidal net distributions in Peri-Iquitos, Amazonian Peru. **Malaria Journal** 2018; 17: 86: 2-14.

PUGEDO H, BARATA R A, FRANÇA-SILVA JC, SILVA JC, DIAS ES. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 2005; 38:70-72.

REBÊLO JMM, MORAES JLP, ALVES GA, LEONARDO FS, ROCHA RV, MENDES WA, COSTA E, CÂMARA LEMB, SILVA MJA, PEREIRA YNO, MENDONÇA JAC. Distribuição das espécies do gênero *Anopheles* (Diptera, Culicidae) no Estado do Maranhão, Brasil. **Caderno Saúde Pública** 2007; 23: 2959-2971.

RECHT J, SIQUEIRA AM, MONTEIRO WM, HERRERA SM, HERRERA S, LACERDA MVG. Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: current challenges in malária control and elimination. **Malaria Journal** 2017;16: 2-18.

REZENDE HR, SOARES RM, JRCC, ALVES IC, NATALD, URBINATTI PR, YAMASAKI T, FALQUETO A, MALAFRONTES RS. Entomological Characterization and natural infection of anophelines in an area of the atlantic forest with autochthonous malaria cases in mountainous region of Espírito Santo state, Brazil. **Neotropical Entomology** 2009; 38(2): 272-280.

RIBAS JS, FERREIRA JO, GIMNIG JE, RIBEIRO, CP, NEVES MSAS, NASCIMENTO TFS. Environmental variables associated with anopheline larvae distribution and abundance in Yanomami villages within unaltered áreas of the Brazilian Amazon. **Parasites & Vectors** 2017; 10:571: 2- 15.

RUBIO-PALIS Y, MORENO J.E, SÁNCHEZ V, ESTRADA Y, ANAYA W, BEVILACQUA M, CÁRDENAS L, MARTÍNEZ Á, MEDINA D. Can Mosquito Magnet® substitute for human-landing catches to sample anopheline populations? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 2012; 107: 546-549.

SALLUM MAM, OBANDO RG, CARREJO N, WILKERSON R. Identification Keys to the *Anopheles* mosquitoes of South America (Diptera: Culicidae). IV. Adult females. **Parasites & Vectors** 2020; 13: 2-14.

SANT'ANA DC, BERGO ES, SALLUM MAM. *Anopheles goeldii* Rozeboom & Gabaldón (Diptera, Culicidae): a species of the Nuneztovari Complex of *Anopheles* Meigen. **Revista Brasileira de Entomologia** 2015; 59: 68-76.

SERVICE MW, TOWNSON H. The *Anopheles* vector. In: Gilles HM, Warrel DA, editors (2002) **Essential Malariology. Fourth edition ed**. London: Arnold 2002: 59-84.

SILVA JS, COURI MS, GIUPPONI APL, ALENCAR J. Mosquito fauna on the Guapiaçu ecological reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil, collected under the influence of different color CDC light traps. **Journal of Vector Ecology** 2014; 39: 384-394.

SILVA MM, SALLUM MAM, ROSA-FREITAS MG, LOURENÇO DE OLIVEIRA R, NASCIMENTO TFS. Anophelines species and the receptivity and vulnerability to malaria transmission in the Pantanal wetlands, Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 2018; 113:2: 87-95.

SILVA FS, COSTA-NETA BM, ALMEIDA MS, ARAÚJO EC, AGUIAR JVC. Field performance of an efficient, low cost, simple-to-build, non-motorized Light-Emitting Diode (LED) trap for capturing adult *Anopheles* mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica** 2019; 190: 9-12.

SILVA FS, BRITO JM, COSTA-NETA BM. Field evaluation of light-emitting diode as attractant for blood-sucking midges of the genus *Culicoides* Latreille (Diptera: Culicomorpha, Ceratopogonidae) in the Brazilian savanna. **Entomological News** 2015; 1-6.

SMALLEGANGE RC, SCHMIED WH, VAN-ROEY KJ, VERHULST NO, SPITZEN J, MUKABANA WR, TAKEN W. Sugar-fermenting yeast as an organic source of carbon dioxide to attract the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. **Malaria Journal** 2010, 9: 2-15.

SINKA ME, BANGS MJ, MANGUIN S, RUBIO-PALIS Y, CHAREONVIRIYAPHAP T, COETZER M, MBOGO CM, HEMINGWAY J, PATIL AP, TEMPERLEY WH, GETHIG PW, KABARIA CW, BURKOT, TR, HARBACH R E, HAY SI. A global map of dominant malaria vectors. **Parasites & Vectors** 2012; 5: 3- 11.

SINNIS P, COPPI A. A long and winding road: the *Plasmodium* sporozoite's journey in the mammalian host. **Parasitology International** 2007; 56(3), 171-178.

SOUGOUFARA S, OTTIEH EC, TRIPET, F. The need for new vector control approaches targeting outdoor biting anopheline malaria vector communities. **Parasites Vectors** 2020; 13: 1-15.

STURM A, AMINO R, SANDE CV, REGENT T, RETZLAFF S, RENNENBERG A, KRUEGER A, POLLOK JM, MENARD R, HEUSSLER VT. Manipulation of host hepatocytes by the malária parasite for delivery into liver sinusoids. **Science** 2006; 313: 1287-1290.

SUDIA WD; CHAMBERLAIN RW. This week's citation classic. **Mosquito News** 1962; 265.

TADEI WP, THATCHER BD, SANTOS JMM, SCARPASSA VM, RODRIGUES IB, RAFAEL MS. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. **The American Journal of tropical Medicine Hygiene** 1998; 59: 325-335.

TADEI WP; THATCHER. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 2000; 42: 87-94.

UENO H.M, FORATINNI OP, KAKITANI I. Distribuição vertical e sazonal de *Anopheles* (*Kerteszia*) em Ilha Comprida, SP. **Revista de Saúde Pública** 2007.41(2): 269-275.

VEZENEGHO SB, ADD A, SANTI VP, ISSALY J, CARINCI R, GABORIT P, DUSFOUR I, GIROD R, BRIOANT S. High malaria transmission in a forested malaria focus in French Guiana: How can exophagic *Anopheles darlingi* thwart vector control and prevention measures? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 2016; 111: 561-569.

WHO. World Malaria report 2016. **World Health Organization**. Geneva 2016; 1-186. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO. World malaria report 2017. **World Health Organization**. Geneva 2017; 1-196. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO. **World Health Organization** 2018. Global report on insecticide resistance in malaria vectors: 2010:2016. Geneva 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges. **World Health Organization**. Geneva. 2020; 1- 247. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO. World malaria report 2019. **World Health Organization**. Geneva 2019; 3-232. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

YERLIKAYA S, CAMPILLO A, GONZALEZ IJ. A Systematic review: Performance of rapid diagnostic tests for the detection of *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium malariae*, and *Plasmodium ovale* monoinfections in human blood. **The Journal of Infectious Diseases** 2018; 218: 265-275.

ZAW MT, LIN Z. Human *Plasmodium knowlesi* infections in South-East Asian countries. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection** 2019; 52: 679-684.

ZHOU R, LI S, ZHAO Y, YANG C, LIU Y, QIAN D, WANG H, DELING L, ZHANG H. Characterization of *Plasmodium ovale* spp. imported from Africa to Henan Province, China. **Scientific Reports** 2019; 9: 1-8.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O MESTRADO.

ANEXO

SILVA FS, COSTA-NETA BM, ALMEIDA MS, ARAÚJO EC, AGUIAR JVC. Field performance of an efficient, low cost, simple-to-build, non-motorized Light-Emitting Diode (LED) trap for capturing adult *Anopheles* mosquitoes (Diptera: Culicidae). Acta Tropica 2019; 190: 9-12.



Field performance of a low cost, simple-to-build, non-motorized light-emitting diode (LED) trap for capturing adult *Anopheles* mosquitoes (Diptera: Culicidae)

Francinaldo SoaresSilva^{abc}Benedita MariaCosta-Neta^{ab}Mayarade Sousa de Almeida^aEudimara Carvalhode Araújo^aJoão Vitor CastroAguiar^a

a Laboratory of Medical Entomology, Center for Agrarian and Environmental Sciences, Federal University of Maranhão, Chapadinha, MA, 65500-000, Brazil b Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65080-805, São Luis, Maranhão, Brazil c Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65080-805, São Luis, Maranhão, Brazil

ABSTRACT

In this paper, a non-powered trap equipped with light-emitting diodes (LEDs) designed for capturing small night-flying insects was field-evaluated for sampling anopheline mosquitoes. This new light trap, referred to as the Silva trap, was compared with the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) miniature light trap in a livestock area in northeastern Brazil. Light traps were operated from 18:00 to 06:00 between July and August 2018, over a 12-night period. A total of 3124 specimens and eight species were collected. *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *argyritarsis* was the prevalent species, followed by *A. (Nys) triannulatus* s.l., *A. (Nys) goeldii*, *A. (Nys) evansae*, *A. (Nys) rangeli*, *A. (Nys) galvaoi*, *A. (Nys) darlingi* and *A. (Nys) albitarsis* s.l. The total number of anopheline mosquitoes captured with the Silva trap was higher than the number of individuals captured with the CDC light trap, but no significant difference between the two trapping methods was found. Concerning the damaged specimens, the Silva trap damaged significantly less mosquitoes than the CDC light trap. According to these results, the Silva trap has acceptable performance in being an efficient tool for sampling anopheline mosquitoes, mainly in comparison with the CDC light trap. The Silva trap has a number of advantages over other trapping devices that collect questing mosquitoes and these advantages are pointed out and discussed.

Keywords: Sampling methods; Anopheline mosquitoes; Malaria surveillance; Silva trap.

1. Introduction

Various sampling devices have been designed and used for monitoring and understanding mosquito population dynamics, mostly employing light or odor as attractants (Kline, 2006; Silver, 2008; Lima et al., 2014; Hoel et al., 2015). These sampling devices can be separated into active or passive traps according to the presence or absence, respectively, of a powered suction device to draw mosquitoes into the trap. Perhaps the best example in the first category (active traps) is the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) light trap (Sudia and Chamberlain, 1962), which is the most known and widely used light-baited device in vector studies. In addition to the use of incandescent light, standard CDC light traps can be baited with host odors such as CO₂ and/or octenol to increase the number of mosquitoes collected (Silver, 2008). Other examples of suction traps are the BG-Sentinel (BGS: Biogents AG, Regensburg, Germany), the Suna (Biogents AG) and the Mosquito Magnet-X (MM-X: American Biophysics Corporation, North Kingstown, RI) traps. BGS and MM-X use two fans simultaneously and host-derived chemical baits as attractants for mosquitoes (Xue et al., 2008; Rubio-Palis et al., 2012; Gama et al., 2013; Hiscox et al., 2014; Vezzenegho et al., 2014). In some suction trap configurations, the airflow is drawn upward (updraft traps) like the BGS and the MM-X, which can be baited with host odors or light (Sexton et al., 1986; Kline, 1999; Hall-Mendelin et al., 2010). This trap design is thought to be more efficient in capturing some species of mosquitoes than the conventional downdraft traps (Ritchie et al., 2008; Gama et al., 2013). The less efficiency of downdraft traps is believed to result from the upward flight behavior of mosquitoes encountering a fan-generated downward airstream, as observed by Wilton and Fay (1972). In the second category (passive traps), as mentioned above, a motorized suction apparatus is absent. After attraction to the traps, mosquitoes enter the traps passively without any suction effect. These traps are baited with host-odors, like the Passive Box Trap (PBT) (Ritchie et al., 2013) and the Collapsible Passive Trap (CPT) (Meyer et al., 2018).

Continued improvements in the performance of light or/and odor-baited traps in capturing adult host-seeking female anopheline mosquitoes have been done to support malaria surveillance and monitoring. In addition to the known advantages of each of the aforementioned active or passive trapping devices, the use of such traps does have drawbacks and limitations (Medlock et al., 2018). Besides increasing energy consumption, the suction apparatus of the active traps can damage anopheline mosquitoes to the point of making species identification impractical (Gama et al., 2013; Rodrigues et

al., 2014; Costa-Neta et al., 2017, 2018). Additionally, the suction traps usually require heavy batteries for running the motorized fan, which need to be recharged after each use. Some of such traps (e.g., CDC, BGS) have a nylon mesh-collecting bag, which contributes enormously to damaged mosquitoes during storage. The use of chemical attractants and carbon dioxide (CO₂) in both active (e.g., Hiscox et al., 2014) and passive traps (Ritchie et al., 2013; Meyer et al., 2018) is often limited due largely to local unavailability, employment and acquisition issues.

Based on the above considerations, new sampling tools capable of overcoming the well-known constraints in malaria monitoring are continually needed. In the current paper, a novel efficient, low cost, simple-to-build, highly portable, passive trap equipped with light-emitting diodes (LEDs) as light sources is presented. This trap, named the Silva trap, is a patent-pending device designed for capturing small night-flying insects. Therefore, the major objective of this study was to field-evaluate the efficiency of this new light trap in capturing host-seeking anopheline mosquitoes.

2. Material and methods

2.1. Study site

The field evaluation was carried out in a small farm in the state of Maranhão, northeast Brazil (3°38'47''S and 43°35'46''W). Annual rainfall is around 1500–1800 mm but the region is characterized by a marked dry season that lasts from July to December. The annual mean temperature ranges between 28 and 30 °C. The vegetation landscape was characterized by fragments of secondary forest (capoeira), dominated by bushes, shrubs and palm trees. Domestic animals such as cattle and pigs were present. Pigs were confined in non-floored wooden pigpens and cattle were at most times roaming freely. This farm has been the site of previous trapping studies on phlebotomine sand flies and anopheline mosquitoes (Silva et al., 2016; Costa-Neta et al., 2017, 2018; Lima-Neto et al., 2018).

2.2. Description of the new light trap

The new light trap (patent pending - BR1020150256710/2015) is referred to as the Silva trap, and was developed by F.S. Silva at Federal University of Maranhão, Brazil. It is composed of two main components (Fig. 1): a cylindrical collecting body (Fig. 1,

A1, 2B) and a half-sphere capture bowl (Fig. 1, A2, B3). The cylindrical body has two lateral openings (Fig. 1 A3) to provide ventilation. The openings are covered with fine wire mesh screens to prevent escape of the insects. The top tip of the cylindrical body has a removable lid (Fig. 1, A4, B4) that gives access to the collected material. A transparent funnel (Fig. 1, A5, B5) is attached on the bottom opening of the cylindrical body to funnel mosquitoes into the trap (Fig. 1, A6). A transparent tube (Fig. 1, A7) is fitted into the tip of the funnel to prevent insects from flying back. The half-sphere capture bowl is attached to the bottom of the cylindrical body (Fig. 1, A6) with the concave surface facing down. LEDs (Fig. 1, A8) are used to attract mosquitoes to the trap, and are positioned just below the bottom edge of the half-sphere capture bowl, as depicted in Fig. 1 (B6; C). The half-sphere capture bowl has a concave reflective surface on which light from LEDs is incident. LEDs are angled upwardly so that light from LEDs (Fig. 1, A9) is focused into the cylindrical body through the funnel. The battery holders are attached in the inner surface of the half-sphere capture bowl (Fig. 1, A10) and can be removed after each use.

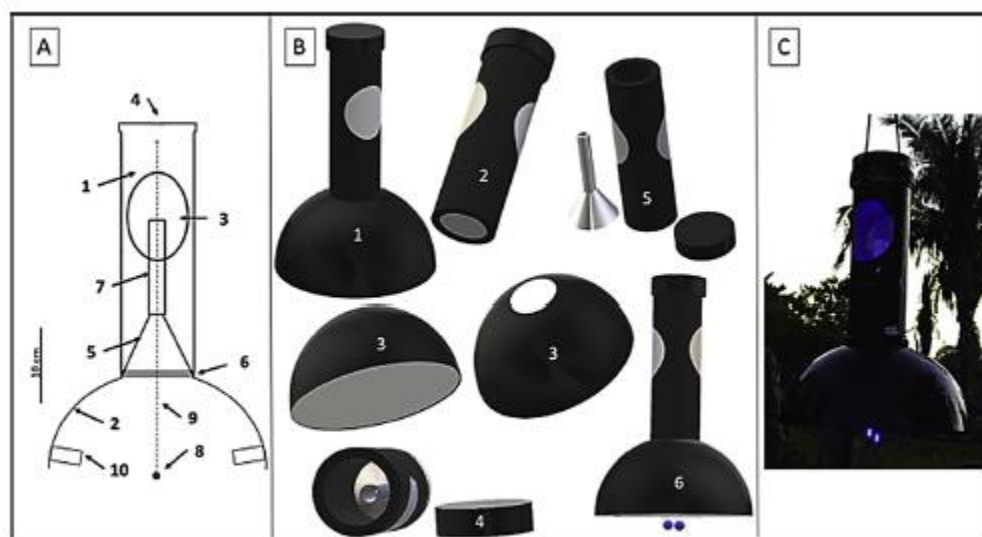


Fig. 1. The Silva trap. A – Cross-sectional view: 1, cylindrical collecting body; 2, half-sphere capture bowl; 3, openings; 4, removable lid; 5, transparent funnel; 6, attachment site between the cylindrical body and the half sphere bowl; 7, transparent tube; 8, light sources (LEDs); 9, light from LEDs; 10, battery holders. B – Tridimensional view: 1, assembled Silva trap; 2, cylindrical collecting body; 3, half sphere capture bowl; 4, removal lid; 5, parts of the collecting body; 6, position of LEDs (drawings: F.S. Silva). C – The fully assembled Silva trap in the field, showing the two LEDs positioned just below the bottom edge of the half-sphere capture bowl (photo: F.S. Silva).

The Silva trap is operated in a vertical position (Fig. 1, C) allowing insects to enter the cylindrical body from below. After attraction to the light sources (LEDs),

mosquitoes alight on the illuminated inner concave surface of the half-sphere capture bowl and then fly upward through the funnel toward the interior of the collecting cylindrical body (Silva, F.S., personal observation). The half-sphere capture bowl can be detached from the cylindrical body after insect collection for ease of transportation and handling. Before transportation of the collected material, the funnel entrance of the cylindrical body should be closed by inserting a plug to prevent mosquitoes from escaping.

2.3. Trapping methods

To field-evaluate the efficiency of the Silva trap in capturing adult anopheline mosquitoes, two Silva trap replicates were used (Silva I and Silva II). Each of the two Silva traps was equipped with two 5 mm round type high intensity blue LEDs (470 nm, 15,000 milicandella, 20-30°, 20 mA, 3.2 V) powered by 3.2 V Li-FePO₄ size 26,650 rechargeable batteries (one battery per LED). These batteries have a nominal capacity of 3000 mA h and can last for ± 150 hs (3000/20) or ± 12 12h-nights of work. Two routine CDC miniature light traps (BioQuip[®], 2836BQ) equipped only with incandescent bulbs (4 W, 6,3 V, CM-47) as attractant were used as control (CDC I and CDC II). In this case, the motor and incandescent lamp draw 320 mA and require a 6-V battery (10 Amp/h). All the batteries used in the experiments were fully charged on each collecting date.

The four light traps were set around a pigpen at a distance of 25 m from each other in a quadrangular arrangement. All traps were hung so that the light sources were approximately 1.5 m above the ground. Trap positions were rotated each night in a clockwise direction. The four traps were operated each night from 18:00 to 06:00 between July and August 2018.

2.4. Species identification and statistical analysis

After collection, insects were transported to the Laboratory of Medical Entomology, Federal University of Maranhão, to be freezer-killed (-20 °C), counted and identified to species according to the dichotomous identification key provided by Consoli and Lourenço-de-Oliveira (1994). The undamaged specimens are deposited in the entomological collection of the Federal University of Maranhão.

The Kruskal-Wallis test followed by the Dunn's multiple comparison test were done to analyze the data. The Shapiro-Wilk test was applied first to assess the assumption of normality of the data. The differences were statistically significant when $p < 0.05$. All tests were performed using GraphPad Prism (GraphPad Software Inc, San Diego, USA).

3. Results and discussion

Over the 12-night period of study, 3124 specimens and eight species were found. Male captures were low, with only 31 individuals (0.99%) (Table 1). *Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis* was the prevalent species with a mean number of 83.17 ± 14.41 (mean $\pm$ SE) per night, followed by *A. (Nys) triannulatus s.l.* (55.83 ± 10.93), *A. (Nys) goeldii* (39.83 ± 8.89), *A. (Nys) evansae* (27.83 ± 7.76), *A. (Nys) rangeli* (9.50 ± 1.96), *A. (Nys) galvaoi* (6.08 ± 1.71), *A. (Nys) darlingi* (2.00 ± 0.55) and *A. (Nys) albitarsis s.l.* (0.08 ± 0.08) (Table 1). All of these anopheline species have previously been reported in the study area by Costa-Neta et al. (2017, 2018). Some of them are associated with malaria transmission, such as *A. darlingi*, the most efficient vector species for malaria in the Amazon Basin (Tadei and Thatcher, 2000; Pimenta et al., 2015). *Anopheles triannulatus s.l.* and *A. albitarsis s.l.* were already found to be naturally infected with *Plasmodium* species (*P. vivax* and *P. falciparum*) in the Brazilian amazon (Tadei and Thatcher, 2000), but their role as malaria vectors remains to be elucidated (Pimenta et al., 2015). The fact that this study was conducted in a livestock area, where domestic animals such as pigs and cattle are typically found, may explain the low density of *A. darlingi*, a species known to be highly anthropophilic and peridomiciliary. Likewise, the high frequency of *A. argyritarsis* may be justified by the fact that this species is associated with pasture areas as shown in a study performed by Ferreira et al. (2016) in southeastern Brazil. However, further studies are needed to evaluate the performance of the Silva trap in endemic areas for malaria, where the main vectors are most abundant.

The total number of anopheline mosquitoes captured with the Silva traps (Silva I = 842; Silva II = 840) was higher than the number of individuals in the two CDC light traps (CDC I = 772; CDC II = 670) (Table 1), but no significant difference between the two trapping methods was found (Kruskal-Wallis = 2.712; $P = 0.4382$). Concerning the damaged specimens, the Silva trap damaged significantly less mosquitoes (Silva I = 3.08 ± 1.22 ; Silva II = 2.83 ± 0.79) than the CDC light trap (CDC I = 15.58 ± 4.32 ; CDC II = 14.50 ± 4.09) (Kruskal-Wallis = 21.38; $P < 0.0001$). All these results demonstrated that the Silva trap is a very efficient tool in capturing anopheline mosquitoes in comparison with the standard CDC light trap.

The Silva trap is a LED-based device. The use of LEDs has been shown to be a suitable alternative for improving light-trap efficiency (Cohnstaedt et al., 2008; Silva et al., 2016; Costa-Neta et al., 2017, 2018; Lima-Neto et al., 2018). LED light sources offer several advantages over the incandescent bulb used in the standard light traps, such as low-power consumption, widely available commercially, long life, durability and low cost. Unlike incandescent lamps, which most radiation is emitted as infrared or heat, LEDs have narrow and specific wavelengths (ultraviolet, visible or near-infrared light) (Cohnstaedt et al., 2008), allowing the expansion of the use of Silva traps for different insect targets. Additionally, since LEDs are operated at relatively low current densities (20 mA), the Silva trap is able to run from small and lightweight rechargeable batteries. Besides the above advantages, the relatively low price and availability of LEDs, in comparison to nonlighted attractants, make the Silva trap even more economically advantageous.

The Silva traps used in the present study were equipped with two high-intensity blue LEDs. The wavelength (color) and intensity of LEDs were chosen according to previous studies (Costa-Neta et al., 2017, 2018), which demonstrated an increase in the efficiency of LEDs attracting anopheline mosquitoes. The choice of two LEDs was according to a pilot study conducted to assess the influence of the number of LEDs on the attractiveness of CDC-type light traps to phlebotomine sand flies. This pilot study showed that light traps bearing two LEDs are more efficient in collecting sand flies than just one LED (data not published).

The Silva trap has a number of advantages over other trapping devices that collect questing mosquitoes. The Silva trap has no suction apparatus. A very common and troublesome complaint in suction trapping is that decisive taxonomic characters of anopheline species (e.g., hind legs and scales) are easily damaged when passing through the suction apparatus (Gama et al., 2007, 2013; Rodrigues et al., 2014; Costa-Neta et al., 2017, 2018). It prevents species identification by using conventional dichotomous keys. This problem is greatly reduced when using a passive trap like the Silva trap. In this particular case, the anopheline mosquitoes fly up into the trap almost spontaneously after landing on the illuminated inner concave surface of the half-sphere capture bowl. This

Table 1

Mean catch per night per trap and total number of individuals and percentage of anopheline mosquitoes captured with the Centers for Disease Control Light Trap (CDC) and the Silva Trap (ST) in northeast Brazil.

Anopheles (Nyssorhynchus) mosquitoes	CDC I		CDC II		ST I		ST II		Total	%
	Mean $\pm$ SE	N	Mean $\pm$ SE	N	Mean $\pm$ SE	N	Mean $\pm$ SE	N		
A. (Nys) argyritarsis (Robineau Desvoidy, 1827)	12.42 $\pm$ 2.96	149	11.33 $\pm$ 1.96	136	29.25 $\pm$ 8.03	351	30.17 $\pm$ 4.97	362	998	31.95
A. (Nys) triannulatus (Neiva and Pinto, 1922)	12.75 $\pm$ 4.42	153	9.50 $\pm$ 1.97	114	17.25 $\pm$ 4.59	207	16.50 $\pm$ 2.25	198	670	21.45
A. (Nys) goeldii (Rozeboom and Gabaldón, 1941)	11.83 $\pm$ 3.72	142	9.33 $\pm$ 2.11	112	9.08 $\pm$ 2.53	109	9.58 $\pm$ 1.55	115	478	15.30
Anopheles spp. ^a	15.58 $\pm$ 4.32	187	14.50 $\pm$ 4.09	174	3.08 $\pm$ 1.22	37	2.83 $\pm$ 0.79	34	432	13.83
A. (Nys) evansae (Brethés, 1926)	8.08 $\pm$ 3.11	97	7.91 $\pm$ 2.29	95	6.25 $\pm$ 1.89	75	5.58 $\pm$ 1.51	67	334	10.69
A. (Nys) rangeli (Gabaldón, Cova-Garcia and Lopez, 1940)	1.91 $\pm$ 0.46	23	1.66 $\pm$ 0.59	20	2.75 $\pm$ 0.94	33	3.16 $\pm$ 0.73	38	114	3.65
A. (Nys) galvaoi (Causey, Deane and Deane, 1943)	1.50 $\pm$ 0.62	18	1.25 $\pm$ 0.57	15	1.75 $\pm$ 0.66	21	1.58 $\pm$ 0.55	19	73	2.34
A. (Nys) darlingi (Root, 1926)	0.25 $\pm$ 0.13	3	0.33 $\pm$ 0.14	4	0.75 $\pm$ 0.37	9	0.66 $\pm$ 0.30	8	24	0.77
A. (Nys) albitarsis (Lynch Arribáizaga, 1878)	–	0	–	0	–	0	–	1	1	0.01
Total number of individuals	772		670		842		840		3,124	
Mean of individuals per night/trap	64.33 $\pm$ 17.61		55.83 $\pm$ 11.28		70.17 $\pm$ 16.80		70.00 $\pm$ 10.38			
Total number of males	7		5		11		8		31	0.99

^a specimens too damaged to identify; N = total number of individuals per trap; SE = Standard Error.

flight behavior may possibly be similar to that found for some African anopheline mosquitoes that fly upwards when they encounter vertical surfaces (Snow et al., 1987). Another advantage is that the Silva trap has no fragile collecting bag. The collecting bags of some traps are made of nylon mesh (e.g., CDC light traps) and this feature contributes enormously to damage mosquitoes. Conversely, the Silva trap has a cylindrical rigid and non-deformable collecting body that keeps the collected mosquitoes undamaged. It is suitable for transporting the specimens alive to the laboratory for further investigation (e.g., mosquito-borne pathogen surveillance). The Silva trap has a small catch size and reduced sample pollution. This offers an advantage over light traps (and other suction traps), in which a large catch of non-target insects is collected (Medlock et al., 2018). This sample pollution contributes significantly to damage mosquitoes. The Silva trap design and its operational performance allow only small flying insects to enter the trap, preventing damage to the collected material. In addition, in comparison with suction lighted traps, the Silva trap design guarantees a small catch, which reduces greatly the labor in separating mosquitoes from the rest of the catch, and thus little damage is done. Structurally, the Silva trap was design to be simple-to-build and easy to use. Some monitoring traps (e.g., Mosquito Magnet Trap) are large, heavy, rigid, and difficult to transport in large numbers. In general, suction traps require large and heavy batteries to power trap fans. Very often, these traps require compressed-gas equipment, which is bulky and heavy. In this context, one of the most significant advantages of the Silva trap is its simplicity in design and construction. Because of its lightweight (0.78 kg), the Silva trap can be easily transported in the field. Since it is easy and simple to handle, there is no need for experienced operators when a large number of traps are required to conduct monitoring studies in large areas. Suction traps are impractical for routine monitoring in certain areas because they are expensive and require an electrical power supply. Additionally, a number of traps (e.g., Hiscox et al., 2014), including the passive traps by Ritchie et al. (2013) and Meyer et al. (2018), use host odor or chemical stimuli to attract mosquitoes, but often unavailable and expensive to obtain in certain settings (Silva, F.S., personal communication). As already mentioned, the Silva trap is an economically advantageous relative to using LEDs as attractants for mosquitoes. LEDs are low electric consumption, easily available and cheap. Additionally, the simplicity in design minimizes the costs of production and it will contribute to the final price of the Silva trap to the users. By using rechargeable batteries with high capacity for powering LEDs, the Silva trap can

be operated for several nights of work without recharging such batteries. Thus, the Silva trap can potentially be used as an efficient trap for malaria surveillance in remote areas.

The main objective of this study was to field-evaluate the Silva trap performance in collecting anopheline mosquitoes. The results and arguments presented above point that the Silva trap has acceptable performance in being an efficient tool for sampling anopheline mosquitoes, mainly in comparison with the CDC light trap, which was used as “control”. The Silva trap is a patent-pending device and is not yet commercially available. New studies have to be done in order to have a broad evaluation of the Silva trap in different malaria transmission settings, such as forests, domestic and peridomestic habitats.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Acknowledgments

We are most grateful to Mr. Benedito and family for the use of their property as a research site. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

- Cohnstaedt, L., Gillen, J.I., Munstermann, L.E., 2008. Light-emitting diode technology improves insect trapping. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24, 331–334.
- Consoli, A.G.B., Lourenço-de-Oliveira, R., 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. pp. 224pp.
- Costa-Neta, B.M., da Silva, A.A., Brito, J.M., Moraes, J.P., Rebêlo, J.M.M., Silva, F.S., 2017. Light-Emitting Diode (LED) traps improve the light-trapping of anopheline mosquitoes. *J. Med. Entomol.* 54, 1699–1703.
- Costa-Neta, B.M., Lima-Neto, A.R., da Silva, A.A., Brito, J.M., Aguiar, J.V.C., Ponte, I.S., Silva, F.S., 2018. Centers for Disease Control and Prevention-type light traps equipped with high-intensity light-emitting diodes as light sources for monitoring *Anopheles* mosquitoes. *Acta Trop.* 183, 61–63.
- Ferreira Jr, F.C., Rodrigues, R.A., Sato, Y., Borges, M.A.Z., Braga, E.M., 2016. Searching for putative avian malaria vectors in a seasonally Dry Forest in Brazil. *Parasit. Vectors* 9, 587.

- Gama, R.A., Andrade, A.J., Andrade, M.R., Resende, M.C., Eiras, A.E., 2007. Avaliação da armadilha HP iscadas com diferentes taxas de liberação de octenol na captura de anofelinos (Diptera: Culicidae) em Brejo do Mutambal, município de Varzelândia, estado de Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40, 408–410.
- Gama, R.A., da Silva, I.M., Geier, M., Eiras, Á.E., 2013. Development of BG-Malaria trap as an alternative to human-landing catches for the capture of *Anopheles darlingi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108, 763–771.
- Hall-Mendelin, S., Ritchie, S.A., Johansen, C.A., Zborowski, P., Cortis, G., Dandridge, S., Hall, R.A., van der Hurk, A.F., 2010. Exploiting mosquito sugar feeding to detect mosquito-borne pathogens. *PNAS* 107, 11255–11259.
- Hiscox, A., Otieno, B., Kibet, A., Mweresa, C.K., Omusula, P., Geier, M., Rose, A., Mukabana, W.R., Takken, W., 2014. Development and optimization of the Suna trap as a tool for mosquito monitoring and control. *Malar. J.* 13, 257.
- Hoel, D.F., Dunford, J.C., Kline, D., Irish, S.R., Weber, M., Richardson, A.G., Doud, C.W., Wirtz, R.A., 2015. A comparison of carbon dioxide sources for mosquito capture in Centers for Disease Control and Prevention light traps on the Florida gulf coast. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 31, 248–257.
- Kline, D., 1999. Comparison of two American biophysics mosquito traps: the professional and a new counterflow geometry trap. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 15, 276–282.
- Kline, D.L., 2006. Traps and trapping techniques for adult mosquito control. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 22, 490–496.
- Lima, J.B.P., Rosa-Freitas, M.G., Rodovalho, C.M., Santos, F., Lourenço-de-Oliveira, R., 2014. Is there an efficient trap or collection method for sampling *Anopheles darlingi* and other malaria vectors that can describe the essential parameters affecting transmission dynamics as effectively as human landing catch? – a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 109, 685–705.
- Lima-Neto, A.R., Costa-Neta, M.B., da Silva, A.A., Brito, J.M., Aguiar, J.V.C., Ponte, I.S., Silva, F.S., 2018. The effect of luminous intensity on the attraction of phlebotomine sand flies to light traps. *J. Med. Entomol.* 55, 731–734.
- Medlock, J., Balenghien, T., Alten, B., Versteirt, V., Schaffner, F., 2018. Field Sampling Methods for Mosquitoes, Sandflies, Biting Midges and Ticks. VectorNet project 2014-2018. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1435>.
- Meyer, D.B., Johnson, B.J., Fall, K., Buhagiar, T.S., Townsend, M., Ritchie, S.A., 2018. Development, optimization, and field evaluation of the novel collapsible passive trap for collecting of mosquito. *J. Med. Entomol.* <https://doi.org/10.1093/jme/tjx240>. XXX.
- Ritchie, S.A., Cortis, G., Paton, C., Townsend, M., Shroyer, D., Zborowski, P., Hall-Mendelin, S., van der Hurk, A.F., 2013. A simple non-powered passive trap for the

collection of mosquitoes for arbovirus surveillance. *J. Med. Entomol.* 50, 185–194.

Ritchie, S.A., Zborowski, P., Banks, D., Walsh, I., Davis, J., 2008. Efficacy of novel updraft for collection of mosquitoes in Cairns, Australia. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24, 520–527.

Rodrigues, M.S., Silva, I.M., Leal, L.B., Santos Jr., C.A.D., Eiras, A.E., 2014. Development of a new mosquito retention system for the BG-malaria trap to reduce the damage to mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 30, 184–190.

Rubio-Palis, Y., Moreno, J.E., Sánchez, V., Estrada, Y., Anaya, W., Bevilacqua, M., Cárdenas, L., Martínez, Á., Medina, D., 2012. Can Mosquito Magnet® substitute for human-landing catches to sample anopheline populations? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107, 546–549.

Sexton, J.D., Hobbs, J.H., Jean, Y.S., Jacques, J.R., 1986. Comparison of an experimental updraft ultraviolet light with the CDC miniature light trap and biting collection in sampling for *Anopheles albimanus* in Haiti. *J. Mosq. Control Assoc.* 2, 168–173.

Silva, F.S., da Silva, A.A., Rebêlo, J.M.M., 2016. An evaluation of light-emitting diode (LED) traps at capturing phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a livestock area in Brazil. *J. Med. Entomol.* 53, 634–638.

Silver, J.B., 2008. *Mosquito Ecology. Field Sampling Methods*, third ed. Springer, New York. Snow, R.W., Jawara, M., Curtis, C.F., 1987. Observations on *Anopheles gambiae* Giles s.l. (Diptera: culicidae) during a trial of permethrin-treated bed nets in the Gambia. *Bull. Entomol. Res.* 77, 279–286.

Sudia, W.D., Chamberlain, R.W., 1962. Battery-operated light trap, an improved model. *Mosq. News* 22, 126–129.

Tadei, W.P., Thatcher, B.D., 2000. Malaria vectors in the Brazilian amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 42, 87–94.

Vezenegho, S.M., Adde, A., Gaborit, P., Carinci, R., Issaly, J., de Santi, V.P., Dusfour, I., Briolant, S., Girod, R., 2014. Mosquito Magnet® liberty plus trap baited with octenol confirm best candidate for *Anopheles* surveillance and proved promising in predicting risk of malaria transmission in French Guiana. *Malar. J.* 13, 384.

Xue, R., Doyle, M.A., Kline, D.L., 2008. Field evaluation of CDC and mosquito Magnet® X traps baited with dry ice, CO₂ sachet, and octenol against mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24, 249–252.

Wilton, D.P., Fay, R.W., 1972. Responses of adult *Anopheles stephensi* to light of various wavelengths. *J. Med. Entomol.* 9, 301–304.