

CT-7

Oswaldo Paulo Forattini

Investigações  
Sôbre Focos Naturais  
de Arbovírus

São Paulo - 1966

Doc.  
576.64  
F74i

Oswaldo Paulo Forattini

INVESTIGAÇÕES SÔBRE FOCOS NATURAIS DE ARBOVÍRUS

Tese apresentada à Comissão Julgadora  
do Concurso para provimento do cargo  
de Professor Catedrático da Cadeira  
IV - Epidemiologia, da Faculdade de Hi  
giene e Saúde Pública da Universidade  
de São Paulo.



SÃO PAULO

1966

## SUMÁRIO

	pg.
Introdução .....	3
Capítulo 1 - Considerações Gerais .....	5
Capítulo 2 - A Região Estudada .....	20
Capítulo 3 - Tentativas de Isolamento .....	39
Capítulo 4 - Investigação Sorológica .....	80
Capítulo 5 - Investigação Entomológica .....	122
Capítulo 6 - Comentários e Conclusões .....	171
Apêndice .....	189
Glossário de Siglas e Abreviações.....	207
Referências Bibliográficas .....	209

## INTRODUÇÃO

Deve-se a Hammon, Reeves e Gray (1943), a proposta inicial de que as encefalites a vírus transmitidas por mosquitos passassem a constituir grupo distinto. A ocorrência dessas infecções tinha chamado a atenção dos investigadores na década de trinta, durante a qual foram isolados seus respectivos agentes etiológicos. Assim, pois, somaram-se àquêles da febre amarela e do dengue, os quais, até então, constituíam os principais vírus conhecidos cuja transmissão se fizesse por meio de artrópodes. Este aspecto peculiar de sua veiculação, aliado aos progressos adquiridos pelos estudos sorológicos, fêz com que fôsse criado para êles e para todos os outros, que posteriormente foram sendo descobertos, o numeroso grupo dos arbovírus (Casals, 1957). Atualmente, o estudo d'esses agentes vem despertando grande interêsse, e vários laboratórios, em diversas áreas do mundo, encontram-se ativamente empenhados nessas pesquisas.

As investigações sôbre os ciclos naturais dessas arboviroses adquirem especial importância em zonas ainda pobremente habitadas, mas que se destinam a ser povoadas no futuro. É assim que as pesquisas sôbre algumas dessas infecções, como a encefalite veiculada por carrapatos, desempenharam importante papel na elaboração da teoria da nidalidade das moléstias humanas (Pavlovsky 1960, 1965). Com tais estudos, pode-se prever a que prováveis infecções estarão expostas as populações que se fixarem nessas zonas novas. Compreende-se, pois, que atualmente, a situação de nosso país apresenta êsse aspecto em considerável parte de seu território (Pessoa, 1963).

No Brasil tais investigações vêm sendo levadas a efeito nestes últimos anos, em alguns centros. O principal, que maior número de resultados tem apresentado até agora, é o pertencente ao Instituto Evandro Chagas, em Belém, Estado do Pará. Nêle colaboram, mediante convênio pré-estabelecido, o Serviço Especial de Saúde Pública e a Fundação Rockefeller, além do Instituto de Microbiologia da Universidade do Brasil. Este último, por sua vez, estabeleceu também no Rio de Janeiro, laboratório para o estudo d'esses agentes. Assinale-se ainda algumas atividades nesse sentido, levadas a efeito pelo Instituto Biológico da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

De nosso lado, a partir de 1961, programamos uma série de investigações em São Paulo, reunindo, em colaboração, o Departamento de Parasitologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública, e a Secção de Arbovírus do Instituto Adolfo Lutz e o Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura. Por conseguinte, os resultados aqui expostos representam a continuação de plano de pesquisas sôbre arbovírus, prèviamente traçado. Compreende-se, pois,

que elas sejam o produto de trabalho de equipe, principalmente dos Drs. Oscar de Souza Lopes, Ernesto Xavier Rabello e nós mesmos.

Claro está que são várias as pessoas que colaboraram e colaboram nestas investigações. Todavia, desejamos particularmente destacar algumas delas, às quais, de maneira especial, deixamos consignados aqui e desde já, os nossos agradecimentos.

Para a identificação dos vertebrados capturados, recorreremos aos préstimos de especialistas do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. Foram êles os Drs. Cory T. de Carvalho e Hélio F. de Almeida Camargo, que tiveram a seu cargo, respectivamente, a determinação dos mamíferos e das aves.

A análise estatística dos dados coletados foi feita sob a orientação do Prof. Rubens Murillo Márques, da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Para a necessária confirmação e elucidação de algumas dúvidas surgidas, quando da identificação de agentes arbovirais, pudemos dispor da valiosa colaboração do Dr. Robert E. Shope, da Universidade de Yale, e da Srta. Amélia H. Paes de Andrade, do Instituto Evandro Chagas.

Finalmente, o bom andamento dos trabalhos de campo em Casa Grande, contou com a eficiente cooperação do Sr. Agenor de Paula Campos, administrador da Adutora do Rio Claro.

## CAPÍTULO Nº 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

	pg.
<b>Infecções Humanas</b> .....	6
<b>Manifestações clínicas</b> .....	7
<b>Infecções ainda sem manifestações clínicas conhecidas</b> .....	8
<b>Aspectos Epidemiológicos</b> .....	8
<b>Focos naturais</b> .....	12
<b>Focos artificiais</b> .....	13
<b>Dados atuais na Região Sul do Brasil</b> .....	14
<b>Projeto de Investigações</b> .....	15
<b>Objetivos</b> .....	18
<b>Planejamento</b> .....	18

Os arbovírus formam, na atualidade, numeroso conjunto viral cujos componentes são dotados da possibilidade de causar infecções humanas e animais. Embora esse grupo seja constituído por agentes heterogêneos, reune-os determinadas características fundamentais, de ordem epidemiológica. Com efeito, pelo que se admite até o momento, a sua preservação na natureza implica na transmissão de vertebrado para vertebrado, graças à ação de artrópodes nos quais ocorre indispensável multiplicação. Depois da Segunda Guerra Mundial, estes estudos despertaram grande interesse por parte de epidemiologistas e clínicos. E dessa forma, ao pequeno número de agentes anteriormente conhecidos, limitados principalmente aos da febre amarela, dengue e encefalites, somou-se cabedal considerável. Tais investigações continuam atualmente a ser levadas a efeito com grande intensidade, em várias regiões do mundo. Em vista disso, podemos dizer com segurança que, no momento em que estão sendo escritas estas linhas, mesmo as mais recentes revisões sobre o assunto, já se encontram ultrapassadas (W.H.O. 1961, Work 1961, Góes e Bruno-Lobo 1961, Forattini 1961/62, 1965, Góes 1964).

Assim sendo, e, desde que possivelmente todos os arbovírus mantêm-se em ciclo que envolve vertebrados e artrópodes, as investigações epidemiológicas deverão levar em conta série considerável de fatores. Para melhor compreensão dos resultados expostos neste trabalho, as linhas que seguem serão ocupadas por considerações que julgamos úteis. Trataremos, pois, do estado atual dos conhecimentos sobre a ocorrência de infecções humanas, dos aspectos epidemiológicos essenciais, e do plano de nossas investigações. De maneira geral, tais informações serão referentes ao Continente Americano e será dada a devida ênfase àquelas pertinentes ao Brasil.

### INFECÇÕES HUMANAS

Atualmente, o número de arbovírus conhecido aproxima-se de duas centenas, sendo que ultrapassa a 70, o daqueles encontrados infectando o homem (Elisberg 1963, Hammon e Work 1964, Hammon 1965). Certamente, a única evidência inofismável de infecção humana, reside no isolamento do agente a partir do sangue ou tecidos. Contudo, a presença de anticorpos pode também fornecer informação razoável, e a sua pesquisa tem revelado a existência dessas infecções, sem a prévia observação de sinais clínicos. É claro que a interpretação dos resultados conseguidos nesta última pesquisa deverá sujeitar-se à interpretação criteriosa que leve em consideração a existência dos agrupamentos sorológicos e a presença das reações cruzadas.

A complexidade que se verifica na sintomatologia das arboviroses, acresce as dificuldades no estabelecimento de diagnóstico etiológico. Em vista disso, a caracterização clínica dessas infecções encontra-se muito aquém dos dados disponíveis sobre o isolamento e a descrição de novos arbovírus. Dessa maneira, as investigações epidemiológicas revelam, geralmente, a presença de agentes dos quais ainda pouco ou nada se conhece sobre o seu papel

infectante ou causador de moléstia em relação ao homem. Como consequência, abrem-se perspectivas para a elucidação de possíveis novas moléstias. E isso tem especial significado naquelas regiões onde a população humana pode encontrar-se ao alcance freqüente da ação de artrópodes hematófagos extradomiciliares.

Por conseguinte, no estado atual das investigações epidemiológicas reveste-se de interesse, não somente detectar a presença de infecções clinicamente reveláveis, como também a daquelas nas quais ainda não foi possível surpreender tais manifestações. Mesmo porque, a intensidade ou a capacidade de ocorrência destas últimas, sofre a direta influência do estado imunitário da população exposta.

### MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.

Como regra geral, o aparecimento de sintomatologia definida de moléstia, somente se verifica em pequena proporção de indivíduos, em relação ao total de infectados. Quando isso ocorre, podem verificar-se síndromes que variam, desde febres leves e passageiras, até os quadros graves de hemorragias e encefalites. O que se deve levar em conta é que existe fase inicial virêmica, de natureza geral ou sistêmica, indiferenciada, e nem sempre associada à presença de sintomas febris ou outros. É lícito, pois, considerar que ela tenha seguimento outra, na qual possam ocorrer manifestações clínicas distintas, como resultado da localização viral em determinados órgãos ou sistemas. Dessa forma, os quadros clínicos podem ser encarados sob dois tipos fundamentais. O primeiro seria aquele correspondente à síndrome sistêmica indiferenciada, com aspecto predominantemente febril, além de outros sintomas gerais. O segundo, de feição mais característica, decorreria do comprometimento de determinados setores, traduzindo-se por encefalites, icterícias, hemorragias ou erupções cutâneas (Góes e Bruno-Lobo 1961, Elisberg 1963). Assim sendo, tudo leva a crer que a fase inicial passe freqüentemente despercebida, e a atenção somente venha a ser despertada quando da ocorrência das síndromes mais ou menos diferenciadas da segunda etapa.

Pela própria natureza deste trabalho, deixamos de tecer considerações sobre infecções cujo aspecto clínico já é apreciavelmente conhecido e constitui objeto de observações reiteradas. Tais são, a febre amarela, dengue, e as encefalites tipo leste-oeste, S. Luís e venezuelana. Interessa-nos, focalizando a região neotropical, assinalar os demais agentes encontrados infectando o homem e que revelaram alguma manifestação clínica. Os dados conhecidos até o momento, acham-se expostos na Tabela 1.1.

Verifica-se, portanto, que para a maioria desses agentes, a síndrome observada foi aquela correspondente à fase sistêmica indiferenciada. Por conseguinte, somam-se à sintomatologia febril, de maneira variável, dores arti

culares gerais, prostração, astenia, mal-estar, fotofobia e cefaléa. Para alguns, especialmente Ilhéus, tem-se assinalado quadro encefalítico. Finalmente, para Junin e Machupo, as manifestações hemorrágicas constituem aspectos característicos, com a ocorrência de casos graves fatais.

Deve-se assinalar que a maior parte das observações refere-se a casos isolados, registrados em situações peculiares ao ambiente da ocorrência desses vírus. Todavia, sob o ponto de vista epidemiológico, deve-se ressaltar que, alguns deles, deram origem a surtos afetando comunidades. É o caso de Mayaro (Uruma) no Estado do Pará, Brasil, e nas florestas da região baixa oriental da Bolívia, de Oropouche em Belém, Estado do Pará, Brasil, de Junin na Província de Buenos Aires, Argentina, e de Machupo na área nordeste da Bolívia.

#### INFECÇÕES AINDA SEM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS CONHECIDAS.

Em várias regiões, tem-se evidenciado a existência de infecções humanas para as quais porém, não foi ainda possível detectar algum sinal clínico que pudesse ser-lhes atribuído. A Tabela 1.2, resume os dados concernentes à região neotropical.

É bem verdade que a grande maioria desses achados refere-se a diagnósticos de natureza sorológica. Somente para Guaroa foi possível o isolamento do agente. Contudo, mesmo naqueles casos, as circunstâncias em que foram obtidos os resultados, permitiram aos investigadores razoáveis suspeitas sobre a possível etiologia. Trata-se pois da obtenção de elevados títulos nas reações, da ausência de demais membros do mesmo grupo na área onde foi isolado o vírus a partir de outras fontes. Ou então, de agentes ainda não grupados e cujo resultado positivo faz supor, pelo menos, a existência de outro componente a ele afim, se não do próprio vírus.

Os dados em relação a Una, de acordo com os investigadores, embora obtidos com títulos elevados, podem estar sujeitos à discussão. Isso pela presença de Mayaro, e talvez de outros vírus do Grupo A, nas áreas pesquisadas (Forattini, 1965).

De qualquer maneira, são informações de interesse epidemiológico e que deverão ser úteis em futuras investigações.

#### ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A complexidade na estrutura epidemiológica destes agentes provém do envolvimento de três componentes fundamentais distintos a saber, o vírus, o artrópode transmissor e o vertebrado hospedeiro. É evidente que a compreensão satisfatória do estado endêmico e da possível ocorrência epidêmica, sô

Tabela 1.1 - Infecções arbovirais humanas com manifestações clínicas, assinaladas na região neotropical (até V.1966). (5)

Vírus	Região	Síndrome	Infecções naturais		Infecções acidentais ou experimentais	Autor(es)
			Surtos	Casos isolados		
<b>Grupo A:</b> Mayaro (Uruma)	Bolívia (Reg. Oriental), Brasil (E. Pará),Trinidad	SSI	+	+		Anderson e cols.(1957), Causey e Maroja (1957), Schaeffer e cols. (1959), Schmidt e cols.(1959).
Mucambo e Pixuna	Brasil (E. Pará)	SSI			+	Causey e Theiler (1958),Shope e cols.(1964), Mucha-Macías e Sánchez-Spíndola (1965), Causey - (1965).
Paramaribo	Surinam	SSI		+		Metselaar, Verlinde e Versteeg (1964).
<b>Grupo B:</b> Ihéus	Brasil (E. Pará) Trinidad	SSI, ECF		+	+	Southam e Moore (1951), Downs e cols.(1956), Downs, Anderson e Theiler (1956), Causey e cols. - (1961), Spence, Anderson e Downs (1962).
<b>Grupo C:</b> Apeu	Brasil (E. Pará)	SSI		+	+	Causey e cols.(1961), Gibbs, - Bruckner e Schenker (1964)
Caraparu	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols. (1961).
Itaqui	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Shope, Causey e Causey (1961).
Madrid	Panamá	SSI		+		Rodaniche, Andrade e Galindo - (1964).
Marituba	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols.(1961).
Murutucu	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols.(1961).
Oriboca	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols.(1961).
Ossa	Panamá	SSI		+		Rodaniche, Andrade e Galindo (1964).
<b>Grupo Bunyamwera:</b> Wyeomyia (cepa Darien)	Panamá	SSI		+		Srihongse e Johnson (1965).
<b>Grupo Guamá:</b> Catu	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols. (1961).
Guamá	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey e cols. (1961).
<b>Grupo Simbu:</b> Oropouche	Brasil (E. Pará) Trinidad	SSI	+	+		Anderson e cols.(1961), Pinheiro e cols.(1962).
<b>Grupo Tacaribe:</b> Junin	Argentina (Prov. Buenos Aires)	SSI, HRR, ECF	+			Greenway e cols.(1959).
Machupo	Bolivia (Reg. Oriental)	SSI, HRR	+			Mackenzie e cols.(1964),Johnson e cols.(1965).
<b>Grupo Estomatite vesiculosa:</b> Indiana	Panamá	SSI			+	Johnson, Vogel e Peralta (1966).
<b>Grupo Phlebotomus:</b> Candiru	Brasil (E. Pará)	SSI		+		Causey (1965).
Chagres	Panamá	SSI		+		Peralta, Shelokov e Brody(1965).
<b>Não Grupados:</b> Piry	Brasil (E. Pará)	SSI			+	Causey e Shope (1965)

(5) Exceto febre amarela, dengue e encefalites leste, oeste, S. Luís e venezuelana.

SSI - Síndrome Sistêmica Indiferenciada (febre, mal-estar, dores articulares, astenia, fotofobia, cefaléia).

ECF - Encefalite.

HRR - Manifestações hemorrágicas.

mente poderá ser obtida mediante investigações ecológicas em terrenos diferentes. Tornam-se, assim, necessários estudos sobre a distribuição, comportamento e dinâmica das populações, tanto dos vertebrados como dos artrópodes. Ao lado disso, as atenções devem se voltar para as condições ambientais de topografia e de clima. Finalmente, a interação de todos esses fatores deverá fornecer os conhecimentos desejados pela epidemiologia. Compreende-se, portanto, que seja praticamente infinito o número de circunstâncias e associações, biológicas e ambientais, relacionadas com o ciclo de tais vírus (Reeves, 1963).

Dessa maneira, com os três elos da cadeia epidemiológica fundamental, os fatores a se considerar em investigações dessa natureza, serão os seguintes (Forattini, 1965):

- a) fatores dependentes do hospedeiro vertebrado;
- b) fatores dependentes do hospedeiro invertebrado;
- c) fatores dependentes do meio ambiente.

Levando em conta tais condições, poderão ser analisadas as circunstâncias que possibilitem a participação humana nesse conjunto. Assim, pois, pode-se admitir os tipos básicos de ciclos ou estruturas epidemiológicas das arboviroses, da maneira exposta a seguir (Moraes 1961, Forattini 1965).

Considerando-se o ciclo enzoótico natural como aquele que garante a preservação do agente na natureza, dele poderá derivar-se o ciclo humano. Isso acontecerá quando, no ambiente criado pelo homem, existam condições favoráveis para a adaptação do vírus. No caso da infecção do homem ocorrer quando ele se põe em contato com o primeiro desses ciclos, ela se reveste de aspecto acidental ou tangencial. Finalmente, deve-se levar em conta a possibilidade de introdução do agente em meio onde anteriormente não havia sido assinalado.

Conclui-se, portanto, que o estudo dos ambientes naturais onde se processam os ciclos enzoóticos, reveste-se de apreciável interesse epidemiológico. Daí poderão tirar-se conclusões sobre prováveis consequências para o homem que os freqüente, bem como das possibilidades de transferência e instalação desses agentes em ciclos nos quais a participação humana passe a se tornar mais relevante. Daí, pois, a doutrina epidemiológica da existência dos focos de infecções humanas e animais. Poderão eles existir naturalmente, isto é, independentes da ação do homem. Ou então, serem resultantes dessa mesma atividade que, para tanto, criou condições propícias.

Tabela 1.2 - Infecções arbovirais humanas, sem manifestações clínicas conhecidas até o momento, assinaladas na região neotropical (até V.1966).

Vírus	Região	Provas sorológicas	Isolamento	Autor(es)
<u>Grupo A</u> Una (Mayaro?)	Argentina (Prov. Córdoba), Brasil (E. Pará)	+		Causey e cols. (1963) Groot (1964), Sabattini, Shope e Vanella (1965).
<u>Grupo C:</u> Nepuyo	Trinidad	+		Spence e cols. (1966).
<u>Grupo Bunyamwera:</u> Guaroa	Brasil (E. Pará), Colombia		+	Groot e cols. (1959), Causey, Shope e Rodrigues Fº (1962), Causey (1965a).
Kairi	Trinidad	+		Downs (1965).
Vale Cache	Trinidad	+		Downs (1965).
<u>Grupo Anopheles A:</u> Tr 10076	Trinidad	+		Downs (1965).
<u>Grupo Triniti:</u> Triniti	Trinidad	+		Spence e cols. (1964)
<u>Grupo Simbu:</u> Manzanilla	Trinidad	+		Downs (1965).
<u>Não Grupados:</u> Tacaiuma	Argentina (Prov. Córdoba)	+		Sabattini, Shope e Vanella (1965)

## FOCOS NATURAIS.

A existência de focos naturais implica também na de vários fatores ecológicos. Em determinada área ou ecossistema, reconhece-se a presença de ambientes ecológicamente caracterizados, ou biótopos. Nestes, pode-se observar que vivem espécies inter-relacionadas, as quais, associando-se entre si, passam a formar a biocenose, ou biogeocenose se fôr levado em conta, também, o biótopo. De tais associações ecológicas naturais participam comunidades animais e vegetais diversas, entre as quais igualmente podem ser incluídas as formadas por agentes parasitários e infecciosos. Por conseguinte, sob o ponto de vista epidemiológico, a biogeocenose passa a constituir-se no nicho ou foco natural da moléstia infecciosa cujo agente etiológico participa dessa biocenose (Pavlovskii 1956, Pavlovsky 1960, 1965).

Tais focos podem apresentar-se circunscritos a determinados ambientes, e terão assim o caráter de nichos ou focos estáveis. Ou então, poderão distribuir-se mais ou menos amplamente no ecossistema, assumindo, dessa maneira, o aspecto de nichos ou focos instáveis. Esta última condição, da qual a copa arbórea na floresta tropical constitui exemplo, favorece mais do que a primeira, a transferência do agente infeccioso para o homem e animais domésticos (Heisch, 1956).

Assim sendo, compreende-se que a presença dos vários biótopos e das características mesológicas e topográficas, propiciem determinado panorama ao ecossistema. Portanto, deve-se admitir a existência de aspecto epidemiológico panorâmico ou paisagístico natural, capaz de nortear o investigador, sugerindo-lhe a presença dos nichos de infecções.

Sendo as arboviroses verdadeiras zoonoses, em seu estudo encontram grande aplicação os supracitados conceitos sobre os focos naturais. Parece evidente que a pesquisa dessas biocenoses deva ser efetuada em áreas com população animal selvática, abundante e relativamente estabilizada. Da mesma forma, não é de se esperar que, em tais investigações, observem-se com facilidade, moléstias ou surtos entre os reservatórios naturais. Tais aspectos somente poderão ser evidenciados quando do desvio desses vírus para novos vertebrados, que normalmente não participam do ciclo natural. Dessa maneira, o complexo de hospedeiros naturais constitui rede biocenótica que poderá ser encontrada, com probabilidades maiores, em regiões onde existam apreciáveis populações de mamíferos e aves de pequeno porte. Tais espécies, principalmente as de vida curta, propiciam transmissão mais eficiente, uma vez que novos contingentes de indivíduos suscetíveis são produzidos em prazo breve. Evidentemente, as condições para a existência de tais populações podem ser encontradas em diversos meios. De acordo com os aspectos peculiares às várias biogeocenoses, são encontradas nas florestas ou em outros biomas a elas adjacentes. De qualquer maneira, é sumamente re

comendável o estudo dos diversos ambientes. Nesse sentido, merecem especial atenção aqueles nos quais não existam evidências de infecções arbovirais humanas. Eles podem albergar ciclos enzoóticos naturais e assim servir como fontes dessas moléstias (Johnson 1960, 1963, 1965).

Para a existência de nichos naturais de arbovírus, deve-se levar em conta que, além da ação dos artrópodes hematófagos, o agente pode circular entre os membros da biocenose mediante o concurso de vários outros meios. Com efeito, tem-se verificado para alguns vírus, como os da encefalite tipo oeste e de S. Luís, tendência a permanecer, por tempo bastante longo, nos tecidos renal e mamário de roedores silvestres, sendo, em consequência, eliminados pela urina e leite (Johnson, 1960). Isso permite supor a ocorrência de contaminação de outros animais através das vias respiratórias, ou então das próprias crias, em decorrência da amamentação. Por outro lado, o hábito predatório de certas espécies sobre outras, permitirá a introdução do vírus por via digestiva. Neste particular, os animais insetívoros poderão ter oportunidade de se contaminar, ao ingerirem artrópodes infectados. Por conseguinte, a associação ou cadeia alimentar que une os membros da biocenose, possibilitará a propagação dos arbovírus entre eles, e não apenas graças à hematofagia dos artrópodes vetores.

### FOCOS ARTIFICIAIS.

Como resultado da atividade humana, existe a possibilidade de criarem-se situações favoráveis para o desenvolvimento de focos de infecções (Pavlovsky 1960, 1965). Com efeito, o homem pode modificar o panorama natural de determinado ecossistema, introduzindo elementos paisagísticos artificiais. Em consequência, pode, da mesma forma, propiciar o estabelecimento de biocenoses, as quais, encontrando biótopos favoráveis, passarão a constituir biogeocenoses artificiais ou antropogênicas. Desde que o agente infeccioso, trazido de seu ciclo natural, encontre nessa associação, meios para se manter e propagar, pode passar a fazer parte dela. Assim sendo, estabelecem-se as condições indispensáveis para a instalação de novo nicho ou foco, que poderá ser chamado de artificial, uma vez que resulta da ação do homem. Da mesma maneira que para os naturais, o aspecto panorâmico ou paisagístico artificial, sugerirá ao investigador a existência de tais nichos.

Nas arboviroses, a produção de focos artificiais tem sido observada em relação a alguns agentes. É o caso dos vírus encefalíticos na América do Norte, cujo alastramento em certas áreas é favorecido pelas obras de irrigação rural, ou então, pela criação em larga escala de animais sensíveis, como o faisão. A etapa final dessa adaptação será, evidentemente, a estabilização da biocenose com a formação do ciclo humano. Atualmente, nas Américas, exemplo deste último caso se encontra restrito ao dengue, uma vez que a febre amarela urbana deixou de se manifestar há bastante tempo.

Em resumo, pelos aspectos epidemiológicos gerais das infecções por arbovírus, pode-se afirmar que elas são, essencialmente, zoonoses localizadas em nichos naturais. Dependendo de circunstâncias favoráveis, poderão ser transferidas para o ambiente humano, instalando-se em nichos artificiais. A participação do homem no quadro epidemiológico geral, poderá fazer-se de maneira acidental ou normal. No primeiro caso, quando ele entrar em contato com os nichos naturais. No segundo, como fase final de adaptação do vírus, propiciada pela própria atividade humana. Evidentemente, é de se considerar que entre os dois tipos, existam aspectos de transição. Com efeito, a aproximação dos arbovírus ao meio humano poderá fazer-se através da utilização de biocenoses das quais o homem não participe normalmente. O esquema da Fig. 1.1, representa êsses vários ciclos.

Tais conceitos apresentam importância apreciável para países como o nosso, que dispõem de grandes extensões territoriais a serem habitadas futuramente. É de se esperar que o contato de novas populações humanas com os ambientes naturais, resulte no aparecimento de tais infecções, muitas delas ainda desconhecidas. Reveste-se, portanto, de interesse, o estudo dos nichos naturais e suas possíveis influências sobre o homem e animais domésticos. Com tal objetivo, decidimos iniciar uma série de investigações nesta região sul do Brasil. Os primeiros resultados obtidos, constituem o assunto deste trabalho.

#### DADOS ATUAIS NA REGIÃO SUL DO BRASIL.

Ao nos referirmos à Região Sul do Brasil, decidimos incluir, não somente a área constituída pelos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, mas também algumas outras limítrofes. Estas são representadas pelas zonas meridionais das Regiões Leste e Centro Oeste, compreendendo os Estados do Rio de Janeiro e Guanabara, e partes de Minas Gerais e Mato Grosso (Faissol, 1959).

A presença de arbovírus nessa área, tem sido assinalada, com maior frequência, para a febre amarela (FA). As ondas do vírus amarílico, procedentes da Amazônia, chegam a alcançar, de tempos em tempos, esta parte meridional, onde então provocam o aparecimento de casos humanos. Nestes últimos quinze anos, foram registrados dois surtos da moléstia. Um deles, em 1951-1953, deu-se no oeste de São Paulo e norte do Paraná, tendo sido assinalados, no primeiro desses Estados 113 casos confirmados por viscerotomia (Pessoa, 1956). O outro ocorreu em época recente, em fins de 1965 e início de 1966, atingindo a parte ocidental dos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com o total de 21 casos notificados (O.S.P., 1966). Este último surto representou a propagação daquele ocorrido, na mesma ocasião, em terras argentinas correspondentes à Província de Corrientes e ao Território de Missões. De permeio a êsses dois acontecimentos, foram re

gistrados casos isolados, em 1958 no Triângulo Mineiro, Estado de Minas Gerais e, em 1964, no sul do Estado de Mato Grosso.

Outros arbovírus foram encontrados nesta região. Dos vírus encefalíticos, registraram-se os do tipo leste (EL) e oeste (EO). O primeiro foi assinalado em equinos, há bastante tempo, em São Paulo, por Carneiro(1937). Mais recentemente foi outra vez encontrado no mesmo Estado e também na Guanabara. Quanto ao EO foi observado até o momento somente na última dessas áreas, à qual, aliás, pertence o único caso humano clinicamente manifesto, conhecido até agora no Sul do Brasil.

Com o desenvolvimento de investigações a respeito, no Estado de São Paulo, tem-se obtido o isolamento de alguns agentes até então desconhecidos. São eles os denominados Cotia, Itaporanga, Embu e Bertioga, conseguidos mediante o emprêgo de animais sentinelas.

A Tabela 1.3 resume os dados supramencionados, e o mapa da Fig.1.2, fornece idéia global dessa distribuição.

Os conhecimentos citados acima, referem-se a diagnósticos obtidos mediante o isolamento dos agentes virais, ou, no caso da FA, através do exame histopatológico. Contudo, deve-se assinalar que, no Estado de São Paulo, a pesquisa sorológica mediante o emprêgo da prova de neutralização, revelou a existência de vários focos de infecção de equinos pelo vírus EL (Carneiro, 1946). Por sua vez, no Estado da Guanabara, tem-se procedido à realização de investigações dessa natureza, tanto em soros de equinos como humanos. Os resultados, com as provas de inibição da hemaglutinação (IH) e de neutralização (NT), revelaram a presença de reatividade positiva para os Grupos A e B (Cunha 1951, Bruno-Lobo, Bruno-Lobo e Travassos 1961, Travassos, Bruno-Lobo e Bruno-Lobo 1961, Góes 1961).

## PROJETO DE INVESTIGAÇÕES.

Como se pôde ver, pelo que foi exposto nos parágrafos anteriores, os dados disponíveis até o momento, indicam a presença de arbovírus nesta Região Sul do Brasil. Portanto, acreditamos que seria de interêsse a realização de investigações que viessem esclarecer os prováveis mecanismos de circulação dos vírus aqui presentes e, de maneira especial, a existência de focos naturais. Para tanto, instalamos postos de coleta e observação, em áreas prèviamente escolhidas. O critério para tais escolhas, baseou-se na possível presença local de fatores ecológicos essenciais para a manutenção de arbovírus.

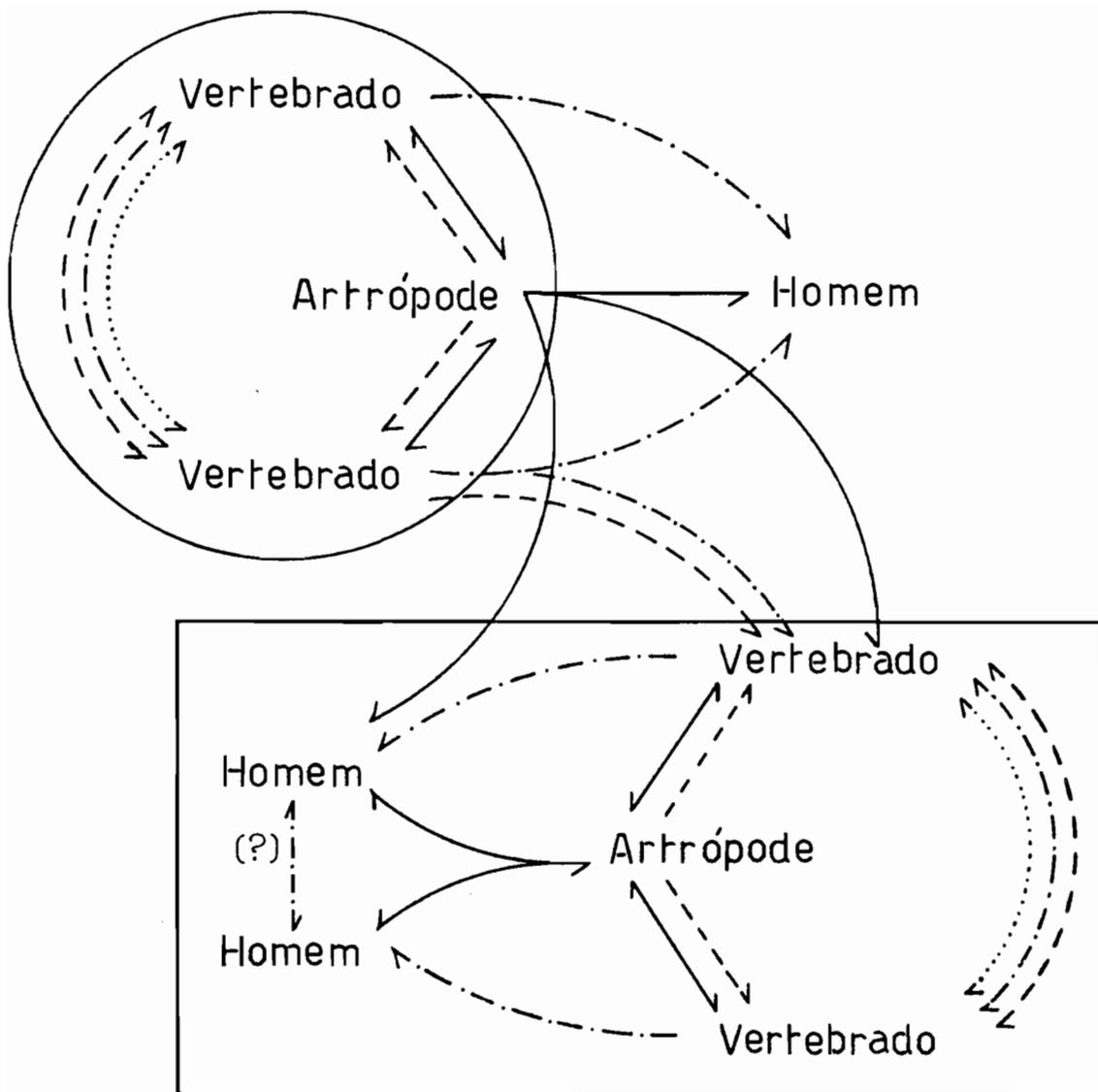
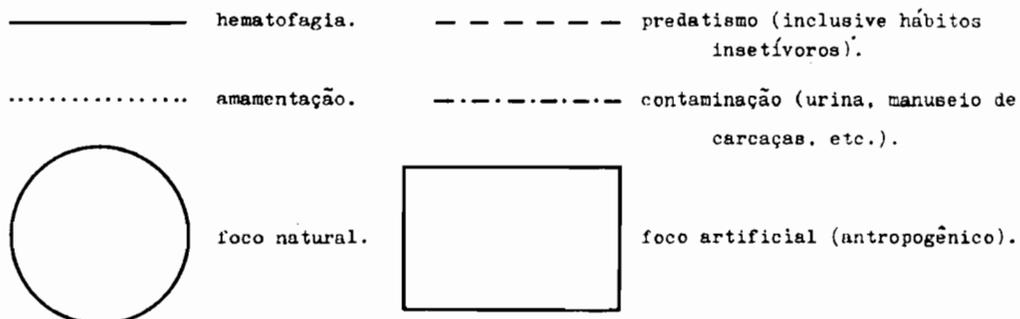


Fig. 1.1 - Representação esquemática geral dos ciclos das arboviroses.



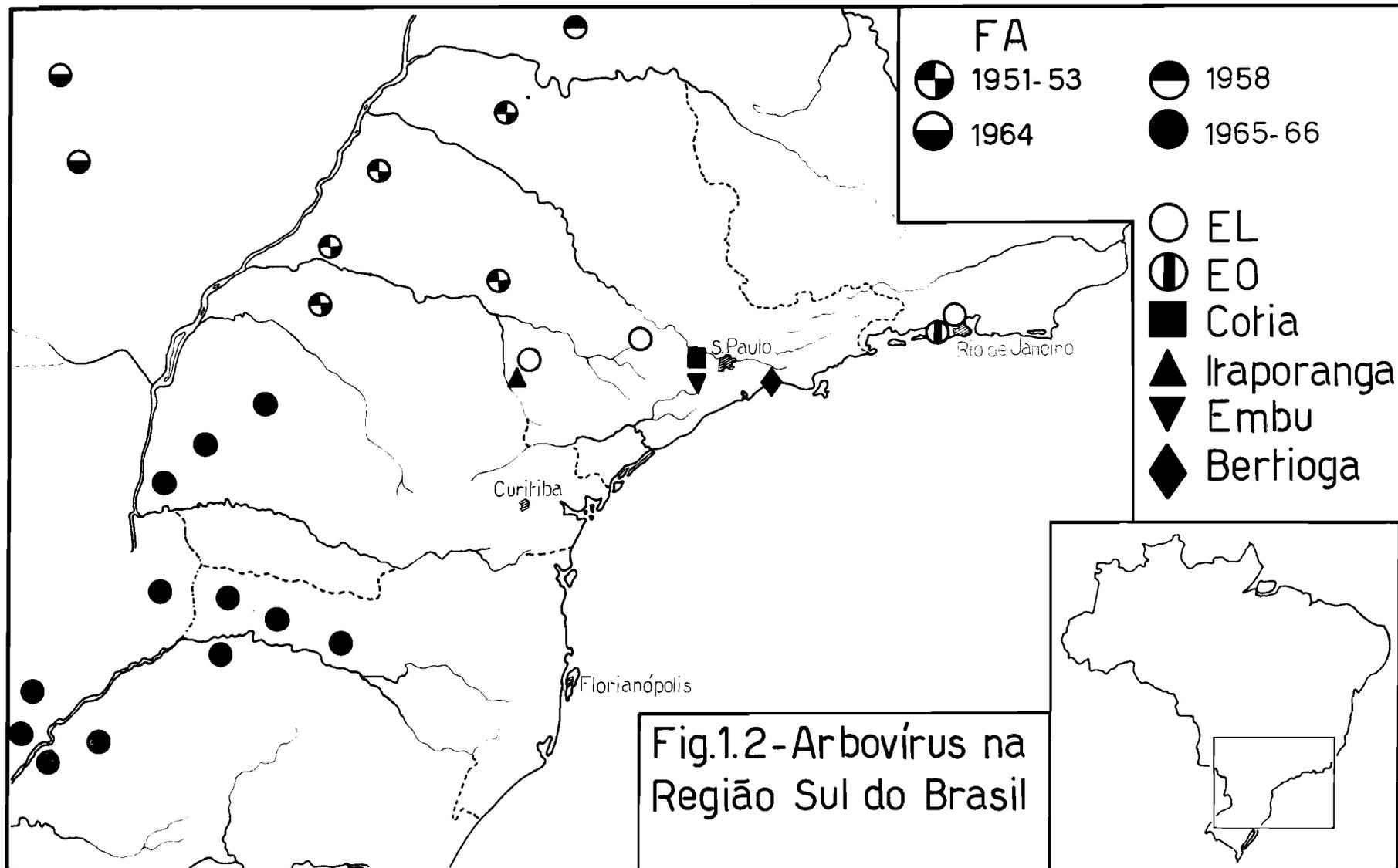


Tabela 1.3 - Arbovírus assinalados na Região Sul do Brasil, até maio de 1966. (§)

Vírus	Estado: Município (Região)	Referência
Febre amarela (FA) 1951-1953	Paraná: Norte	O. S. P. (1954)
	São Paulo: Alta Araraquarense, Noroeste, Alta Sorocabana, Santa Cruz do Rio Pardo	Pessoa (1956)
1958	Minas Gerais: Triângulo Mineiro	O. P. S. (1959)
1964	Mato Grosso: Campo Grande, Dourados	O. P. S. (1965)
1965-1966	Paraná: Campo Mourão, Casca- vel, Medianeira, Toledo	O. S. P. (1966)
	Rio Grande do Sul: Iraí, Passo Fundo, São Borja, S. Luís Gonzaga	O. P. S. (1966)
	Santa Catarina: Anchieta, Chapecó, Mara- vilha, Mondaí, Palmaso- la, Piratuba, Quilombo	O. S. P. (1966)
Encefalite tipo leste (EL)	Guanabara: Campo Grande	Santos, Lessa e Passos (1946)
	São Paulo: Itaporanga	Nilsson e Sugay(1962)
	Tatui	Carneiro (1937)

Tabela 1.3 - Arbovírus assinalados na Região Sul do Brasil,  
até maio de 1966. (§)

Vírus	Estado: Município (Região)	Referência
Encefalite tipo oeste (EO)	Guanabara: Realengo Rio de Janeiro	Saad e cols. (1961) Bruno-Lobo e cols. (1961)
Cotia	São Paulo: Cotia	Lopes e cols. (1965)
Itaporanga	São Paulo: Itaporanga	Trapp, Andrade e Shope (1965)
Embu	São Paulo: Cotia	Lopes e cols. (1966)
Bertioga	São Paulo: Santos	Lopes e cols. (1966)

(§) Comprovado mediante isolamento do agente ou o exame histopatológico. Os dados sôbre FA referem-se sômente ao período contado a partir de 1950.

## OBJETIVOS.

Em linhas gerais, pois, o objetivo dêste projeto de investigações reside na obtenção de conhecimentos epidemiológicos, os mais completos possíveis, sôbre essas infecções nesta região do Brasil. De maneira particular, êsse aspecto global poderá ser subdividido nos seguintes:

1. - verificação da presença de agentes arbovirais, mediante tentativas de seu isolamento e identificação;
2. - investigação da existência dessas arboviroses na fauna de vertebrados silvestres da região;
3. - observações sôbre a composição e comportamento da população regional de artrópodes, e seu papel na veiculação dos vírus encontrados;
4. - investigações a respeito de possível repercussão no ambiente humano local, conseqüente da presença dêsse vírus no meio silvestre, o que significa a verificação de infecções, tanto do homem como dos animais domésticos;
5. - verificação da possibilidade de instalação dêsses vírus no ambiente humano. Em outras palavras, a viabilidade do estabelecimento de focos artificiais dêsses agentes.

## PLANEJAMENTO.

Evidentemente, para se alcançar os objetivos supramencionados, torna-se necessário que o plano geral das atividades sofra adaptações de acordo com o espaço e o tempo. Em outras palavras, influem e certamente influirão constantemente, as circunstâncias locais e aquelas ditadas pela experiência adquirida. De tôdas as maneiras, o plano de operações levado a efeito por nós, obedeceu à orientação abaixo exposta.

Uma vez escolhida a região, procedeu-se às tentativas de isolamento de vírus a partir de várias fontes silvestres. Como etapa inicial, mereceram a nossa atenção, os mamíferos, as aves e os artrópodes, além do emprego de animais sentinelas. No que concerne aos artrópodes, dedicamo-nos até o momento, exclusivamente aos culicídeos. Claro está que a coleta das fontes, pelo menos em relação à fauna culicidiana, foi feita de maneira a fornecer, concomitantemente, informações sôbre o comportamento dêsses animais.

A pesquisa das infecções fêz-se, de maneira geral, através da reali

zação de provas sorológicas. Os casos clinicamente manifestos, pelas razões já expostas páginas atrás, são dificilmente surpreendidos. Todavia, a sua procura deve ser levada a efeito, e foi o que fizemos, sempre que os meios assim o permitiam.

Finalmente, das informações obtidas foi possível tirar conclusões epidemiológicas suficientes para nortear o prosseguimento das investigações.

Estas pesquisas tiveram seu início em princípios de 1961. Todavia, como já nos referimos, essa fase requereu o dispêndio de tempo e do material necessários para a aquisição da indispensável experiência em trabalhos desta natureza. Ela, evidentemente, refere-se ao melhor conhecimento das peculiaridades locais e ao aprimoramento do pessoal e das técnicas empregadas, tanto no campo, como no laboratório. Mesmo assim, foram conseguidos dados interessantes nessa etapa preliminar, como se poderá ver nos capítulos seguintes. Dessa forma, a fase intensiva e regular destas investigações, começou no segundo semestre de 1963, correspondendo à época do início da primavera. Os primeiros resultados, referentes à região de Casa Grande, Estado de São Paulo, constituem o objeto dêste relato.

## CAPÍTULO Nº 2 - A REGIÃO ESTUDADA

	pg.
Situação Geográfica .....	21
Características .....	21
Relêvo e hidrografia .....	21
Clima .....	22
Dados microclimáticos .....	27
Vegetação.....	31
Região de Casa Grande .....	33
Casa Grande .....	33
Adutora.....	34
Estação Biológica de Boracéia .....	35
Arredores .....	36
Locais das Investigações .....	37

Desde que se pretenda investigar o ciclo de arbovírus em seu ambiente natural, é fácil compreender que o encontro desse último deva revestir-se de primordial importância. Por conseguinte, a intenção de levar a efeito pesquisas dessa natureza, levou-nos à procura de áreas que apresentassem, o mais possível, o seu aspecto natural inalterado. Entenda-se que tal objetivo não era fácil de alcançar. E isso porque quase toda a primitiva cobertura florestal do Estado de São Paulo alterou-se ou desapareceu, mercê das intensas derrubadas levadas a efeito nos últimos cinquenta anos. Por outro lado, as limitações de nosso meio de transporte obrigou-nos, desde o início, a levar em conta a acessibilidade do local escolhido. Foi, portanto, em obediência a tais aspectos que a nossa escolha voltou-se para a área de Casa Grande. Acha-se ela situada, em grande parte, no Município de Salesópolis e dista, por estrada de rodagem, pouco mais de 100 quilômetros da cidade de São Paulo. Dessa maneira, reúne ela as condições de ambiente natural e, graças à citada distância, situa-se dentro do raio de nossa atual capacidade de ação.

### SITUAÇÃO GEOGRÁFICA

Como nos referimos, a região escolhida para sede de nossas observações, ocupa boa extensão do Município de Salesópolis, além de partes de Biritiba-Mirim e de Santos, situando-se na região nordeste do Estado de São Paulo. Encontra-se ela no início do planalto que se sucede à Serra do Mar litorânea. Pode ser localizada ao redor das coordenadas geográficas de 23°40' de latitude sul e 45°50' de longitude oeste. Ali se acham incluídas não somente a região de Casa Grande, propriamente dita, como também as localidades vizinhas. Os mapas constantes das Figs. 2.1 e 2.2, dão idéia dessa situação.

O acesso a essa área se faz por meio de estrada de rodagem, que em percurso de aproximadamente 50 quilômetros, estabelece ligação com a cidade de Mogi das Cruzes.

### CARACTERÍSTICAS

Além dos aspectos já mencionados, conseqüentes de sua localização e proximidade da cidade de São Paulo, será conveniente que nos detenhamos sobre outros. E isto sem pretendermos abordar detalhadamente o assunto. De qualquer forma, acreditamos que tais dados poderão ser de utilidade para a boa compreensão do que se encontra exposto nos capítulos seguintes.

### RELÊVO E HIDROGRAFIA.

Pela situação da área em estudo, conclui-se que a sua topografia seja de relêvo um tanto acidentado. E isso por ela estar localizada no alto da

Serra do Mar e apenas no início da parte paulista do planalto meridional do Brasil. Ali, a altitude oscila ao redor de 800 metros acima do nível marítimo, sendo 855 a correspondente ao reservatório da Barragem do Rio do Campo.

O litoral do Estado de São Paulo, ao norte de Santos, apresenta - se com perfil relativamente simples. Após a baixada costeira, segue-se o desnível abrupto constituído pelo paredão da citada Serra. Este continua-se em direção nordeste, aproxima-se cada vez mais do mar e, no seu alto, forma o rebordo planaltino. Destarte, a nossa região encontra-se justamente na borda desse planalto, o qual vai decaindo lentamente em direção oeste. Em vista disso, a distância em linha reta para o oceano, é de apenas pouco mais de dez quilômetros, o que permite a fácil visualização do mar, do alto da escarpa (Fig. 2.4).

O solo desse planalto cristalino é constituído por rochas antigas pré-cambrianas. Via de regra, as camadas são pouco profundas, dotadas de boa capacidade de retenção de água e apreciável teor de matéria orgânica. Contudo, a destruição da cobertura florestal acarreta o seu rápido empobrecimento e a conseqüente intensa atividade da erosão (Setzer 1949, IBGE 1958).

Nesta região sul do Brasil, o rebordo da Serra do Mar constitui-se um divisor entre as águas que correm para o rio Paraná, a oeste, e aquelas que se dirigem diretamente para o Oceano Atlântico, a leste. A área de Casa Grande compreende, pois, a bacia hidrográfica do rio Claro, assinalando-se o Ribeirão Grande e o rio do Campo, como seus principais afluentes. Aquê le, por sua vez, é o primeiro tributário de vulto do rio Tietê, pertencente ao primeiro dos mencionados sistemas. Inclui-se, ainda, nessa região, as cabeceiras do rio Guaratuba o qual, descendo a escarpa marítima, lança-se diretamente no mar (Figs. 2.3 e 2.4). Tais águas destinam-se ao abastecimento da cidade de São Paulo. Em vista disso, tôda a área é protegida e constitui propriedade do Departamento de Águas e Esgotos (DAE) da Secretaria de Obras do Estado de São Paulo. A extensão da mesma é de aproximadamente, 6.800 alqueires, ou seja, ao redor de 160 quilômetros quadrados (Novaes, 1927). Todavia, sob o ponto de vista geográfico e ecológico, ela se continua com a Serra do Mar, atingindo assim considerável extensão.

## CLIMA.

O tipo climático desta área corresponde ao designado pelo símbolo Cfb do sistema internacional de Koeppen (1948), temperado úmido sem estia gem. Ou então, ao tiÜ<sup>ol</sup> de Serebrenick (1942), modificado por Setzer (1946, 1949), denominado temperado super-úmido sem estação sêca, sendo o verão o período mais chuvoso e a primavera (o) e o outono (1) dotados de pluviosidades equivalentes.

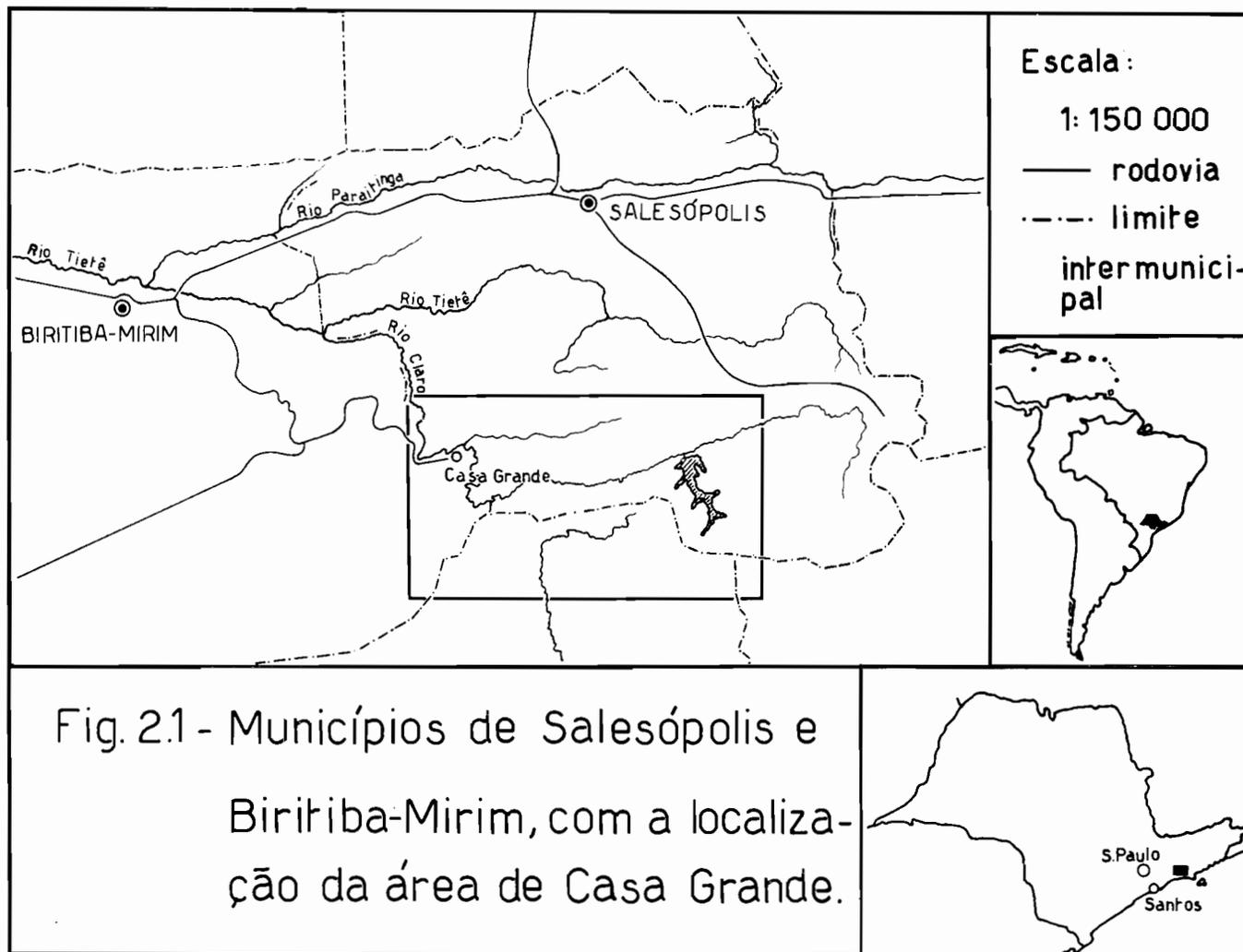
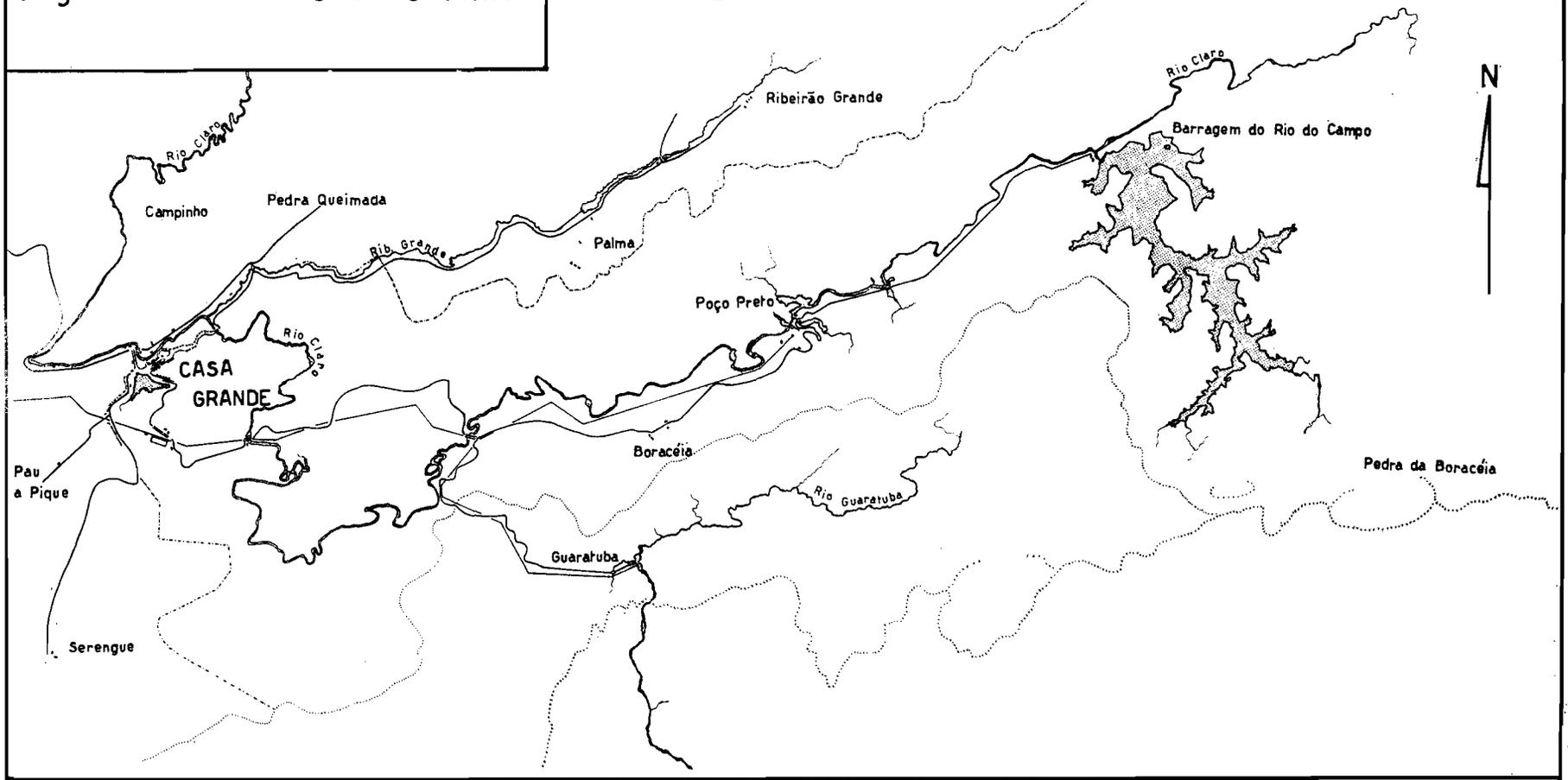


Fig. 2.1 - Municípios de Salesópolis e Biritiba-Mirim, com a localização da área de Casa Grande.

Fig 2.2- Área de Casa Grande

Escala 1: 25 000    ——— rodovia    - - - - - limite da reserva    - casa  
————— adutora    ..... vertente    \*\*\*\*\* escarpa



As encostas do planalto que, como vimos, nesta região são formadas pela Serra do Mar, constituem zona que apresenta os maiores índices pluviométricos. E isso porque, além das chuvas de verão, a mencionada serra provoca a precipitação da umidade trazida pelos ventos da Frente Polar Atlântica. Esta, em virtude de sua elevada densidade, freqüentemente não consegue ultrapassar a escarpa montanhosa. Assim sendo, fica retida ali, precipitando-se em forma de chuvas contínuas ou denso nevoeiro, mormente nos meses de inverno. Em vista disso, a pluviosidade pode atingir valores excepcionalmente elevados, chegando a ultrapassar os 4500 mm anuais (Brasil. Ministério da Agricultura, 1948). Para Casa Grande e Poço Preto registraram-se valores médios equivalentes a 1774 e 3058 mm por ano, respectivamente (Setzer, 1946).

Com os elementos pluviométricos fornecidos pelo Departamento de Águas e Energia Elétrica (DAEE), foi-nos possível o cálculo das precipitações mensais ocorridas durante dois anos e referentes às localidades de Casa Grande e Boracéia. Esse espaço de tempo corresponde ao decorrido entre setembro de 1963 e agosto de 1965. Os resultados encontram-se expostos na Tabela 2.1 e por eles pode-se verificar que, os totais anuais em milímetros, foram de 1437 e 1598 para a primeira, e de 2736 e 3519 para a segunda. Como se vê, a proximidade da escarpa marítima, neste caso representada pela situação de Boracéia, condiciona sensível aumento na pluviosidade. Dessa maneira, embora haja certo decréscimo invernal, não ocorre distinção nítida entre a estação seca e a chuvosa. Tal é o aspecto de nossa região, onde as chuvas são abundantes e os nevoeiros costumam descer em cortinas espessas, cobrindo o ambiente no decorrer de poucos minutos (Figs. 2.5 e 2.6).

Quanto à temperatura, como já foi dito, a oscilação não chega a atingir valores médios superiores a 22°C. É o que demonstram os dados apresentados por Setzer (1946), referentes às médias mensais de treze anos em Casa Grande e de seis em Poço Preto. E é também o que tivemos oportunidade de verificar em nossas medidas, levadas a efeito em Boracéia, com os dados fornecidos pela estação meteorológica ali instalada pelo DAEE. Os resultados estão representados na Tabela 2.2 e referem-se ao mesmo período mencionado para a pluviometria. Verifica-se que o maior valor médio mensal não ultrapassou o de 19,8°C, embora tenham sido registradas temperaturas máximas acima de 30,0°C. Em virtude de não terem sido ainda ordenados pela repartição competente (DAEE), não nos foi possível obter os dados correspondentes a Casa Grande.

Pelos elementos expostos, concluímos facilmente que, a classificação climática de nossa região, encontra-se nos supramencionados tipos, temperados desprovidos de estação seca. Compulsando os dados mensais

Tabela 2.1 - Dados pluviométricos da região de Casa Grande.

Meses	CASA GRANDE		BORACÉIA	
	Chuvas (mm)	Freqüência (dias)	Chuvas (mm)	Freqüência (dias)
1963				
Setembro	41	11	92	15
Outubro	129	25	236	29
Novembro	160	21	173	21
<u>Primavera</u>	<u>330</u>	<u>57</u>	<u>501</u>	<u>65</u>
Dezembro	129	21	302	20
1964				
Janeiro	94	25	233	21
Fevereiro	300	23	509	21
<u>Verão</u>	<u>523</u>	<u>69</u>	<u>1044</u>	<u>62</u>
Março	183	20	310	17
Abril	82	21	188	14
Maiο	141	25	192	25
<u>Outono</u>	<u>406</u>	<u>66</u>	<u>690</u>	<u>56</u>
Junho	68	27	199	24
Julho	70	23	133	23
Agosto	40	21	169	19
<u>Inverno</u>	<u>178</u>	<u>71</u>	<u>501</u>	<u>66</u>
Total anual .....	1437	263	2736	249
Setembro	84	22	268	19
Outubro	131	19	258	27
Novembro	217	19	535	19
<u>Primavera</u>	<u>432</u>	<u>60</u>	<u>1061</u>	<u>65</u>
Dezembro	213	19	549	23

Fig. 2.3 - Aspecto do rio Guaratuba no alto da Serra.

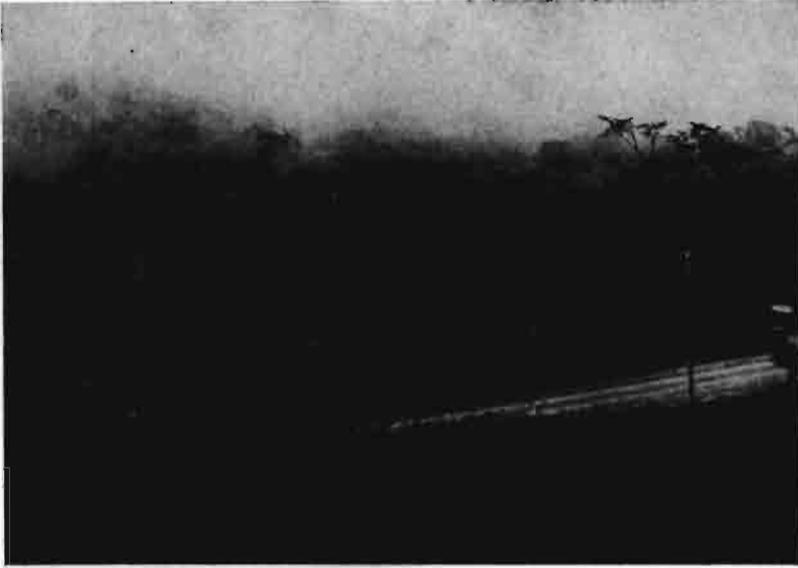
Fig. 2.4 - Visão do alto da escarpa. Ao fundo, observa-se o Oceano Atlântico e a desembocadura do rio Guaratuba.



2.3



2.4



2.5



2.6

Tabela 2.1 - Dados pluviométricos da região de Casa Grande.

Meses	CASA GRANDE		BORACÉIA	
	Chuvas (mm)	Freqüência (dias)	Chuvas (mm)	Freqüência (dias)
1965				
Janeiro	351	23	664	24
Fevereiro	105	23	216	24
<u>Verão</u>	<u>669</u>	<u>65</u>	<u>1429</u>	<u>71</u>
Março	109	25	170	26
Abril	146	28	277	26
Maio	96	27	265	27
<u>Outono</u>	<u>351</u>	<u>80</u>	<u>712</u>	<u>79</u>
Junho	51	22	62	21
Julho	59	16	203	20
Agosto	36	17	152	21
<u>Inverno</u>	<u>146</u>	<u>55</u>	<u>417</u>	<u>62</u>
Total anual .....	1598	260	3619	277

Figs. 2.5 e 2.6 - Aspecto do nevoeiro descendo sôbre a floresta na Estação Biológica de Boracéia. As duas fotografias foram batidas com intervalo de tempo de 15 minutos.

Tabela 2.2 - Dados térmicos da região de Casa Grande  
(Boracéia) (°C).

Meses	Temperatura média	Máxima	Mínima	Amplitude
1963				
Setembro	17,3	32,0	11,0	21,0
Outubro	16,9	34,0	4,0	30,0
Novembro	18,0	32,0	3,0	29,0
<u>Primavera</u>	<u>17,4</u>	<u>32,7</u>	<u>6,0</u>	<u>26,7</u>
Dezembro	17,7	32,0	6,0	26,0
1964				
Janeiro	18,0	31,0	10,0	21,0
Fevereiro	19,5	30,0	12,0	18,0
<u>Verão</u>	<u>18,4</u>	<u>31,0</u>	<u>9,3</u>	<u>21,7</u>
Março	18,8	31,0	10,0	21,0
Abril	18,2	33,0	12,0	21,0
Maiο	14,6	30,0	4,0	26,0
<u>Outono</u>	<u>17,2</u>	<u>31,3</u>	<u>8,7</u>	<u>26,7</u>
Junho	13,1	26,0	3,0	23,0
Julho	11,4	25,0	2,0	23,0
Agosto	14,8	29,0	5,0	24,0
<u>Inverno</u>	<u>13,1</u>	<u>26,7</u>	<u>3,3</u>	<u>23,3</u>
Setembro	15,1	30,0	3,0	27,0
Outubro	14,9	29,0	9,0	20,0
Novembro	15,3	30,0	5,0	25,0
<u>Primavera</u>	<u>15,1</u>	<u>29,7</u>	<u>5,7</u>	<u>24,0</u>
Dezembro	17,9	29,0	8,0	21,0
1965				
Janeiro	18,4	29,0	10,0	19,0
Fevereiro	19,3	30,0	10,0	20,0
<u>Verão</u>	<u>18,5</u>	<u>29,3</u>	<u>9,3</u>	<u>20,0</u>

Tabela 2.2 - Dados térmicos da região de Casa Grande  
(Boracéia) (°C).

Meses	Temperatura média	Máxima	Mínima	Amplitude
1965				
Março	18,2	28,0	9,0	19,0
Abril	19,8	30,0	8,0	22,0
Maiο	15,1	26,0	3,0	23,0
<u>Outono</u>	<u>17,7</u>	<u>28,0</u>	<u>6,6</u>	<u>21,3</u>
Junho	15,0	25,0	7,0	18,0
Julho	13,9	26,0	2,0	24,0
Agosto	15,1	30,0	2,0	28,0
<u>Inverno</u>	<u>14,7</u>	<u>27,0</u>	<u>3,7</u>	<u>23,3</u>

constantes das Tabelas 2.1 e 2.2, construímos o gráfico da Fig. 2.7. Com êsse climograma podemos observar as relações das temperaturas e precipitações, de acôrdo com os meses. Verifica-se ali que a estação mais quente e chuvosa inclui os períodos de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro. De outro lado a mais fria e de menores precipitações compreende junho, julho e agosto.

Dados Microclimáticos. - No estudo da atividade de hospedeiros e vetores e, conseqüentemente, da transmissão de arbovírus, revestem-se de importância as condições microclimáticas ambientais. Referem-se elas aos aspectos particulares que elementos como temperatura e umidade podem apresentar no ambiente restrito ao habitat desses seres vivos. Em florestas semelhantes à que é sede deste trabalho, tais condições têm sido estudadas com minúcias. Essas investigações sobre microclima foram levadas a efeito em matas da região endêmica de "Bromélia-malária" do Estado de Santa Catarina, Brasil (Aragão 1958, 1959, 1960). Com elas verificou-se que a temperatura do ar na mata, via de regra, apresenta-se com médias mais baixas do que no descampado. Todavia, durante o inverno, especialmente em ocasiões de céu limpo, pode dar-se o contrário. Quanto à umidade, mostrou-se ela na dependência da topografia, sendo maiores os valores encontrados em lugares baixos e menores os das elevações. Da mesma forma, a umidade revelou-se menor na copa das árvores do que ao nível do solo, na altura dos ar

bustos. Além disso, em geral os abrigos de qualquer tipo tendem a prolongar o tempo durante o qual a umidade permanece inalterada após o nascer do sol.

Êsses e outros dados têm sido medidos pelos autores, com o objetivo de correlacioná-los a observações referentes ao comportamento de, principalmente, mosquitos. Na impossibilidade material de levarmos a efeito estudo detalhado do microclima de nossa região, limitamo-nos a colher informações sôbre a temperatura e umidade. Para tanto, seguimos o sistema empregado por Trapido e Galindo (1957) utilizando um par de aparelhos termohigrôgrafos tipo "Lambrecht". Foram postos em funcionamento na estação de Boracéia, tendo-nos sido possível compulsar bs dados referentes ao período de setembro de 1963 a novembro de 1964. Um dêles funcionou em situação pouco acima do solo, enquanto o outro foi instalado na plataforma situada ao nível da copa arbórea.

Os resultados dessas medidas encontram-se expostos na Tabela 2.3, onde se pode observar as médias calculadas pelas leituras feitas nos gráficos obtidos semanalmente.

Observando-se tais dados, verifica-se que as temperaturas não foram sensivelmente diferentes daquelas do clima em geral, expostas na Tabela 2.2. Apesar das determinações de Aragão (1958), já citadas, as médias na mata não diferiram daquelas obtidas no descampado. Contudo, deve-se assinalar que em nosso caso os dados referentes a êste último são os da estação metereológica instalada pelo DAEE na própria localidade de Boracéia. Assim sendo, além de se tratar do mesmo local de nossas determinações, a êle não se aplica pròpriamente a característica de descampado. Trata-se, porém, de pequena abertura em situação elevada do terreno, rodeada de floresta. Dessa maneira, era de se esperar que o aparelho colocado na copa das árvores, não registrasse informações muito diferentes daquêles instalados nessa claréira.

No que concerne aos dois níveis, pudemos observar que também neste caso, as temperaturas registradas não diferiram. Os valores ligeiramente menores referentes ao solo, não podem ser realmente considerados como traduzindo diferença relevante. Tal semelhança, provávelmente, resulta da influência, pelo menos parcial, da topografia. Com efeito, a localização da plataforma, na qual foram instalados os aparelhos, acha-se em depressão da encosta de elevação do terreno. Isso faz com que, nesse local, as mudanças das condições climáticas sejam menos acentuadas. Quanto aos efeitos das temperaturas extremas, não nos foi possível calculá-los por não dispormos de suficiente aparelhagem.

Quanto à umidade, os dados relativos ao solo e à copa, mostraram pe

Tabela 2.3 - Médias da temperatura e umidade observadas em dois níveis da floresta, na estação de Boracéia.

Meses	Temperatura		Umidade Relativa	
	Copa	Solo	Copa	Solo
1963				
Setembro	17,5	16,8	93,2	95,1
Outubro	17,0	16,8	95,2	96,8
Novembro	18,1	18,0	96,1	97,4
Dezembro	18,0	17,8	96,4	97,2
1964				
Janeiro	18,0	17,5	97,5	98,6
Fevereiro	19,7	19,5	97,7	99,4
Março	18,3	18,4	96,9	97,8
Abril	18,2	17,9	96,2	97,1
Mai	14,3	14,0	95,8	96,3
Junho	13,2	13,2	93,8	95,1
Julho	11,6	10,4	93,3	97,0
Agosto	14,2	13,1	89,5	96,9
Setembro	14,9	14,0	89,9	96,2
Outubro	15,0	15,6	98,9	99,3
Novembro	15,8	15,5	96,4	98,8

quenas diferenças, com valores ligeiramente maiores para aquele nível. Tal resultado se pode conceber, pelo menos em parte, pelo mesmo motivo explicado em relação à temperatura. A situação de nossa plataforma, colocou-a ao abrigo de mudanças acentuadas e o aspecto microclimático da umidade pouco diferiu nos dois estratos. Diferenças ligeiramente maiores puderam ser registradas nos meses mais secos de julho, agosto e setembro. Todavia, praticamente, os valores da umidade relativa não desceram de 90,0%.

Aragão (1960), realizou observações sobre o número de horas do dia durante as quais a umidade se mantinha elevada, e o período de tempo decorrido entre o nascer do sol e o início da queda dessa última. Verificou esse autor que, pela manhã, o ar na floresta permanece saturado por mais tempo. Além disso, tanto nos níveis superiores como nos inferiores, essa saturação prolonga-se mais na mata da encosta do que naquela situada no alto de elevações. Embora não tenhamos podido realizar observações análogas, por não dispormos de dados de heliógrafos, acreditamos que essas observa

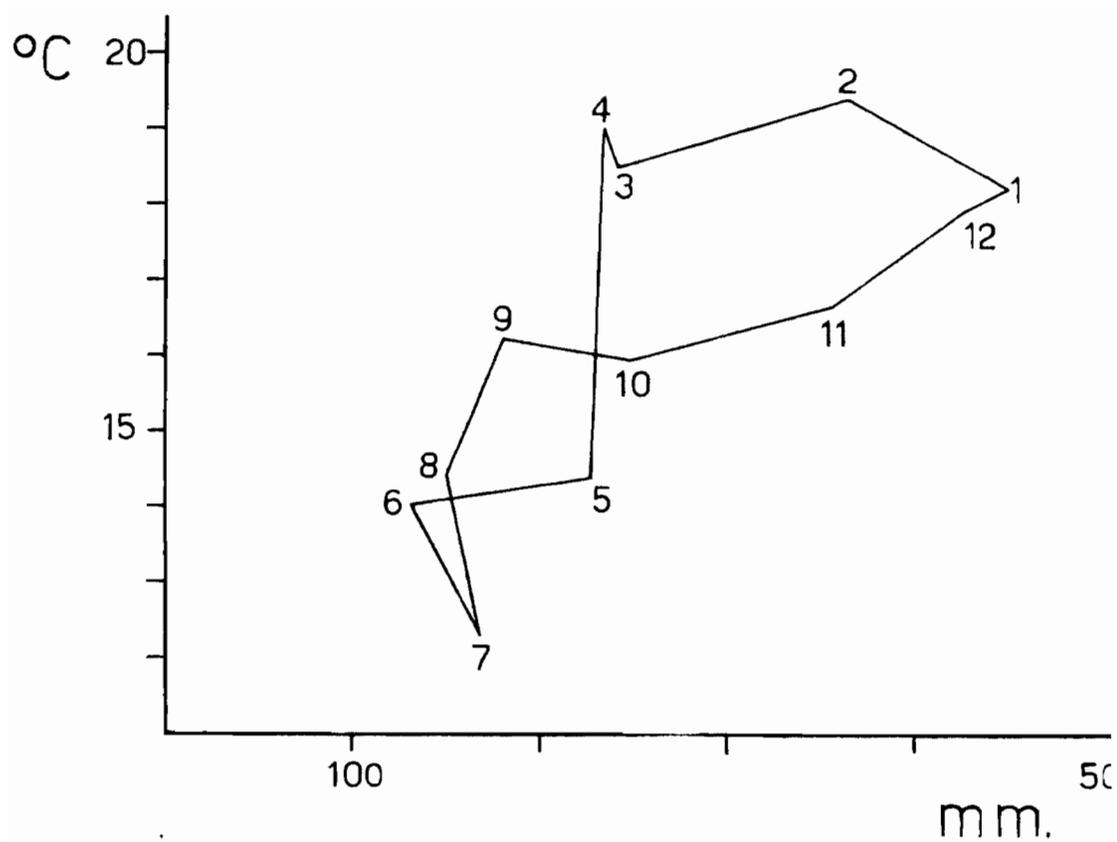
Tabela 2.4 - Tempo em que a umidade permaneceu acima de 95%. Médias, em horas, para todos os dias do mês e para os dois níveis da floresta, na estação de Boracéia.

Meses	Copa	Solo
1963		
Setembro	19,4	22,0
Outubro	20,7	22,8
Novembro	19,2	21,4
Dezembro	19,9	21,6
1964		
Janeiro	20,1	22,1
Fevereiro	20,4	22,2
Março	17,7	20,4
Abril	17,5	21,1
Mai	19,5	21,5
Junho	17,3	20,9
Julho	16,7	21,0
Agosto	16,6	19,9
Setembro	16,1	19,9
Outubro	22,6	23,0
Novembro	19,3	21,6

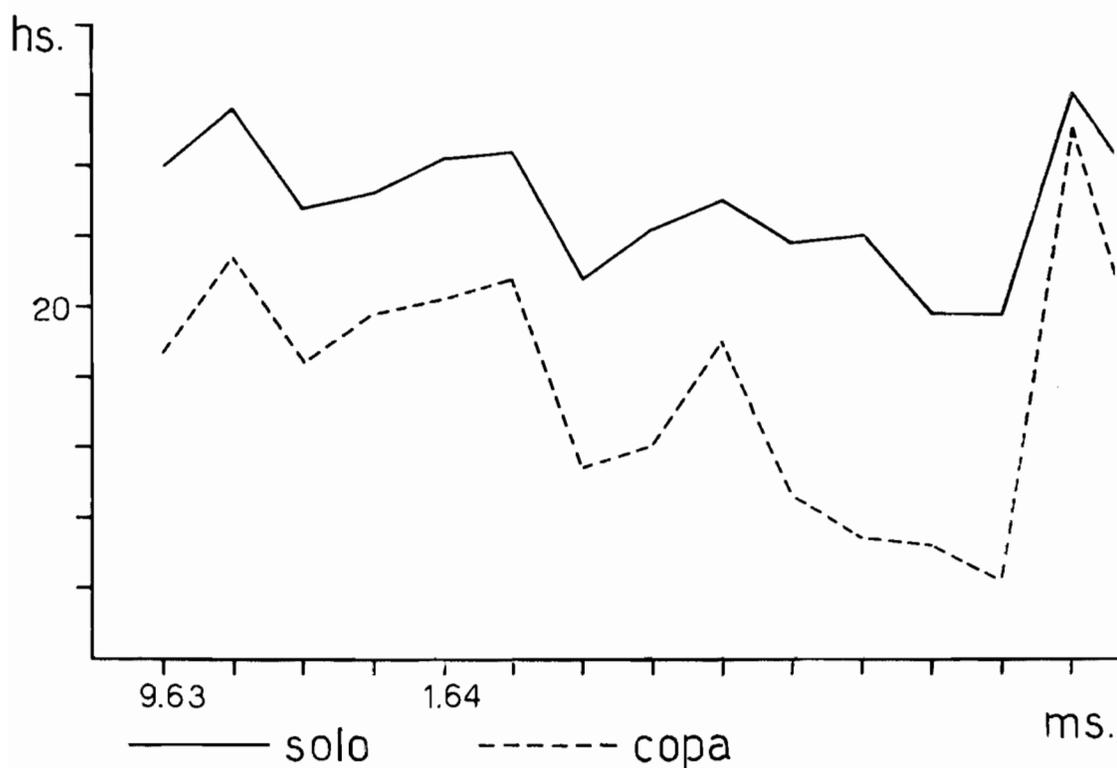
ções em florestas de Santa Catarina poderiam ser aplicadas em nossa região. De maneira geral, as nossas medidas mostram que o grau de umidade encontra-se sempre próximo da saturação. Na Tabela 2.4 encontram-se os resultados a que chegamos no cálculo do número médio de horas por dia em que a umidade relativa se manteve acima de 95%. Seguindo a orientação do supracitado autor, esse dado foi obtido medindo-se a parte do traçado do higrógrafo situada acima desse valor.

Fig. 2.7 - Climograma baseado nas relações de temperatura média (°C) e precipitação atmosférica (mm) para a Estação Biológica de Boracéia. Os meses acham-se representados pelos respectivos números.

Fig. 2.8 - Gráfico das variações mensais do tempo médio (hs.) em que a umidade permaneceu acima de 95%, para os dois níveis (solo e copa) na Estação Biológica de Boracéia, e para os meses de setembro de 1963 a novembro de 1964 (ms).



2.7



2.8



2.9



2.10



2.11



2.12

Observando-se êsses resultados, juntamente com os da Tabela 2.3, verifica-se que em relação à umidade, as diferenças entre os dois níveis não são acentuadas. Nesse sentido, as maiores foram aquelas observadas durante as horas mais luminosas do dia, pois é sabida a ação desse fator. Com efeito, o céu encoberto influi na oscilação do estado higrométrico do ar (Aragão, 1960). Quando êsse estado ocorre pela manhã, provoca a demora na queda da umidade, graças à intercepção dos raios diretos do sol. Nas tardes encobertas o que se observa é o contrário, pois, em tais situações, o retardo no esfriamento noturno faz com que fato análogo ocorra com a elevação da umidade. Essa situação inverte-se quando os dias apresentam céu claro sem nebulosidade. Dessa maneira, os valores pouco inferiores, em relação à copa arbórea são devidos principalmente à insolação que sempre se faz sentir de maneira mais acentuada nesse nível. Daí, pois, o fato de observar-se ali sempre maior amplitude de oscilação do que no solo, como se pode ver pelo gráfico da Fig. 2.8. De resto, as consideráveis precipitações atmosféricas e os frequentes nevoeiros, fazem com que a situação em ambos os estratos, tenda a certa uniformização.

## VEGETAÇÃO.

É ponto pacífico que a vegetação resulta das condições de clima e de solo. Aquêle, por sua vez, sofrendo influência do relêvo. Considerando, portanto, o aspecto geral do revestimento vegetal brasileiro (Santos 1943, Warming 1947, Chevalier 1949, Veloso 1962), a área que escolhemos para sede de nossos estudos possui, nesse particular, feição que é peculiar à extensa região sul do Brasil, ocupada pelas Serras do Mar e Geral.

Como já dissemos, os solos pertencem aos tipos 1 e 2 de Setzer (1949), e têm como característica, o fato de não serem muito profundos. São forrados com apreciável camada de detritos, daí resultando elevado teor de matéria orgânica. Como resultante disso, aliado ao acentuado teor de umidade, dá-se o crescimento de vegetação arbórea e arbustiva de certo porte.

Fig. 2.9 - Aspecto da floresta latifoliada tropical da encosta atlântica meridional do Brasil. Note-se que as árvores são de tronco fino e de altura não muito acentuada.

Fig. 2.10 - O mesmo tipo de mata, observando-se a riqueza em vegetais menores, entre os quais os pteridófitos, dando aspecto fechado ao interior desse ambiente.

Fig. 2.11 - Aspecto dominante nesta vegetação constituído pela riqueza em epífitas, entre as quais sobressaem as bromeliáceas.

Fig. 2.12 - Bromélias terrestres que se apresentam em grande número, tanto no chão da floresta como nos locais abertos.

Constituem-se assim, florestas escuras e úmidas, cujas árvores apresentam raízes pouco profundas que se entrelaçam na superfície. Desde que a camada do solo rica em matéria orgânica seja pouco profunda e, por sua vez, se sente sobre outra de pouca permeabilidade, a erosão pode fazer sentir seus efeitos. Em tais casos, nos locais de acentuado declive, as chuvas fortes e prolongadas podem provocar o escorregamento da primeira sobre a segunda. Daí resulta a formação de áreas de campo e cerrado, rodeadas de matas. Em nossa região, observa-se com certa frequência a presença de tais terrenos, de extensão limitada, no meio do revestimento florestal contínuo. A presença deles poderá ter essa explicação (Setzer, 1949).

A cobertura vegetal primitiva desta região é constituída pelo tipo de floresta latifoliada tropical, característico da encosta atlântica (Veloso, 1962). Seu aspecto é bastante uniforme, dominando as árvores um tanto finas e relativamente baixas, pois só excepcionalmente ultrapassam os 25 metros de altura. Nesta área da escarpa e alto da Serra, tais indivíduos arbóreos são predominantemente representantes de Lauraceae, assinalando-se também os vegetais menores Myrtaceae e Rubiaceae, além de numerosos pteridófitos (Figs. 2.9 e 2.10).

O que de início chama a atenção de todo aquele que percorre essas matas, vem a ser o grande número de Bromeliaceae e Orchidaceae. Estas famílias apresentam-se de maneira constante nesta região. Daí resultam paisagens uniformes, com árvores repletas dessas plantas epífitas e com o chão da floresta forrado de bromélias terrestres (Figs. 2.11 e 2.12). A elevada densidade desses vegetais deve-se, segundo Aragão (1961), não somente às características de alta pluviosidade da região, mas também e principalmente ao aspecto constante de umidade elevada. Este último, sendo consequência dos tipos locais de circulação atmosférica e iluminação.

Fig. 2.13 - Aspecto da zona aberta, com feição de campo cerrado. Note-se a vegetação arbustiva e rasteira, predominantes.

Fig. 2.14 - Solução de continuidade da camada fértil do solo em área da zona de campo cerrado. A água não se infiltra em virtude da impermeabilidade da camada subjacente.

Fig. 2.15 - Localidade de Ribeirão Grande. Note-se a presença de extensa plantação de eucaliptos.



2.13



2.14



2.15

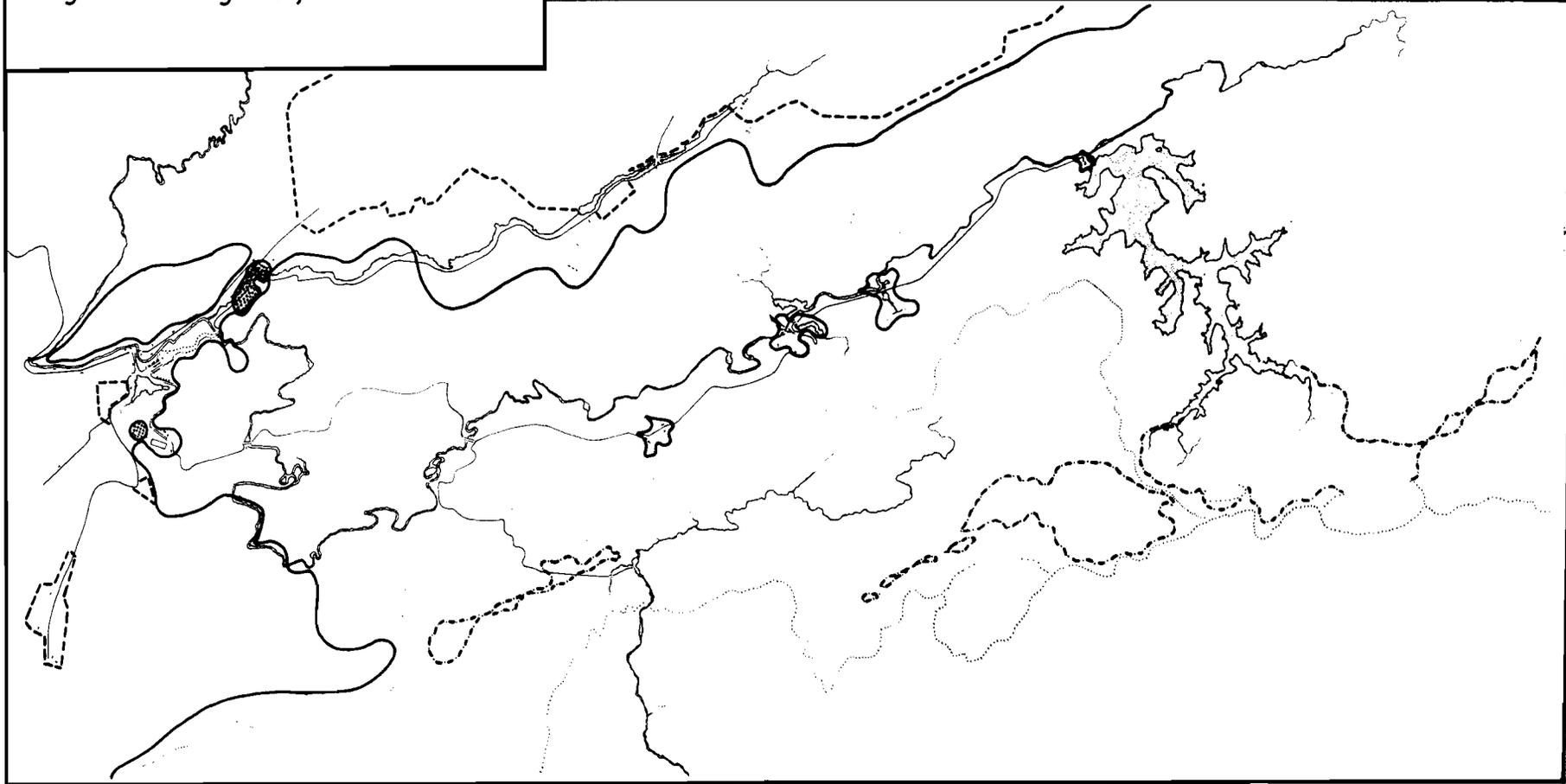
Fig. 2.16- Vegetação

— matas

- - - - campos

- - - - eucalipais

▣ pinheirais



Ao lado da floresta, como mencionamos linhas atrás, verifica-se a presença de áreas abertas com o aspecto de campos cerrados. Nelas predomina a vegetação arbustiva do tipo restinga (Veloso, Moura e Klein, 1956), além de revestimento rasteiro de gramíneas e abundância em pteridófitos e bromélias terrestres. As soluções de continuidade da camada fértil dão origem a coleções líquidas. Isso revela a dificuldade de infiltração da água e traduz a pouca permeabilidade da camada subjacente (Figs. 2.13 e 2.14).

Nos arredores da reserva de Casa Grande, a vegetação primitiva tem sofrido acentuadas alterações. Deve-se isso às atividades carvoeiras e à substituição da antiga floresta pelo plantio de espécies de interesse econômico. Entre elas ressalta o eucalipto (Eucalyptus sp.), cobrindo atualmente extensas áreas que limitam com a nossa região (Figs. 2.15 e 2.28). Além desses eucaliptais consideráveis, observam-se pequenos pinheirais (Pinus sp. e Araucaria sp.) de caráter experimental.

O mapa constante da Fig. 2.16, dá idéia da distribuição dos mencionados revestimentos vegetais, naturais e artificiais, em nossa região.

### REGIÃO DE CASA GRANDE

Como vimos, é a extensão de terras de propriedade do DAE, protegida e conservada em seu aspecto natural, para constituir-se na denominada Adutora do Rio Claro. Nela se encontra a sede administrativa que leva o mesmo nome da região, além de algumas outras localidades onde residem e trabalham alguns dos funcionários do mencionado Departamento. Dentro dela situa-se, ainda, pequena área de propriedade do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo (DZ) onde se acha instalada estação para investigações biológicas. Dessa forma, nas linhas que seguem, descreveremos os aspectos principais desta região. Para melhor compreensão, as descrições poderão ser acompanhadas pela observação do mapa constante da Fig. 2.2.

#### CASA GRANDE.

Está situada no local do antigo "Acampamento" onde, em 1926, teve lugar a instalação do primeiro serviço de captação de águas da região, para o abastecimento da cidade de São Paulo (Novaes, 1927). Atualmente acham-se ali sediados os serviços administrativos da Adutora do Rio Claro, bem como as casas que servem de residência à maioria dos funcionários locais.

O núcleo encontra-se às margens do rio Claro e de um lago artificial. Este último é resquício do que deveria ter sido a primitiva barragem, de acordo com o projeto original (Fig. 2.17). Aos edifícios administrativos, sucede

dem-se as casas dos funcionários. Estas são bem construídas e de alvenaria, dispondo-se em fileira ao longo da única rua do núcleo (Figs. 2.18, 2.19 e 2.20). Pelas figuras citadas e pelo mapa da Fig. 2.16, pode-se verificar que a floresta se situa bastante próxima dos limites desta localidade. Isso condiciona facilidades de contato recíproco, entre a população e o ambiente silvestre. Pode-se verificar que, a maioria das habitações se encontra ao alcance de vôo de mosquitos procedentes da mata. Por sua vez, esta recebe a frequente visita dos habitantes. E não somente por parte dos indivíduos masculinos que exercem boa parte de suas atividades profissionais nesse meio, mas também de mulheres e crianças que estão amiúde em contato com o ambiente. No que concerne aos trabalhadores, seus misteres dizem respeito às múltiplas funções relacionadas com a conservação de instalações da Adutora, da estrada de acesso, do sistema de condução elétrica e outras, grande parte delas levadas a efeito dentro da reserva florestal (Figs. 2.25).

#### ADUTORA.

Nesta área situa-se o sistema de captação e condução de água até os filtros, localizados na proximidade do núcleo de Casa Grande. A captação é realizada em dois pontos, um para cada bacia hidrográfica. O primeiro, na localidade de Poço Preto, retira o líquido do rio Claro que ali se encontra parcialmente represado. Essa localidade também foi sede de primitivo projeto de barragem, o qual foi abandonado pelo definitivo do rio do Campo. Tanto em Poço Preto, como na Barragem do Rio do Campo, (Figs. 2.21 e 2.22) encontram-se casas de funcionários que ali residem e trabalham. O que foi dito a respeito da proximidade florestal em relação ao núcleo de Casa Grande, vale com ênfase ainda maior no que diz respeito a estas casas. Com efeito, elas se situam praticamente dentro do ambiente silvestre (Fig. 2.23).

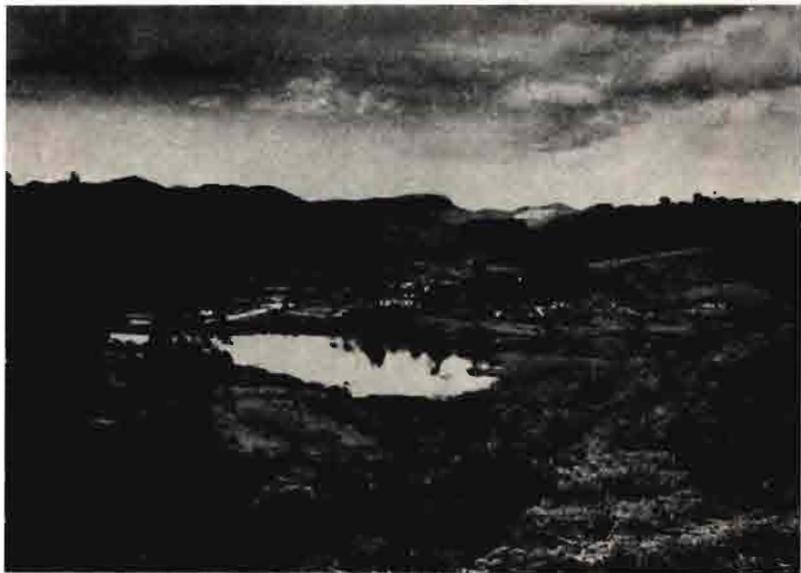
O segundo ponto de captação acha-se situado às margens do rio Guaratuba (Fig. 2.3), próximo da escarpa marítima. Ali estão instaladas as bombas para retirada da água e, em vista de seu funcionamento não ser contínuo, não houve necessidade da manutenção permanente de guardas no local. Assim sendo, essa região não apresenta casas de residentes. Recentemente, em

Núcleo de Casa Grande.

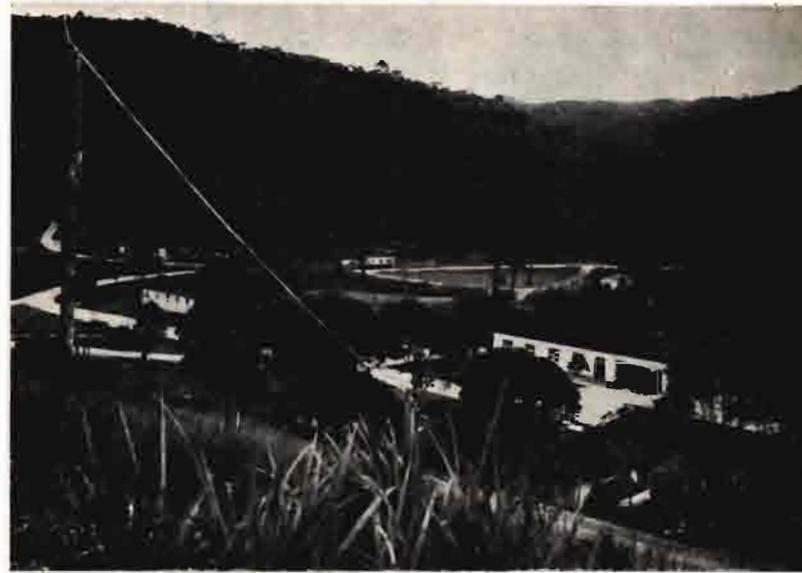
Fig. 2.17 - Aspecto panorâmico. Note-se o lago artificial que restou do primitivo projeto da barragem local.

Fig. 2.18 - Vista dos edifícios administrativos.

Figs. 2.19 e 2.20 - Aspectos das casas de residências dos funcionários. Observe-se a proximidade da floresta e o aspecto da única rua do núcleo.

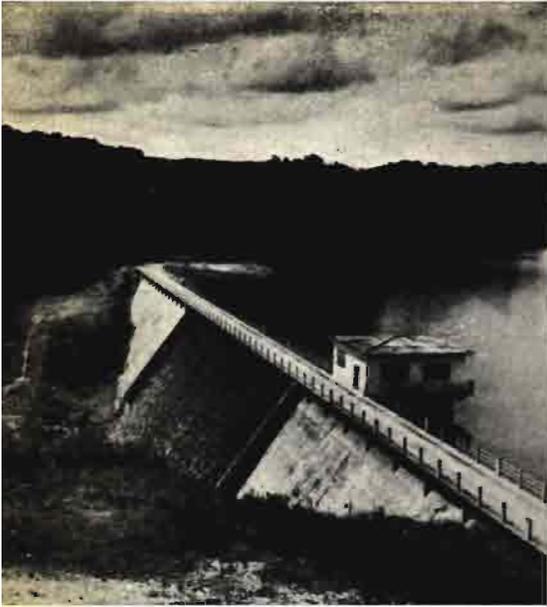


2.17

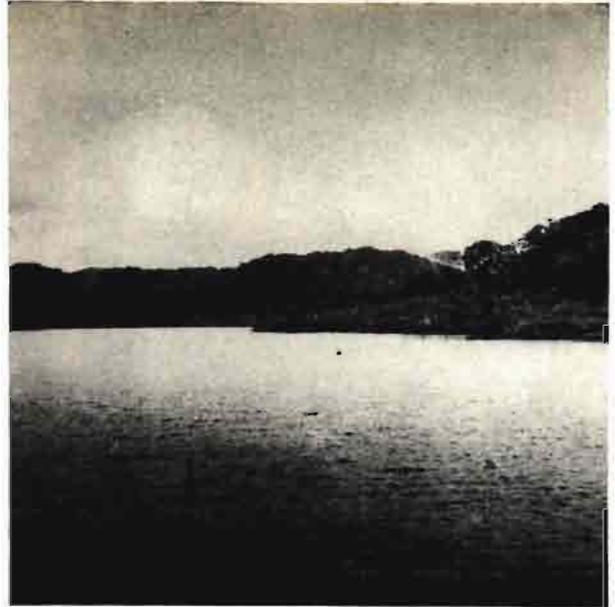


2.18

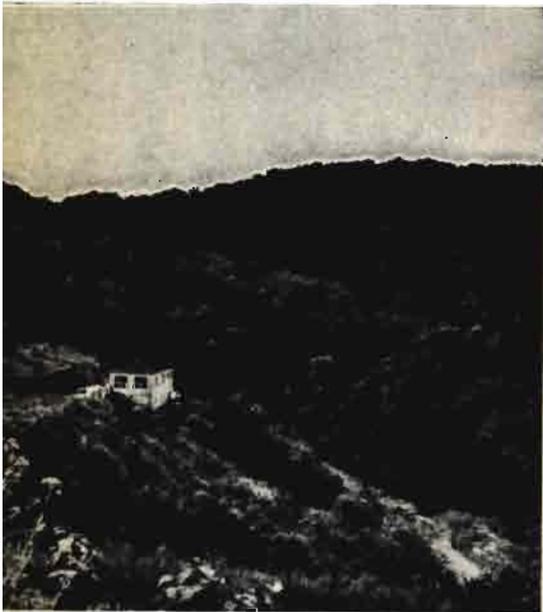




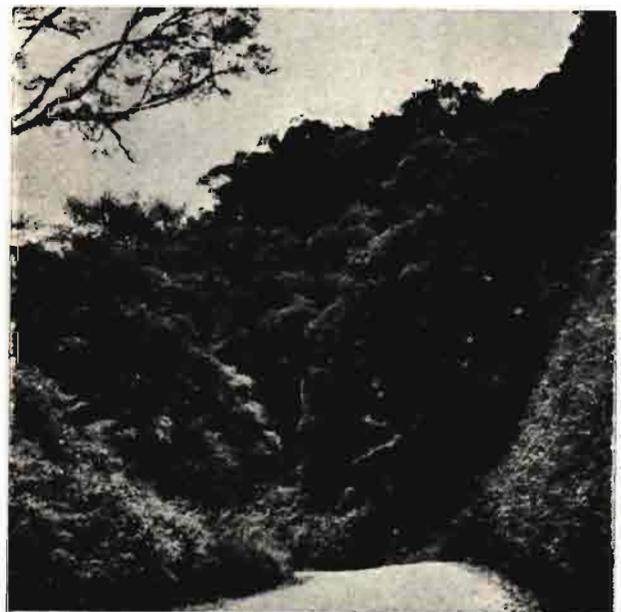
2.21



2.22



2.23



2.24

princípios de 1966, estabeleceu-se ali acampamento de pessoal empregado em atividades topográficas. Pertence êle à empresa particular contratada para o levantamento de dados nesse sentido. Destinam-se à futura construção da estrada de ferro para a cidade de São Sebastião, no litoral.

Êsse sistema de adução é acompanhado por estrada de rodagem, a qual saindo de Casa Grande, chega até a Barragem do Rio do Campo e ao ponto de captação de Guaratuba. Essa rodovia estende-se pela reserva, no meio do ambiente natural (Figs. 2.24 e 2.25), bifurcando-se depois da segunda ponte sobre o rio Claro e totalizando cerca de 20 quilômetros até a Barragem. Durante o seu percurso, o panorama é o de constantes florestas, exceto em trecho do ramo destinado ao Guaratuba que atravessa área de campo cerrado. A maior elevação topográfica da região é representada por blocogranítico conhecido pelo nome de Pedra da Boracéia, cujo perfil sobressai no alto da escarpa da Serra do Mar (Fig. 2.22).

#### ESTAÇÃO BIOLÓGICA DE BORACÉIA.

Dentro da reserva de Casa Grande foi delimitada área com cerca de 40 alqueires (96 hectares), de propriedade do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. A partir de 1954 foi ali instalada a Estação Biológica de Boracéia (EBB), destinada a propiciar a realização de investigações dessa natureza em geral (Travassos Filho e Camargo, 1958).

A EBB dispõe de instalações adequadas para cumprir a sua finalidade. Situam-se ao lado da rodovia que leva à Barragem. Encontram-se ali as residências dos funcionários do DZ encarregados da manutenção, bem como os edifícios para o laboratório, escritório e hospedagem dos biólogos (Fig. 2.26). A área total da Estação estende-se por faixa que vai desde o espigão divisor das águas das duas bacias hidrográficas, até as margens do rio Claro.

---

Fig. 2.21 - Barragem do Rio do Campo.

Fig. 2.22 - Aspecto da represa da Barragem do Rio do Campo. Pode-se notar ao fundo, sobressaindo entre as copas das árvores, o alto da Pedra da Boracéia.

Fig. 2.23 - Casa do guarda da Barragem do Rio do Campo. Note-se a proximidade da floresta e, no fundo do vale, o rio Claro.

Fig. 2.24 - Trecho da estrada que acompanha a Adutora do Rio Claro, dentro da reserva de Casa Grande. Note-se que ela é constantemente margeada pela floresta.

Em local próximo à sede, encontra-se instalado posto meteorológico do DAEE. Alguns dos dados ali registrados foram objeto de considerações em parágrafos anteriores.

Pelas mesmas razões de proximidade com a floresta, as pessoas ali residentes, encontram-se em constante contato com ela.

### ARREDORES

Limitando com a reserva de Casa Grande, situam-se várias propriedades rurais. Algumas delas conservam ainda parte do revestimento florestal primitivo. É o caso da área que se estende na margem norte do rio Claro, a jusante do núcleo de Casa Grande.

A maior parte, todavia, já foi sede de atividades agrícolas, com as modificações profundas daí resultantes. Dessa maneira, o aspecto frequente é o de apresentarem boa porção de sua superfície coberta por vegetação arbustiva ou arbórea de segunda formação. Ao lado disso, ressaltam as plantações de eucaliptos, que constituem a principal atividade econômica local. Na atualidade, os mais extensos eucaliptais podem ser encontrados na parte norte da região, abrangendo as localidades de Ribeirão Grande, Fazenda Palma e Pedra Queimada (Fig. 2.16). Ali se observa a existência de população reduzida, cuja função é a de guardar tais plantações. Os habitantes residem em casas de madeira localizadas dentro ou na periferia dos eucaliptais. Neste último caso, com frequência essas residências situam-se junto aos limites da floresta de Casa Grande (Figs. 2.15, 2.27, 2.28). Esta população somente sofre sensíveis aumentos, por ocasião do corte dessas árvores. Nessa oportunidade constroem-se casas de caráter transitório, destinadas a servir de abrigo temporário aos trabalhadores empregados nessa atividade.

A oeste e sudoeste de Casa Grande, verifica-se a existência de várias localidades habitadas. A conhecida pelo nome de Serengue, foi anteriormente sede de considerável plantação de eucaliptos, que foram submetidos a corte em época anterior. Atualmente encontram-se ali alguns eucaliptais de menor extensão (Fig. 2.16), além de casas esparsas, muitas delas

Fig. 2.25 - Trabalhadores residentes em Casa Grande, exercendo suas atividades de conservação da estrada de rodagem.

Fig. 2.26 - Aspecto da sede da Estação Biológica de Boracéia. Ao fundo, a casa destinada ao alojamento dos biólogos.



2.25



2.26



2.27



2.28

desabitadas. Aspecto semelhante pode ser observado em Pau-a-Pique e Campinho. É de se assinalar que naquela, acham-se instaladas as residências de funcionários do DAE, constituindo os núcleos denominados Bairros da 2a. e 3a. Divisões. Tais trabalhadores têm por função zelar pelo trecho local da linha de condução da Adutora, cuja tubulação, saindo dos filtros de Casa Grande, prolonga-se até a cidade de São Paulo.

Dessa forma, observa-se que nos arredores da reserva de Casa Grande, encontram-se extensões de vegetação secundária, de plantações de eucaliptos, além de algumas manchas da primitiva floresta. Ali se observa a presença de pequenos núcleos de residentes, alguns dos quais constituídos por funcionários que trabalham na Adutora do Rio Claro.

### LOCAIS DAS INVESTIGAÇÕES

Conforme mencionamos no capítulo anterior, o objetivo destes trabalhos é a investigação da existência de vírus silvestres transmissíveis por artrópodes. Interessa-nos, portanto, desvendar-lhes o ciclo biológico natural e sua possível transferência para o homem e seu ambiente doméstico.

Por conseguinte, ao conhecermos esta região, tomamos a decisão de torná-la sede dessas pesquisas. Para isso escolhemos alguns pontos onde nos fôsse possível instalar estações de observação e coleta de material para estudos. A fase inicial dessas atividades estende-se do segundo semestre de 1961 ao primeiro de 1962. Nessa etapa somente levamos a efeito trabalhos dentro da Estação Biológica de Boracéia. Dificuldades de ordem material fizeram com que os trabalhos fôssem suspensos naquela data. Contudo, a experiência adquirida sempre traz vantagens e, com ela reiniciamos as atividades no segundo semestre de 1963. Elas prosseguem ininterruptamente até o momento em que estão sendo escritas estas linhas, e estão programadas para se prolongarem por tempo ainda indefinido.

Destarte, a partir da supramencionada data, passaram a funcionar várias estações, com a seguinte localização:

- 1) Estação Biológica de Boracéia (EBB). Na área da já descrita EBB onde, inclusive, instalamos a aparelhagem para as medidas micro

Fig. 2.27 - Fazenda Palma, Habitação instalada nos limites com a reserva florestal que pode ver no alto, ao fundo.

Fig. 2.28 - Eucaliptal da localidade de Ribeirão Grande. Note-se ao fundo, a floresta da reserva de Casa Grande.

climáticas. Esta nossa estação de coleta é a mais antiga e seu funcionamento se encontra garantido pelas instalações ali existentes.

- 2) Barragem do Rio do Campo (BRR). Compreende a área da repêsa. Em vários pontos de sua margem, acham-se instalados os postos de coleta.
- 3) Guaratuba (GT). Aqui as atividades de colheita do material foram exercidas tanto na área do campo cerrado à margem da estrada, como dentro da floresta situada próximo à escarpa da Serra. Esta estação funcionou até dezembro de 1964. Nessa ocasião, em virtude das dificuldades de acesso, foi substituída pela seguinte.
- 4) Casa Grande (CG). Encontra-se situada nas vizinhanças do núcleo de Casa Grande, em local florestal pouco afastado da margem norte do rio Claro. Seu funcionamento teve início em janeiro de 1965.
- 5) Poço Preto (PP). Localizada às margens do pequeno represamento do rio Claro, antes do ponto de captação das águas.

Com o funcionamento dessas estações, foi possível a obtenção do material para a investigação a que nos propusemos. Além disso, as observações estenderam-se aos núcleos de Casa Grande e das localidades vizinhas.

Maiores detalhes e os resultados obtidos até o momento, constituem objeto de explanações nos capítulos seguintes.

## CAPÍTULO Nº 3 - TENTATIVAS DE ISOLAMENTO

Coleta das Fontes .....	pg. 40
Vertebrados silvestres .....	40
Métodos empregados .....	41
Animais sentinelas .....	43
Métodos empregados .....	45
Artrópodes .....	46
Métodos empregados .....	46
Homem e animais domésticos .....	47
Isolamento .....	48
Coleta do material .....	48
Inoculação .....	51
Verificação da infecção .....	52
Caracterização .....	52
Titulação do vírus .....	53
Sensibilidade ao DCS .....	53
Inoculações experimentais .....	54
Crescimento em culturas de tecidos .....	55
Estoque .....	56
Considerações .....	56
Identificação .....	58
Antígeno .....	59
Soros .....	60
Soros homólogos .....	60
Soros polivalentes ou de grupo .....	61
Verificação e titulação da hemaglutinação .....	62
Triagem .....	63
Resultados Obtidos .....	68
Vertebrados silvestres .....	68
Animais sentinelas .....	68
Artrópodes .....	71
Homem e animais domésticos .....	72
Vírus isolados .....	72
Boracéia (SPAr 395) .....	74
Tacaiuma (2317) .....	76
Não identificados .....	78

São múltiplos os problemas concernentes ao isolamento, caracterização e identificação de arbovírus, com a finalidade de investigação epidemiológica. É isso porque já é vultoso o número de tais agentes incriminados como responsáveis por moléstias humanas e animais, ao lado de muitos outros, cuja associação com infecções dessa natureza ainda não foi esclarecida de maneira satisfatória. Acresce o fato de, muito provavelmente, ser bem maior o número desses vírus ainda desconhecidos. Compreende-se, portanto, que tais dificuldades condicionem processos complexos, tanto na coleta do material no campo, como no seu transporte e na execução das técnicas laboratoriais para o diagnóstico.

Desde que o ciclo natural destes agentes implica na existência de vários componentes, constituídos essencialmente por diversos representantes de vertebrados e artrópodes, as tentativas de isolamento encontram-se diretamente subordinadas a esse aspecto ecológico. Dessa maneira, são múltiplas as fontes capazes de fornecer os vírus e, por conseguinte, a pesquisa epidemiológica não se pode limitar a qualquer uma delas em particular. Frequentemente e, de maneira especial nos ambientes naturais enzoóticos, são maiores as oportunidades de obter resultados positivos a partir de animais vertebrados e artrópodes silvestres associados ecológicamente a infecções humanas. Estas podem mesmo se apresentar como esporádicas ou inaparentes. É o caso que estamos figurando neste trabalho, em que a investigação se dirige à presença desses vírus em seus nichos naturais, com possíveis reflexos na população humana local.

### COLETA DAS FONTES

Do que acima foi dito, depreende-se que os processos para a obtenção de arbovírus variam de acordo com a fonte destinada a fornecê-los. Evidentemente, o problema principal reside na verificação do possível papel etiológico que esses agentes possam desempenhar em relação a moléstias que afetem o homem. Assim sendo, em pesquisa desse tipo, as primeiras atenções deveriam ser dirigidas para o isolamento de vírus a partir de material humano. Contudo, como já tivemos ocasião de assinalar no caso particular das arboviroses, a inclusão do homem no seu ciclo é, na maioria das vezes, acidental. E desse modo, o estudo ecológico em ambiente natural, como aquele que é objeto desta investigação, deverá iniciar-se pelos seus componentes naturais extra-humanos. Assim sendo, neste trabalho relataremos as tentativas de obtenção de vírus dessas fontes. Incluiremos também algumas outras, relativas a possíveis origens humanas.

#### VERTEBRADOS SILVESTRES.

A participação de animais vertebrados no ciclo enzoótico natural dos arbovírus, tem sido atribuída principalmente a mamíferos e aves. Representa

tantes de outros grupos, como o dos répteis, somente em época relativamente recente têm merecido atenção, e seu possível papel nesse sentido ainda não está suficientemente esclarecido (Thomas, Eklund e Rush 1958, Thomas e Eklund 1960, Hayes 1961, Karstad 1961, Craighead, Shelokov e Peralta 1962, Hayes e cols. 1964). Por conseguinte, a captura de animais pertencentes àquêles grupos, com a finalidade de pesquisa viral e sorológica, constitui parte de relevante importância na investigação epidemiológica.

Com relação aos mamíferos, os dados disponíveis até o momento sugerem que os de pequeno porte desempenham papel marcante na manutenção da infecção viral (Eklund 1963, Worth 1963, Causey 1963). Com efeito, partes apreciáveis de certas populações animais, como as constituídas por roedores de vida curta, são passíveis de serem anualmente substituídas por novos contingentes de indivíduos suscetíveis. Isso faz com que o índice de infecção natural seja mantido em nível apreciável nessa comunidade (Johnson 1960, 1963, Forattini 1961/1962, 1965).

A falta de informações mais precisas e detalhadas sobre a composição faunística local impediu-nos de, a priori, concentrarmos as atividades para determinadas espécies em particular. Todavia, as noções mencionadas no parágrafo anterior, indicaram-nos, desde o início, a conveniência de dirigir a nossa atenção para os pequenos mamíferos representados essencialmente por roedores e marsupiais.

Quanto às aves, são elas consideradas não somente como reservatórios normais para arbovírus, mas também como possíveis fatores na distribuição e propagação geográfica de alguns deles, graças ao hábito migratório de que são dotadas várias espécies (Stamm e Newman, 1963). Contudo, a presença de vírus nestes animais tem-se revestido de aspecto irregular, provavelmente obedecendo a fatores ainda mal conhecidos. A flutuação na densidade de artrópodes transmissores poderia ser encarada como um deles. De qualquer forma, em se tratando de investigar o nicho ecológico desses agentes, é de se supor que a população aviária a merecer especial atenção deva ser aquela constituída por espécies de pequeno porte ali residentes. Os trabalhos nesse sentido, na região neotropical, primam pela ausência. Existem indícios sugerindo a provável importância de pequenas aves da família Formicariidae. Dessa forma, as nossas atenções iniciais foram dirigidas para a captura de aves menores, provavelmente residentes na região escolhida para as nossas investigações.

Métodos Empregados. - Tudo indica que o melhor processo para a obtenção de resultados satisfatórios, tanto para fins de isolamento de vírus como para as provas sorológicas, consiste na coleta do material a partir de animais vivos. Nesse sentido, verificou-se que aves abatidas a tiro forneciam sangue com maior poder neutralizante do que o daquelas capturadas vivas e

sangradas posteriormente. Esse fenômeno pode ser atribuído à presença de substâncias como a bile que, em consequência do traumatismo das vísceras torácicas e abdominais, chega a libertar-se e a contaminar a corrente circulatória. Assim, pois, a possibilidade de ocorrência de reações de neutralização inespecíficas, faz com que seja evitada a coleta mediante aquele processo (Scherer 1963, Scherer e cols. 1964, Hardy, Scherer e Warner 1964).

A presença de manifestações clínicas evidentes que traduzam a infecção em vertebrados silvestres, constitui fato registrado de maneira pouco frequente. Fazem exceção certos agentes, como o da febre amarela, cuja existência em ambientes florestais centro e sul-americanos, pode determinar o desencadeamento de surtos epizooticos fatais na população local de prímatas. Fenômeno análogo tem sido observado, embora sem o aspecto de ampla epizootia, entre os roedores e aves em relação às encefalites oeste, leste e de São Luís, na América do Norte (Work, 1963). Quando isso acontece, a mortalidade entre os animais silvestres pode chamar a atenção e é com relativa facilidade que se identifica a fonte de infecção viral para o homem. Em tais circunstâncias, os animais doentes ou recém mortos, poderão propiciar o isolamento dos vírus a partir do sangue e vísceras colhidos na necropsia. Contudo, mesmo nas arboviroses mais estudadas nestas últimas décadas, são bastante incompletas as informações disponíveis. Pouco se sabe sobre as espécies de vertebrados silvestres por elas afetados, bem como das características clínicas com que tais moléstias se revelam nesses animais. Em alguns casos, tem-se observado a sobrevivência da morte após o período virêmico, mas sem ser precedida por qualquer sintomatologia da moléstia. Dessa maneira, quando algum mamífero ou ave é encontrado morto, é aconselhável que seja transportado ao laboratório, necropsiado, e os tecidos recolhidos, não somente para as tentativas de isolamento, como também para o exame histopatológico. Este poderá fornecer valiosas indicações, principalmente investigando-se a presença de reações perivasculars, dos vasos cerebrais e as lesões focais hepáticas, esplênicas, renais ou cardíacas.

De qualquer forma, no estado atual de nossos conhecimentos, quando se investiga o ciclo enzoótico dos arbovírus em seu ambiente natural, deve-se esperar o encontro de tais agentes infectando vertebrados, sem que estes apresentem manifestações clínicas evidentes dessa infecção. Dêsse modo, poderão eles apresentar os vírus no sangue circulante e vísceras, possibilitando o isolamento a partir desse material.

Pelas considerações que foram objeto dos parágrafos anteriores, compreende-se que nesta fase inicial de nossas investigações nos tenhamos preocupado na coleta de animais vivos de pequeno porte. Para os mamíferos, representados na sua maioria por roedores e marsupiais, utilizamos armadilhas correspondentes ao tipo n. 2 descrito por Gilmore (1943). São elas de tamanho pequeno e médio, construídas de rede metálica resistente, e dotadas

de porta basculante. Esta, ao ser liberada, obedecendo à ação da gravidade, fecha a armadilha. Isso ocorre assim que o animal, após entrar, inicia as tentativas para desalojar a isca colocada no fundo (Figs. 3.1, 3.2). Com tais armadilhas obtivemos resultados que julgamos satisfatórios, pois elas reunem as qualidades de serem eficientes, duráveis e facilmente transportáveis. Evidentemente, o rendimento dependeu de vários fatores, entre os quais, o número de unidades empregadas. No caso particular de morcegos, os espécimens examinados por nós, não foram obtidos mediante a utilização de algum artifício particular, mas sim coletados diretamente em seus locais de abrigo diurno. Estes foram representados, principalmente, pelos forros das casas. As armadilhas foram dispostas ao longo de picadas abertas na floresta, sendo visitadas e recolhidas, quando positivas, em dias alternados.

Quanto às aves, o programa de coleta teve início em época bem mais recente, ou seja no decorrer do primeiro semestre de 1965. Para tanto, adotando-se o método já descrito por vários autores, foram utilizadas rêdes de nylon especialmente elaboradas para essa finalidade e que, em publicações de língua inglesa, são designadas pelo nome de "japanese mist nets" (Low, 1957, Stamm, Davis e Robbins 1960) (Figs. 3.4 e 3.5). Adotou-se o processo de estender as rêdes em locais previamente escolhidos, pouco antes do clarear do dia. As capturas eram feitas a partir das primeiras horas da manhã, sendo cada rêde visitada a intervalos de aproximadamente uma hora. Isso ocorria duas vezes por semana. Desde que não tínhamos intenções de estudar a população aviária local, a disposição das rêdes obedeceu somente à finalidade de obtenção de espécimens para exame, sem a delimitação de área especial para observações, indispensável quando se pretende encetar investigações daquele tipo.

#### ANIMAIS SENTINELAS.

Tivemos ocasião de assinalar, em parágrafos anteriores, certos aspectos de que se reveste a presença de arbovírus em zonas endêmicas ou en

Fig. 3.1 - Armadilha para a coleta de pequenos mamíferos.

A - vista de lado, fechada.

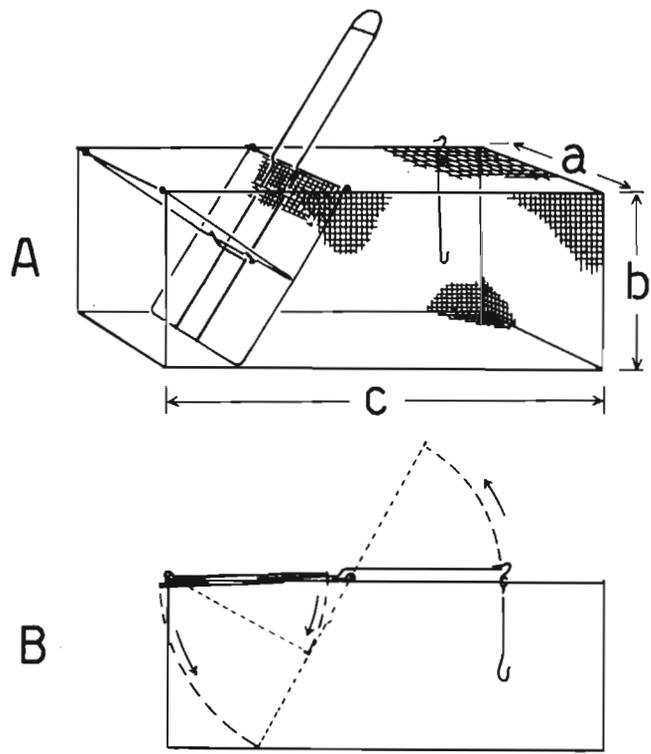
B - vista de perfil, armada para permitir a captura. As setas indicam os movimentos da porta e da trava, ao se fecharem.

Medidas em centímetros:

tamanho médio - a 20; b 20; c 50.

tamanho pequeno - a 15; b 15; c 30.

Fig. 3.2 - Instalação de armadilha correspondente ao desenho da figura anterior.



3.1



3.2



3.3



3.4



3.5

zooticas naturais. Nesses ambientes, deve-se admitir como sendo relativamente escassas as oportunidades de surpreender indivíduos que revelem manifestações clínicas da infecção de que são portadores. Tais possibilidades porém aumentarão se, nesse meio, forem introduzidos animais suscetíveis e destituídos de imunidade, procedentes de outras áreas. Admitindo-se que estes últimos entrem em contato, pela primeira vez, com os vírus locais, pode-se concluir que nêles a virose se manifestará de maneira mais freqüente, por doença perceptível. É nesse princípio que se baseia a utilização de animais suscetíveis, os quais durante determinado período, são expostos no ambiente investigado. Depois disso são retirados e permanecem em observação, com a finalidade de surpreender alguma sintomatologia clínica que indique terem adquirido a virose. Ou então, desde que o porte do animal o permita, podem ser submetidos a sangrias para exame sorológico, pois nunca se pode afastar completamente a ocorrência de infecção inaparente. A tais hospedeiros, exóticos ao ambiente ao qual são expostos, dá-se o nome de animais sentinelas, pois têm êles a função de detectar a presença do ou dos agentes virais em atividade no momento.

Este processo tem sido largamente empregado no estudo de arbovírus locais, em múltiplas regiões. Em diversas ocasiões forneceu informações valiosas. Foi o que ocorreu com as observações iniciais de Smithburn, Hadow e Lumsden (1949) no Continente africano, utilizando macacos rhesus (Macaca mulatta) como sentinelas para o vírus da febre amarela em áreas florestais desabitadas. Dependendo da orientação da pesquisa e em obediência a fatores locais, várias são as espécies animais que têm sido usadas como sentinelas. Inicialmente, os primatas ocuparam a preferência dos investigadores, sendo que posteriormente a atenção destes se voltou para outros mamíferos e mesmo aves como pintos de um dia, frangos e pombos. Em áreas da região neotropical, a escolha tem recaído preferentemente em camundongos recém-nascidos e, mais recentemente, em hamsters já desmamados (Causey e cols. 1961, Causey 1962, Scherer e cols. 1964, Softly e Stanley 1965).

Em nossas investigações, os resultados animadores obtidos por Causey e cols. (1961) na região amazônica, levaram-nos a adotar os camundongos suíços albinos para o desempenho da função de animais sentinelas.

Fig. 3.3 - Uso do tubo aspirador em isca humana, para a coleta de mosquitos.

Fig. 3.4 - Colocação da rêde japonesa do tipo "mist", para a captura de aves.

Fig. 3.5 - Coleta de aves na rêde da figura anterior.

Métodos Empregados. - Cada unidade exposta foi constituída por um exemplar adulto fêmea mãe, acompanhado de seis infantes recém-nascidos. Esse tipo de conjunto ou ninhada, foi conservado constante durante todo o trabalho, apesar de cada espécimen ser considerado individualmente como possível fonte de vírus. Deve-se, porém, levar em consideração que o número total de indivíduos encaminhados ao campo para exposição, foi maior do que o daqueles que retornaram ao laboratório para observação. E isso porque não foi possível evitar a ação de numerosos fatores e circunstâncias de controle difícil, como sejam, acidentes mecânicos diversos, atividade de predadores, ação devoradora da mãe sobre os infantes, condições desfavoráveis do clima com sensíveis quedas de temperatura, chuvas intensas etc.

A ninhada foi exposta encerrada em pequenas gaiolas de arame, utilizadas comumente em laboratórios para a esterilização de tubos de ensaio. Tais dispositivos possuem as varetas metálicas suficientemente afastadas para permitir a entrada de mosquitos e outros dipteros hematófagos. As dimensões desses recipientes são de 10 cm x 10 cm x 15 cm, e possuem o fundo constituído por bandeja quadrangular de folha metálica e de bordas levantadas. Dessa maneira, previne-se a saída e assegura-se o confinamento dos indivíduos da ninhada. Com a finalidade de protegê-los da ação desfavorável do sol e da chuva, tais gaiolas eram, por sua vez, colocadas sob dispositivos protetores. Estes eram constituídos por telhados de folha de zinco, de formato piramidal ou de duas águas, dotados de um gancho interno central destinado a suportar a gaiola nele pendurada. Em alguns casos, como em áreas de vegetação predominantemente arbustiva, construiu-se pequeno alpendre destinado a essa proteção. As ninhadas assim instaladas e providas de água e alimento para a mãe, eram deixadas, invariavelmente, em exposição durante 48 horas seguidas. As Figs. 3.6 a 3.9, dão idéia dessas operações.

---

Exposição de camundongos sentinelas.

Fig. 3.6 - Colocação da gaiola com a ninhada sentinela, sob protetor piramidal.

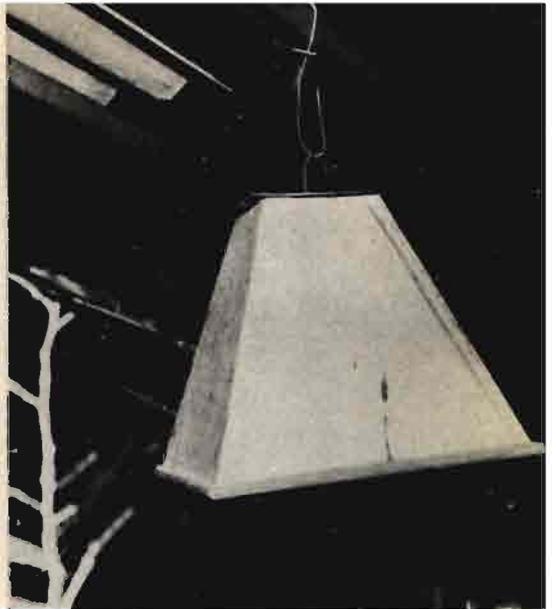
Fig. 3.7 - Protetor de formato piramidal.

Fig. 3.8 - Gaiola com a ninhada sentinela, colocada sob protetor de duas águas.

Fig. 3.9 - Pequeno alpendre para proteger a ninhada sentinela, em áreas abertas com vegetação predominantemente arbustiva.



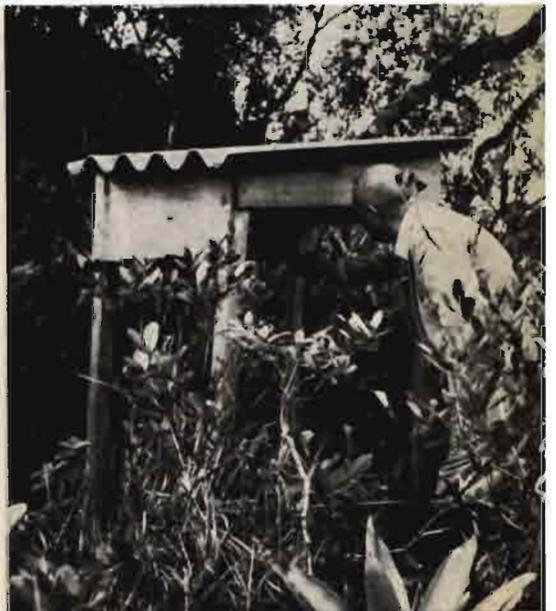
3.6



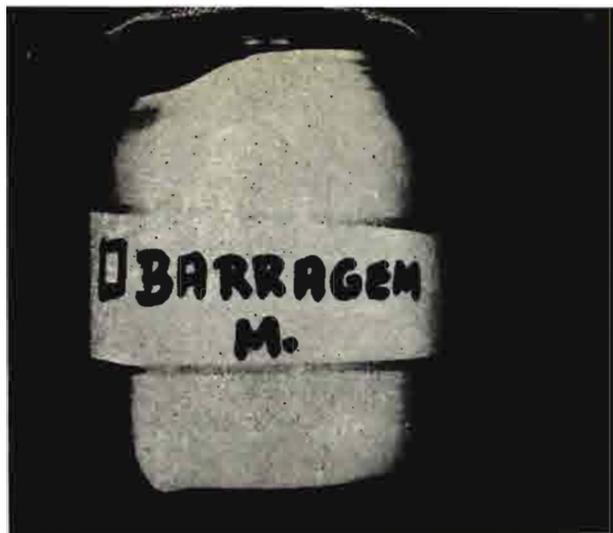
3.7



3.8



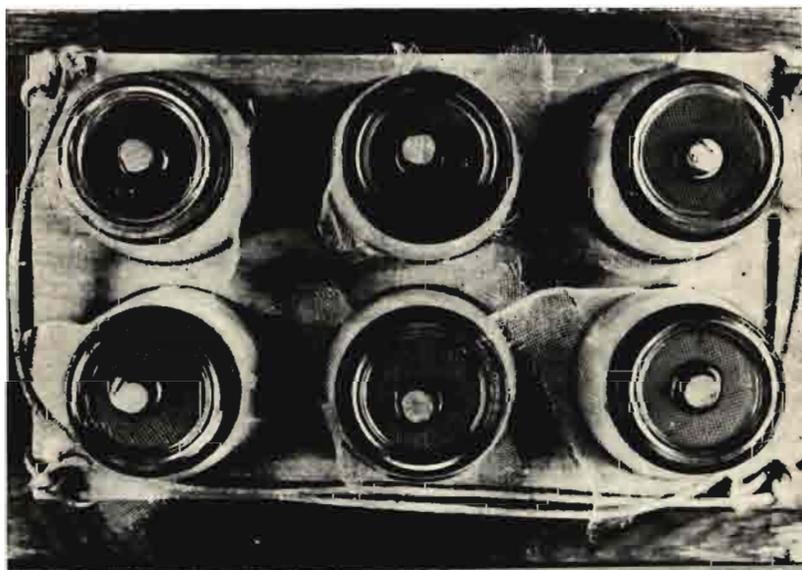
3.9



3.10



3.11



3.12



3.13

## ARTRÓPODES.

Pela própria definição de arbovírus, deduz-se que todo artrópode do tado de hábitos hematófagos pode ser considerado como portador dêsses agentes. Contudo, ao se encetar pesquisa como a nossa, levada a efeito em ambiente florestal primitivo, é aconselhável que as atenções iniciais sejam dirigidas para a fauna de Culicidae. Desde as primeiras observações específicas sôbre a febre amarela e em numerosas outras investigações levadas a efeito em meios semelhantes, êsses invertebrados têm-se evidenciado como responsáveis por importante papel na veiculação de tais agentes. Dessa forma, preocupamo-nos com o estudo dêsses mosquitos, não sòmente no que concerne à sua possível infecção natural como também a aspectos bioecológicos relacionados com a transmissão.

Métodos Empregados. - Os processos usados na coleta dêsses dípteros, serão objeto de considerações mais detalhadas no capítulo nº 5 dêste trabalho. Todavia, podemos desde já declarar que elas foram realizadas obedecendo a três tipos fundamentais, ou seja, com iscas humana e luminosa, e em ambiente domiciliar. Os mosquitos foram capturados vivos e colocados dentro de recipientes prèviamente preparados. Para a captura adotou-se o uso sistemático de tubos aspiradores (Forattini, 1962), Fig. 3.3. No seu transporte foram escolhidos, pela maior manuseabilidade, vidros utilizados na indústria para o acondicionamento de conservas alimentares, e com a capacidade de 250 ml. Os que melhores resultados forneceram em nossas mãos, foram os correspondentes ao tipo denominado "pote americano redondo" n. 3627 Sta. Marina. O preparo prèvio consistiu em dotá-los de revestimento interno de gêsso e de tampa telada de nylon com orifício central arredondado, através do qual são introduzidos os mosquitos capturados. (Figs, 3.10 e 3.11). Tais recipientes, denominados genèricamente de frascos gessados eram levados ao campo em conjuntos ou baterias de seis unidades, alojadas em suporte especial de madeira (Fig. 3.12 e 3.13). Antes de ser utilizado, cada frasco era ligeiramente umedecido na sua superfície interna gessada. Cada um albergava número de mosquito que não ultrapassasse o de cinquenta. O transporte ao laboratório fazia-se mantendo os citados conjuntos a baixas

Transporte de mosquitos vivos.

Fig. 3.10 - Recipiente gessado tipo "pote americano redondo 3627, Sta. Marina", com 250 ml. de capacidade. Note-se a tela instalada dentro do aro da tampa.

Fig. 3.11 - O mesmo recipiente, com a tampa removida para mostrar a superfície interna coberta com delgada camada de gêsso.

Fig. 3.12 - Conjunto de seis recipientes prontos para serem utilizados. Note-se a rolha e o correspondente orifício central, para a introdução dos espécimens capturados.

Fig. 3.13 - Vista lateral do conjunto da figura anterior.

temperaturas, para tanto sendo colocados dentro de geladeiras portáteis especiais.

### HOMENS E ANIMAIS DOMÉSTICOS.

As tentativas de isolamento dêstes agentes em possíveis casos humanos, repousa na probabilidade dêstes últimos se revelarem através de manifestações clínicas. Assim sendo, tôda pessoa de determinada comunidade, apresentando febre, cefaléia, mal estar geral e astenia, deve ser investigada nesse particular. Para tanto, procede-se à colheita de sangue circulante durante o período febril e, como norma geral, leva-se a efeito outra sangria cêrca de 8 a 10 dias após. As duas coletas destinam-se a revelar a possível presença do vírus. A primeira, através do isolamento do vírus e a segunda por intermédio da pesquisa de anticorpos.

Em se tratando de região sujeita a migrações humanas, como é o caso de zonas em desbravamento, deve-se prestar atenção a certos aspectos importantes. Assim é que, em tais circunstâncias, os indivíduos mais sensíveis e que, por conseguinte, têm maiores probabilidades de indicar prontamente a presença dos arbovírus, são aquêles procedentes de outras regiões e recém-chegados à área em questão, para ali trabalhar ou fixar residência. É o que se tem observado em diversas investigações, como assinalaram Causey e cols. (1961) na região amazônica, em relação a trabalhadores itinerantes ou originários de zonas litorâneas ou mesmo de outros Estados. Tais indivíduos, são normalmente recrutados para exercer suas atividades nas florestas, derrubando-as, abrindo estradas ou na extração de produtos etc. Em tais condições os mencionados autores conseguiram verificar e registrar numerosos casos clínicos e mesmo surtos epidêmicos de magnitude apreciável.

Contudo, quando se trata de população estável e que constitui comunidade residente no local por considerável espaço de tempo, os casos manifestos da infecção, tornam-se mais dificilmente detectáveis. Em tais circunstâncias, a presença dos arbovírus será revelada, principalmente, através do exame sorológico.

Em nossas investigações na região de Casa Grande, deparamos com aspecto que se nos afigura semelhante ao acima descrito. Todavia, tivemos sempre a nossa atenção voltada para a ocorrência de casos febris. É bem verdade que essa pesquisa revestiu-se de dificuldades que não puderam ser superadas até o momento. E isso devido, principalmente, ao fato de não dispormos da ajuda de adequado serviço local de saúde, nem de educadoras sanitárias capazes de motivar a população nesse sentido. Procuramos obviar essa deficiência conseguindo a colaboração das professoras primárias locais e mediante a distribuição de antipiréticos e analgésicos comumente usados contra a gripe e resfriado. E isso, como tentativa para termos acesso mais

fácil aos casos febris e obtenção das indispensáveis sangrias. Apesar disso, não conseguimos superar a retração dos habitantes e, por êsse motivo ou devido à possível baixa incidência de tais casos, os resultados obtidos não foram animadores.

No que concerne aos animais domésticos, podemos dizer o mesmo que afirmamos para o homem. Não conseguimos surpreender nenhum caso com manifestações clínicas que nos fizesse suspeitar de infecção por arbovírus. Assim sendo, limitamo-nos a colher sangue de alguns espécimens com a finalidade de investigação sorológica.

### ISOLAMENTO

Uma vez obtidas as fontes presumíveis de arbovírus, a etapa seguinte consistiu na retirada de material para o isolamento desses agentes. Isso foi conseguido através de inoculações em laboratório, que permitiram evidenciar os efeitos mórbidos dos vírus. Estes, uma vez isolados, foram guardados e serviram, por sua vez, como estoques destinados à identificação final.

### COLETA DO MATERIAL.

Como tivemos ocasião de constatar, nos parágrafos anteriores, são várias as fontes que podem fornecer os vírus. Dessa maneira, serão igualmente distintos os materiais delas retirados e destinados à inoculação. Tais são o sangue e as vísceras de vertebrados necropsiados, lotes de artrópodes triturados, sangue humano e de animais domésticos.

Como regra geral, os arbovírus são sensíveis ao calor, mesmo à temperatura ambiente. Requer-se, pois, que sejam mantidos em meios refrigerados e constantes nesse particular. Além desse, constituem fatores importantes para a viabilidade desses agentes, o pH e a ação protetora de proteínas em determinadas concentrações. Por conseguinte, é importante que o material coletado seja manipulado e conservado em baixas temperaturas, como de 4°C, logo após a coleta. Esse o motivo pelo qual procedemos ao transporte, em geladeiras portáteis especiais, dos artrópodes e do sangue coletados no campo. O mesmo se diga em relação aos animais mortos ou vísceras recentemente colhidas nas mesmas condições. Quando porém, não havia possibilidade de inoculação imediata do material suspeito, êle era conservado pelo tempo necessário, lançando-se mão de temperaturas mais baixas. Para isso, utilizamos o concurso de "freezers" a 70°C. A êsse nível, cessam as atividades químicas e enzimáticas que poderiam prejudicar a viabilidade viral. Com relação ao pH, os arbovírus são sensíveis aos meios ácidos. Por tal motivo, as soluções utilizadas como veículos foram tampoadas no sentido de se conservarem pouco acima do pH 7. O efeito protetor de certas proteínas séricas, tem sido evidenciado mercê de algumas investi

gações (Dick e Taylor 1949, Chamberlain e Sikes 1954). Assim sendo, tal ação mostrou-se útil na preservação destes agentes e, em nossos trabalhos de rotina, foi empregada a sôro-albumina bovina em concentrações de 0,75% adequadamente tamponada com antibiótico (Penicilina 500 u). Estreptomicina 200 mug. e Tetraciclina 200 mug).

Levando-se em conta tais exigências técnicas, o material destinado à inoculação, foi colhido obedecendo à rotina relatada a seguir.

Em se tratando de vertebrados silvestres, os mamíferos foram transportados vivos ao laboratório, sem inconvenientes dignos de nota. Ali, uma vez anestesiados, eram submetidos à punção cardíaca para a coleta de sangue, e à necrópsia para a remoção das vísceras. Evitou-se colher o fígado e o baço, pois, encerrando aquele a bile e este os anticorpos, ambos poderiam influir desfavoravelmente nas futuras manifestações virais. O sangue era deixado para coagular durante cerca de trinta minutos, após os quais era guardado em geladeira, para permitir a retração do coágulo e a separação do sôro. Este, desde que não manifestasse sinais de contaminação bacteriana, era destinado às inoculações, sem ser submetido a ulteriores diluições. Quanto às vísceras, após serem pesadas, eram trituradas em gral e em seguida suspensas em sôro-albumina bovina. Graças aos dados fornecidos pela pesagem, essa suspensão foi calculada para obter concentração de 10% por volume. Em seguida, procedemos à centrifugação, levada a efeito em centrífuga de cabeçote inclinado, a 2000 rpm, durante dez a quinze minutos. O líquido sobrenadante, constituiu o material de inoculação.

Quanto às aves silvestres, inicialmente foram feitas tentativas para procedimento análogo àquêle adotado com os mamíferos. Verificamos, porém, que elas na sua grande maioria, não resistiam satisfatoriamente à viagem, chegando mortas ao laboratório. Foram experimentados vários artifícios como, o uso de gaiolas cobertas com panos escuros, caixas e sacos de material de cor negra, sem que os resultados apresentassem melhoras sensíveis. Em vista disso, e até que pudéssemos encontrar solução adequada para esse transporte, resolvemos sacrificar as aves no próprio local da captura. Assim sendo, procedeu-se apenas à sangria, através da punção cardíaca. Em seguida, o sangue colhido e o corpo do animal, eram colocados em geladeira portátil para o transporte. Deixamos, por conseguinte, de obter as vísceras, pois estas não resistiriam à viagem e chegariam ao laboratório inutilizadas. Neste particular, Causey e cols. (1961), aconselham o emprêgo da glicerina a 50% tamponada, na qual seriam guardados os órgãos durante o transporte. Todavia, como esses mesmos autores assinalam, tal conservação é por tempo limitado, pois o contato prolongado com esse reagente, tende a inativar os vírus. Ora, no caso de distância longa a percorrer, como era a nossa, o tempo teria sido por demais prolongado. Acreditamos que, em circunstâncias como estas, o melhor seria procedermos a o

preparo do material e inoculação "in loco". É o que pretendemos tentar com o progredir destas investigações.

Os camundongos sentinelas, como já foi dito, após serem expostos durante 48 horas ininterruptas, foram recolhidos e trazidos de volta ao laboratório. Ali eram mantidos em observação durante 14 dias seguidos, sendo examinados uma ou duas vezes por dia. Essa "leitura", consistiu na verificação de possíveis manifestações clínicas que se revelam através de perturbações motoras dos animais. Uma vez apresentada sintomatologia suspeita, procedemos à colheita do material para inoculação. Se o indivíduo da ninhada a ser atingido era a mãe, executava-se a necrópsia de maneira análoga à supradescrita para os mamíferos silvestres. No caso dos infantes, colhia-se o cérebro, que era submetido a tratamento idêntico.

Quanto aos artrópodes, ou seja, no caso de nosso trabalho em particular, aos culicídeos, o material destinado à inoculação foi preparado da seguinte maneira. Os mosquitos, uma vez levados ao laboratório pelo processo citado, eram conservados em geladeira até o momento de serem identificados. Com esse procedimento, os dípteros conservavam a vitalidade, sendo examinados sob o microscópio entomológico e com a constante preocupação de manter a temperatura baixa de 4°C. Uma vez separados por espécies ou, em alguns poucos casos em que isso não foi possível, por gêneros, os espécimens fêmeas eram dispostos em conjuntos ou lotes uniespecíficos (denominados "pools" pelos autores de língua inglesa). A quantidade de espécimens incluídos em cada um, não obedeceu a critério fixo e, em alguns casos, procedeu-se à formação de lotes mistos. Tais lotes eram constituídos por números variáveis, de 30 a 100 exemplares. Frequentemente, quando o número era muito pequeno para formar um conjunto, os mosquitos eram guardados a -70°C, até que outros indivíduos da mesma espécie e resultantes de novas capturas, viessem juntar-se a eles e assim chegar à quantidade satisfatória.

Uma vez constituído o lote, procedemos ao preparo do material de inoculação. Para isso os mosquitos foram triturados em um gral, adicionando-se 2,0 ml de sêro-albumina bovina. Como precaução, adotamos o procedimento de acrescentar antibióticos, na dose de 1200 unidades de penicilina e 10 mug. de estreptomicina por centímetro cúbico. Isso porque, procuramos evitar ao máximo a contaminação bacteriana do inóculo. Em seguida, passamos à centrifugação, o que foi feito a 10000 rpm, durante dez minutos. O líquido sobrenadante, constituiu o inóculo utilizado.

Para os possíveis casos humanos, tivemos ocasião de mencionar em parágrafo anterior, o emprêgo do sêro retirado de alguns poucos casos febris.

## INOCULAÇÃO.

É sabido que a infecção humana pelos arbovírus pode alcançar ampla gama de aspectos, desde os casos inaparentes ou apenas febris, até aqueles com manifestações hemorrágicas e encefalíticas sérias. Contudo, esses diversos agentes, quando propriamente manuseados em laboratório, podem ser considerados como universalmente neurotrópicos. E isso porque mostram elevada capacidade de infectar camundongos recém-nascidos ou lactentes, ocasionando-lhes efeitos patogênicos evidentes, quando inoculados por via intracerebral. A acentuada suscetibilidade desses animais e sua utilização prática é conhecida desde os estudos sobre o vírus da febre amarela, há algumas décadas (Theiler 1930, Bugher 1941). Sendo material de fácil obtenção e manejo, atualmente constitui o meio de escolha para o isolamento de arbovírus.

Outros sistemas têm sido preconizados e adotados em alguns laboratórios. Nesse sentido, podem ser citados os ovos embrionados, os pintos de um dia, camundongos desmamados, cobaias, macacos e culturas de tecidos. Estas últimas têm sido aconselhadas, principalmente devido ao seu aspecto prático e à menor exigência de espaço. Todavia, o espectro da sensibilidade varia de acordo com a natureza do tecido. Dessa maneira, o seu emprego tem-se mostrado útil quando determinada cultura se destina à obtenção específica de certo agente ou grupo de vírus, ao qual ela é sensível. É o caso dos tecidos de rim de hamster e de embrião de galinha e de pato, empregados para o isolamento de EO, EL e outros (Porterfield, Williams e Woodall 1960, Lennette e cols. 1961, Henderson e cols. 1962). Quando porém, o que se deseja é o isolamento de arbovírus em geral, conhecidos ou desconhecidos, a elevada sensibilidade dos camundongos lactentes suplanta de muito a cultura de tecidos. Nesse particular, Shelokov (1963), no Panamá, revela interessante observação. Esse autor relata as tentativas de isolamento de vírus de artrópodes nessa região, utilizando, simultaneamente, aqueles animais e cultura de rim de hamster. Dos 14 agentes isolados em determinado período de tempo, todos foram em lactentes e somente três no último sistema. Isso significa que não houve vírus isolado na cultura de tecido que não o tivesse também sido naqueles camundongos.

Dessa forma, em nossas tentativas de isolamento, o sistema escolhido foi o da inoculação intracerebral em camundongos albinos lactentes, com dois a quatro dias de idade. Procedemos à introdução dos inóculos já descritos em parágrafos anteriores, através da via intracerebral, na dose de 0,02 ml para cada animal. A injeção era executada perfurando diretamente a parede óssea, um tanto lateralmente à linha média. Em seguida, os recém-nascidos assim inoculados, retornavam à mãe e permaneciam em observação.

## VERIFICAÇÃO DA INFECÇÃO.

Os animais submetidos à inoculação discriminada acima, eram examinados diariamente, por quatorze dias, ou até que sobreviesse a morte ou sintomas de possível infecção. Estes, com essa leitura, eram detectados mediante qualquer sinal de anormalidade, como debilidade, letargia, tremores, ataxia, convulsões, paralisia e aspecto moribundo. Quando tais fenômenos ocorriam no primeiro dia, suspeitávamos da presença de infecção bacteriana, de maneira que o material colhido em tais casos, era invariavelmente submetido a exame, para a verificação dessa hipótese.

Assim sendo, dos indivíduos encontrados com manifestações anormais ou mortos, retirávamos o cérebro, procedíamos a sua suspensão a 10% em soro-albumina bovina e subsequente centrifugação. O inóculo assim preparado era injetado pela mesma via e com a mesma técnica já descrita, em nova ninhada de recém-nascidos. Como medida de precaução, o material a ser inoculado nesta e nas passagens seguintes, era submetido à filtração através de filtros Millipore, membrana HA, com poros de 450 micra. Destarte, os efeitos porventura obtidos deveriam ser atribuídos a agentes filtráveis, afastando-se possível etiologia bacteriana.

Se, na segunda passagem, era notada a ocorrência de sinais da doença, procedíamos à nova inoculação, obedecendo ao mesmo procedimento. Assim sendo, se o inóculo filtrado produzia, de maneira constante, sintomatologia anormal ou morte, estabelecia-se a suposição de presença de um vírus em atividade. Podíamos, por conseguinte, passar à etapa seguinte, que consistia na determinação da sua responsabilidade etiológica na infecção detectada. Em caso de necessidade, os camundongos infantis da última passagem e com sinais de moléstia, eram guardados a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento de colher os cérebros para os estudos seguintes.

## CARACTERIZAÇÃO

Uma vez que se tinha como isolado um determinado agente, tornava-se necessário confirmar a sua presença e caracterizá-lo como sendo um arbovírus. Para isso, a continuação do poder patogênico após adequada filtração, como já mencionamos, satisfazia a exigência indispensável da filtrabilidade. Em seguida, observamos seu comportamento frente a determinadas substâncias químicas, bem como procuramos determinar a sua adaptação a sistema que permitisse manuseá-lo no laboratório. Neste último caso, procedia-se à determinação do que se conhece como titulação do vírus.

Após verificar o caráter da filtrabilidade, determinávamos o título e a sensibilidade do agente isolado frente ao desoxicolato de sódio (DCS). Além disso, eram feitos ensaios para verificar a sua patogenicidade em relação a

camundongos adultos, à capacidade de produção de hemaglutininas (HA) e de antígenos para a fixação do complemento (FC). Finalmente, lançávamos mão de meios para conservá-lo viável, preparando estoque suficiente destinado a fornecê-lo nos trabalhos seguintes de identificação e pesquisa.

#### TITULAGEM DO VÍRUS.

Após o isolamento, para se trabalhar com determinado vírus, torna-se necessário adaptá-lo a sistema que possa acusar a sua presença. Quanto mais sensível êsse meio, maior a sua utilidade. Por conseguinte, procura-se determinar qual a mais elevada diluição, ou seja, o mais alto título com que o agente viral pode se apresentar com a possibilidade de ser detectado pelo processo escolhido. Quando, como no nosso caso, o isolamento é feito em camundongos, a titulação costuma também ser levada a cabo nesse sistema. E, em assim sendo, a técnica consistirá em determinar a dose letal 50% (DL 50), para camundongos lactentes e desmamados.

Contudo, existem vários meios utilizados para testar essa adaptação. Pode-se proceder a passagens seriadas em camundongos, emprêgo alternado de aves (embriões de galinha ou pintos de um dia) e camundongos, uso de cultura de tecidos, para verificar a dose infectante 50% (DICT 50). No nosso laboratório adotamos a técnica de passagens seriadas de cérebro de camundongos, em suspensão a 10%. Por conseguinte, medíamos a virulência observando a capacidade de infectar e provocar efeitos patogênicos dêsse inóculo em camundongos infantis e adultos. Determinava-se assim o tempo médio de sobrevivência (TMS). Êste corresponde à média decorrida entre a inoculação e o êxito letal, de acôrdo com a via utilizada. No caso das culturas de tecidos, observa-se a produção de efeito citopático específico.

O cálculo da DL 50 e da DICT 50, foi feito empregando diluições da suspensão original do vírus em apropriado diluente proteico tamponado. Partindo de valor equivalente a 1/10, preparava-se escala constituída de dez múltiplos. As várias diluições eram inoculadas em lotes de seis camundongos, por via intracerebral, ou em grupos de dois tubos, com culturas de tecido. Em ensaios sucessivos procedia-se à subdivisão da escala, nos níveis necessários para chegar ao resultado desejado. De posse dêsste, a DL 50 ou DICT 50, eram calculadas seguindo-se o método de Reed e Muench (1938). Se o título obtido era baixo ( $< 10^{-8}$ ), tentava-se, embora nem sempre com sucesso, maior adaptação através de novas e sucessivas passagens.

#### SENSIBILIDADE AO DESOXICOLATO DE SÓDIO (DCS).

Os arbovírus são passíveis de serem inativados pela presença de substâncias químicas, como o éter etílico e o desoxicolato de sódio. Em vista disso, tais ações têm sido utilizadas como meio de caracterização dêsste

grupo viral (Theiler 1957, Sunaga, Taylor e Henderson 1960). Deve-se porém levar em conta que outros vírus, como o do herpes, podem manifestar a mesma propriedade. Destarte, terá mais valor a prova que indicar resistência a tais compostos, descartando assim a possibilidade da presença de arbovírus.

Em nossos trabalhos, procedeu-se invariavelmente à medida da sensibilidade ao DCS, segundo a técnica de Theiler (1957). Misturando, em partes iguais, a solução de DCS e a suspensão viral, procedia-se às diluições para inoculação, da mesma maneira referida acima. Antes desta, porém, as misturas eram incubadas durante uma hora, a 37°C. Uma vez terminada a observação, o cálculo da DL 50 foi levado a cabo de acordo com a mesma fórmula de Reed e Muench (1938).

Dessa maneira, a diminuição do título viral, indicará ação inativante do DCS. Deve-se ressaltar que, no caso de agentes resistentes, tais títulos costumam subir com a presença dessa substância química. Isso sugere certa atividade protetora por parte do desoxicolato e, dessa forma, pode-se excluir facilmente a existência de arbovírus.

#### INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS.

Uma vez de posse dos dados fornecidos pela titulação e sensibilidade ao DCS, torna-se necessário observar o comportamento do vírus isolado, em relação a vários animais de laboratório. Compreende-se a utilidade disso, uma vez que eles representam os verdadeiros meios de cultura para a manutenção destes agentes. Assim sendo, além dos camundongos infantis usados para o isolamento e que constituem o sistema básico para a titulação, costuma-se verificar a ação sobre outros animais. Tais são, os camundongos adultos, os hamsters lactentes e adultos, cobaias, coelhos e macacos. Em todas essas tentativas de infecção, procura-se anotar os dados referentes ao período de incubação e à ocorrência de manifestações clínicas ou morte. Ao lado disso, e quando estas últimas não se apresentam, procura-se verificar a produção de anticorpos. Dessa maneira, pode-se obter quadro do comportamento do vírus em várias espécies. Ele servirá para a sua caracterização, indicando a virulência, a sua natureza e a possível semelhança com agentes já conhecidos. Tais dados poderão ser guias valiosos para as subseqüentes provas imunológicas.

Em nossas observações, procedia-se, rotineiramente, à inoculação de camundongos adultos pelas vias intracerebral e intraperitoneal. Os dados colhidos, relativos à presença de manifestações clínicas ou êxito letal, de acordo com a via, deu-nos o mencionado tempo médio de sobrevivência. Além disso, permitia-nos verificar a produção de anticorpos.

## CRESCIMENTO EM CULTURAS DE TECIDOS.

As tentativas de manutenção de arbovírus em culturas de tecidos, da tam de algumas décadas, quando foram obtidos resultados positivos com o agente da febre amarela em tecido de embrião de galinha (Haagen e Theiler 1932, Theiler e Smith 1937). Contudo, sòmente após decorrido certo tempo é que foram assinaladas ações degenerativas sòbre tais células, que se designam pelo nome genérico de efeito citopatogênico ou citopático (ECP). Sem pretender fazer aqui a revisão completa da literatura sòbre o assunto, podemos dizer que os primeiros resultados obtidos nesse sentido, referem-se a alguns agentes encefalíticos em células de embrião de galinha e de algumas outras linhagens (Huang 1942, Bang e Gey 1952, Scherer e Syverton 1954, Kissling 1957, Bhatt e Work 1957). Mais recentemente, ao emprêgo de vários tipos de cultivos celulares, acrescentou-se o de antibióticos para evitar as contaminações secundárias, e o de enzimas proteolíticas, como a tripsina, para permitir a suspensão celular e a uniformização da cultura. Com tais novas técnicas e o contròle adequado do pH, foi possível observar a produção de ECP por parte de numerosos arbovírus (Buckley 1962, 1964).

Dessa forma, embora as culturas de tecidos não sejam eficientes no que concerne ao isolamento dos vírus arbo, é possível conseguir-se a adaptação ulterior de vários dêsse agentes às mesmas. Em tais casos, pode-se observar a ação degenerativa sòbre as células (ECP), o que será de grande emprêgo nas provas subseqüentes de neutralização.

Em nossas tentativas para adaptar êstes agentes a culturas de tecidos, empregamos duas linhagens celulares de passagem contínua. Uma delas foi a conhecida como HeLa, originária de carcinoma humano (Gey, Coffman e Kubicek, 1952). A outra corresponde à cêpa designada pela sigla BHK-21 e constituída por fibroblastos procedentes de rim de hamsters de um dia (Stoker e Macpherson, 1964). A técnica empregada foi a mesma já descrita detalhadamente em várias publicações (Schmidt, 1964). Consiste ela, essencialmente, em produzir a dispersão das células no meio de cultura, mediante a ação de enzimas adequadas. Dessa maneira, provoca-se a formação de fina película aderente à parede do tubo de vidro, a qual pode ser fàcilmente examinada ao microscópio.

O efeito citopatogênico pode ser evidenciado, mais prontamente, pela chamada técnica das placas (Dulbecco, 1952). Consiste em provocar a formação de uma camada de cultura de tecido, coberta por outra de ágar. Destarte, as ações degenerativas ou necróticas do vírus sòbre as células, traduzem-se por placas visíveis a olho nu. Em nossos trabalhos não lançamos mão dêsse processo, pois êle requer recursos técnicos e materiais, que ainda não dispúnhamos.

## ESTOQUE.

Uma vez confirmado o isolamento de um agente filtrável, e observadas as características enumeradas acima, torna-se necessário conservá-lo no laboratório. Ainda mais, deve-se dispor de quantidade suficiente do mesmo para utilização nas provas seguintes, de identificação e pesquisa.

Com êsse objetivo, procedíamos à inoculação intracerebral de várias ninhadas de camundongos recém-nascidos. Uma vez manifestada a infecção, colhia-se os cérebros, os quais, após serem devidamente suspensos a 10% em sôro-albumina bovina, eram transferidos para ampolas. Cada uma destas recebia 0,5 ou 1,0 ml. Em seguida, guardava-se, assim condicionado, sob temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  ou então, procedia-se à liofilização. Uma vez levada a efeito esta, podia-se guardar o material a  $-20$ , sem perda de título.

Dêsse estoque pois, retirava-se o necessário para o preparo de antígenos ou de inóculos para estudos experimentais e de neutralização.

## CONSIDERAÇÕES.

A obtenção das características do agente isolado, submetendo-o às provas supradescritas, fornecerá dados valiosos para o seu estudo ulterior. Todavia, não é fácil provar insofismavelmente que êle pertença à família dos arbovírus. E isso porque a resposta a essa questão reside em várias circunstâncias, antes do que em fato simples e único.

Com efeito, o processo de isolamento pode levar à obtenção de agentes que nada tenham a ver com o grupo arbo. Levando-se em conta que os camundongos constituem os animais de escolha, diversos vírus próprios dos mesmos podem ser isolados, tais como os da coriomeningite linfocitária, e os da hepato-encefalite e da encefalo-miocardite. Por outro lado, o material retirado de aves, pode fornecer agentes da psitacose e da doença de Newcastle. Mesmo artrópodes podem se ter recentemente contaminado com outros vírus, e estar carreando-os mecânicamente, por ocasião da captura.

Pela própria definição, arbovírus são aquêles agentes virais passíveis de infectar artrópodes na natureza, multiplicando-se no seu interior, e, subsequentemente, podendo ser inoculados através da picada dêsses animais. Em outras palavras, apresentam êles o denominado período de incubação extrínseca. Por conseguinte, a prova crucial reside na infecção experimental dêsses invertebrados e a subsequente transmissão a animais vertebrados. Ora, compreende-se facilmente que isso não seja simples de executar, pelo menos de maneira usual. Em vista disso, lança-se mão de série de provas, as quais em conjunto, permitem razoavelmente, decidir da inclusão ou não do agente isolado, no grupo arbo.

Tem-se preconizado a passagem seriada em artrópodes. E isso por várias vias, como a infecção de larvas de mosquitos mantidas em suspensões do vírus, ou então a inoculação direta por via trans-torácica, com o auxílio de pipetas e agulhas. Contudo, outros vírus, de outros grupos, podem ser propagados e mantidos desta maneira (Whitman, 1961). E, além disso, êsse processo requer obviamente, técnica altamente especializada. Isso o coloca fora do alcance da maioria dos laboratórios destinados à investigação epidemiológica.

As circunstâncias que cercaram a coleta da fonte, a partir da qual foi isolado o vírus, podem fornecer indicações de valor. Assim sendo, a obtenção do agente a partir de lotes de mosquitos silvestres e de animais sentinelas, falam muito a favor da hipótese arbo. A isso deve-se acrescentar a possibilidade de surtos epidêmicos ou epizooticos, com casos humanos ou animais manifestando sintomas indicativos dessa etiologia viral.

Como já foi mencionado, a sensibilidade a certos compostos como o éter e o desoxicolato de sódio, permite não somente suspeitar da natureza do vírus, como também excluí-la, quando ela não se apresenta de maneira evidente.

Deve-se levar em conta também, a patogenicidade dos arbovírus aos camundongos recém-nascidos e a freqüente inocuidade em relação aos adultos. Vários vírus, próprios desses animais, comportam-se de maneira exatamente inversa. Além disso, a ação sobre culturas de tecidos de várias linhagens, poderá fornecer dados úteis.

Finalmente, deve-se atentar para as evidências de ordem sorológica, as quais podem estabelecer afinidades do agente recém-isolado com outro vírus reconhecido como arbo. Certamente, nos processos posteriores de identificação, tais provas serão mais conclusivas.

Em resumo, não existe uma prova simples e única para determinar a natureza arboviral de um agente isolado. Por isso, em nossas investigações, adotamos vários critérios. Foram êles os seguintes, de acordo com o explanado nas linhas precedentes:

- 1) fonte de onde o agente foi isolado
- 2) sensibilidade ao DCS
- 3) patogenicidade para camundongos recém-nascidos
- 4) provas sorológicas.

## IDENTIFICAÇÃO

Tendo-se decidido considerar o vírus isolado como sendo um arbo, deve-se passar à determinação do mesmo. A primeira etapa consistirá no estabelecimento do grupo antigênico ao qual possivelmente pertence. Em seguida, procede-se à comparação com outros arbovírus e, finalmente, à identificação definitiva.

Foram feitas algumas tentativas para utilizar, neste processo, a sintomatologia observada após inoculações experimentais (Causey e Causey, 1958). Não há dúvida que, alguns aspectos como o tempo médio de sobrevivência, podem fornecer dados sugestivos. Todavia, os métodos de identificação mundialmente adotados baseiam-se, fundamentalmente, nos resultados obtidos mediante a execução de provas sorológicas (Casals 1961, Shope 1962). E isso porque elas são dotadas de estabilidade e sensibilidade suficientes para permitir a separação, mesmo de número considerável de componentes, como é o caso daqueles que constituem o grupo dos arbovírus. Assim sendo, em nosso trabalho e a exemplo do que ocorre em todos os laboratórios que se dedicam a estas pesquisas, a identificação baseou-se na possibilidade de detectar a reação antígeno-anticorpo, mediante o emprego de uma ou várias das seguintes provas:

- 1) fixação do complemento (FC)
- 2) inibição da hemaglutinação (IH)
- 3) neutralização (NT).

O uso dessas reações varia de acordo com a fase do processo de identificação. Não se pode estabelecer regras fixas a respeito, pois tais testes variam em sua especificidade. Em linhas gerais, com os vírus dos grupos A e B, a IH fornece maior gama de cruzamentos do que a FC, ao passo que o contrário se observa em relação a vários componentes dos grupos C, Guamá e Bunyamwera. E também, as afinidades dentro do mesmo agrupamento podem ser diferentes quando reveladas por uma das reações em relação às outras. É o que se verifica entre os representantes do grupo C, cujas afinidades variam, se observadas à luz da IH ou da NT (Shope e Causey, 1962). Deve-se levar em conta também que as diversas amostras ou cepas de um mesmo arbovírus, podem não ser sorologicamente homogêneas. Assim é, entre outros, o caso da EL que mostra constituição antigênica variável de acordo com a procedência, se norte, ou sul-americana (Clarke 1963, Casals 1964). Tais aspectos tornam bastante complexa a interpretação dos dados obtidos e o subsequente diagnóstico. Por conseguinte, a escolha da ou das reações a serem utilizadas, dependerá dos resultados que forem sendo obtidos.

Em vista disso, o primeiro passo no caminho da identificação, será o preparo do antígeno. Ele servirá para as provas de FC e, na dependência de verificar a formação de hemaglutininas, também para a IH. A reação de fixação do complemento, para os trabalhos iniciais, tem sido considerada como a mais econômica e de mais fácil execução (Shope, 1962). Em nossos trabalhos, foi levada a efeito de acordo com a microtécnica de Fulton e Dumbell (1949) modificada.

Uma vez de posse do antígeno, será ele testado contra sôros de positividade conhecida. Inicialmente, procura-se empregar aqueles que reagem para os vários grupos. Em seguida, passa-se aos específicos para cada vírus. Neste caso, será de bom alvitre começar com os representantes cuja existência, na região investigada, já é conhecida. Via de regra, a prova de neutralização, quando necessária, fornece os dados de maior especificidade. Finalmente, confirma-se o resultado mediante a obtenção de sôro imune para o agente isolado, e a observação de sua atividade frente a antígenos padronizados.

Em nossas investigações, procedeu-se ao preparo do antígeno, à verificação e dosagem de hemaglutininas e subsequente inibição da hemaglutinação. A seguir, eram feitas as provas com sôros grupados e com aqueles específicos para os vírus já conhecidos da região e vizinhanças. Passava-se depois, aos soros específicos de diferentes vírus. Concluía-se com as provas do sôro homólogo.

Como se vê, a necessidade de número considerável de antígenos e soros para correta identificação, pressupõe a existência de recursos nem sempre disponíveis em todos os laboratórios. Em vista disso, a determinação definitiva de novo agente, implica no envio do mesmo a centro especializado onde existam vírus e soros de outros Continentes. Dessa forma, pode-se assegurar a realização de tôdas as necessárias reações comparativas. No nosso caso em particular, as confirmações foram obtidas recorrendo-se ao Laboratório de Vírus do Instituto Evandro Chagas, em Belém, Brasil e aos Laboratórios de Vírus da Fundação Rockefeller, na Universidade de Yale, em New Haven (Centro Internacional de Referência para Arbovírus), e do Centro de Moléstias Transmissíveis (C:D.C.) em Atlanta, Estados Unidos da América do Norte.

## ANTÍGENO.

A extração e preparo obedecem às técnicas descritas por Clarke e Casals (1958). Obtêm-se a partir de órgãos ou sôro de camundongo infectado, utilizando-se aquele no qual o vírus alcança maior concentração. Para tanto, são comumente empregados o cérebro, o fígado e o sôro. Em nossos trabalhos obtivemos resultados constantes com o primeiro deles, pois, como nor

ma geral, êle se apresenta altamente reativo (Shope, 1962). Dessa forma, após a inoculação intracerebral de número suficiente de lactentes, procedia-se à retirada desse órgão assim que apareciam os primeiros sinais da infecção ou morte. Em seguida, o preparo do antígeno fazia-se através de extração pela técnica da sacarose-acetona. O extrato assim obtido, via de regra, era empregado tanto nas reações de fixação do complemento como de hemaglutinação. Alguns autores preconizam o emprêgo do antígeno cru, ou seja, sem ser submetido à extração descrita acima. E isso principalmente para a realização das provas iniciais de triagem através da fixação do complemento (Shope, 1962). Nesse caso, a preparação se faz rapidamente, suspendendo-o a 10% em soluções de salina-veronal ou salina boratada.

## SOROS.

Como se pode ver, a disponibilidade de soros imunes dotados de títulos satisfatórios, constitui elemento imprescindível no processo de identificação. Destarte, ao se isolar um novo agente, a preocupação inicial dirige-se à obtenção desse sistema em relação ao mesmo. O laboratório deve, portanto, preparar os soros dos vírus que está estudando, bem como daqueles que com êles se relacionam.

Soros Homólogos. - São aqueles referentes ao vírus isolado. O animal mais comumente usado para isso é o camundongo adulto com mais de seis semanas de idade. Os lotes desses animais são imunizados mediante inoculações intraperitoniais de suspensão de cérebro de lactentes infectados. No caso de vírus que se revelam letais por essa via, os inóculos iniciais devem ser previamente inativados pelo formol. A êles seguem-se os demais, dessa vez com o vírus viável. Nas pesquisas que efetuamos, procedemos à injeção de 0,1 ml de suspensão de cérebro infectante a 10% em cada inoculação. A sangria era levada a efeito cerca de uma semana após a última inoculação. Recentemente, para agentes recém-isolados, empregamos a técnica de obtenção de fluidos ascíticos imunes mediante o uso de células neoplásicas do Sarcoma 180/TG. Com isso, está sendo possível a obtenção de títulos elevados e específicos em quantidade apreciavelmente maior (Sartorelli, Fischer e Downs 1966, Tikasingh, Spence e Downs 1966).

Os soros específicos, ou sejam, os que podem indicar o agente, são os denominados soros imunes. São êles obtidos mediante uma ou duas injeções. Em nossa rotina adotamos a execução de duas inoculações intervaladas de quatro a cinco dias, se usado o vírus inativado, e de quatorze, se empregado o agente vivo.

Como é sabido, as respostas imunitárias ampliam-se à medida que aumenta o número de inoculações do antígeno. Assim, se com uma ou duas injeções obtém-se respostas mais específicas, ao se repetir mais vezes ês

se processo, perde-se em especificidade e aumenta-se a resposta a agentes relacionados. Essa regra é geral para os arbovírus, com algumas exceções, como a constituída por aqueles que formam o grupo Tacaribe. De qualquer forma, é de grande utilidade a obtenção de sôro com tais propriedades, o que tornará possível diagnosticar as afinidades ao agente isolado. É o chamado sôro hiperimune e que, de rotina, foi preparado em nosso laboratório empregando a mesma técnica mencionada linhas atrás, mas com quatro injeções de vírus.

Quase todos os soros contêm inibidores inespecíficos para as hema glutininas arbovirais. Desde que se deseje utilizá-los para as pesquisas de anticorpos IH, deve-se remover aqueles, pois poderiam contribuir para falsear os resultados. Por outro lado, podem também existir naturalmente no sôro, substâncias outras que aglutinem hemácias de ganso, as quais são atualmente empregadas em tais provas. Todos êsses elementos parecem ser compostos lipoídicos e a sua remoção se faz tratando o sôro pelo caulim ou pela acetona. No primeiro caso, provoca-se a adsorção dessas substâncias e, no segundo, extração. Em nossos trabalhos de rotina levamos a efeito, via de regra, a adsorção através do caulim, exceto para os soros de aves para os quais empregávamos a extração pela acetona. A técnica seguida foi aquela descrita por Clarke e Casals (1958).

Soros Polivalentes ou de Grupo. - Deve-se levar em conta que a reação de grupo observada com o emprêgo do sôro hiperimune, pode ser tam**ê**m obtida com o resultante de inoculações de vírus diferentes desde, porém, que pertençam ao mesmo grupo antigênico (Casals, 1957). Dessa forma, resultam os chamados soros polivalentes ou de grupo. Eles são capazes de fornecer amplas reações cruzadas dentro da classe de vírus à qual pertencem, deixando porém de fazê-lo com membros de outras, diferentes. Compreende-se pois, que o objetivo prático seja o de preparar número limitado de soros dêsse tipo, que permitam a realização das reações de FC. Dessa maneira, pode-se conseguir rapidamente, o agrupamento do agente que se pretende identificar.

Em vista disso, procuramos preparar tais soros polivalentes, seguindo o método de imunizar o mesmo animal, com vários vírus pertencentes ao mesmo agrupamento (Casals, 1961). Várias são as espécies que podem ser utilizadas, tais como, camundongos adultos, cobaias, coelhos e macacos. Existe certa preferência por aquelas passíveis de fornecer maiores quantidades de sangue. Nesse particular, alguns autores empregaram símios das espécies Macaca cynomolgus (= irus) e M. mulatta, com bons resultados (Scherer e Miura, 1956). Em nossos trabalhos escolhemos os camundongos adultos com cêrca de dez semanas de idade. As vacinas ou inóculos eram preparados com vários agentes, e a injeção por via intraperitonal, era feita obedecendo ao seguinte esquema: três doses iniciais, intervaladas de três

dias cada uma. A essas seguiam-se outras três feitas, respectivamente, no 10º, 25º e 48º dias após. Passados sete dias da última, procedíamos à san  
gria.

#### VERIFICAÇÃO E TITULAGEM DA HEMAGLUTINAÇÃO (HA).

A ação hemaglutinante é considerada como sendo característica geral dos arbovírus. Todavia, em vários dêles essa propriedade ainda não foi de  
monstrada. Ou porque ela esteja realmente ausente ou, como provávelmente deva ser, porque as técnicas para detectá-la não estão ainda suficientemen  
te aperfeiçoadas. Seja como fôr, a identificação de um agente recém-isola  
do pressupõe a verificação da sua capacidade de aglutinar hemácias. Em ca  
so positivo, deve-se pois, proceder à titulação em relação a êsse fenômeno.

A reação de hemaglutinação (HA) por parte dos arbovírus, encontra-se na dependência de variações do pH. Além dêsse fator, devemos levar  
em conta o tipo de hemácias utilizadas. No que concerne ao primeiro, para a maioria dos vírus, o ótimo encontra-se entre os valores 6,0 e 7,0; às vê  
zes êste elemento permite suspeitar do grupo antigênico ao qual pertence o vírus que se pretende identificar. Assim é que, para os do grupo A, o pH ótimo estaria entre 6,0 e 6,3, ao passo que, para aquêles da classe B, êsse valor situar-se-ia entre 6,3 e 6,8. Com respeito às hemácias, atualmente as mais empregadas são as de ganso, de acôrdo com verificações compara  
tivas que indicaram a superioridade dessa espécie nesse particular (Porterfield 1957, Banerjee 1965).

Em nossos trabalhos, procedemos à detecção da HA e subsequente dosagem frente a escala de pH, seguindo o processo geral descrito por  
Clarke e Casals (1958).

#### TRIAGEM.

Uma vez chegados a esta etapa, os conhecimentos sôbre o agente iso  
lado são suficientes para iniciar a triagem, ou seja, a pesquisa comparati  
va de suas afinidades sorológicas, de acôrdo com o conceito de grupos anti  
gênicos (Casals, 1957).

Como citamos linhas atrás, o primeiro passo consiste em verificar  
os resultados frente a soros de grupos. Em nossas pesquisas, seguindo a orientação de Shope (1962), levamos a efeito a prova de FC, mediante o pre  
paro dos seguintes soros polivalentes:

- 1) para o grupo A. - EV, EL, EO, Una, Aura, Mayaro;

- 2) para o grupo B. - FA, Ilhéus, SL, Bussuquara, Powassan;
- 3) para o grupo C. - Oriboca, Caraparu, Marituba, Nepuyo;
- 4) para o grupo Bunyamwera. - Dividido nos seguintes:
  - a) Buny I . - Wyeomyia, Kairi, Guaroa
  - b) Buny II . - Tucunduva, Batai, Taiassuí
  - c) Buny III . - Sororoca, Vale Cache;
- 5) para o complexo Califórnia. - Califórnia, Melao, Trivittatus, Tahyna.

Deixamos de seguir a mesma orientação para o grupo Guamá, porque todos os seus componentes se cruzam intensamente pela FC. Por essa razão, basta a utilização de qualquer um deles para a finalidade desta triagem inicial.

Ao mesmo tempo, ainda na etapa inicial de nosso processo de comparação, procedíamos à triagem para vírus cuja existência já tinha sido assinalada nesta região ou áreas relativamente próximas. Foram eles os agentes, Cotia, Embu, Bertioiga, Boracéia e Tacaiuma.

A obtenção de uma reação positiva nesta fase, indicou a existência de relação antigênica para um desses grupos, podendo-se pois passar à determinação definitiva. Porém, somente os demais componentes desse agrupamento, deveriam ser incluídos nesta etapa final que, como já dissemos, consiste na realização de reações comparadas. Contudo, se não conseguirmos qualquer filiação a grupo, outros testes devem ser levados a efeito, desta vez com os vírus não grupados e aqueles pertencentes a grupos não considerados na triagem inicial. Em tais procedimentos, lançamos mão das reações de FC e de IH, além de, quando necessária, a NT. A Tabela 3.1 mostra os soros que empregamos, tanto para as tentativas de agrupamento, como para a tipagem específica.

O estabelecimento de um novo vírus, depende da demonstração de sua independência sorológica, em relação aos outros agentes. As provas supracitadas, podem levar a uma das seguintes conclusões:

1) O agente isolado não se relaciona a nenhum outro conhecido. Este caso é simples e a conclusão é de que se trata de novo arbo.

2) Pode ocorrer o oposto do acima mencionado, isto é, o resultado das provas e os títulos observados tornam indistinguível o agente isolado de

um outro já conhecido. A solução é, evidentemente, também simples.

3) O vírus isolado relaciona-se a algum outro ou grupo de outros, mas distingue-se dêles pelos títulos observados nos testes. A interpretação dependerá da amplitude com que essas diferenças se apresentam. Se elas são ponderáveis, não haverá maiores dificuldades em caracterizar um novo vírus, que, juntamente com os afins, passará a fazer parte do grupo ou constituirá novo agrupamento.

Contudo, as dúvidas surgem quando as mencionadas diferenças não são relevantes. Quando isso ocorre, o critério na interpretação desses resultados, dependerá do investigador. A ocorrência de agentes intimamente relacionados e com escassas diferenças entre si, tem sido observada com certa freqüência, provocando problemas cuja solução muitas vezes ainda não foi alcançada. Em tais circunstâncias, tem-se preconizado métodos especiais, como a denominada análise antigênica (Clarke 1960, 1964). Consiste ela, na remoção dos anticorpos IH de maior amplitude, através da absorção com outro vírus do mesmo grupo. De qualquer maneira, tais fenômenos constituem problemas para cuja solução lança-se mão de todos os dados disponíveis. Como assinala Casals (1961), deve-se considerar um determinado tipo ou "espécie" de vírus como conjunto de individualidades, antes semelhantes entre si do que idênticas àquela considerada como típica.

Tabela 3.1 - Soros empregados rotineiramente na identificação de arbovírus recém-isolados.

Polivalentes ou de grupo	Subdivididos	E s p e c í f i c o s	
		Denominação	Cepa
A		Aura	BeAr 10315
		Encefalite tipo leste (EL)	Tr 24443
		Encefalite tipo oeste (EO)	Tr 25717
		Encefalite venezuelana (EV)	Donkey 1
		Mayaro	Tr 4675
		Mucambo	BeAn 8
		Pixuna	Bear 35645
		Una	BeAr 13136
B		Bussuquara	BeAn 4073
		Dengue 2	Tr 1751
		Encefalite de S. Luís (ESL)	Parton, Tr9464
		Febre amarela (FA)	Asibi
		Ilhéus	Laemmert e Hughes
		Powassan	Eklund
		Rio Bravo	Johnson
	C		Caraparu
		Marituba	BeAn 15
		Nepuyo	BeAn 10709
		Oriboca	BeAn 17
Bunyamwera	Buny I	Guaroa	Groot
		Kairi	BeAr 8226
		Wyeomyia	Roca-Garcia
	Buny II	Batai	MM 2222
		Taiassuí	BeAn 4509
		Tucunduba	BeAn 278
	Buny III	Sororoca	BeAr 32149
		Vale Cache (Maguary)	BeAr 7272
Complexo Califórnia		Califórnia	BFS (Hammon e Reeves)

Tabela 3.1 - Soros empregados rotineiramente na identificação de arbovírus recém-isolados.

Polivalentes ou de grupo	Subdivididos	E s p e c í f i c o s	
		Denominação	Cepa
Complexo Califórnia		Melao Tahyna Trivittatus	BeAr 8033 Bardos Eklund
Sem prévia utilização de soros polivalentes			
G r u p o s			
Guamá		Catu Guamá Moju	BeH 151 BeAn 277 BeAn 12590
Complexo Capim		Bush-Bush Capim Guajara	BeAn 20076 BeAn 8582 BeAn 10615
Phlebotomus		Anhangá Icoaraci Itaporanga	BeAn 46852 BeAn 24262 Trapp
Turlock		Turlock	Lenette 781/19
Simbu		Manzanilla Oropouche	Tr 3587 BeAn 19991
Anopheles A		Anopheles A Lukuni	Roca-Garcia BeAr 35112
Irituia		Irituia	BeAr 28873

Tabela 3.1 - Soros empregados rotineiramente na identificação de arbovírus recém-isolados.

Sem prévia utilização de soros polivalentes	E s p e c í f i c o s	
G r u p o s	Denominação	Cepa
Estomatite vesiculosa (indiana)	Cocal	BeAr 39377
Timbó	Chaco Timbó	BeAn 42217 BeAn 41787
Tacaribe	Junin Tacaribe	XJ Tr 11573
Anopheles B	Anopheles B Boracéia	Roca-Garcia SPAr 395
Não Grupados:	Acará Bertioga Bujaru Candiru Cotia Embu Jurona Marco Pacuí Piry Tacaíuma  Tembé	BeAn 27639 SPAn 1098 BeAn 47693 BeH 22511 SPAn 232 SPAn 880 BeAn 40578 BeAn 40290 BeAn 27326 BeAn 24232 BeAn 73, SPAr 2317 BeAn 50117

## RESULTADOS OBTIDOS

Aqui vão incluídos os resultados que pudemos obter; tanto na fase preliminar de nossas investigações em Boracéia (1961/1962), como naquela que se seguiu. Esta última, iniciada no segundo semestre de 1963, continua sem interrupção até o presente momento. Incluiu ela a coleta, não somente na supracitada estação, mas também em outras da área de Casa Grande, como vimos em capítulo anterior. O mapa da Fig. 3.14, indica a localização dos pontos onde foram efetuadas as mencionadas coletas.

Como se pode verificar do referido em parágrafos precedentes, o processo de identificação requer a execução de numerosas etapas que o tornam bastante complexo. Em vista disso, boa parte dos agentes isolados nesta segunda fase de nossas atividades na região, não foi ainda definitivamente identificada. Para êles forneceremos pois, nas linhas que seguem, os elementos caracterizadores de que dispomos até o momento.

### VERTEBRADOS SILVESTRES.

No período acima mencionado, capturamos e tentamos isolar agentes virais, 388 espécimens de vertebrados silvestres. Dêles, 346 foram mamíferos e 42 aves. O pequeno número destas últimas, explica-se pelo fato de sua coleta ter sido iniciada somente nos últimos meses de 1965, e grande parte dos espécimens coletados ter sido destinada somente à investigação sorológica. A relação das espécies, bem como dos vírus obtidos, constam da Tabela 3.2.

Conseguiu-se o isolamento de dois agentes, SPAn 2356 e SPAn 2546. O primeiro, de um espécimen de Oryzomys ratticeps capturado em Guaratuba e o outro de exemplar de Proechimys iheringi encontrado em Boracéia.

### ANIMAIS SENTINELAS.

Até fevereiro de 1966 foram expostas 575 ninhadas de camundongos albinos. Delas, foram recuperados para observação 2586 animais, dos quais, 575 adultos e 2011 infantes. Os locais de exposição foram os já mencionados.

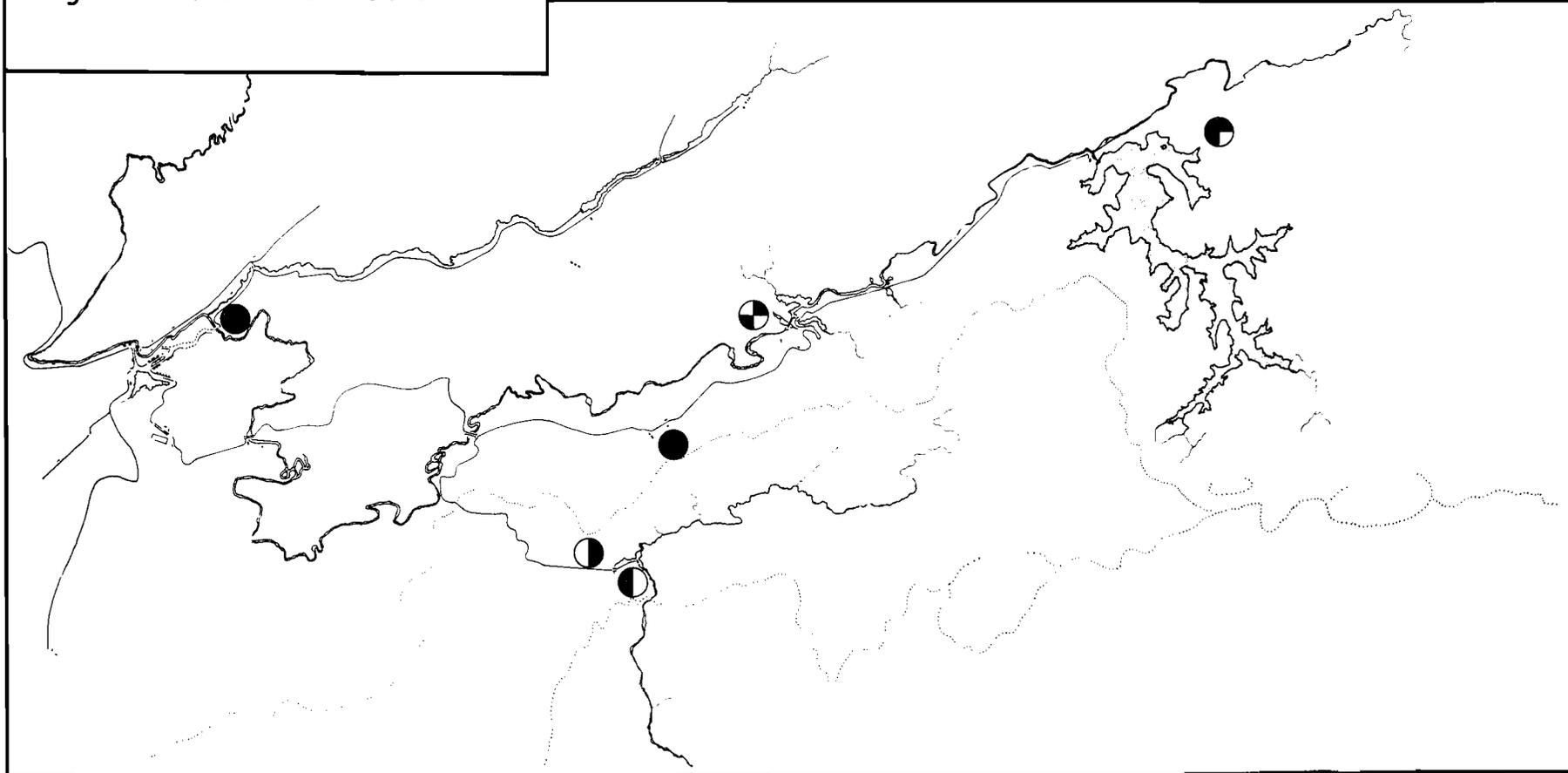
A partir de setembro de 1965, resolvemos instalar sentinelas em ambiente domiciliar, ou melhor, peri-domiciliar. Levou-nos a isso a intenção de poder surpreender alguma evidência que nos indicasse a possibilidade de transporte de vírus, do ambiente florestal para o doméstico. Dessa forma, a partir daquela data, esteve regularmente presente uma "ninhada domiciliar", colocada em dependência externa da casa nº 98 do núcleo de Casa Grande.

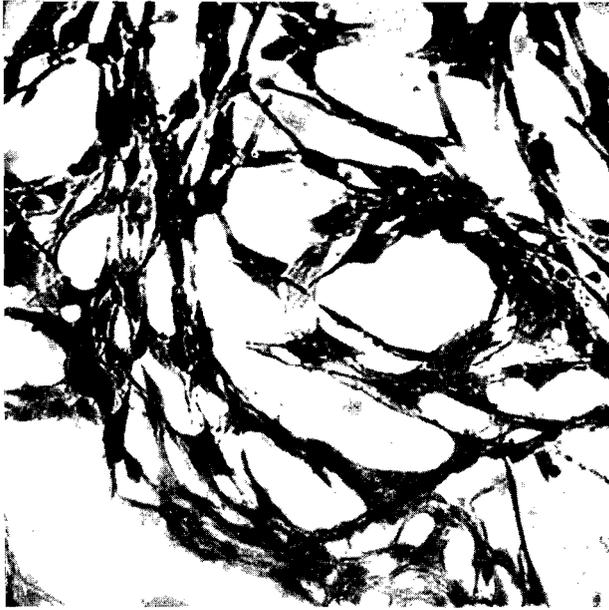
Foram assim obtidos três isolamentos, que receberam as siglas SPAn 2110, SPAn 2348 e SPAn 4148. Os dois primeiros foram de animais 'expostos na Barragem. O último correspondeu à ninhada domiciliar da casa nº 98 de Casa Grande.

Tabela 3.2 - Vertebrados silvestres coletados e examinados  
para a presença de vírus, em Casa Grande.

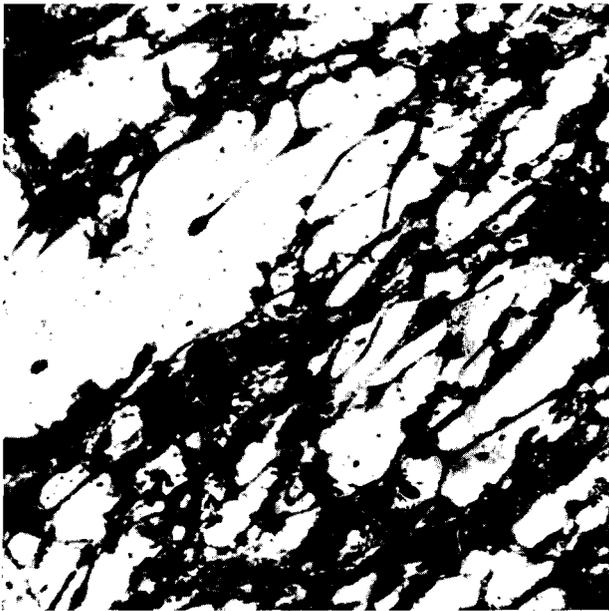
Espécies	Número	Vírus Isolados	
		Número	Estação
<b>Roedores</b>			
<u>Akodon arviculoides</u>	42		
<u>Delomys dorsalis</u>	12		
<u>Euryzgomatomys guiara</u>	3		
<u>Holochilus brasiliensis</u>	3		
<u>Nectomys squamipes</u>	14		
<u>Oryzomys nigripes (= eliurus)</u>	41		
<u>Oryzomys ratticeps</u>	28	1	GT
<u>Oryzomys sp.</u>	12		
<u>Oxymycterus quaestor</u>	12		
<u>Proechimys iheringi</u>	12	1	EBB
<u>Rattus rattus</u> (§)	6		
<u>Rhipidomys sp.</u>	3		
<u>Thaptomys nigrita</u>	9		
<b>Marsupiais</b>			
<u>Didelphis marsupialis</u>	33		
<u>Philander opossum</u>	25		
<b>Quirópteros</b>			
<u>Desmodus sp.</u>	1		
<u>Myotis albescens</u> (§§)	9 (90)		
<b>Aves</b>			
<u>Anabazenops fuscus</u>	3		
<u>Chamaeza campanisona</u>	1		
<u>Chiroxiphia caudata</u>	5		
<u>Cyclarhis gujanensis</u>	1		
<u>Dendrocolaptes platyrostris</u>	2		
<u>Elaenia mesoleuca</u>	2		
<u>Elaenia obscura</u>	1		
<u>Leptopogon amaurocephalus</u>	1		
<u>Onychorhynchus swainsoni</u>	1		
<u>Pachyramphus viridis</u>	1		
<u>Platycichla flavipes</u>	3		
<u>Pygochelidon cyanoleuca</u>	1		
<u>Saltator similis</u>	3		

Fig.3.14 - Locais de coleta





3.15



3.16

Tabela 3.2 - Vertebrados silvestres coletados e examinados para a presença de vírus, em Casa Grande.

Espécies	Número	Vírus Isolados	
		Número	Estação
Aves			
<u>Schiffornis virescens</u>	1		
<u>Sclerurus scansor</u>	3		
<u>Streptoprocne zonaris</u>	1		
<u>Thraupis cyanoptera</u>	4		
<u>Thraupis sayaca</u>	1		
<u>Trichothraupis melanops</u>	1		
<u>Turdus rufiventris</u>	3		
<u>Zonotrichia capensis</u>	3		
<b>T o t a l</b>	<b>388</b>	<b>2</b>	

(§) Capturados nas imediações de residências.

(§§) Lotes de dez exemplares cada um.

Fig. 3.15 - Cultura de tecido BHK-21, cinco dias (coloração pela hematoxilina-eosina, 150 X).

Fig. 3.16 - Cultura de tecido BHK-21, sete dias após inoculação com o vírus Boracéia (SPAr 395). Note-se a destruição e granulação celular (coloração pela hematoxilina-eosina, 150 X).

## ARTRÓPODES.

Como tivemos ocasião de citar, as tentativas que levamos a efeito, referem-se, até o momento, a mosquitos Culicidae. Poucos representantes de outros grupos, foram coletados e inoculados. Isto porque, em se tratando de primeira fase de trabalho de longa duração, julgamos útil iniciar com tais dípteros comprovadamente responsabilizados como veiculadores, em várias regiões.

As coletas foram levadas a efeito nas estações citadas, durante horas diurnas e noturnas. Ainda não conseguimos adaptar tipo de armadilha que nos permitisse obter bom rendimento com isca animal. Em vista disso, as tentativas de isolamento referem-se a material coletado mediante o emprêgo de isca humana. Se, por um lado, isso nos forneceu idéia razoável das espécies capazes de atacar o homem e, portanto, transmitir-lhe alguma virose, por outro lado muito provavelmente, numerosas outras deixaram de comparecer nas capturas. Trata-se, evidentemente, daquelas dotadas de muito baixa ou mesmo ausente antropofilia. A detecção destas somente se fará quando pudermos dispor de armadilhas e artifícios que nos permitam capturá-las com rendimento satisfatório.

Na sua maioria, na segunda fase de nossas pesquisas em Casa Grande, os lotes para inoculação não foram separados por estação de procedência. Deveu-se isso às condições materiais de nosso laboratório. Elas não suportariam a sobrecarga, representada pela multiplicação considerável de inóculos, que essa conduta fatalmente traria. Todavia, as coletas foram agrupadas por espécies e os conjuntos assim constituídos, encaminhados ao processo de isolamento. O inconveniente da perda do dado referente à estação de onde procederia o agente porventura isolado, pôde ser parcialmente compensado. E isso graças à observação da densidade e outras características ecológicas, cujo estudo foi feito de maneira concomitante. Tais resultados vão relatados, com maiores detalhes, no capítulo nº 5.

Como única exceção a essa conduta, figuram as capturas domiciliares. Para elas, constituímos conjuntos de inoculação separados por localidade. Assim procedemos porque nos interessava observar a possibilidade de veiculação desses agentes, do meio natural para o domiciliar.

Como consta da Tabela 3.3, foram encaminhados para as tentativas de isolamento, até agora, 65861 mosquitos, incluídos num total de 819 lotes de inoculação. Dêsse material, 3377 espécimens, separados em sessenta conjuntos, constituem a parcela obtida no ambiente domiciliar e que figura na Tabela 3.4, onde constam as espécies e localidades.

Verificou-se a obtenção de oito isolamentos. Os designados pelas si

glas SPAr 395, SPAr 2317, SPAr 4080, SPAr 4175, SPAr 4770 e SPAr 5261, corresponderam a lotes de Anopheles cruzii dos quais, o SPAr 4770 foi de espécimens dêsse mosquito conseguidos em captura intradomiciliar na Barragem. Os outros dois receberam a numeração SPAr 2537 e SPAr 2984 correspondendo, respectivamente, a lotes de Psorophora ferox e de Phoniomyia pilicauda.

#### HOMENS E ANIMAIS DOMÉSTICOS.

Nas páginas anteriores, focalizamos as tentativas que efetuamos no sentido de obter isolamento de vírus de casos febris, tanto humanos como de animais domésticos. Contudo, ressentimo-nos da falta de serviço médico local que nos possibilitasse essa coleta. Conseguimos colhêr sangue de oito casos manifestos de febre, mas os resultados foram totalmente negativos.

Pensamos, igualmente, na observação dos homens empregados nas capturas de mosquitos. Como se pode fàcilmente compreender, trata-se de verdadeiras "sentinelas" e, por conseguinte, com possibilidades de virem a apresentar alguma viremia. Verificou-se que um dêles apresentou a posição de seu sôro para o agente Boracéia, no decorrer de duas sangrias anuais. Assim sendo, teria sido muito interessante o fornecimento semanal de sangue por parte dêsses homens, a exemplo do que é feito em vários núcleos de pesquisas análogas, como Trinidad e Belém. Todavia, essa conduta revelou-se totalmente impraticável. Tais pessoas manifestaram aversão às sangrias referidas, tornando-as inviáveis na freqüência que seria de desejar. Como se vê, ainda aqui se mostraram as conseqüências da ausência de serviço médico permanente e de educação sanitária adequada.

Quanto aos animais domésticos, não conseguimos surpreender nenhum caso clínico que chamasse nossa atenção. Mesmo a simples sangria direta para a coleta de sôro esbarrou, com freqüência, na recusa e falta de cooperação por parte de seus donos.

Dessa maneira, os sangues colhidos serviram, até o momento, exclusivamente ao inquérito sorológico, cujos resultados se encontram expostos em capítulo seguinte.

#### VÍRUS ISOLADOS.

Como mencionamos, no decurso de nossas investigações foi possível isolar vários agentes que pudemos considerar como arbovírus. Para alguns dêles, chegamos à determinação definitiva. Para outros, o processo de identificação ainda não se completou. Apesar disso, serão a seguir descritos os dados disponíveis até o momento, e que poderão servir para as considerações epidemiológicas feitas no final dêste trabalho.

Tabela 3.3 - Lotes e espécimens de mosquitos utilizados nas tentativas de isolamento de vírus em Casa Grande, até início de 1966.

Espécies	Lotes	Espécimens	Isolamentos
<u>Anophelini</u>			
<u>Anopheles cruzii</u>	356	35771	6
<u>Anopheles evansae</u> (= <u>strodei</u> )	8	135	
<u>Anophele lutzii</u>	8	141	
<u>Anopheles pseudotibiamaculatus</u>	2	18	
<u>Culicini</u>			
<u>Aedes fluviatilis</u>	1	31	
<u>Aedes leucocelaenus</u>	8	231	
<u>Aedes scapularis</u>	5	123	
<u>Aedes serratus</u>	62	4341	
<u>Aedes terreus</u>	2	34	
<u>Culex (Culex) sp.</u>	2	28	
<u>Culex (Melanoconion) sp.</u>	1	12	
<u>Culex (Microculex) sp.</u>	1	16	
<u>Mansonia albifera</u>	4	76	
<u>Psorophora albipes</u>	2	50	
<u>Psorophora discrucians</u>	1	62	
<u>Psorophora ferox</u>	32	1692	1
<u>Uranotaenia ditaenionota</u>	1	5	
<u>Sabethini</u>			
<u>Limatus flavisetosus</u>	1	13	
<u>Phoniomyia davisi</u>	1	20	
<u>Phoniomyia longirostris</u>	40	3441	
<u>Phoniomyia palmata</u>	9	335	
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	92	9119	1
<u>Sabethes albiprivus</u>	8	121	
<u>Sabethes intermedius</u>	2	204	
<u>Sabethes quasicyaneus</u>	3	29	
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	16	749	
<u>Trichoprosopon digitatum</u>	3	17	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	7	209	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>	8	421	
<u>Trichoprosopon reversum</u>	78	5986	
<u>Wyeomyia aporonomia</u>	3	25	
<u>Wyeomyia confusa</u>	36	2148	
<u>Wyeomyia oblita</u>	3	65	

Tabela 3.3 - Lotes e espécimens de mosquitos utilizados nas tentativas de isolamento de vírus em Casa Grande, até início de 1966.

Espécies	Lotes	Espécimens	Isolamentos
Lotes mistos:			
<u>Aedes leucocelaenus</u> (11)+ <u>A. scapularis</u> (5)	1	16	
<u>Aedes serratus</u> (7)+ <u>A. scapularis</u> (5) + <u>A. leucocelaenus</u> (2)+ <u>A. fluviatilis</u> (1)	1	15	
<u>Trichoprosopon reversum</u> (15) + <u>T. cerqueirai</u> (8) + <u>T. frontosum</u> (2)	1	25	
Outros dípteros:			
<u>Phlebotomus</u> sp.	2	25	
<u>Simulium auristriatum</u>	1	7	
<u>Simulium pertinax</u>	4	49	
<b>Total</b>	<b>816</b>	<b>65805</b>	<b>8</b>

Boracéia (SPAr 395). - Este agente foi isolado a 30 de março de 1962, na fase preliminar destas investigações. Nessa ocasião recebeu o número de SPAr 395 e foi obtido de conjunto constituído por noventa e cinco exemplares de Anopheles cruzii, capturados no ambiente florestal da estação de Boracéia. Em vista dessa circunstância, recebeu esse nome quando de sua descrição.

Como caracteres deste vírus, podem ser assinalados os seguintes: revelou-se patogênico para camundongos lactentes, com TMS de cinco dias i.c. e de nove dias i.p. Para os adultos desses animais, quando usada a via i.c., a morte atingiu cerca de 50%, com recuperação dos demais, ao passo que a i.p. mostrou-se inócua.

Adaptamos em cultura de tecido da linhagem BHK-21, evidenciando ECP após quatro ou cinco dias. Esse efeito revelou-se pelas modificações de células que adquirem aspectos arredondado, granuloso e se destacam da parede do tubo, deixando assim apreciáveis áreas vazias (Figs. 3.15 e 3.16).

Tabela 3.4 - Lotes e espécimens de mosquitos obtidos nas coletas domiciliares e utilizados nas tentativas de isolamento de vírus, até início de 1966.

Espécies	Lotes	Espécimens	Isolamentos
<b>CASA GRANDE</b>			
<u>Anopheles cruzii</u>	6	378	
<u>Anopheles evansae</u>	2	22	
<u>Anopheles lutzii</u>	1	19	
<u>Aedes scapularis</u>	1	11	
<u>Aedes serratus</u>	7	205	
<u>Psorophora ferox</u>	3	61	
<b>BORACÉIA</b>			
<u>Anopheles cruzii</u>	17	1345	
<u>Anopheles evansae</u>	1	22	
<u>Aedes serratus</u>	1	23	
Misto: <u>Aedes serratus</u> (7) + <u>A. scapularis</u> (5) + <u>A. leucocelaenus</u> (2) + <u>A. fluviatilis</u> (1)	1	15	
<b>BARRAGEM</b>			
<u>Anopheles cruzii</u>	13	1105	1
<u>Anopheles evansae</u>	2	30	
<u>Aedes fluviatilis</u>	1	31	
<u>Aedes serratus</u>	3	94	
Misto: <u>Aedes leucocelaenus</u> (11) + <u>A. scapularis</u> (5)	1	16	
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>3377</b>	<b>1</b>

A titulação do vírus forneceu DL 50 correspondente a 6,6 logs., enquanto após a exposição ao DCS, esse título foi menor do que 2,5 logs.

As tentativas para a verificação de hemaglutininas foram infrutíferas. Com encéfalo de camundongos lactentes infectados, foi possível preparar antígeno para FC. Tanto essa reação como a de NT em cultura de tecido (Tabela 3.5), revelaram afinidade, mas não identidade, com o agente *Anopheles B*, isolado de *Anopheles boliviensis* na região oriental da Colômbia (Roca-García, 1944). Em vista disso, ambos passaram a fazer parte de novo grupo antigênico, o qual recebeu o nome desse último.

É interessante assinalar o fato desses agentes terem sido obtidos de mosquitos anofelinos pertencentes ao subgênero *Kerteszia*. Isso poderá, possivelmente, constituir-se mais um argumento a favor da afinidade dos dois arbovírus.

Tacaiuma (SPAr 2317). - O vírus denominado Tacaiuma (BeAn 73) foi descrito originariamente na região de Belém, Brasil (Causey e cols. 1961). Nessa ocasião foi isolado de sangue circulante de macaco *Cebus* exposto como sentinela. No decurso de nossas investigações conseguimos encontrar um agente que se revelou intimamente relacionado com esse vírus. Recebeu ele a numeração SPAr 2317 e foi obtido a partir de lote constituído por duzentos e sessenta e seis espécimens de *Anopheles cruzii*, a 17 de fevereiro de 1964.

A cepa SPAr 2317, mostrou-se patogênica para camundongos lactentes, com TMS de quatro dias i.c. Quanto aos adultos injetados pela mesma via, a sintomatologia e morte sobrevieram por volta do oitavo dia, enquanto foram negativos os resultados naqueles inculados ip.

Não conseguimos observar ECP em cultura de tecidos das linhagens HeLa e BHK-21.

Obtivemos antígeno hemaglutinante, a partir de cérebro infectado de camundongo, fornecendo título de 1:160.

As provas de IH, FC e NT, revelaram fortes reações cruzadas com o agente Tacaiuma (BeAn 73) isolado em Belém (Tabela 3.6). Apesar de se observarem algumas diferenças, elas não foram levadas em consideração pois, muito provavelmente correm por conta de fatores próprios das cepas locais.

Por conseguinte, trata-se de outro agente que encontra em *Anopheles cruzii*, o seu provável transmissor natural. É interessante ressaltar o encontro, nesta área, de um representante do grupo arbo da região amazônica.

Tabela 3.5 - Dados sorológicos comparativos entre SPAr 395 e Anopheles B, através das reações de fixação do complemento (FC) e de neutralização (NT).

Sôro	Nº de inoculações	FC (§)		NT (§§)	
		Anopheles B	SPAr 395	Anopheles B	SPAr 395
Anopheles B	3	128/512	16/16	3,0	1,0
SPAr 395	2	16/512	64/256	-	-
SPAr 395	3	16/64	128/256	1,5	3,5

(§) recíproca do título do sôro/recíproca do título do antígeno.

(§§) resultados expressos como logs. do índice de neutralização.

- não realizados.

Tabela 3.6 - Dados sorológicos comparativos entre SPAr 2317 e Tacaiuma, através das reações de fixação do complemento (FC), inibição da hemaglutinação (IH) e de neutralização (NT).

Sôro	Nº de inoculações	FC (§)		IH (§§)		NT (§§§)	
		Tacaiuma	SPAr 2317	Tacaiuma	SPAr 2317	Tacaiuma	SPAr 2317
Tacaiuma	1			320	40	3,0	2,0
Tacaiuma	2	32/64	8/64	640	160		
Tacaiuma	3	128+/64	128+/64	2560	1280		
SPAr 2317	1			80	320	1,8	2,5
SPAr 2317	2	8/32	32/64	320	640		
SPAr 2317	3	16/64					

(§) recíproca do título do sôro/recíproca do título do antígeno.

(§§) recíproca da diluição do sôro inibidora de oito unidades de antígeno.

(§§§) resultados expressos como logs. do índice de neutralização.

Não Identificados. - Passamos a considerar, em seguida, os agentes que conseguimos isolar e cuja identificação final, até o momento em que estavam sendo escritas estas linhas, não foi concluída.

Trata-se de vírus dos quais conseguimos observar algumas características. Eles não reagiram com sôros de vários arbovírus conhecidos, inclusive os já identificados na região. Contudo, este processo de identificação requer ainda maiores dados, entre os quais, aqueles que serão obtidos após o envio aos Centros de Referência já citados neste capítulo. Em vista disso, limitamo-nos aqui a assinalar a presença desses agentes, bem como as características que sobre eles dispomos no momento.

SPAN 2110 - Este vírus foi isolado de camundongos sentinelas expostos na estação BRR, a 19 de dezembro de 1963. A sua patogenicidade para lactentes traduz-se por TMS de 3,8 dias i.c. Não afeta aos adultos desses animais. O título viral foi de 7,0 logs., sendo sensível ao DCS para mais de 3,0 logs.

SPAN 2348 - Também foi obtido de camundongos sentinelas de BRR, expostos a 9 de março de 1964. É patogênico para infantes, com TMS de 3,9 dias i.c. Não afeta os indivíduos adultos. A titulação forneceu valor de 4,0 logs., e a sensibilidade ao DCS é mais de 2,0 logs.

SPAN 2356 - Isolado a 13 de março de 1964, de um exemplar adulto de Oryzomys ratticeps capturado na estação GT. É patogênico para camundongos lactentes, com TMS de 3,6 i.c., enquanto os indivíduos adultos desses animais não manifestam consequências de sua inoculação. O título do vírus é de 6,0 logs. e a sensibilidade ao DCS revelou-se maior que 2,0 logs.

SPAN 2546 - Obtido de um espécimen adulto de Proechimys iheringi da estação EBB, a 24 de junho de 1964. A patogenicidade para camundongos lactentes forneceu TMS equivalente a 3,6 dias i.c. Mostrou-se não patogênico para os adultos. O título observado foi de 7,0 logs., sendo sensível ao DCS para mais de 5,0 logs.

SPAr 2573 - Este agente foi isolado a 26 de junho de 1964, de pequeno conjunto constituído por somente seis exemplares de Psorophora ferox, capturados entre setembro de 1963 e março de 1964. Mostrou-se patogênico para camundongos lactentes, com TMS de 3,7 dias i.c. Quanto aos adultos desses animais, revelou-se certa patogenicidade para raros exemplares por via i.c., na proporção de um para cada cinco inoculados. O título viral é de 6,0 logs., e a sensibilidade ao DCS foi maior do que 4,0 logs.

SPAr 2984 - Isolado a 5 de fevereiro de 1965, de lote com 101 exemplares de Phonimomyia pilicauda. Mostrou-se patogênico para camundongos -

lactentes e adultos por via i. c., com TMS de 3,0 dias para os primeiros, e de 5,6 dias para os segundos. Êstes últimos mostraram-se refratários quando inoculados por via i.p. A titulação do vírus forneceu valor de 7,0 logs., e a sensibilidade ao DCS foi maior de 5,0 logs.

Aquêles que serão assinalados nas linhas seguintes, parecem constituir, na realidade, vários isolamentos de um mesmo agente. Com efeito, todos êles apresentaram TMS rápido, de 2,0 a 3,0 dias para camundongos infantis por via i. c., e ao redor de 3,0 dias por via i.p. Quanto aos adultos dêsses animais, tal tempo oscilou de 4,0 a 6,0 dias i. c., não revelando patogenicidade quando foram utilizadas as vias i.p. e i. s. Êsses vírus crescem, sem necessidade de adaptação, apresentando ECP em cultura de tecidos das linhagens BHK-21 e HeLa. A DICT para primeira, foi de 6,0 a 7,0 logs., e para a segunda de 2,0 logs. Por conseguinte, o título para HeLa mostrou-se sensivelmente mais baixo que aquêle para BHK-21. Além disso, todos êles forneceram hemaglutininas em baixos títulos. Os títulos virais observados em camundongos lactentes i. c., estiveram acima de 8,0 logs. e a sensibilidade ao DCS foi maior do que 5,0 logs. Finalmente, tôdas essas amostras neutralizaram-se entre si, nas mencionadas culturas de tecidos. Em vista disso, é de se pensar que se trate de vários isolamentos de um mesmo agente viral, levados a efeito, como se verá a seguir, na mesma época. São êles os seguintes:

SPAr 4080 - Isolado a 7 de dezembro de 1965, de lote constituído por cem exemplares de Anopheles cruzii.

SPAn 4148 - Obtido de camundongos sentinelas expostos em 24 de novembro de 1965, em dependência domiciliar da casa nº 98 do núcleo de Casa Grande. Trata-se pois de uma ninhada sentinela domiciliar, como descrevemos em parágrafo anterior.

SPAr 4175 - Isolado a 24 de dezembro de 1965, a partir de lote constituído por cem espécimens de Anophele cruzii.

SPAr 4770 - Êste isolamento foi conseguido de lote formado por 92 exemplares de Anopheles cruzii capturados intradomiciliarmente na Barragem. Trata-se pois de coleta realizada em janeiro/março de 1966, dentro da casa do guarda local. A localização dessa residência foi descrita no capítulo segundo dêste trabalho.

SPAr 5261 - Obtido de lote de cem espécimens de Anopheles cruzii capturados em 5 de novembro de 1965.

## CAPÍTULO Nº 4 - INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA

	pg.
Inibição da Hemaglutinação .....	81
Métodos empregados .....	81
Interpretação .....	82
Neutralização (NT) .....	83
Métodos empregados .....	84
Interpretação .....	84
Coleta do Material .....	85
Resultados Obtidos .....	87
Homens .....	88
Casa Grande .....	91
Boracéia, Tacaiuma e Grupo B .....	92
Tempo de residência .....	92
Sexo .....	102
Prevalência e incidência .....	104
Outros vírus .....	108
Grupo C .....	108
Outros .....	109
Arredores .....	110
Ribeirão Grande .....	110
Fazenda Palma .....	111
Pedra Queimada .....	111
Serengue .....	111
Pau a Pique .....	111
Campinho .....	112
Animais domésticos .....	113
Mamíferos .....	113
Aves .....	114
Animais silvestres .....	116
Mamíferos .....	117
Roedores .....	117
Marsupiais .....	120
Morcegos .....	120
Aves .....	120

Vimos no capítulo anterior que à coleta de material destinado ao isolamento de vírus, seguia-se a separação de parte do sôro. Isso tinha a finalidade de levar a efeito provas sorológicas que nos fornecessem idéia da possível atividade arboviral nessa região. A execução de tais testes reveste-se de grande utilidade epidemiológica, pois fornece ao investigador aspecto panorâmico da presença desses agentes.

Conforme citamos, três são os tipos de anticorpos cuja pesquisa nos soros, é a mais utilizada para finalidade diagnóstica. A ocasião de seu aparecimento, da elevação, acme e declínio dos títulos, a especificidade e persistência, constituem características próprias de cada um (Hammon e Work, 1964). Assim é que, de maneira geral, a ordem como se manifestam nos soros vem a ser, em primeiro lugar, os neutralizantes (NT), seguidos dos inibidores da hemaglutinação (IH) e, em último lugar, os fixadores do complemento (FC). Estes diferem dos outros, não somente por levar mais tempo para serem detectados, como também pela transitoriedade com que se mantêm os seus títulos mais altos. Rápida e, em questão de meses, chegam a desaparecer ou a cair a níveis dificilmente evidenciáveis. Compreende-se pois que, para um inquérito desta natureza, os meios mais aconselháveis residem na utilização das outras duas reações.

### INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO (IH)

A presença de anticorpos hemaglutinantes é precoce e, às vezes, concomitante com a dos neutralizantes. Se bem que as evidências indiquem, de início, a rápida subida e descida dos títulos, estes posteriormente se mantêm em nível apreciável. Isso permite que possam ser detectados por tempo indefinido. (Theiler, Casals e Moutousses 1960, Groot e Ribeiro 1962, Sanmartin e Arbelaez 1965.)

### MÉTODOS EMPREGADOS.

No capítulo 3, relatamos os processos de preparação de antígenos e soros. Fundamentalmente, adotamos o método descrito por Clarke e Casals (1958), com a adaptação de Takatsy para microtécnicas (Sever 1962, Shope 1963). Este processo emprega quantidades pequenas de reagentes, economizando tempo, sem perder em sensibilidade e precisão.

Para a execução das provas IH, foram levadas a efeito diluições seriadas do sôro, duplicadas a partir da inicial equivalente a 1:10. Os antígenos foram empregados na dose de oito unidades. O título correspondeu à última diluição na qual foi possível verificar completa inibição da hemaglutinação. Como simplificação usamos o sistema de expressar esse título através do expoente da potência de dois que, multiplicada por cinco, fornece o número correspondente ao denominador dessa diluição. Assim, tais correspondên

cias são as seguintes:

<u>diluição</u>	<u>denominador</u>	<u>expressão</u>
1/10	$5 \cdot 2^1 = 10$	1
1/20	$5 \cdot 2^2 = 20$	2
1/40	$5 \cdot 2^3 = 40$	3
.	.	.
.	.	.
.	.	.
1/n	$5 \cdot 2^x = n$	x

### INTERPRETAÇÃO.

Para análise dos dados obtidos com as provas do IH, rotulamos como positivos os resultados obtidos com diluições a partir de dois. Seguimos, assim, a orientação geralmente adotada e que se destina a fornecer aspecto panorâmico da reatividade sorológica de determinada região (Mettler, Parodi e Casals 1963, Shope 1963). Em certos casos particulares, com vistas a diagnósticos específicos, tem-se preconizado a consideração de valôres mais altos. É o caso da encefalite venezuela (EV), na Colombia, para a qual alguns autores consideram como indicativos da infecção, títulos positivos a partir de quatro (Sanmartin e Dueñas 1959, Groot 1964).

No que concerne à especificidade dêstes resultados, deve-se levar em conta que as provas de IH são as que fornecem dados de mais amplo espectro. Dêsse modo, os soros positivos tanto podem indicar a atividade do vírus cujo antígeno inibem, como também de outros do mesmo grupo, que a êle se relacionem. Pela própria definição de tais conjuntos antigênicos, os seus componentes devem manifestar reações cruzadas entre si, ao mesmo tempo que deixam de apresentá-las em relação aos vírus dos demais grupos (Casals e Whitman, 1960). Em vista disso, os resultados obtidos indicarão a presença de arbovírus pertencentes a determinados grupos ou, no caso dos não grupados, a existência de agentes a êles relacionados. Dessa maneira, a identificação particular dos resultados sorológicos sòmente poderá ser obtida após o isolamento do arbovírus na zona investigada. Quando isso ocorre, os anticorpos assinalados pelas provas levadas a efeito, podem ser atribuídos a êsse agente. Em nossas investigações, isso pôde ser feito em relação a Tacaiuma (SPAN 2317) pois, além de ser vírus ainda não grupado, êle foi por nós isolado na região.

Nas provas de IH levadas a efeito nesta investigação, utilizamos antígenos representativos de vários grupos arbo, como sejam:

<u>Grupo</u>	<u>Antígenos</u>
A	Encefalite tipoleste (EL), encefalite tipo oeste (EO), Mayaro, Mucambo.
B	Bussuquara, encefalite de São Luís (ESL), febre amarela (FA), Ilhéus.
C	Caraparo, Marituba, Oriboca.
Bunyamwera	Guarca, Vale Cache.
Complexo Califórnia	Califórnia, Tahyna.
Phlebotomus	Anhangá, Icoaraci, Itaporanga.
Não grupado	Tacaiuma (BeAn 73 e SPAr 2317).

Por vários motivos, deixamos de incluir outros representantes. Em primeiro lugar, demos preferência àquêles já assinalados, ou cuja existência seria provável, no Continente Sul-americano. Por outro lado, vírus a certos grupos como o Guamá, não apresentam hemaglutininas facilmente detectáveis. Isso os tornou pouco viáveis na execução do presente inquérito sorológico. Para êsses e para aquêles nos quais não foi possível evidenciar a produção de hemaglutinação, lançamos mão, em alguns casos, da reação de neutralização, como se verá a seguir. Finalmente, outros vírus isolados na região não foram incluídos porque, no estágio atual de nossos trabalhos não nos foi possível ainda estabelecer sistema diagnóstico.

### NEUTRALIZAÇÃO (NT)

Geralmente os anticorpos neutralizantes são precoces no seu aparecimento em quantidades detectáveis pelas técnicas utilizadas nos soros de organismos infectados pelos vírus arbo. São também considerados como dos mais específicos e os títulos costumam manter-se em níveis elevados por tempo prolongado, ou mesmo por toda a vida. Justifica-se, pois, que a sua pesquisa se revista de apreciável valor quando se pretende levar a efeito inquérito epidemiológico. Contudo, a sua execução não é simples e consome tempo considerável. Isso limita, até certo ponto, a ampla utilização dessa técnica nas investigações dessa natureza.

## MÉTODOS EMPREGADOS.

Em nossas investigações, limitamo-nos ao uso desta reação na pesquisa da reatividade sorológica a vírus para os quais não nos foi possível detectar efeito hemaglutinante. A técnica adotada consistiu no emprêgo do sôro puro, misturado a diluições do vírus suficientes para assegurar a presença de 50 a 100 DICT50. Levava-se a efeito a titulação preliminar, idêntica à descrita para o processo de identificação, e outra final, concomitante à leitura. Isso nos possibilitou a observação da presença do título viral desejado.

Empregamos, sistemáticamente, o método de neutralização em cultura de tecidos. As linhagens celulares foram aquelas citadas no capítulo anterior. O fato de não utilizarmos camundongos, prendeu-se à impossibilidade de material que assegurasse fornecimento regular e suficiente desses animais para a realização de número considerável de reações. Por outro lado, o uso das culturas de tecidos trouxe-nos a vantagem de maior comodidade e economia de tempo e material. A mistura sôro-vírus, após incubação de uma hora a 37°C, era distribuída em dois ou três tubos com a cultura de tecidos, além dos controles. Estes continham a mistura vírus-sôro negativos e positivos. A leitura era feita após determinado tempo, variável de acordo com o vírus para o qual o sôro era testado.

## INTERPRETAÇÃO.

Foram considerados como positivos, os resultados que revelaram ausência de ECP, em todos os tubos testados com a diluição viral supracitada.

Como afirmamos, a reação de NT é considerada como a mais específica, refletindo a sua positividade, as consequências à exposição a determinado vírus. Contudo, isso pode ser considerado como certo, quando a presença desse agente é confirmada através de seu isolamento. No que pese o mencionado grau de especificidade, a possibilidade de reações cruzadas dentro do mesmo conjunto antigênico, condiciona a interpretação dos resultados como sendo sempre de grupo. Essa conduta se justifica, pois o aparecimento de anticorpos neutralizantes heterólogos é fenômeno frequente e observado principalmente em casos de infecções secundárias (Theiler e Casals, 1958). Assim sendo, em nossas pesquisas, consideramos como específicos os resultados positivos relativos ao vírus Boracéia, cuja presença na região conseguimos assinalar por meio do isolamento.

As provas de NT foram levadas a efeito para agentes locais e mais alguns outros cuja existência já tinha sido assinalada para a América do Sul ou áreas próximas à região investigada por nós. Com esse critério, pes

quisamos a presença de anticorpos para os vírus Boracéia, Cocal e Junin.

### COLETA DO MATERIAL

Os meios empregados na coleta de soros de vertebrados silvestres, foram objeto de explanação no capítulo precedente. No que concerne aos animais mais domésticos, as sangrias foram levadas a efeito mediante a preservação da vida dos mesmos, ou no caso de aves e suínos, por ocasião de seu sacrifício para fins alimentares. Como norma, a população local apresentou certa resistência à coleta fora dessa oportunidade, pois a morte desses espécimens poderia acarretar prejuízos financeiros. Quanto aos cães, razões de ordem afetiva igualmente prejudicaram, de certa maneira, as sangrias.

Em relação ao homem, as coletas de sangue foram executadas, como se verá em parágrafo seguinte, mediante convite à população para comparecimento em dia predeterminado. Dessa maneira foi possível a obtenção de soros de apreciável parte dos residentes nessa área. Além disso, mediante visitas previamente programadas, conseguimos colher material de moradores de localidades circunjacentes as quais, como se pode verificar, acham-se representadas no mapa constante da Fig. 2.2, do segundo capítulo.

As sangrias humanas foram executadas mediante punção venosa. No caso particular de crianças de pequena idade, apresentou-se o inconveniente da necessidade de utilização da veia jugular. Isso nos obrigou a renunciar à coleta nesse grupo, caso contrário estaríamos nos arriscando a enfrentar a oposição dos habitantes, que não veriam com bons olhos essa prática.

Dessa forma, desde o início de nossas investigações e até fins de 1965, conseguimos colecionar soros de 987 espécimens, sendo 398 humanos e 589 animais. Dêsse total, 907 foram colhidos na área de Casa Grande e 80 nos seus arredores. A natureza e a distribuição dessas amostras serão expostas nos parágrafos seguintes, ao descrevermos os resultados obtidos nas provas levadas a efeito com elas. As Tabelas 4.1 e 4.2, destinam-se a fornecer idéia do número de indivíduos sangrados, distribuídos por localidades, tanto em Casa Grande, como nas circunvizinhanças.

Tabela 4.1 - Homens e animais examinados na área de Casa Grande, até 1965.

F o n t e s	Casa Grande	Boracéia	Guaratuba	Poço Preto	Barragem	Total
Homens	313	5		2	2	322
<b>Mamíferos domésticos</b>						
Bovinos		7				7
Cães	10	3			2	15
Equinos	4					4
Suínos	2	1				3
<b>Aves domésticas</b>						
Galinhas	10	23			6	39
Gansos		3				3
<b>Mamíferos silvestres</b>						
Roedores	20	142	33	5	46	246
Marsupiais	6	25	12	6	13	62
Morcegos		1			9 (\$)	10
Aves silvestres	162	10	24			196
T o t a l	527	220	69	13	78	907

(\$) lotes de dez animais.

Tabela 4.2 - Homens e animais examinados nos arredores de Casa Grande, até 1965.

Fontes	Ribeirão Grande	Fazenda Palma	Pedra Queimada	Serengue	Pau a Pique (Bairros da 2a. e 3a.)	Cam-pinho	Total
Homens	24	5	4	11	23	9	76
Equinos	4						4
Total	28	5	4	11	23	9	80

### RESULTADOS OBTIDOS

Ao número já considerável de arbovírus conhecidos, soma-se a complexidade das reações sorológicas, para tornar as investigações dessa natureza particularmente trabalhosas. Além disso, como abordamos em linhas atrás, a interpretação dos resultados requer sejam levadas em consideração, circunstâncias próprias da região estudada. Como os anticorpos IH são os mais amplamente reativos, o emprêgo de antígenos diferentes, mas relacionados ao possível vírus, pode fornecer resultados sugestivos. Por conseguinte, seria útil fazer-se seguir a essa prova, a pesquisa de anticorpos NT, cujos resultados estariam mais próximos da verdadeira etiologia. Contudo, a especificidade fornecida por estas últimas reações, também não é absoluta. Além disso, a execução de mais de um tipo de prova para cada soro, iria aumentar o volume de trabalho, ultrapassando as possibilidades materiais atualmente disponíveis em nosso laboratório.

Apesar dessa complexidade, o problema diagnóstico poderia alcançar solução relativamente fácil se considerássemos apenas os casos cuja resposta imunológica fôsse devida a uma só infecção primária. Quando, porém, como é o que ocorre em nossas investigações, deve-se lidar com população exposta a múltiplas infecções com o mesmo agente ou outros a êle relacionados, a questão se torna mais complexa. Os indivíduos submetidos a mais de uma experiência com tais vírus, revelam, como consequência, respostas sorológicas bem mais amplas e bastante diferentes daquelas apresentadas pelas primoinfecções. Esse aspecto foi bem assinalado em relação aos anticorpos neutralizantes para a febre amarela (Theiler e Casals, 1958). Por conseguinte há tão

ampla reatividade para o grupo antigênico, que se torna difícil a identificação específica do agente etiológico, mesmo com o emprêgo da reação de NT. Na realidade, êsse resultado não pode ser alcançado com segurança em tais condições, a menos que se tenha obtido o isolamento do agente arboviral em questão.

Consequentemente, as observações que vão relatadas a seguir, baseiam-se no emprêgo das provas IH e NT, com os antígenos mencionados nos parágrafos precedentes. De acôrdo com as condições expostas acima, julgamos específicos os resultados positivos conseguidos com os vírus Boracéia e Tacaiuma. E isso porque o seu isolamento na região permitiu-nos o preenchimento das condições mencionadas e dispor de antígenos próprios. Além disso, deve-se considerar o fato do agente Tacaiuma não estar agrupado e o Boracéia constituir, juntamente com o vírus Anopheles B, um grupo criado recentemente e do qual fazem parte, até o presente momento, apenas êsses dois arbovírus. Com relação aos outros, as reações positivas foram interpretadas como sendo somente de grupo.

A duração e manutenção dos títulos dos anticorpos IH constitui assunto ainda aberto à investigação. Observações realizadas com EO e ESL, têm evidenciado apreciável variabilidade a êsse respeito. Assim é que na Califórnia, E.U.A., os IH da encefalite tipo oeste parecem ser de menor duração do que os NT para o mesmo vírus ou os análogos da encefalite de São Luís (Froeschle e Reeves, 1965).- Dessa maneira, os soros de mesmo indivíduos, colhidos em épocas sucessivas, podem apresentar baixa de títulos ou mesmo negativas, após prévia positividade. Foi, portanto, essa a interpretação que atribuímos a algumas conversões que, nesse sentido, conseguimos observar em soros humanos. É o que se terá oportunidade de verificar nos parágrafos seguintes.

Em nossas pesquisas tivemos por objetivo surpreender possíveis infecções do homem e animais, pelos arbovírus locais. E isso com a finalidade de adquirir idéias sobre o provável ciclo enzoótico natural desses agentes e sua repercussão no ambiente humano. Dessa maneira, levamos a efeito investigações sorológicas nos soros mencionados no parágrafo correspondente à coleta do material. Para melhor exposição dos resultados, serão eles divididos nas partes correspondentes ao homem, animais domésticos e animais silvestres.

## HOMENS.

Pelo que foi exposto no segundo capítulo, a população humana da área de Casa Grande é constituída, em sua preponderante maioria, por funcionários do Departamento de Águas e Esgotos (DAE). Juntamente com suas

famílias, residem na sede do mesmo nome. Fazem exceção alguns poucos, localizados em Poço Preto e Barragem, onde exercem as funções de guardas. Quanto a Boracéia, nela se acham instalados alguns funcionários do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura, encarregados da manutenção dessa estação biológica.

Por conseguinte, interessou às nossas investigações o exame, senão de toda, pelo menos de parte representativa dessa população. Neste particular se fêz sentir, como tivemos ocasião de assinalar, a ausência de serviço médico local que pudesse dispor de educadoras sanitárias. Em vista disso, não obtivemos a composição dessa população, nem, portanto, efetuamos o levantamento de amostra que pudéssemos, de maneira insofismável, apresentar como representativa. Todavia, à luz dos conhecimentos disponíveis, quer nos parecer que o nosso material não se afastou sensivelmente desse aspecto. Na impossibilidade, portanto, de realização de censo detalhado, recorremos à Administração local (3a. Zeladoria da Adutora do Rio Claro), no sentido de nos fornecer o número total de residentes, ou seja, dos funcionários e seus dependentes. Obtivemos assim a informação até setembro de 1965, valor êsse que somado ao dos residentes em Boracéia, deu-nos idéia global da população estável. Êsse total, pois, incluiu 490 indivíduos, assim distribuídos:

Casa Grande (sede e área total) .....	485
Boracéia .....	5
Total geral .....	490

Nas colheitas de sangue, conforme exposto, conseguimos sangrar 322 pessoas (Tabela 4.1) as quais foram examinadas ao menos uma vez e para um ou mais vírus. Destarte, ao considerarmos êsses totais, verificaremos que o material empregado representaria pelo menos 65,7% da população local, uma vez que, deliberadamente, excluímos os indivíduos de idades inferiores a cinco anos. Por outro lado, embora o simples convite ao fornecimento de sangue não constitua a maneira ideal para a coleta de amostra representativa, o atendimento foi apreciável. Os indivíduos que não compareceram à sangria, muito provavelmente teriam se recusado de maneira idêntica, caso tivessem sido sorteados, máxime se levarmos em conta a ausência de eficiente educação sanitária. Em tais condições não temos motivos para crer que o método de seleção empregado pudesse levar a êrro sistemático de amostragem.

Portanto, passaremos a tratar o conjunto de dados em questão, como tendo características de uma amostra probabilística, da população estável da área de Casa Grande, com cinco ou mais anos de idade.

Contando com a colaboração e apoio da administração local, as san

grias em Casa Grande foram levadas a efeito em dias predeterminados. Es colhemos para tanto, ocasiões em que se efetuava o pagamento mensal. E is so porque, assim procedendo, tínhamos maior oportunidade de encontrar na sede, os trabalhadores, que normalmente exerciam suas atividades diárias fora. Em geral, os apelos foram bem atendidos. Em troca, eram fornecidas aos doadores, oportunidades de realização de exames outros de que necessitassem, além do fornecimento de remédios analgésicos e antipiréticos.

Desde o início, programamos a execução de coletas anuais sucessivas, as quais nos possibilitassem observar o comportamento das respostas sorológicas. Dessa forma, levamos a efeito duas colheitas, uma em 18 de março de 1964 e outra em 12 de maio de 1965. A comparação das mesmas, proporcionou a verificação de conversões sorológicas, como relatado nos parágrafos seguintes.

No que concerne às localidades nos arredores de Casa Grande, as sangrias foram realizadas mediante visitas. Verificou-se também o comparecimento de alguns dêsses doadores nas coletas efetuadas na sede, ocasião em que ali se encontravam de passagem. Como se poderá verificar pelo exame da Tabela 4.2, até o momento foi de 76 o número de pessoas residentes em várias localidades vizinhas, das quais tivemos possibilidade de conseguir sangue para a investigação sorológica.

Outro fator que, no caso específico dos agentes do grupo B, teve de ser levado em consideração, foi a possibilidade de pessoas terem sido prêviamente vacinadas contra a febre amarela. Em vista disso, êsse dado foi cuidadosamente inquirido quando da coleta material. Os indivíduos assim diferenciados, foram sistematicamente excluídos da análise, para os resultados obtidos com êste grupo de vírus.

Para o cálculo da prevalência levamos em conta os dados observados por ocasião da última coleta, ou seja, a de 1965. Isto porque, informações recentes, revestem-se sempre de maior interêsse na investigação epidemiológica. Tais resultados se acham globalmente expostos na Tabela 4.3. Ôbviamente, a incidência baseou-se naqueles conseguidos de indivíduos sangrados em ambas as ocasiões.

As proporções foram submetidas à análise através de cálculo do intervalo de confiança com, pelo menos, 95% de confiança. Tais valores foram obtidos mediante o emprêgo da seguinte fórmula (Sukhatme, 1954):

$$\hat{p} \pm K_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n-1} \cdot \frac{N-n}{N}}$$

na qual:

$\hat{p}$	proporção de positivos observada
n	número de soros examinados
N	número de indivíduos da população (máximo de 490)
$K_{\alpha/2} = (100 - \alpha/2)$	percentil da distribuição normal reduzida
$1 - \alpha$	confiança adotada.

Dessa maneira, serão expostos a seguir, os resultados obtidos em Casa Grande e em algumas localidades vizinhas.

### CASA GRANDE

Julgamos de interesse a verificação de possível influência por parte de certos fatores, na ocorrência de algumas das infecções detectadas. Pesquisamos pois, os referentes ao tempo de residência e sexo, apresentando em seguida, os dados concernentes à prevalência e incidência gerais. Tais elementos foram analisados em relação à transmissão dos agentes Boracéia, Tacaiuma e do Grupo B. E isso porque foram eles os que forneceram maior número de reações positivas, como se pode verificar na Tabela 4.3. Quanto aos demais, limitamo-nos a descrever-lhes a presença.

Conforme anteriormente assinalado, o nível quantitativo dos anticorpos de vários tipos quando dosado em diversos indivíduos, pode sofrer oscilação. Isto é comum em se tratando de anticorpos heterófilos. Dessa maneira, como se trata de diagnóstico de grupo, a interpretação das reações deve levar em conta essa circunstância. Para o caso do Grupo B, - o único a ter os resultados analisados neste trabalho - os dados obtidos com os soros pares, ou seja, dos indivíduos submetidos às duas sangrias, tiveram de ser devidamente interpretados. Tanto é que, ao lado daqueles que se revelaram negativos ou positivos em ambas as ocasiões, ocorreram os que mostraram conversões. Estas, na segunda coleta, não se fizeram apenas no sentido da positividade, mas também no da negatividade. Destarte, embora não o possamos afirmar categoricamente, consideramos totalmente negativos para os nossos antígenos, os soros que assim se revelaram, tanto em 1964 como em 1965. Aquêles que, sendo anteriormente positivos, reverteram-se no segundo exame, para negativos, incluímos no contingente de positividade apenas para o estudo da possível influência do tempo de residência. Assim fize

mos porque interpretamos tal resultado como consequência sòmente de baixa nos títulos e, portanto, deixando de serem detectados pelas provas que em pregamos.

### Boracéia, Tacaiuma e Grupo B

O material analisado para êstes agentes, consta da Tabela 4.4.

#### Tempo de residência.

Desde que pretendamos investigar as possibilidades dêsses vírus se transferirem para o ambiente humano, interessou-nos observar o provável caráter autóctone de tais infecções. Julgamos pois, que seria importante ve rificar a possibilidade de terem sido primordialmente adquiridas nesta re gião. Para tanto, levamos em consideração o tempo de residência dos habi tantes de Casa Grande.

Escolhemos o intervalo de tempo de cinco - dez anos. Formamos as sim, conjunto que incluiu pessoas nascidas na região, com outras. Para as primeiras, o mencionado período de tempo correspondeu, também, às suas idades. Tal escolha foi motivada pelo objetivo de visar grupo cuja chegada a Casa Grande não fôsse muito antiga. Com isso, pressupomos que, em tais pessoas, a influência das condições de outros locais é mais recente e, portanto, mais fâcilmente detectável. Nessa mesma ordem de idéias, poder-se-ia argumentar se não teria sido melhor considerar tempo de residência ainda mais curto do que o escolhido. Todavia, as dificuldades referidas na coleta de sangue de crianças menores de cinco anos, impediram que adotássemos essa atitude.

Convirá ressaltar que, quanto aos dados de tempo de residência e idade, compulsamos os resultados das duas sangrias. No caso dos indivíduos submetidos a uma só, em 1964 ou em 1965, foram êles incluídos simples mente com os dados disponíveis em tais ocasiões. No que concerne aos que compareceram às duas coletas, procedemos da seguinte maneira. Aquêles que se revelaram positivos em ambas, foram considerados com os dados re ferentes à primeira coleta (1964). Por sua vez, os que revelaram ambos os resultados negativos ou convergência para positividade nõ segundo exame, foram incluídos com os atributos relativos à época da segunda sangria (1965).

Uma vez estabelecido o período de residência, poderemos tecer as seguintes considerações. Designaremos como  $p_1$ , a verdadeira proporção de indivíduos positivos existente no grupo daqueles nascidos em Casa Grande e cuja idades ocorrem no mencionado intervalo de tempo. Por sua vez,  $p_2$  será a real proporção de positivos presentes no conjunto de pessoas nasci das nesse local, mas que ali residem há cinco - dez anos. Assim sendo, ten

Tabela 4.3 - Resultados obtidos nas reações sorológicas (IH e NT) com soros humanos correspondentes à sangria de 1965, segundo a procedência e o grupo. (§)

	Casa Grande	ARREDORES					
		Rib. Grande	Fazen da Palma	Pedra Queimada	Serenque	Pau a Pique	Campinho
Grupo A EL EO Mayaro Mucambo	0/284	0/24	0/5	0/2	0/5	0/19	0/5
Grupo B Bussuquara ESL FA Ilhéus	37/275 24 31 5 12	1/24  1 1	1/5 1  1	0/2    	1/5 1 1  	2/19 2 1  1	1/5 1 1  
Grupo C Caraparu Marituba Oriboca	9/284 3  8	1/24  1	0/5  	0/2  	0/5  	0/19  	0/5  
Grupo Bunyamwera Guaroa Vale Cache	2/284 1 1	0/24  	0/5  	0/2  	0/5  	0/19  	0/5  
Califórnia	0/284	0/24	0/5	0/2	0/5	0/19	0/5
Grupo Phlebotomus Anhangá Icoaraci Itaporanga	1/284  1  	0/24   	0/5   	0/2   	0/5   	0/19   	1/5   1
Tacaiuma	42/284	5/24	1/5	0/2	1/5	4/19	0/5
Boracéia	62/239	0/12	2/3	0/1	2/4	1/16	1/4

(§) número de positivos/número de examinados.

Tabela 4.4 - Número de pessoas sangradas e de soros testados para os vírus Boracéia, Tacaiuma e Grupo B, em Casa Grande e arredores, nas duas coletas (1964 e 1965).

Vírus	CASA GRANDE				ARREDORES				TOTAL			
	Soros		Número		Soros		Número		Soros		Número	
	pares	únicos	pes.	prov.	pares	únicos	pes.	prov.	pares	únicos	pes.	prov.
Boracéia	144	125	269	413	8	48	56	64	152	173	325	477
Tacaiuma	159	161	320	479	9	69	78	87	168	230	398	566
Grupo B	156	160	316	472	9	66	75	84	165	226	391	556
<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>446</b>	<b>905</b>	<b>1364</b>	<b>26</b>	<b>183</b>	<b>209</b>	<b>235</b>	<b>485</b>	<b>629</b>	<b>1114</b>	<b>1599</b>

tamos comparar as duas proporções. Em outras palavras, procuramos testar, a um nível de significância de 5%, a hipótese de nulidade  $H_0 : p_1 = p_2$ , contra a alternativa  $H_1 : p_1 < p_2$ .

Compreende-se tal raciocínio, uma vez que, com a entrada nessa região de pessoas já positivas, a alternativa  $H_1$  deveria ocorrer. E isso porque, em ambos os casos, os indivíduos estiveram expostos às condições de Casa Grande, durante o mesmo tempo.

Feitas essas considerações, apresentaremos os resultados observados com os vírus supracitados.

Boracéia. - Os dados relativos a este agente, acham-se expostos na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Prevalência do vírus Boracéia em habitantes de Casa Grande, segundo o tempo de residência (t.r.) de 5-10 anos, e a naturalidade para a região (nt.).

t.r.	5			6			7			8			9			Total			
	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	
nt.																			
Nascidos	2	0	2	4	0	4	9	4	13	9	4	13	8	4	12	32	12	44	
Não nascidos	13	0	13	3	0	3	0	0	0	1	1	2	3	3	6	20	4	24	

Por esses dados podemos verificar que as proporções observadas são as seguintes:

$$p_1' = \frac{12}{44} \cdot 100 = 27,27\%$$

$$p_2' = \frac{4}{24} \cdot 100 = 16,67\%$$

Como se pode ver,  $p_2'$  apresentou-se sensivelmente inferior a  $p_1'$ . Esses simples fatos dispensam, por si só, a realização formal do teste de hipóteses.

tese proposta. Em outras palavras, deve-se aceitar a igualdade das duas proporções ( $H_0$ ).

Conclui-se, portanto, que os indivíduos procedentes de outros locais, muito dificilmente teriam sofrido a infecção pelo vírus Boracéia. Cumpre ainda assinalar que a idade média das 44 pessoas nascidas em Casa Grande foi de 7,7 anos. Por sua vez, o valor correspondente às vinte e quatro não nascidas ali, foi de 22,6, com tempo médio de residência igual a 6,3 anos. Por conseguinte, deve-se admitir que estes últimos, ao chegarem à região, apresentavam, em média, idade equivalente a  $22,6 - 6,3 = 16,3$ . Assim sendo, é lícito supor que tais pessoas estiveram expostas ao risco de uma possível infecção, pelo espaço de tempo de 16,3 anos, antes de se fixarem em Casa Grande. Mesmo assim, os dados não acusaram aumento significativo da positividade, nesse grupo de indivíduos.

Uma vez admitida a presença do vírus Boracéia nessa região, julgamos que seria de interesse conhecer algo que sugerisse sua transmissão de tempos passados, ou se tal fenômeno é de ocorrência relativamente recente. Nesse particular é de se admitir que, a ser verdadeira a primeira hipótese, a proporção de indivíduos positivos deva elevar-se com o aumento do tempo de residência. Desta maneira, para levar a efeito tal verificação, consideramos as proporções de positivos relativas a períodos acumulados de três anos de permanência em Casa Grande. Assim procedendo, tornou-se possível obter maior número de elementos para comparações. As apurações forneceram os resultados expostos na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 - Prevalência do vírus Boracéia em habitantes de Casa Grande, de acordo com o tempo de residência (t. r.) em anos.

t. r.	R e s u l t a d o s			
	-	+	T	%
0  ----- 3	12	5	17	29,4
0  ----- 6	35	8	43	18,6
0  ----- 9	60	17	77	22,1
0  ----- 12	102	32	134	23,9
0  ----- 15	141	41	182	22,5
0  ----- 18	152	45	197	22,8
0  ----- 21	168	55	223	24,7
0  ----- 24	179	59	238	24,8
Qualquer	200	69	269	25,6

Conforme o exposto, tais resultados também dispensam a realização de teste estatístico. As proporções mostraram-se equivalentes para os diversos tempos de residência. Por conseguinte, deve-se admitir não ser este fator de caráter relevante na positividade para o agente em questão. É lícito, pois, supor que as condições favoráveis para a transmissão desse vírus ao homem, em Casa Grande, tenham ocorrido a partir de época recente.

Tacaiuma. - Em relação a este vírus, os dados apurados encontram-se na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Prevalência do vírus Tacaiuma em habitantes de Casa Grande, segundo o tempo de residência (t.r.) de 5 — 10 anos e a naturalidade para a região (nt.).

nt.	t.r.	5			6			7			8			9			Total		
		resultados	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+
Nascidos		2	0	2	7	0	7	16	2	18	13	2	15	14	0	14	52	4	56
Não nascidos		4	0	4	3	0	3	0	0	0	2	1	3	2	0	2	11	1	12

Por conseguinte, as proporções observadas foram as que se seguem:

$$p_1' = \frac{4}{56} \cdot 100 = 8,69\%$$

$$p_2' = \frac{1}{12} \cdot 100 = 8,33\%$$

O que foi dito a respeito do agente anterior, pode ser repetido aqui. Aceita-se, pois, a igualdade de ambas as proporções ( $H_0$ ).

Seguindo-se o mesmo raciocínio anterior, assinale-se que a idade média das 56 pessoas nascidas na região, foi de 7,6 anos, enquanto a das 12 outras revelou-se de 23,2, com tempo médio de residência correspondente a 6,7 anos. Dessa maneira, estes últimos, ao chegarem ao local, possuíam, em média, idade correspondente a  $23,2 - 6,7 = 16,5$  anos. Supõe-se portanto que durante esse período, tais indivíduos poderiam ter entrado em

contato com o agente Tacaiuma, fora dessa área. Conclui-se pois, que também neste caso as infecções por este vírus, dificilmente poderiam ter sido adquiridas por essas pessoas, fora de Casa Grande.

Quanto à possibilidade deste vírus estar agindo recentemente ou de épocas mais afastadas, a Tabela 4.8 fornece os dados apurados, em relação ao tempo de residência.

Tabela 4.8 - Prevalência do vírus Tacaiuma em habitantes de Casa Grande, de acordo com o tempo de residência (t.r.).

t.r.	R e s u l t a d o s			
	-	+	T	+%
0  —— 3	18	1	19	5,3
0  —— 6	44	7	51	13,7
0  —— 9	88	12	100	12,0
0  —— 12	146	15	161	9,3
0  —— 15	202	23	225	10,2
0  —— 18	215	26	241	10,8
0  —— 21	242	30	272	11,0
0  —— 24	258	31	289	10,7
Qualquer	279	41	320	12,8

A observação dessa apuração leva a conclusão análoga à do caso anterior. O tempo de residência não constitui fator de influência nas proporções de positividade. Poder-se-ia argumentar com o primeiro grupo, de 0 |—— 3 anos, que apresentou índice de 5,3%, sensivelmente menor do que os demais. Contudo, o pequeno número de casos ali incluídos torna um tanto problemático considerá-lo como indicativo de alguma significância.

Desta maneira, pelas atuais evidências, tudo nos leva a crer que a transmissão humana do agente Tacaiuma nessa região, constitua fenômeno de ocorrência relativamente recente.

Grupo B. - Os dados concernentes a agentes deste grupo, acham-se na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Prevalência de vírus do Grupo B em habitantes de Casa Grande, segundo o tempo de residência (t.r.) de 5 — 10 anos, e a naturalidade para a região (nt.).

nt. \ t.r.	5			6			7			8			9			Total		
	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t	-	+	t
Nascidos	1	1	2	6	1	7	16	2	18	16	2	18	13	1	14	52	7	59
Não nascidos	13	1	14	3	0	3	1	0	1	3	1	4	1	1	2	21	3	24

Com isso, as proporções verificadas são as seguintes:

$$p_1' = \frac{7}{59} \cdot 100 = 11,82\%$$

$$p_2' = \frac{3}{24} \cdot 100 = 12,50\%$$

Uma vez que  $p_2'$  mostrou-se superior a  $p_1'$ , tornou-se necessária a realização do teste  $\chi^2$  de significância. Para tanto, dispomos dos dados totais referentes a indivíduos examinados para o Grupo B, e divididos segundo a naturalidade, os quais estão na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 - Total de indivíduos de Casa Grande examinados para o Grupo B, com tempo de residência de 5 — 10 anos, divididos segundo a naturalidade para a região.

resul tados natu ralidade	-	+	Total
Nascidos	52	7	59
Não nascidos	21	3	24
Total	73	10	83

Desde que, como se pode verificar, existe frequência esperada menor de 5, para comparar as proporções de  $p_1'$  e  $p_2'$ , tivemos de lançar mão do teste exato de Fisher. Com esse método obtivemos probabilidade associada à tabela observada, de 28,39%. Por conseguinte, maior do que o nível de significância previamente adotado, ou seja, de 5%. Daí se conclui pela igualdade das proporções de conversões para os indivíduos nascidos e não nascidos em Casa Grande, em relação a agentes deste Grupo B de vírus ( $H_0$ ).

É lícito pois supor que tais habitantes, quando de sua instalação em Casa Grande, muito provavelmente não traziam infecções por estes agentes. Com efeito se, à semelhança do que fizemos para os anteriores, considerarmos a idade média das 59 pessoas ali nascidas, obteremos valor correspondente a 7,6 anos. Por outro lado, aquele correspondente às não nascidas, será de 24,8 com tempo médio de residência de 6,0 anos. Em vista disso, pode-se admitir que estes últimos habitantes possuíam, por ocasião da chegada, idade média correspondente a  $24,8 - 6,0 = 18,8$  anos. Assim, podemos conceber que tais indivíduos estiveram expostos ao risco de possível infecção pelo espaço de tempo, em média, de 18,8 anos, antes de sua fixação em Casa Grande. Se, mesmo assim, os dados não revelaram apreciável diferença entre as duas proporções, é de se admitir a viabilidade da suposição exposta no início deste parágrafo.

Admitindo-se pois, a presença de um ou mais arbovírus do Grupo B agindo na área de Casa Grande, poderíamos tentar conseguir alguma evidên

cia sôbre a época dessa transmissão. Raciocinando de maneira análoga à que adotamos para os dois vírus precedentes, elaboramos os dados constantes da Tabela 4.11.

Tabela 4.11 - Prevalência de vírus do Grupo B em habitantes de Casa Grande, de acôrdo com o tempo de residência (t.r.).

t.r.	R e s u l t a d o s			
	-	+	T	♦ %
0  ——— 3	17	1	18	5,5
0  ——— 6	44	6	50	12,0
0  ——— 9	88	12	100	12,0
0  ——— 12	144	20	164	12,2
0  ——— 15	193	29	222	13,1
0  ——— 18	205	38	243	15,6
0  ——— 21	223	49	272	18,0
0  ——— 24	236	53	289	18,3
Qualquer	251	65	316	20,6

Verifica-se, portanto, que êsses resultados estão indicando aumento das proporções, em relação ao tempo de residência. Dessa forma, isso demonstra provável influência dêste fator sôbre a prevalência de infecções por agentes do Grupo B. Em vista disso, pode-se admitir duas hipóteses explicativas. A primeira seria a de que, ao contrário do que foi inferido em relação aos vírus precedentes, deve-se reconhecer a presença de um agente dêsse Grupo cuja atividade constante, na área de Casa Grande, está se processando há bastante tempo. A segunda leva à suposição da existência de vários dêsses vírus. Êles poderiam estar todos em atividade, desde época anterior, ou então, cada um teria agido em ocasiões diferentes, remotas ou

recentes, sucessivas ou não. Compreende-se que, nesse caso, aqueles que cessaram de ser transmitidos, quando de nossas investigações, teriam mesmo assim deixado a marca de sua atividade nos anticorpos que detectamos.

### Sexo.

Para avaliar a possível influência deste fator, lançamos mão dos soros pareados ou sejam aqueles correspondentes aos indivíduos que foram sanados nas duas ocasiões. Assim procedendo, pôde-se verificar o comportamento dos que forneceram conversões positivas. Com esse objetivo, incluímos os soros que apresentaram tais resultados, juntamente com os que se conservaram negativos em ambos os exames.

Boracéia. - No que concerne aos soros pareados, os resultados obtidos, segundo os sexos, acham-se expostos na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 - Soros humanos pareados (1964/1965) de Casa Grande, testados para o vírus Boracéia, segundo os sexos.

Sexo	Resultados (1964/1965)		Total
	( -, - )	( -, + )	
Masculino	64	10	74
Feminino	28	5	33
Total	92	15	107

Analisando tais resultados, verifica-se que não existe diferença significativa, ao nível de 5%, entre as proporções de conversões para ambos os sexos. Com efeito, o cálculo do  $\chi^2$  forneceu o resultado seguinte:

$$\chi^2_1 = 0,051$$

Diante disso concluímos que o fator sexo, não pode, à luz dos dados atualmente disponíveis, ser considerado como de relevância na infecção por este vírus.

Tacaiuma. - Da mesma forma que para o caso precedente, os dados encontram-se na Tabela 4.13.

Tabela 4.13 - Soros humanos pareados (1964/1965) de Casa Grande, testados para o vírus Tacaiuma, segundo os sexos.

Sexo	Resultados (1964/1965)		Total
	( - , - )	( - , + )	
Masculino	77	11	88
Feminino	51	7	58
Total	128	18	146

Calculando-se o  $\chi^2$ , o resultado foi:

$$\chi_1^2 = 0,006$$

Isto mostra que, também aqui, não existe diferença significativa ao nível de 5%, entre as proporções de conversões para ambos os sexos. Da mesma forma pois, êste fator não pode, em nossas observações, ser tido como relevante, na infecção pelo vírus Tacaiuma.

Grupo B. - Os dados referentes a agentes dêste grupo sorológicos, encontram-se na Tabela 4.14.

Tabela 4.14 - Soros humanos pareados (1964/1965) de Casa Grande, testados para vírus do Grupo B, segundo os sexos.

Sexo	Resultados (1964/65)		Total
	( -, - )	( -, + )	
Masculino	69	4	73
Feminino	43	5	48
Total	112	9	121

Com o propósito de testar a hipótese de que a proporção de conversões positivas seja a mesma para ambos os sexos, lançamos mão do teste exato de Fisher, porque existem frequências esperadas menores do que 5, o que impede o uso do teste do  $\chi^2$ . Assim procedendo, verificamos que a probabilidade associada à tabela observada, é de 16,5%, por conseguinte, maior do que o nível de significância previamente adotado (5%). Em vista disso, pode-se concluir pela igualdade de proporções de conversões nos dois sexos não sendo necessário considerar as tabelas mais discrepantes que a observada.

Pelos dados supra-expostos, verifica-se que uma mesma conclusão é válida para os três vírus observados, ou seja, que o sexo não se constitui em fator de relevância na ocorrência dessas infecções humanas, na região estudada.

#### Prevalência e incidência.

Pelo que acima afirmamos, as evidências indicam o caráter autóctone dessas infecções e a influência nula por parte dos fatores referentes à idade e sexo da população. Assim sendo, pode-se passar a considerar os aspectos obtidos no cálculo da prevalência e da incidência. Aquela, como citamos, baseada nos dados conseguidos na sangria de 1965.

Boracéia. - Foram examinados para este agente, 239 pessoas que representam, pelo menos, 48,77% da população de Casa Grande. Dêsse total, 62 revelaram-se com soros positivos para este vírus. Tal resultado forneceu proporção de 25,94%. Baseado neste dado, o intervalo de confiança para

a verdadeira proporção de positivos em 1965, em relação a Boracéia, é de: 21,96% |————| 29,92%.

Para obtermos idéia da transmissão ocorrida durante espaço de tempo entre as duas coletas, utilizamos a análise dos resultados obtidos com os soros pares. Do total destes, consideramos os que, em 1964, se revelaram negativos para o agente em questão. O número deles foi de 109, dos quais, quatorze passaram à positividade por ocasião das provas levadas a efeito em 1965. Dessa forma, a proporção obtida foi de 12,84% e, baseado nela, o intervalo de confiança para a verdadeira proporção de positivos em 1965, correspondeu a 7,27% |————| 18,41%.

Conclui-se que, pelo nossos dados, a prevalência do vírus Boracéia na população de Casa Grande, observada em 1965, foi de aproximadamente 26%. Por sua vez, a transmissão do vírus a êsses habitantes, durante o período de março de 1964 a maio de 1965, traduziu-se por incidência de cerca de 13%, no material examinado.

Tacaiuma. - Na mesma ordem de idéias seguidas para o precedente, o número de indivíduos testados para êste agente em 1965, foi de 284, ou seja, correspondente a, pelo menos, 57,96% da população local. Tornou-se possível evidenciar a positividade em 42 deles, o que forneceu proporção equivalente a 14,79%. Com base neste resultado, o intervalo de confiança para a verdadeira proporção de positivos para Tacaiuma em 1965, é de: 12,11% |————| 17,47%.

No que diz respeito à incidência, obedecemos a raciocínio análogo ao anterior. Com efeito, verificamos que de 144 soros negativos por ocasião da primeira coleta (1964), 19 apresentaram conversão para a positividade, quando da segunda. Isso equivale à proporção de 13,19% que forneceu o intervalo de confiança para a verdadeira proporção de positivos em 1965, correspondente a 8,53% |————| 17,85%.

Destarte, nessas observações de 1965 para o vírus Tacaiuma, surpreendemos a prevalência de cerca de 15% na população de Casa Grande. Além disso, durante o período decorrido entre as duas sangrias, êsses habitantes estiveram sujeitos à transmissão ativa do agente, cuja incidência no material testado, esteve ao redor de 13%.

Grupo B. - Na análise dos dados referentes a agentes dêste grupo de arbovírus, tivemos que considerá-los como um todo. As razões dêsse procedimento foram expostas quando tratamos da interpretação dos resultados das reações sorológicas empregadas neste trabalho. Conseqüentemente, a positividade para um ou mais dos antígenos utilizados, foi considerada como referente ao conjunto sorológico ao qual êles pertencem, no caso, o grupo B.

Neste particular, tivemos de levar em consideração, a existência de possível vacinação prévia para a febre amarela. Dessa maneira, por ocasião da sangria, essa informação foi cuidadosamente investigada. Como resultado, do conjunto de soros de 1965, somente nove pertenciam a pessoas anteriormente vacinadas para o vírus amarílico. Em vista disso, foram considerados na análise dos resultados para este grupo de vírus,

O número de pessoas submetidas a provas para estes agentes, em 1965, foi de 175, o que corresponde a, pelo menos, 56,12% da população. Regiram positivamente 37, daí resultando proporção de 13,45%. Com tais dados, o intervalo de confiança para a verdadeira proporção de positivos em relação a vírus do Grupo B nessa data, equivale a 10,77% — 16,13%.

Quanto à incidência, a estimativa da proporção de novas infecções baseada na análise dos dados obtidos com os soros pares, obedeceu a critério de interpretação já assinalado em parágrafo anterior. Dessa maneira, considerando-se os resultados conseguidos em ambas as sangrias, pôde ser realizada a Tabela 4.15.

Tabela 4.15 - Resultados obtidos para agentes do Grupo B, com soros humanos de Casa Grande, coletados em 1964 e 1965. (§)

Sangria de 1965 \ Sangria de 1964	-	+	Total
-	111	9	120
•	19	15	34
Total	130	24	154

(§) Excluídos aqueles com vacinação declarada para a febre amarela.

Como podemos observar, houve nove casos que apresentaram conversão para a positividade, quando do segundo exame. Contudo, as pessoas que se revelaram positivas em ambas as ocasiões, poderiam ter sofrido outras inoculações durante esse período de tempo. Nessas condições, os seus títulos

los de anticorpos teriam se elevado, o que permitiu serem detectados na oportunidade do segundo teste. Por conseguinte, ao pretendermos calcular a estimativa da proporção de transmissões resolvemos incluir, além daqueles nove casos, uma parte dêesses quinze outros, cujo resultado revelou-se duplamente positivo. Com a finalidade de conhecer o montante dêestes últimos, a ser levado em conta, obedecemos ao raciocínio seguinte:

Se considerarmos o número total de soros pares testados, e dêele excluirmos áquêles dotados de dupla positividade, teremos  $154 - 15 = 139$ . Desta maneira, a proporção observada de novas infecções, ou seja, de soros que se converteram de negativos a positivos, foi de  $9/139 \cdot 100 = 6,47\%$ . Com isso, o intervalo de confiança de 97,5% (§) para a verdadeira proporção de suas primoinfecções, é de:

$$2,4\% \quad | \text{-----} | \quad 10,54\% \quad (1)$$

Por conseguinte, com 97,5% de confiança pode-se supor que, dos 15 indivíduos duplamente positivos, no máximo 10,54% dêeles poderiam ter sofrido do nova inoculação. Isso equivale a cêrca de duas pessoas. De modo análogo, no mínimo 2,4%, ou seja, nenhum dêeles, teria sido novamente inoculado. Tais dados nos levam a pensar que a proporção de transmissões no período considerado, terá sido de:

no máximo

$$\frac{9 \diamond 2}{139 - 15} \cdot 100 = 7,14\%$$

no mínimo

$$\frac{9 \diamond 0}{139 - 15} \cdot 100 = 5,84\%$$

Com base em tais dados, os intervalos de confiança de 97,5% (§) serão, respectivamente:

$$\text{no máximo} \quad 3,18\% \quad | \text{-----} | \quad 11,10\% \quad (2)$$

$$\text{no mínimo} \quad 2,24\% \quad | \text{-----} | \quad 9,44\% \quad (3)$$

(§) Desde que, para o estabelecimento do intervalo (2) utilizamos os resultados do (1), e uma vez que desejávamos confiança global em (4), de pelo menos 95%, calculamos individualmente o (1) e (2) com 97,5% de confiança. Para o (1) e (3) procedemos de maneira análoga (Berquó e Marques, 1963).

Dessa forma, podemos dizer que o intervalo de confiança de, pelo menos, 95% para a verdadeira proporção de transmissões de agentes do Grupo B em Casa Grande, durante o período de 1964 - 1965, é dado por:

$$2,24\% \quad | \text{————} | \quad 11,10\% \quad (4)$$

Do que acima está exposto, verifica-se pois que, em nossas observações, a população de Casa Grande mostrou-se infectada por um ou mais vírus do Grupo B, com prevalência equivalente a aproximadamente 13%. Por sua vez, durante o intervalo de tempo entre 1964 e 1965, a transmissão processou-se de maneira ativa, com incidência de cerca de 6%. Todavia, ressalte-se que os resultados tiveram de ser submetidos a cautelas interpretativas assinaladas em parágrafo anterior.

Em resumo, o exame sorológico da população humana de Casa Grande revelou a presença de infecções atribuíveis aos agentes Boracéia e Taicauma, além de vírus pertencentes ao Grupo B. Com relação aos dois primeiros, não conseguimos evidenciar influência significativa por parte dos fatores sexo e tempo de residência. No que tange a este último, tais resultados indicam, muito provavelmente, que a transmissão desses dois vírus está se processando a partir de época relativamente recente.

Quanto ao Grupo B, as evidências indicam a presença de transmissão ativa de um ou mais agentes desse conjunto sorológico. Aqui o fator relacionado ao tempo de residência, mostrou-se influente. Isso poderá indicar ou transmissão desde há tempo considerável, ou então a presença de vários agentes cuja atividade se faz sentir em épocas diversas. De qualquer forma, tais dados parecem confirmar o fato de, em realidade, os nossos resultados serem devidos a reações cruzadas para antígenos não específicos.

#### Outros vírus.

Em relação a outros arbovírus, a observação da Tabela 4.3, demonstra alguma reatividade sorológica por parte dos habitantes de Casa Grande. Todavia, tais evidências são em número reduzido, motivo pelo qual não serão submetidas a análises tão detalhadas como para os casos precedentes.

Grupo C. - Da sangria de 1965, foi nove o número total de pessoas cujos soros reagiram positivamente para este Grupo. A observação da Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Humanos, fornece idéia de tais achados (v. Apêndice). Se considerarmos que nessa ocasião o número de indivíduos submetidos à provas para estes agentes nessa oportunidade foi 284 ou seja, correspondente a pelo menos 57,96% da população local, a proporção de positividade encontrada foi de 3,17%. Com esses dados, o intervalo de confiança para a verdadeira proporção de positivos em relação a agentes do Grupo

C em 1965, equivale a 1,85%  $\left| \text{---} \right|$  4,49%.

Observando-se os casos positivos, pode-se verificar que um deles é constituído por indivíduo de doze anos de idade nascido na região. Dos demais, a maioria é formada por pessoas residentes em Casa Grande há dez ou mais anos. Isso leva a supor o possível carácter autóctone dessas infecções.

Destacando-se os soros pares, nota-se a presença de três com positividade em 1965. Dois deles apresentaram conversão para positivos, por ocasião dessa segunda sangria, enquanto o terceiro manteve-se com esse resultado em ambos exames. Com isso, embora não pretendamos tirar conclusões mais minuciosas, acreditamos poder admitir a existência de transmissão ativa durante o período de 1964-1965.

Da mesma forma que foi feito para o Grupo B, é lícito considerarmos tais resultados como frutos de reações cruzadas. Note-se a presença de um soro pareado o qual, revelando-se positivo em 1964, converteu-se para a negatividade em 1965. As considerações que, neste particular foram feitas para os resultados análogos em relação àquêlê conjunto de vírus, aplicam-se perfeitamente a êste. Contudo, o pequeno número dos mesmos, torna pouco viável a estimativa da provável incidência no período considerado.

Outros. - Considerando-se as reações de IH levadas a efeito nos 284 soros colhidos em 1965, ou seja, de pelo menos 57,96% dos habitantes locais, verificamos os seguintes resultados.

Para o Grupo Bunyamwera foram obtidos dois resultados positivos. Isso fornece proporção de 0,7% e intervalo de confiança de 0,07%  $\left| \text{---} \right|$  1,33%. Dêsses dois casos, um se refere a criança de oito anos de idade que reside no local desde a época de seu nascimento. O outro é de homem adulto, funcionário, ali residente há treze anos. Êste último caso, forneceu soro em ambas as sangrias, e o resultado positivo de 1965 constituiu-se em conversão nesse sentido, da negatividade observada em 1964 para o mesmo exame. Dessa maneira julgamos permissível admitir que algum agente dêste grupo arboviral encontra-se em ação nesta área.

No que concerne ao Grupo Phlebotomus, pôde ser detectado apenas um resultado positivo. Por conseguinte, obteve-se a proporção de 0,35% com intervalo de confiança equivalente a 0%  $\left| \text{---} \right|$  0,8%. O caso correspondeu a indivíduo adulto masculino, trabalhador local de 23 anos de idade e ali residente desde o seu nascimento. Êsse achado sugere a possibilidade da natureza autóctone dessa infecção.

Quanto aos agentes do Grupo A e do Complexo Califórnia, os resultados foram totalmente negativos.

### ARREDORES.

Como já mencionamos, foram sangradas setenta e seis pessoas residentes em várias localidades vizinhas a Casa Grande. A sua distribuição consta da Tabela 4.2. Desses habitantes, houve dezesseis que somente forneceram sangue por ocasião da primeira coleta, em 1964. Os restantes sessenta compareceram em ambas, ou pelo menos na última, e os resultados obtidos com esses sôros, acham-se na Tabela 4.3.

Na análise de tais resultados, não se tornou possível calcular a prevalência e incidência. E isso pelo simples motivo de não dispormos de dados fidedignos sobre a população dessas localidades. Acresce o fato de, como foi assinalado no Capítulo 2, parte dos habitantes desses núcleos não serem residentes fixos. Transferem-se de um local para outro, obedecendo às oportunidades de trabalho que surgem, principalmente por ocasião do corte de eucaliptais. Dessa forma, o seu controle torna-se bastante problemático.

De qualquer maneira, pôde-se verificar a presença de infecções pelos vírus Boracéia, Tacaiuma e do Grupo B, como as mais frequentes. A observação da Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Humanos, fornece maiores detalhes (v. Apêndice). Assinalou-se também, em 1965, um caso positivo para o C em Ribeirão Grande, e outro para o Grupo Phlebotomus em Campinho. Por sua vez, em alguns dos dezesseis soros de 1964, detectou-se a presença de positividade para aqueles mesmos agentes. Nas linhas que se guem, serão descritos os resultados observados em cada localidade.

### Ribeirão Grande.

Como vimos, trata-se de local onde existem extensas plantações de eucaliptos. As sangrias foram levadas a efeito em 1965, quando da segunda coleta em Casa Grande. Em vista disso, não pudemos dispor de soros pareados e os resultados conseguidos referem-se todos àquela data.

Foi colhido sangue de vinte e quatro pessoas, doze das quais residiam ali recentemente, ou seja, ao redor de um ano. Compreende-se que isso se tenha observado pois, nessa ocasião, preparava-se o corte de eucaliptais. Mesmo assim, foi possível obter material de habitantes mais antigos pois, dez deles, ali residiam há quinze ou mais anos.

A positividade mais frequente foi fornecida para o vírus Tacaiuma com cinco casos. Note-se que, desses resultados, quatro pertenciam a indivíduos ali chegados recentemente. O quinto, porém, foi de pessoa com vinte anos de

residência no local. Para o agente Boracéia, os resultados foram negativos. Para o Grupo B, o sôro positivo pertencia a recém-chegado, ao passo que aquêle que reagiu para o Grupo C, era morador local há quinze anos.

Diante dêsses dados, é de se pensar na possibilidade da transmissão local dêsses agentes. Especialmente se considerarmos que, para Tacaiuma, tudo indica que em Casa Grande a veiculação do mesmo esteja se fazendo a partir de época recente.

#### Fazenda Palma.

Na ocasião em que foi feita a coleta, isto é, na mesma oportunidade que para a localidade anterior, esta Fazenda possuía poucos moradores. Conseguiu-se sangrar cinco pessoas, tôdas elas com curto tempo de residência de um ano. Obtivemos dois resultados positivos para Boracéia, um para Tacaiuma e um para o Grupo B.

Neste caso, seria um tanto difícil julgar do caráter autóctone dessas infecções.

#### Pedra Queimada.

Poucos foram os soros conseguidos nesta localidade. Ao somar todos os obtidos nas duas sangrias, teremos o total de quatro. Os resultados dos testes foram totalmente negativos.

#### Serengue.

Em 1965 foram sangrados cinco moradores locais. Somando-se àquêles que sômente compareceram em 1964, teremos o total de onze soros, três dos quais pareados.

Para o vírus Boracéia observamos quatro resultados positivos. Dois dêles pertencentes sômente à primeira sangria e os outros dois, sendo pares, repetindo-se com o mesmo resultado, em ambas. Dêsses casos, um era morador local há dois anos e os outros, há dez ou mais. Para Tacaiuma e Grupo B, foi obtido um só resultado positivo, em pessoa da segunda sangria e ali recém-chegada.

A possibilidade de transmissão local do vírus Boracéia, constitui hipótese a ser investigada.

#### Pau a Pique.

Esta área compreende os denominados Bairros da 2a. e 3a. Divisões.

Foram obtidos soros de vinte e três pessoas ali residentes, quatro dos quais fornecidos apenas na primeira e outros quatro em ambas as sangrias.

Compulsando-se os resultados referentes às duas coletas, verifica-se a presença de três casos positivos para Boracéia. Um dêles, correspondente a criança recém-chegada ao local. Os outros, porém, pertencentes a dois indivíduos, de doze e treze anos de idade respectivamente, e que ali residiam desde a época do nascimento. No que concerne a Tacaiuma, quatro foram os soros que reagiram a êste agente. Um dêles, pareado, pertencente a criança com doze anos de idade ali nascida e residente, teve a sua positividade detectada em ambos os testes. Dos demais, um era morador há pouco tempo e dois, há vinte ou mais anos. Os outros resultados positivos dizem respeito ao Grupo B, com três casos. Dois dêles referentes a pessoas de nove e de doze anos, ali moradoras desde o nascimento, e o terceiro, a adulto com vinte anos de residência no local. Não se observaram conversões nos pares.

Como se pode verificar, existe a possibilidade do caráter autóctone dessas infecções, embora tenham de ser levados em consideração vários fatores, como se verá mais adiante.

#### Campinho.

Para esta localidade, do total de nove soros colhidos em ambas as sangrias, obteve-se um resultado positivo para cada um dos agentes, Boracéia, Tacaiuma, Grupo B e Grupo Phlebotomus.

O caso positivo para Boracéia foi verificado com soro par de criança de doze anos, ali residente desde a época do nascimento, tendo reagido para êsse vírus em ambas as ocasiões. Aquêles que revelou infecção por Tacaiuma, pertencia a adulto ali morador há vinte anos. Finalmente, um único soro reativo para o Grupo B e Grupo Phlebotomus, foi de criança de oito anos de idade ali nascida e residente.

Da mesma forma que para as demais localidades, pode-se suspeitar também aqui, do possível caráter autóctone dessas infecções.

É de se pensar pois, que a atividade dêsses arbovírus se faça sentir também nos habitantes de localidades vizinhas à reserva de Casa Grande. Evidentemente, para que essa hipótese pudesse ser afirmada categoricamente, torna-se imprescindível a pesquisa de vários fatores e circunstâncias locais. Mesmo porque, a situação limítrofe com as matas, propicia contato freqüente dessas pessoas com êsse ambiente natural primitivo. De qualquer modo, não se poderá excluir a possibilidade dêsses vírus atingirem tais loca

lidades, ali podendo encontrar condições favoráveis para a sua transmissão e manutenção. O mapa da Fig. 4.1, dá idéia da distribuição destes achados sorológicos humanos nos arredores de Casa Grande.

### Animais Domésticos.

A presença dessas infecções em animais domésticos pode fornecer dados interessantes sobre a possível transferência de tais agentes para esse ambiente. Já tivemos ocasião de relatar a coleta de sangue, e em que condições pôde ela ser levada a efeito.

Como não se trata de zona com atividades predominantes no setor da criação, o número de animais domésticos, principalmente os mamíferos de certo porte e as aves, é relativamente baixo. Contudo, não nos foi possível obter idéia, nem ao menos aproximada, do montante dessa população animal. Somaram-se às dificuldades já assinaladas que encontramos para a coleta do material. Limitamo-nos, pois, a sangrar os animais que estavam ao nosso alcance. As Tabelas 4.1 e 4.2, dão idéia do número total de espécimens submetidos a essa sangria. Por meio delas, pode-se verificar que, exceção feita de quatro cavalos de Ribeirão Grande, todos os demais se achavam localizados dentro da área de Casa Grande.

Para os exames levados a efeito com esses soros, empregamos as mesmas reações utilizadas para os homens, acrescidas de testes com os vírus Cocal e Junin. A possível presença destes últimos em animais domésticos, poderia servir de orientação para os futuros exames com os soros humanos.

Os dados obtidos constam da Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Animais (v. Apêndice). Nas linhas seguintes, trataremos de cada grupo em particular.

### Mamíferos.

Os resultados para os vários agentes testados, constam da Tabela 4.16. Por ela, pode-se observar que os mamíferos reagiram positivamente a Boracéia, Tacaiuma, Grupo B, Grupo Bunyamwera, Grupo Phlebotomus e Junin. Foram totalmente negativos os resultados das reações para o Grupo A, Grupo C, Complexo Califórnia e Cocal.

Os sete bovinos submetidos a exame, estavam todos instalados na Estação Biológica de Boracéia (EBB). Desses animais, quatro reagiram à IH e, dos examinados pela NT obteve-se três com reações positivas, totalizando seis animais com soros reativos a, pelo menos, um vírus. Verificou-se, portanto, a presença de reatividade para Boracéia, Tacaiuma, Grupo B,

Grupos Phlebotomus e Junin. Os resultados mais frequentes foram aqueles para o Grupo B, com quatro. Um dos animais forneceu reações positivas para Tacaiuma, Grupo B e Grupo Phlebotomus, e outro também para todos esses e mais Boracéia. Os demais bovinos mostraram-se reativos somente para um daqueles agentes. O espécime que se revelou positivo no teste de NT para Junin, constitui o único resultado obtido por nós nesse sentido, até agora, em animais domésticos da região.

Para os quinze cães examinados, foi-nos possível evidenciar reatividade de sorológica em sete deles. Deu-se ela em relação a agentes do Grupo B, Grupo Bunyamwera, Grupo Phlebotomus, Tacaiuma e Boracéia. Não se observaram testes positivos para o Grupo A, Grupo C, Complexo Califórnia, Cocal e Junin. Dos animais positivos, três estavam em Casa Grande, dois na Estação Biológica de Boracéia e dois na Barragem. Um dos pertencentes à EBB revelou-se com o soro reativo para o Grupo B, Grupo Bunyamwera e Grupo Phlebotomus. Os resultados mais frequentemente encontrados foram aqueles concernentes ao vírus Boracéia e do Grupo B, com quatro e três casos, respectivamente. Assim sendo, aquele agente foi revelado em dois cães da Barragem, e dois de Casa Grande, o Grupo B e um da EBB e dois de Casa Grande. Quanto aos demais agentes, Tacaiuma acusou sua presença em um animal da EBB, o Grupo Bunyamwera em outro da mesma localidade juntamente com um da Barragem, e, finalmente, o Grupo Phlebotomus revelou-se, como foi acima citado, em um cão da EBB.

Dos oito equinos sangrados, quatro pertenciam à localidade de Ribeirão Grande, fora da reserva, enquanto os outros estavam em Casa Grande. Foram obtidos resultados positivos em três desses animais e somente para o vírus Boracéia e Grupo B. O primeiro agente encontrou reatividade nos soros de dois equinos, um de cada uma daquelas localidades. Quanto às respostas para o Grupo B, foram elas observadas nos três, isto é, nos mesmos animais citados e mais um de Casa Grande.

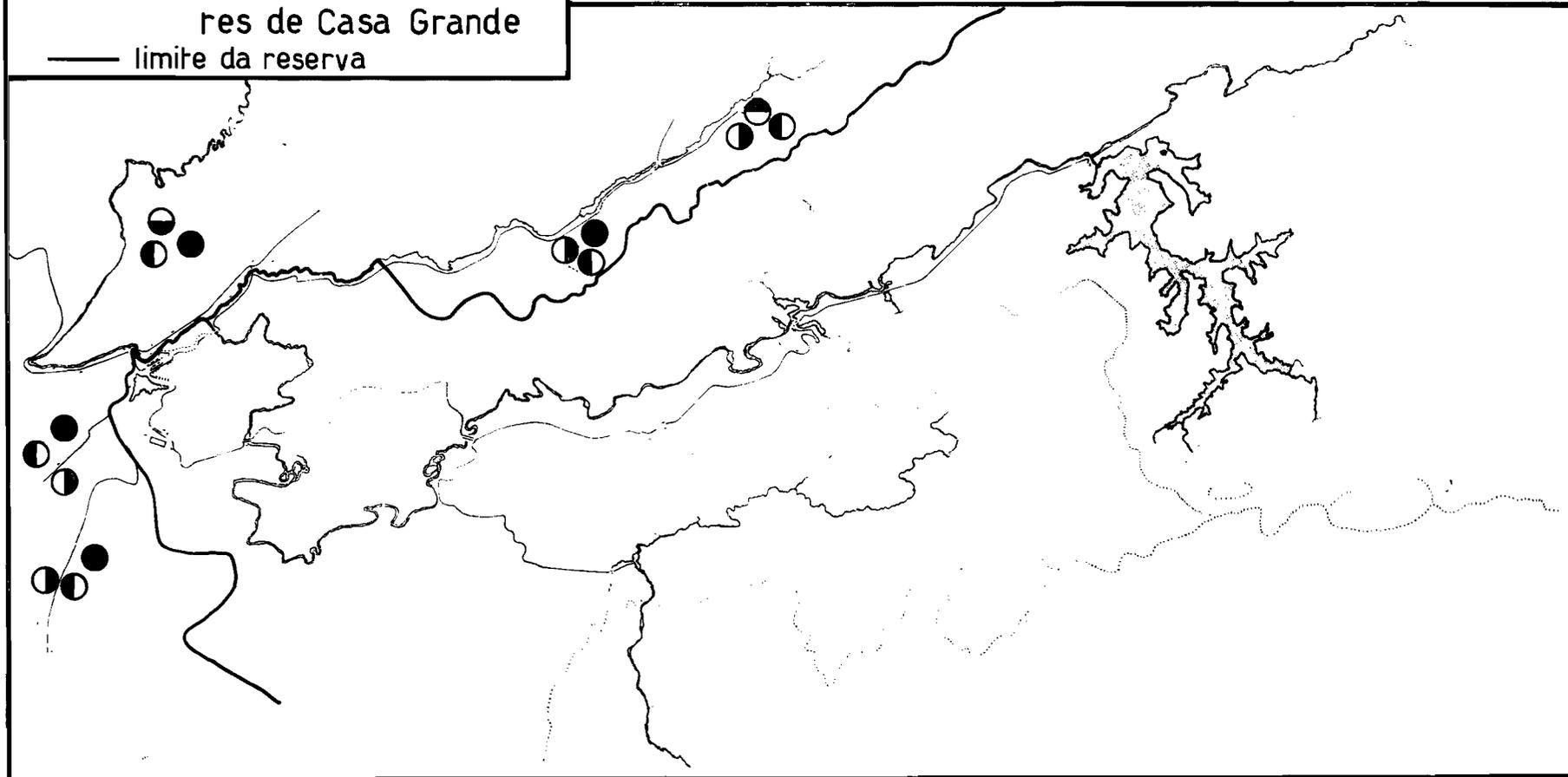
Quanto aos três suínos examinados, o único resultado positivo foi observado em relação ao Grupo B, para um animal de Casa Grande.

### Aves.

É, também, na Tabela 4.16, que se acham expostos os resultados a que chegamos com os soros de aves domésticas. Pode-se verificar portanto, que êles foram totalmente negativos, exceto para o vírus Boracéia. Com efeito, a positividade para êste agente revelou-se em treze galinhas e um ganso para, respectivamente, 22 e 2 espécimens testados. Desses animais dotados de sorologia positiva, sete galinhas e um ganso estavam na EBB, ao passo que as seis outras aves, encontravam-se em Casa Grande.

Fig.4.1 - Resultados com soros humanos nos arredores de Casa Grande

— limite da reserva



**Fig.4.2-Resultados  
com soros de ani-  
mais domésticos**

- BOVINOS
- △ CÃES
- ▽ EQUINOS
- GALINHAS
- ◐ GANSOS
- ◊ SUINOS

- Boracéia
- ▨ Tacaiuma
- ▧ Gr. B
- ▩ Junin
- ▤ Gr. Phlebotomus
- ▥ Gr. Bunyamwera

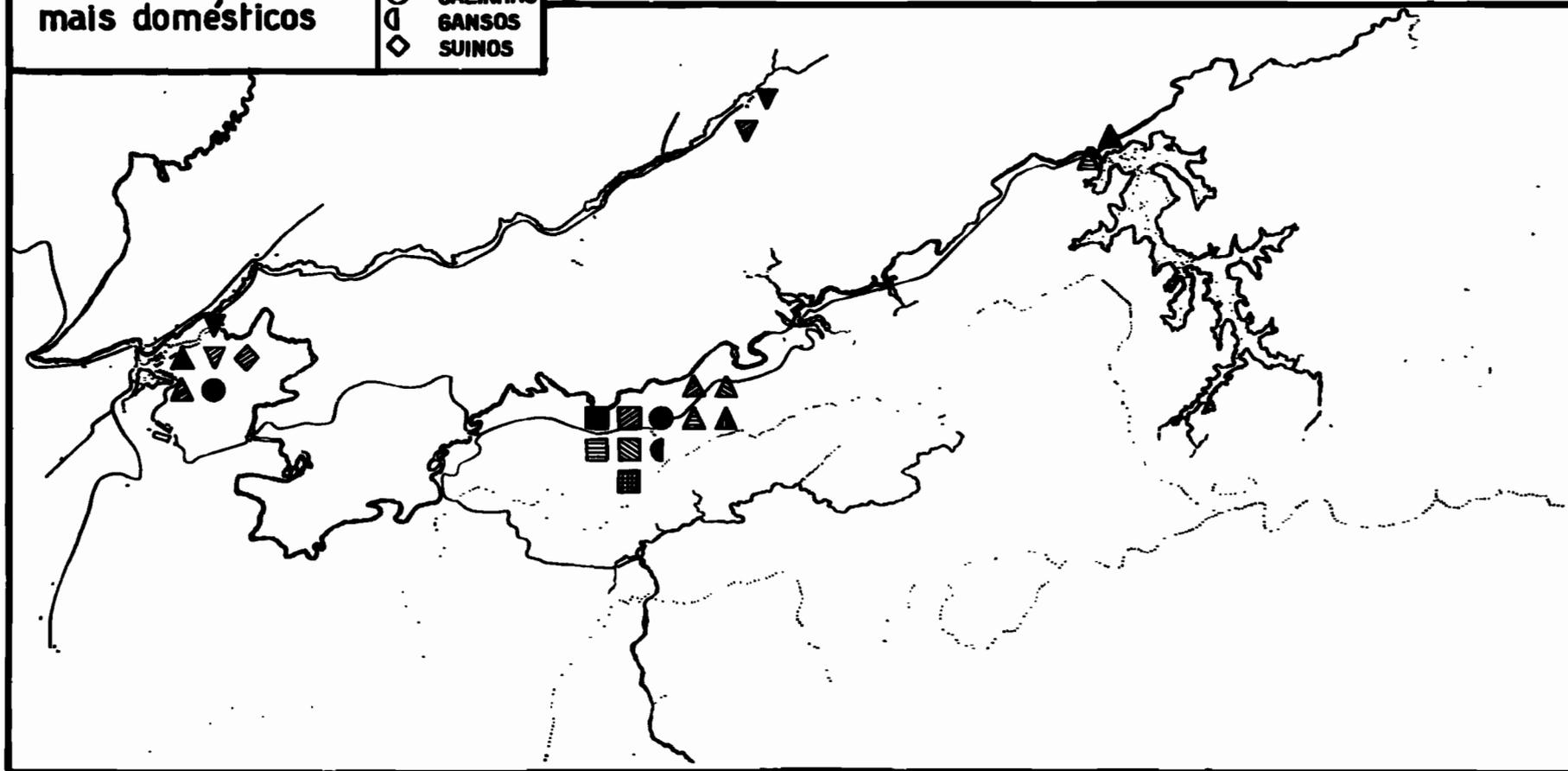


Tabela 4.16 - Resultados obtidos nas reações sorológicas (IH e NT)  
com soros de animais domésticos, até 1965 (§).

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo Buny- amwera	Comple- xo Ca- lifórnia	Grupo Phlebo- tomus	Taca- iuma	Bora- céia	Cocal	Junin
<b>Mamíferos</b>										
Bovinos	0/7	4/7	0/7	0/7	0/7	2/7	2/7	2/4	0/6	1/4
Cães	0/15	3/15	0/15	2/15	0/15	1/15	1/15	4/10	0/8	0/8
Equinos	0/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	2/6	0/6	0/6
Suínos	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2
<b>Aves</b>										
Galinhas	0/39	0/39	0/39	0/39	0/39	0/39	0/39	13/22	0/22	0/22
Gansos	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/2	0/2	0/2

(§) Número de positivos/número de examinados.

Julgamos que tal positividade dos galináceos seja digna de nota. Com efeito, o resultado de treze casos em vinte e dois, fornece a proporção de 59,1%. Podemos, portanto, calcular o intervalo de confiança de, pelo menos 95%, para a verdadeira proporção de positividade. Corresponde êle a 39,5%  $\left[ \frac{13}{22} \right]$  78,7%. Compreende-se que consideramos essa confiança como sendo de, pelo menos, 95%, pois levamos em conta o intervalo para população infinita. Ora, na realidade, a população de galinhas da região é forçosamente finita, embora desconhecida por nós.

Pelo exame sorológico dos animais domésticos, embora em número reduzido, evidenciou-se a possibilidade de vários agentes virais poderem atingi-los. Com exceção do Grupo C, foram encontrados os mesmos assinalados para os homens. Note-se que espécies animais distintas podem infectar-se com os mesmos agentes. Chamou também nossa atenção a possível receptividade de aves domésticas para o vírus Boracéia.

Tais fatos podem induzir a suposição da existência, no ambiente doméstico, de condições favoráveis para a instalação desses arbovírus. De qualquer maneira, como ocorre para os seres humanos, êstes animais trazem a influência sobre êles exercida pelo ambiente natural primitivo. O mapa constante da Fig. 4.2, mostra a distribuição dessa reatividade sorológica por parte dos animais domésticos, em nossa região.

### Animais Silvestres.

A pesquisa de anticorpos no sôro de animais silvestres constitui etapa fundamental em investigações dêste tipo. Com efeito, os resultados obtidos poderão orientar decisivamente na descoberta dos ciclos enzoóticos naturais desses arbovírus.

As dificuldades que se apresentam, de início, residem no escasso conhecimento da fauna local. E não apenas sob o ponto de vista taxionômico mas também, e principalmente, no que concerne à sua composição populacional, dinâmica e os múltiplos aspectos ecológicos de importância para a boa compreensão dos dados obtidos. Para se obviar tais inconvenientes, procede-se, geralmente, à realização dessas observações em concomitância com as virológicas. Evidentemente, tais estudos são sempre a longo prazo e, os resultados observados deverão necessariamente passar pelo crivo de múltiplas confirmações.

Limitamo-nos, pois, à captura desses animais, com o emprêgo de processos já adotados em outras regiões para estudos semelhantes. Dessa maneira, os resultados obtidos fornecem somente idéia sobre a possível receptividade de várias espécies a diversos agentes arbovirais. Assim, pois, o conhecimento sobre o comportamento natural e suas implicações no ciclo

dessas infecções, deverá ser conseguido mediante a execução de investigações mais detalhadas. De qualquer forma, em etapa inicial como a nossa, tais informações revestem-se de grande interêsse. Elas serão muito úteis na orientação das pesquisas futuras.

Como se pode constatar pela Tabela 4.1, foram coletados e examinados sorològicamente, até 1965 inclusive, 445 animais vertebrados silvestres dos quais 318 mamíferos e 127 aves. Os resultados conseguidos nos exames encontram-se expostos globalmente na Tabela Geral dos Resultados Sorològicos Animais (v. Apêndice). Os locais de coleta foram objeto de descrição nos capítulos 2 e 3.

### Mamíferos.

A Tabela 4.17 fornece os dados obtidos para os vários vírus testados. Os resultados positivos abrangem maior gama de agentes do que aquela observada com os homens e animais domésticos. Todos os que foram empregados nas reações tiveram a sua presença acusada, pelo menos uma vez.

Os mamíferos examinados foram representantes das Ordens dos Roedores, Marsupiais e Quirópteros ou morcegos, com franca predominância dos primeiros. Deve-se assinalar que nem todos foram submetidos às reações de NT para os vírus Boracéia, Cocal e Junin. Essa atitude foi determinada por vários motivos de ordem técnica. Entre êles, ressalta-se a escassa disponibilidade de sôro para número elevado de reações. Nas linhas que seguem, passaremos em revista os resultados verificados em cada um desses grupos.

Roedores. - Os 246 espécimens coletados distribuíram-se por vários gêneros e espécies das famílias Cricetidae, Echimyidae e Muridae. Aquela contribuiu com o maior número de representantes, sendo os gêneros Akodon e Oryzomys os que forneceram maior contingente. Os equimídeos compareceram com somente dois gêneros. Quanto aos murídeos, foram êles representados por alguns exemplares de Rattus os quais, embora considerados domésticos, foram capturados em ambiente silvestre, motivo pelo qual colocamo-los junto a êstes animais.

A presença de possíveis agentes do Grupo B foi das mais frequentes, assinaladas nestes soros. Reagiram positivamente nesse sentido, dezoito animais, sendo oito Oryzomys, três Akodon arviculoides, dois Delomys dorsalis e Nectomys squamipes, e um exemplar de Holochilus brasiliensis, Oxymycterus quaestor, Proechimys iheringi e Rattus rattus. Como se vê, trata-se de apreciável número de espécies que podem estar envolvidas no ciclo natural de tais agentes. Aspecto semelhante foi obtido para Tacaiuma.

Tabela 4.17 - Resultados obtidos nas reações sorológicas (IH e NT)  
com soros de mamíferos silvestres até 1965. (§)

	GRUPOS					Com- plexo Cali- fórnia	Taca- iuna	Bora- céia	Cocal	Junin
	A	B	C	Buny- amwe- ra	Phle- boto- mus					
Roedores										
<u>Akodon arviculoides</u>	0/56	3/56	0/56	1/56	1/56	1/56	4/56	3/10	0/10	4/12
<u>Delomys dorsalis</u>	0/11	2/11	1/11	0/11	0/11	0/11	1/11	1/7	0/2	0/5
<u>Euryzomatomys guiara</u>	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/1	0/1	
<u>Holochilus brasiliensis</u>	0/3	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3			
<u>Nectomys squamipes</u>	1/15	2/15	1/15	0/15	0/15	0/15	0/15	4/11	0/10	2/9
<u>Oryzomys nigripes</u>	0/58	5/58	0/58	0/58	1/58	0/58	4/58	0/13	0/11	1/13
<u>Oryzomys ratticeps</u>	1/38	2/38	0/38	0/38	0/38	0/38	3/38	0/13	0/9	2/13
<u>Oryzomys sp.</u>	0/17	1/17	0/17	1/17	2/17	0/17	1/17	1/4	0/1	0/5
<u>Oxymycterus quaestor</u>	0/12	1/12	1/12	2/12	0/12	0/12	1/12	1/8	0/3	0/8
<u>Proechimys iheringi</u>	1/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12	2/9	0/9	0/8
<u>Rattus rattus</u>	0/6	1/6	1/6	0/6	1/6	0/6	3/6	0/6	0/3	0/3
<u>Rhipidomys sp.</u>	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3		
<u>Thaptomys nigrita</u>	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11	0/3		
Marsupiais										
<u>Didelphis marsupialis</u>	0/37	2/37	0/37	1/37	1/37	0/37	1/37	6/31	0/24	1/31
<u>Philander opossum</u>	0/25	2/25	3/25	1/25	0/25	2/25	2/25	1/19	1/14	3/20
Quirópteros										
<u>Desmodus sp.</u>	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1			
<u>Myotis albescens</u> (§§)	0/9	3/9	2/9	0/9	0/9	0/9	2/9	0/9	0/4	0/8

(§) número de positivos/número de examinados.

(§§) lotes de dez animais.

Com efeito, dezoito espécimens também reagiram para êsse vírus, sendo oito Oryzomys, quatro Akodon arviculoides, três Rattus rattus e um Delomys dorsalis, Oxymycterus quaestor e Proechimys iheringi. É interessante assinalar que, em se tratando de resposta específica como esta, também chama a atenção o número de espécies envolvidas. Note-se a presença de Rattus rattus, cuja receptividade pode dar margem a considerações ecológicas sobre o possível transporte desses vírus para o ambiente doméstico.

No que concerne a Boracéia, o número de espécies foi também digno de nota. Conseguimos evidenciar a infecção em treze espécimens dos quais, quatro Nectomys squamipes, três Akodon arviculoides, dois Proechimys iheringi e um Delomys dorsalis, Oryzomys sp., Oxymycterus quaestor e Rhipidomys sp. Tudo indica, também para êste arbovírus, parecer ser considerável o número de animais passíveis de participar de seu ciclo natural.

Totalizou nove, o número de animais em que obtivemos reatividade sorológica para Junin. Dêles, quatro eram Akodon arviculoides, três Oryzomys e dois Nectomys squamipes. Se bem não consideremos estas reações como específicas é de se notar que agentes com afinidade para êsse vírus devam estar com certa atividade entre êsses roedores.

Quanto ao Grupo Bunyamwera, seis foram os soros encontrados com positividade. Dêsses, dois pertenciam a Oxymycterus quaestor e um a Akodon arviculoides, Euryzygomatomys guirara, Holochilus brasiliensis e Oryzomys sp. As reações para os Grupos C e Phlebotomus foram observadas em cinco animais para cada um. A presença daquele foi assinalada em um exemplar de cada uma das espécies Delomys dorsalis, Holochilus brasiliensis, Nectomys squamipes, Oxymycterus quaestor e Rattus rattus. Um espécimen desta última, juntamente com três Oryzomys e um Akodon arviculoides, formaram o contingente de positividade para o Grupo Phlebotomus. Como se pode verificar, embora com menor freqüência, continuou sendo múltiplo o número de espécies encontradas infectadas. Nelas se observa a inclusão do rato doméstico.

Finalmente, o Grupo A, fêz-se representar, embora somente com três casos, pertencentes a um exemplar de Nectomys squamipes, Oryzomys ratticeps e Proechimys iheringi. Quanto ao Complexo Califórnia, foi observado somente em um exemplar de Akodon arviculoides. Foram totalmente negativos os resultados obtidos para Cocal.

Por êsses resultados verifica-se que, se para o mesmo agente ou grupo encontram-se diversas espécies sensíveis, de maneira análoga, o mesmo animal mostra-se receptível a vários vírus. Com efeito, pôde-se observar com freqüência, positividade para três ou mais reações dentro da mesma espécie de roedor (Tabela 4.17).

Marsupiais. - Foram capturados e examinados 62 exemplares pertencentes a duas espécies da família Didelphidae.

Como se pode ver pela Tabela 4.17, tanto Didelphis marsupialis como Philander opossum mostraram-se positivos para o Grupo B, Grupo Bunyame-wera, Tacaiuma, Boracéia e Junin. Além disso, aquela forneceu um espécimen reativo para o Grupo Phlebotomus. Por sua vez, a outra evidenciou positividade também para o Grupo C, Complexo California e Cocal, com três, dois e um exemplares, respectivamente. Assinale-se que o Philander opossum positivo para êsse agente Cocal, constituiu até agora o único resultado nesse sentido obtido por nós na região.

Como se pode ver, embora trabalhando com apenas duas espécies de marsupiais, os resultados mostraram a capacidade de várias infecções para ambas. Somente o Grupo A, esteve totalmente ausente dos resultados positivos.

Morcegos. - A coleta dêstes animais foi um tanto irregular. Apenas um exemplar de Desmodontidae e noventa de Vespertilionidae. Êstes últimos, devido ao seu reduzido porte, tiveram de ser reunidos em nove lotes de dez animais.

Os resultados obtidos mostraram total negatividade do espécimen Desmodus sp. à reação de IH. Não nos foi possível levar a efeito NT com êsse sôro. Todavia, com Myotis albescens conseguimos positividade em três lotes para o Grupo B, e em dois para o Grupo C e Tacaiuma.

### Aves.

Foram testados os soros de 196 aves silvestres. Contudo, as reações levadas a efeito nessa totalidade, dizem respeito à IH. É bem menor o número daquelas que foram submetidas ao teste de NT. A semelhança do que ocorreu com os outros animais, tal fato deveu-se principalmente à pequena quantidade de sôro obtida na maior parte dos espécimens. Em se tratando de aves, êsse acontecimento foi bastante freqüente, pois os pássaros capturados eram geralmente de pequeno porte.

A distribuição das aves por espécies e os dados conseguidos, constam da Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Animais (v. Apêndice). Pode-se verificar que êsses 196 animais distribuíram-se por 58 espécies. Raras foram aquelas das quais se pôde obter quantidade apreciável de exemplares. Em vista disso, é de se supor que os dados fornecidos pelos exames obterão maior consistência quando pudermos dispor de número sensivelmente maior de espécimens.

De qualquer forma, os resultados obtidos até o momento, foram escassos. Somente oito animais revelaram soros reativos à IH e nenhum à NT. A distribuição desses positivos, encontra-se na Tabela 4.18.

Tabela 4.18 - Resultados positivos com reações de IH em soros de aves silvestres de Casa Grande, até 1965. (§)

Espécies	GRUPOS			
	A	B	C	Phlebotomus
<u>Chiroxiphia caudata</u>			1/32	1/32
<u>Conopophaga lineata</u>				1/6
<u>Empidonax euleri</u>		1/4		
<u>Lepidocolaptes fuscus</u>		1/6		
<u>Schiffornis virescens</u>	1/10			
<u>Thamnophilus caerulescens</u>		1/1		
<u>Trichothraupis melanops</u>	1/12			

(§) número de positivos/número de examinados.

O Grupo B revelou-se em três animais, com um exemplar das espécies Empidonax euleri, Lepidocolaptes fuscus e Thamnophilus caerulescens. O Grupo A foi detectado em um espécimen de Schiffornis virescens e outro de Trichothraupis melanops, enquanto o Grupo Phlebotomus apresentou-se em outras duas aves, uma representante de Chiroxiphia caudata e outra de Conopophaga lineata. Finalmente, outro exemplar de Chiroxiphia caudata forneceu o único resultado positivo para o Grupo C.

Trata-se pois de escasso número de dados concretos. Por conseguinte, como mencionamos, torna-se necessária maior quantidade de exames para se poder chegar a idéia melhor sobre a reatividade sorológica das aves desta região.

## CAPÍTULO Nº 5 - INVESTIGAÇÃO ENTOMOLÓGICA

	pg.
Métodos Empregados .....	124
Estações .....	124
Isca luminosa .....	126
Capturas domiciliares.....	126
Médias horárias.....	127
Resultados Obtidos .....	127
Observações no meio silvestre .....	128
Estações de captura.....	129
Composição específica .....	129
<u>Anophelini</u> .....	129
<u>Culicini</u> ..	129
<u>Sabethini</u> .....	131
Distribuição vertical.....	138
Fauna arbórea .....	139
Fauna do solo .....	144
Considerações .....	145
Ciclo anual da densidade .....	156
Armadilha de Shannon.....	161
Composição específica .....	161
Observações no ambiente doméstico .....	164
Composição específica.....	165
<u>Anopheles cruzii</u> .....	167
<u>Aedes serratus</u> .....	167
Outras espécies .....	169

Os artrópodes desempenham papel fundamental como elo importante na cadeia epidemiológica dos arbovírus. Cabe a eles a função preponderante de albergar esses agentes e transmiti-los, por inoculação, a novos hospedeiros vertebrados. Tornou-se pois necessário que, em estudo como este, fosse dispensada especial atenção a essa fauna. Nesse particular, os representantes de maior importância, reconhecida até o momento, são os dípteros membros da família Culicidae. Para eles, portanto, foi focalizada a nossa atenção. Não somente sob o ponto de vista do isolamento de vírus, como também para a execução de observações sobre aspectos de sua biologia que fossem de interesse epidemiológico.

Assim sendo, este capítulo resume os dados conseguidos durante o período compreendido entre o segundo semestre de 1963 e o primeiro de 1966. Dizem respeito, principalmente, ao comportamento das formas adultas, com vistas à elucidação do provável mecanismo de transmissão dos agentes encontrados nessa região.

Os principais requisitos que necessitam ser satisfeitos para que determinado artrópode seja epidemiologicamente implicado na veiculação de arbovírus, podem ser resumidos da seguinte maneira (Meyer 1953, Forattini 1965):

- 1) Existência de associação, embora não necessariamente constante, do artrópode, com as fontes de infecção.
- 2) Frequência desse invertebrado no ambiente dos vertebrados suscetíveis, em condições propícias para a transmissão.
- 3) Presença de infecção natural.
- 4) Demonstração da possibilidade vetora do artrópode, em condições experimentais.

O objetivo das observações sobre a fauna culicidiana da região foi o de verificar a presença dessas propriedades. No que concerne à terceira condição, a existência de infecção natural em mosquitos foi demonstrada através do isolamento de vários vírus. Tais encontros estão descritos no capítulo 3. Por outro lado, deixamos de executar a última, uma vez que ainda não dispúnhamos de instalações adequadas à sua realização.

Obviamente, as informações que mais interessaram nesta primeira fase das investigações, foram as que diziam respeito aos hábitos desses transmissores. Concentramos as nossas atenções na verificação da densidade, atividade, distribuição local e regional dos adultos das várias espécies.

As observações foram levadas a efeito tanto no meio natural como também no doméstico. Dessa maneira, tentamos levantar dados que nos pudessem elucidar sobre o papel desses mosquitos no ciclo enzoótico natural dos arbovírus, e sua contribuição na possível transferência de tais agentes ao ambiente domiciliar humano.

### MÉTODOS EMPREGADOS

No capítulo 3, quando tratamos da coleta do material de artrópodes, tivemos ocasião de mencionar as capturas com iscas humana e luminosa, e as domiciliares. Para todas elas foi uniformemente adotado o uso de tubos aspiradores que possibilitaram a obtenção dos mosquitos vivos (Forattini, 1962). No mais, as diversas coletas apresentaram peculiaridades próprias aos locais e para os dados que se destinavam obter.

### ESTAÇÕES.

Para as capturas no ambiente natural da floresta, foram estabelecidas estações obedecendo ao mesmo tipo empregado por vários autores (Causey e Santos 1949, Galindo, Trapido e Carpenter 1950, Deane, Damasceno e Arouck 1953, Groot, Morales e Vidales 1961) e cuja localização pode ser apreciada no mapa da Fig. 3.14. Cada unidade dessas, incluía uma árvore da mata, adequadamente escolhida, em cuja copa se procedia à instalação de plataforma, acessível mediante escada construída ao longo do tronco (Figs. 5.1 a 5.4). Assim sendo, cada estação destinava-se a permitir a coleta simultânea de mosquitos na copa arbórea e no solo da floresta. Para isso, empregou-se equipe constituída por dois homens previamente treinados. Ambos trabalhavam concomitantemente, um deles na plataforma e outro no solo. Os homens procuravam capturar todos os culicídeos que vinham sugá-los ou que se aproximassem para tal fim (Fig. 3.3). Dessa maneira, o coletor desempenhou também o papel de isca humana. Com a finalidade de uniformizar possíveis causas individuais de erro, procedeu-se ao revezamento de hora em hora, passando aquele que estava em baixo a trabalhar em cima e vice-versa. Suspendeu-se o trabalho nas vezes em que a ocorrência de intensa pluviosidade ou condições adversas tornavam impraticável a sua realização nesse dia. As horas assim perdidas eram substituídas pelas correspondentes em outro dia da semana. Caso isso também não fosse possível, procedia-se ao desconto desse período no cálculo final da média horária mensal.

Plataforma para a coleta de mosquitos.

Fig. 5.1 - Estação EBB (Estação Biológica de Boracéia).

Fig. 5.2 - Estação GT (Guaratuba).

Fig. 5.3 - Estação BRR (Barragem do Rio do Campo).

Fig. 5.4 - Estação CG (Casa Grande).



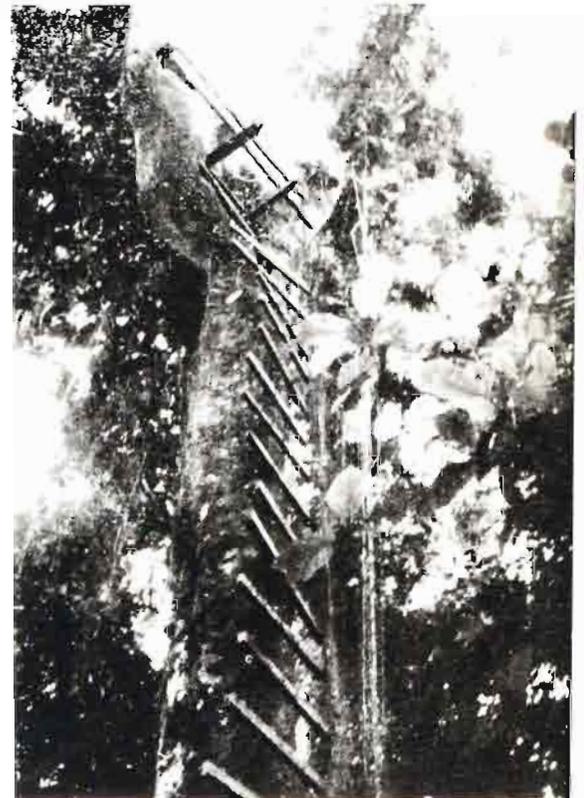
5.1



5.2



5.3



5.4

Fig. 5.5 - Coleta de mosquitos



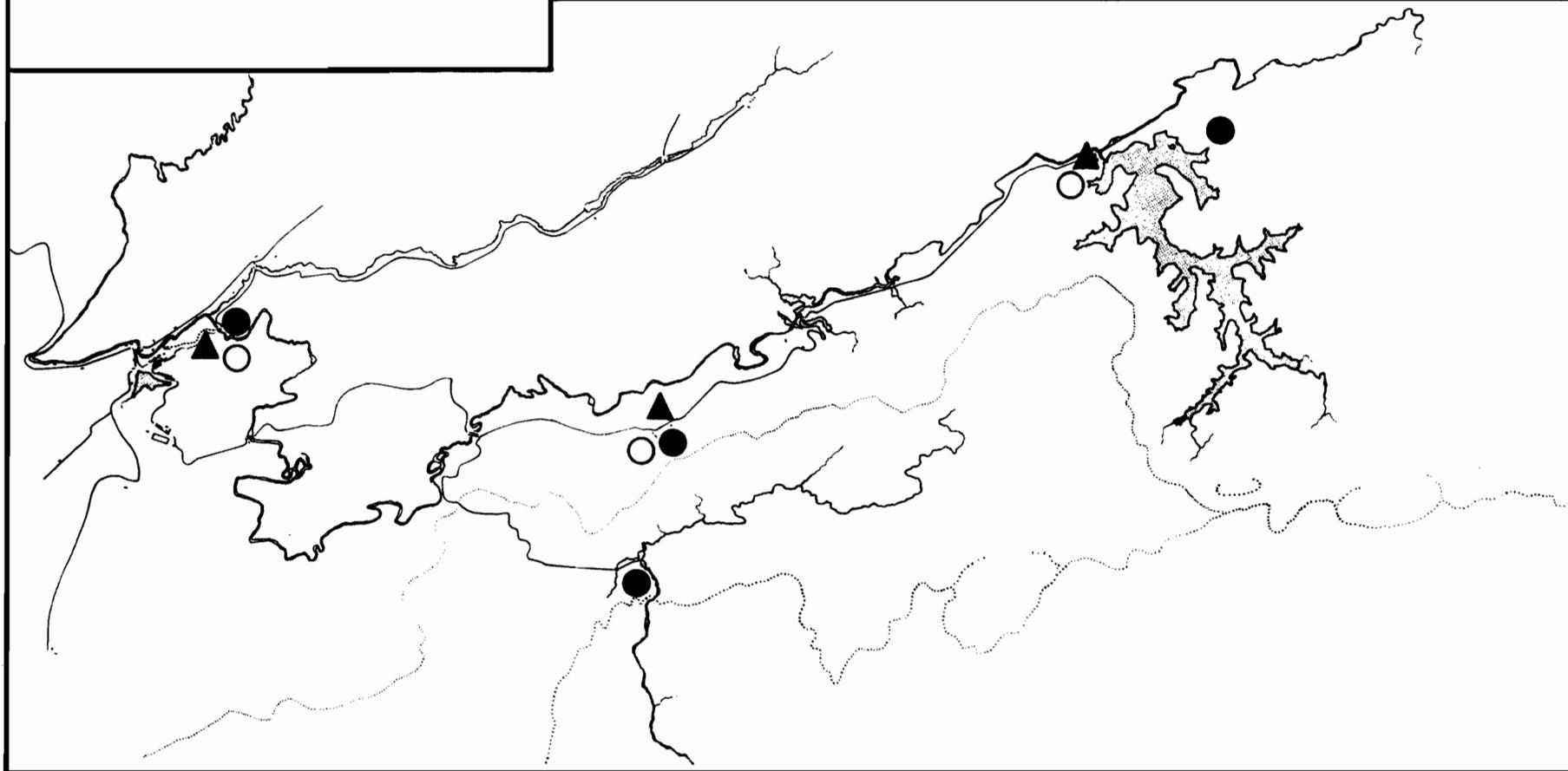
estação



isca luminosa



domiciliar



O plano de trabalho dessas estações, visava o processamento de coletas diurnas e noturnas, tendo sido iniciado em outubro de 1963. Cada uma delas executada uma vez por semana, em horário preestabelecido. Para as capturas diurnas estipulou-se o de 10:00 às 15:00 hs., totalizando cinco horas dentro do período mais luminoso do dia. Para as noturnas estabeleceu-se das 18:00 às 20:00 hs. no inverno e das 19:00 às 21:00 no verão, em ambos os casos, com duas horas de duração e incluindo o período do crepúsculo e início da noite. Com isso, objetivamos conhecer a fauna culicídana atraída pela isca humana e suas possíveis variações em relação ao local, nível e horário das capturas. A localização e o modo de operação das estações são os seguintes:

1) Estação de Boracéia (EBB). - Localizada na Estação Biológica de Boracéia, em pequena gruta situada na encosta do divisor hidrográfico. Foi construída em árvore junto à nascente do ribeirão Venerando, pequeno curso de água afluente direto do rio Claro. A plataforma está localizada a doze metros acima do solo (Fig. 5.1). Esta estação funcionou na fase preliminar de nossos trabalhos, de 1961/1962, como posto de coleta de mosquitos destinados às tentativas de isolamento de vírus. Posteriormente, a partir de outubro de 1963, teve suas atividades reiniciadas passando a operar, não somente com aquela finalidade, mas também na execução de observações biológicas regulares sobre a fauna culicídana.

2) Estação da Barragem (BRR). - Instalada em ponto situado a cerca de quinhentos metros da margem da represa conseqüente à Barragem do Rio do Campo. Tal situação corresponde ao lado oposto da citada Barragem e para atingi-lo, torna-se necessário o uso de barco para atravessar o lago artificial. A estação foi construída em árvore de elevado porte para esta região, estando a plataforma situada a quinze metros acima do solo (Fig. 5.3). Este posto começou a operar regularmente como os demais, a partir de outubro de 1963.

3) Estação de Guaratuba (GT). - Está situada à margem da picada que, da estrada de Guaratuba, leva até a escarpa da Serra. A árvore escolhida em contra-se na encosta que precede o alto escarpado. A plataforma foi construída a dez metros do solo (Fig. 5.2). O funcionamento da estação teve início em outubro de 1963 e prolongou-se até dezembro de 1964. Motivou essa interrupção o surgir de dificuldades crescentes para o transporte regular da equipe de capturadores, uma vez que nessa área não existiam habitantes. Em vista disso, a partir de janeiro de 1965, foi substituída pela seguinte.

4) Estação de Casa Grande (CG). - Teve sua instalação efetuada em ponto situado a pequena distância da margem do rio Claro, nos arredores do núcleo de Casa Grande. A plataforma foi construída na copa de uma árvore, correspondendo a altura de dez metros (Fig. 5.4). O seu funcionamento re

gular teve início, como mencionado, em janeiro de 1965.

### Isca Luminosa.

Com o objetivo de aumentar o rendimento do material destinado às tentativas de isolamento de agentes virais, levamos a efeito também coletas com isca luminosa. Para tanto, empregamos a armadilha de Shannon, dotada de lampião de querosene de 500 velas, de acôrdo com técnica conhecida e já descrita (Forattini, 1962).

Estas capturas foram executadas uma vez por semana, por ocasião da primeira metade da noite, ocupando período de duas horas, compreendido entre as 20:00 e 22:00 hs. Todavia, o ritmo não teve a regularidade rígida que foi exigida para as coletas efetuadas com isca humana, nas estações su pradescritas. Tal exigência deixou de ser feita, uma vez que, para as nossas observações biológicas, esta captura não apresentava o mesmo interêsse da aquelas outras. De qualquer maneira, porém, os resultados globais assim obtidos, contribuíram para os conhecimentos sôbre a fauna culicidiana local.

A realização das coletas com isca luminosa foi levada a efeito em três pontos do ambiente florestal. Um dêles, na Barragem do Rio do Campo em mata próxima à casa de residência do guarda local, outro na Estação Biológica de Boracéia e o terceiro nos arredores de Casa Grande, em flo resta vizinha à casa de um dos homens empregados na captura.

### Capturas Domiciliares.

Como vimos, êste trabalho tem por objetivo verificar a possibilida de de agentes infecciosos silvestres poderem passar para o ambiente domés tico. Assim sendo, despertou-nos apreciável interêsse a investigação da possível freqüência de mosquitos transmissores aos domicílios humanos. Por conseguinte, no rol de nossas observações, incluímos aquelas destinadas à verificação dêsse aspecto, através da execução de capturas domiciliares.

A proximidade que a floresta apresenta em relação às casas da re gião, fêz-nos crer na possibilidade das residências serem visitadas com freqüência por mosquitos silvestres. Evidentemente, no que concerne a essa domesticidade de culicídeos, interessa ao epidemiologista conhecer o hábito que êsses animais têm, de penetrar nas habitações, e até que ponto possuem tendência a ali permanecer, e escolher os seus locais de abrigo (Forattini, 1962). Contudo, ao se realizarem capturas intradomiciliares, deve-se considerar que elas, por si só, fornecerão dados sômente sôbre os exem plares existentes dentro do domicílio, por ocasião da coleta. O ideal seria, por conseguinte, a combinação dêsse tipo de captura com o uso de artifícios que permitissem obter dados sôbre o número de espécimens que tendem a

abandonar a casa num determinado espaço de tempo. Para tanto, empregam-se armadilhas especialmente construídas e que, colocadas nas janelas, permitem a entrada de mosquitos, capturando os que tentam sair. Em nossos trabalhos, devido a dificuldades várias, não se tornou possível o emprêgo desses recursos. Restou-nos portanto, a possibilidade de verificar a frequência das espécies que penetram nas casas em determinado período. Para isso, levamos a efeito capturas semanais em casas pré-escolhidas. Tais coletas foram executadas durante duas horas, na primeira metade da noite, com início logo após o crepúsculo. Com isso tencionamos observar a fauna noturna que, ou prolonga a sua atividade pela noite a dentro, ou a inicia por ocasião do pôr do sol. Embora com evidentes falhas, êste procedimento pôde orientar-nos em outras investigações, com meios mais eficientes.

Para a execução destas capturas domiciliares escolhemos três casas. Uma delas foi a residência do funcionário guarda da Barragem do Rio do Campo (BRR) (Fig. 2.23). A outra está localizada na Estação Biológica de Boracéia (EBB) (Fig. 2.26), enquanto a terceira foi a casa nº 98 do conjunto residencial do núcleo de Casa Grande (CG) Fig. 2.19).

### Médias Horárias.

Como norma geral, adotamos o processo de relacionar os exemplares apreendidos ao respectivo período de capturação. Para tanto, utilizamos o cálculo das médias horárias, ou seja, o número de mosquitos dividido pelo de horas e de homens empregados na captura (Forattini, 1962). Com isso, torna-se mais fácil observar a existência de possíveis variações da densidade de da fauna culicidiana nas várias coletas.

## RESULTADOS OBTIDOS

Na fase preliminar destas investigações, tornou-se necessário adquirir familiaridade com a fauna culicidiana local. Para isso, tivemos de estabelecer caracteres eficientes para a identificação das fêmeas. A finalidade era tornar viável a determinação de considerável número de exemplares, como é imprescindível em investigação de significado epidemiológico. Os problemas surgidos nesse particular, constituiram objeto de estudos que foram e serão publicados separadamente. Para a presente investigação podemos afirmar que, com boa margem de confiança, conseguimos diferenciar as espécies que ocorrem na região, dentro das entidades válidas até o presente momento.

Com os métodos supracitados, tivemos o objetivo de medir a densidade de dos culicídeos adultos constatados na região. Os dados obtidos possibilitaram os conhecimentos sôbre as variações dessa densidade, em relação a

vários fatores. No meio natural silvestre tivemos a intenção de observar a distribuição vertical, com a possível existência de mosquitos dotados de hábitos arbóreos ou acrodendrófilos. Interessou-nos também neste particular, as oscilações diurnas e noturnas, além daquelas que constituem o ciclo estacional. Finalmente, tivemos a preocupação de verificar a frequência desses insetos no ambiente domiciliar.

Obviamente, interessaria também a verificação de outros aspectos, como a hematofagia e a longevidade. Tais pesquisas constituirão objeto de futuros trabalhos, quando tivermos adquirido conhecimentos suficientes sobre as principais espécies veiculadoras e então se fizer necessária a obtenção de dados mais minuciosos quanto à dinâmica da transmissão.

O mapa constante da Fig. 5.5, oferece aspecto geral dos locais onde tiveram lugar as supracitadas coletas. Os dados globais do material obtido nas estações de captura, encontram-se expostos nas Tabelas Gerais dos Resultados Entomológicos (v. Apêndice).

As considerações que serão apresentadas a seguir, são concernentes somente aos espécimens fêmeas, não tendo sido incluídos os poucos exemplares machos que se aproximaram o suficiente para figurarem, embora de maneira esporádica, nas capturas.

#### OBSERVAÇÕES NO MEIO SILVESTRE.

Como nos referimos, as investigações no ambiente florestal foram levadas a efeito com isca humana nas estações, e com isca luminosa em armadilhas de Shannon. Os dados obtidos em ambas serão considerados separadamente, nas linhas que seguem.

Estações de Captura. - De acordo com o que descrevemos linhas atrás, as estações operaram em períodos diurnos e noturnos ou crepusculares. Durante o espaço de tempo decorrido de outubro de 1963 a março de 1966, tais coletas totalizaram, para as diversas estações, os seguintes números de horas:

Estações	EBB	BRR	GT	CG
Coletas diurnas . . . .	600	600	280	285
Coletas noturnas . . .	200	220	72	110

Com isso, pudemos conseguir dados sobre as possíveis diferenças na composição específica, densidade e distribuição.

### Composição Específica.

As Tabelas 5.1 e 5.3 sumarizam os resultados globais destas capturas diurnas e noturnas, em relação às várias espécies encontradas. Pôde-se verificar que foram obtidos 64777 exemplares nas primeiras, e, 28239 nas segundas, totalizando 93016 mosquitos. Esse total correspondeu a cerca de 43 espécies das quais, 4 de Anophelini, 16 de Culicini e 23 de Sabethini. Nas Tabelas 5.2 e 5.4, encontram-se os dados sobre as proporções no comparecimento das espécies mais frequentes.

Anophelini. - Os anofelinos foram representados, praticamente em sua totalidade, pelo Anopheles cruzii do subgênero Kerteszia. Pôde-se observar que essa espécie representou, por si só, 21% das coletas diurnas e cerca de 70% das crepusculares. Esse aspecto dominante se revelou, pois, em ambas capturas e em todas as estações, com exceção de CG onde somente foi sobrepujado pelo Aedes serratus nas noturnas. Quanto aos demais representantes da tribo, assinalou-se reduzido número de Anopheles lutzii e alguns raros exemplares de Anopheles evansae e Chagasia fajardoii.

Culicini. - De maneira geral, os representantes deste grupo foram os menos abundantes. Somente constituíram exceção a esta regra, as capturas noturnas em CG, nas quais estes mosquitos contribuíram com maior contingente. Por outro lado, notou-se que sua presença foi desprezível em ambas as coletas levadas a efeito em EBB.

O gênero Aedes compareceu com seis espécies, três para cada um dos subgêneros Finlaya e Ochlerotatus. De todas a mais abundante foi Aedes serratus que chegou a sobrepujar os demais culicídeos nas capturas noturnas de CG, comparecendo também de maneira relevante nas coletas diurnas da mesma estação. Quanto às outras espécies deste gênero, Aedes leucoce laenus e A. terreus foram obtidas em pequeno número, acrescido de raros espécimens de Aedes taeniorhynchus e A. fluviatilis.

Das espécies de Psorophora, destacou-se Psorophora ferox a qual, exceto em EBB, sempre foi conseguida em quantidade regular, especialmente na estação CG. Nas coletas diurnas desta última, compareceu também de terminado número de Psorophora discruciensis. As espécies Psorophora albigipes e P. lanei apenas forneceram alguns exemplares.

No que concerne ao gênero Culex, como se sabe, a identificação das fêmeas reveste-se de dificuldades nem sempre superáveis com facilidade. De qualquer maneira, o comparecimento nas coletas, tanto diurnas como noturnas, foi negligenciável. Identificamos alguns espécimens do subgênero Microculex, capturados em EBB, como pertencentes às espécies Culex aureus e C. worontzowi.

Tabela 5.1 - Resultados globais nas capturas diurnas de mosquitos, obtidos nas estações da área de Casa Grande, de outubro de 1963 a março de 1966.

Estações	EBB	BRR	GT	CG	
Períodos	X. 63 a III. 66	X. 63 a III. 66	X. 63 a XII. 64	I. 65 a III. 66	Total
Número de horas de captura	600	600	280	285	1765
<b>ANOPHELINI . . . . . totais..</b>	<b>2400</b>	<b>9285</b>	<b>654</b>	<b>1217</b>	<b>13556</b>
<u>Anopheles (Kerteszia) cruzii</u>	2400	9275	654	1215	13544
<u>Anopheles (Myzorrhyncheila) lutzii</u>		10		2	12
<b>CULICINI . . . . . totais..</b>	<b>36</b>	<b>730</b>	<b>416</b>	<b>2019</b>	<b>3201</b>
<u>Aedes (Finlaya) leucocelaenus</u>	2	96		13	111
<u>Aedes (Finlaya) terreus</u>		11	1		12
<u>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</u>	1	23	24		48
<u>Aedes (Ochlerotatus) serratus</u>	12	352	109	1126	1599
<u>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</u>		2			2
<u>Culex (Culex) sp.</u>	1	1		3	5
<u>Culex (Melanoconion) sp.</u>	1				1
<u>Culex (Microculex) aureus</u>	3				3
<u>Psorophora (Janthinosoma) albipes</u>			5		5
<u>Psorophora (Janthinosoma) discruciens</u>	5	8		129	142
<u>Psorophora (Janthinosoma) ferox</u>	11	237	277	745	1270
<u>Psorophora (Janthinosoma) lanei</u>				3	3
<b>SABETHINI . . . . . totais..</b>	<b>9532</b>	<b>30830</b>	<b>3777</b>	<b>3881</b>	<b>48020</b>
<u>Limatus flavisetosus</u>	60	60	10	4	134
<u>Phoniomyia davisii</u>	140	445	65		650
<u>Phoniomyia longirostris</u>	1811	6356	1190	56	9413
<u>Phoniomyia palmata</u>	497	1596	234	2	2329
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	2956	11730	722	2639	18047
<u>Sabethes (Sabethes) albiprivus</u>	97	253	56	24	430
<u>Sabethes (Sabethes) quasicyaneus</u>	4	12	2	8	26
<u>Sabethes (Sabethes) tarsopus</u>		2			2
<u>Sabethes (Sabethinus) intermedius</u>	53	218		78	349
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) cerqueirai</u>	446	953	279	85	1763
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) frontosum</u>	943	2156	608	17	3724
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) pallidiventer</u>	101	120		33	254
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) reversum</u>	1916	3631	479	577	6603

Tabela 5.1 - Resultados globais nas capturas diurnas de mosquitos, obtidos nas estações da área de Casa Grande, de outubro de 1963 a março de 1966.

Estações	EBB	BRR	GT	CG	Total
Períodos	X.63 a III.66	X.63 a III.66	X.63 XII.64	I.65 III.66	
Número de horas de captura	600	600	280	285	1765
<b>SABETHINI</b>					
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) theobaldi</u>	11	3	25		39
<u>Trichoprosopon (Trichoprosopon) digitatum</u>		1	1	1	3
<u>Wyeomyia (Dendromyia) aporonoma</u>	55	430	14	3	502
<u>Wyeomyia (Dendromyia) confusa</u>	371	2515	71	351	3308
<u>Wyeomyia (Dendromyia) rooti</u>		5			5
<u>Wyeomyia (Menolepis) leucostigma</u>	1	6		1	8
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) lutzi</u>	1				1
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) oblita</u>	68	337	20	2	427
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) sabethea</u>	1	1	1		3
<b>T o t a l . . . . .</b>	<b>11968</b>	<b>40845</b>	<b>4847</b>	<b>7117</b>	<b>64777</b>

Outros representantes dos Culicini foram constituídos por raros exemplares de Mansonia albifera e de Orthopodomyia albicosta que compareceram às capturas noturnas.

Sabethini. - Esta tribo contribuiu consideravelmente no volume global do material coletado. Seu comparecimento se fêz sentir, principalmente nas coletas diurnas, nas quais alcançou 74,1% do total obtido. Nas noturnas, a participação destes mosquitos foi sensivelmente menor, chegando apenas a 23,4%. Naquelas notou-se que a sua presença foi constantemente alta para todas as estações, com exceção de CG onde, embora elevada, não chegou ao nível das demais.

O gênero Phoniomyia compareceu de maneira constante e contribuiu com grande contingente para o resultado geral. Com efeito, do total de espécimens conseguidos nas coletas diurnas, 30439 foram representantes deste grupo, perfazendo assim 47,0%, o que significa quase a metade do material obtido nessas horas. Em ambas capturas a espécie dominante foi Phoniomyia pili cauda. Esteve ela constantemente presente, de maneira relevante, em todas as estações, exceção feita de pequeno número de exemplares com que compa

receu nas coletas noturnas de GT e CG. Das outras espécies, Phoniomyia longirostris e P. palmata foram obtidas em número digno de nota nos períodos diurnos de EBB, BRR e GT, além dos noturnos de BRR. O outro representante do gênero foi Phoniomyia davisii, cujo comparecimento apenas mereceu certo destaque na coleta diurna de BRR.

Os representantes do gênero Trichoprosopon foram também coletados com abundância, chegando a sobrepujar as Phoniomyia nas capturas noturnas. Sua presença se fez sentir principalmente nas estações EBB e BRR, sendo sempre menos numerosos nas outras duas. A dominância coube a Trichoprosopon reversum que compareceu com certo número também nas coletas noturnas de CG. As espécies Trichoprosopon cerqueirai e T. frontosum, participaram também com contingente apreciável nas coletas diurnas em EBB, BRR, GT, e noturnas da segunda dessas estações. As demais espécies obtidas foram Trichoprosopon digitatum, T. pallidiventer e T. theobaldi cuja presença, porém, se fez apenas discretamente ou mesmo a custa de raros exemplares.

Conseguiu-se sete espécies de Wyeomyia distribuídas em três subgêneros. O aspecto dominante coube a Wyeomyia confusa, que participou de maneira relevante nas coletas diurnas em EBB e CG, e em ambas de BRR. Nesta última estação, fizeram-se presentes durante o dia, também Wyeomyia aporonoma e W. sabethea. Das demais, Wyeomyia leucostigma, W. lutzi e W. rooti, somente foram conseguidos poucos espécimens.

Em relação a Sabethes, observou-se a participação de três componentes do subgênero Sabethes e um de Sabethinus. Os mais abundantes foram Sabethes albiprivus e S. intermedius. Todavia, seu número não foi grande, atingindo certo valor somente na estação BRR e apenas nas capturas diurnas. Quanto aos outros dois representantes, Sabethes quasicyaneus e S. tarsopus, foram êles obtidos em quantidade pequena ou mesmo desprezível.

A única componente do gênero Limatus, foi a espécie Limatus flavisetosus a qual, embora em reduzido número, mostrou-se mais abundante em EBB e BRR, e nas capturas diurnas.

receu nas coletas noturnas de GT e CG. Das outras espécies, Phoniomyia longirostris e P. palmata foram obtidas em número digno de nota nos períodos diurnos de EBB, BRR e GT, além dos noturnos de BRR. O outro representante do gênero foi Phoniomyia davisii, cujo comparecimento apenas mereceu certo destaque na coleta diurna de BRR.

Os representantes do gênero Trichoprosopon foram também coletados com abundância, chegando a sobrepujar as Phoniomyia nas capturas noturnas. Sua presença se fez sentir principalmente nas estações EBB e BRR, sendo sempre menos numerosos nas outras duas. A dominância coube a Trichoprosopon reversum que compareceu com certo número também nas coletas noturnas de CG. As espécies Trichoprosopon cerqueirai e T. frontosum, participaram também com contingente apreciável nas coletas diurnas em EBB, BRR, GT, e noturnas da segunda dessas estações. As demais espécies obtidas foram Trichoprosopon digitatum, T. pallidiventer e T. theobaldi cuja presença, porém, se fez apenas discretamente ou mesmo a custa de raros exemplares.

Conseguiu-se sete espécies de Wyeomyia distribuídas em três subgêneros. O aspecto dominante coube a Wyeomyia confusa, que participou de maneira relevante nas coletas diurnas em EBB e CG, e em ambas de BRR. Nesta última estação, fizeram-se presentes durante o dia, também Wyeomyia aponoma e W. sabethea. Das demais, Wyeomyia leucostigma, W. lutzi e W. rooti, somente foram conseguidos poucos espécimens.

Em relação a Sabethes, observou-se a participação de três componentes do subgênero Sabethes e um de Sabethinus. Os mais abundantes foram Sabethes albiprivus e S. intermedius. Todavia, seu número não foi grande, atingindo certo valor somente na estação BRR e apenas nas capturas diurnas. Quanto aos outros dois representantes, Sabethes quasicyaneus e S. tarsopus, foram êles obtidos em quantidade pequena ou mesmo desprezível.

A única componente do gênero Limatus, foi a espécie Limatus flavisetosus a qual, embora em reduzido número, mostrou-se mais abundante em EBB e BRR, e nas capturas diurnas.

Tabela 5.2 - Percentagens das várias espécies coletadas nas capturas diurnas de mosquitos nas estações da área de Casa Grande. (§)

Espécies	EBB	BRR	GT	CG	Total
ANOPHELINI .....	20,0	22,7	13,5	17,1	21,0
<u>Anopheles cruzii</u>	20,0	22,7	13,5	17,1	21,0
CULICINI .....	+	1,8	8,6	28,4	4,9
<u>Aedes serratus</u>	+	+	2,2	15,8	2,5
<u>Psorophora discrucians</u>	+	+		1,8	+
<u>Psorophora ferox</u>	+	+	5,7	10,5	2,0
SABETHINI	79,7	75,5	78,0	54,5	74,1
<u>Phoniomyia davisi</u>	1,2	1,1	1,3		1,0
<u>Phoniomyia longirostris</u>	15,0	15,6	24,5	+	14,5
<u>Phoniomyia palmata</u>	4,2	3,9	4,8	+	3,6
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	24,7	29,0	14,9	37,1	27,9
<u>Sabethes intermedius</u>	+	+	+	1,1	+
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	3,7	2,3	5,7	1,2	2,7
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	7,9	5,3	12,5	+	5,7
<u>Trichoprosopon reversum</u>	16,0	8,9	10,0	8,1	10,2
<u>Wyeomyia aporonoma</u>	+	1,0	+	+	+
<u>Wyeomyia confusa</u>	3,1	6,1	1,5	4,9	5,1

(§) Sòmente figuram aquelas que compareceram com proporções iguais ou maiores do que 1,0%, pelo menos em uma das estações.

+ Percentagem inferior a 1,0%.



Tabela 5.3 - Resultados globais nas capturas noturnas de mosquitos, obtidos nas estações da área de Casa Grande, de outubro de 1963 a março de 1966.

Estações	EBB	BRR	GT	CG	
Períodos	X.63 a III.66	XL.63 a III.66	XI.63 a XII.64	I.65 a III.66	Total
Número de horas de captura	200	220	72	110	602
<u>ANOPHELINI</u> ..... totais ....	3316	13915	1835	637	19703
<u>Anopheles (Kerteszia) cruzii</u>	3310	13900	1831	637	19678
<u>Anopheles (Myzorrhunchella) lutzii</u>	6	14	2		22
<u>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</u>			2		2
<u>Chagasia fajardoi</u>		1			1
<u>CULICINI</u> ..... totais ....	58	751	168	935	1912
<u>Aedes (Finlaya) fluviatilis</u>			1		1
<u>Aedes (Finlaya) leucocelaenus</u>	5	37	2	2	46
<u>Aedes (Finlaya) terreus</u>		4			4
<u>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</u>	11	33	26		70
<u>Aedes (Ochlerotatus) serratus</u>	26	444	112	858	1440
<u>Culex (Culex) sp.</u>	4			1	5
<u>Culex (Microculex) worontzowi</u>	6				6
<u>Mansonia (Rhynchotaenia) albifera</u>		1	1	1	3
<u>Orthopodomyia albicosta</u>		1			1
<u>Psorophora (Janthinosoma) albipes</u>			4		4
<u>Psorophora (Janthinosoma) discrucians</u>		28		1	29
<u>Psorophora (Janthinosoma) ferox</u>	6	203	22	72	303
<u>SABETHINI</u> ..... totais ....	446	5946	65	167	6624
<u>Limatus flavisetosus</u>		11			11
<u>Phoniomyia davisii</u>	1	42			43
<u>Phoniomyia longirostris</u>	45	603	8		656
<u>Phoniomyia palmata</u>	7	171			178
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	110	933	7	26	1076
<u>Sabethes (Sabethes) albiprivus</u>	1	9	6		16
<u>Sabethes (Sabethes) quasicyaneus</u>		1			1
<u>Sabethes (Sabethinus) intermedius</u>	3	13			16
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) cerqueirai</u>	29	256	3	3	291

Tabela 5.3 - Resultados globais nas capturas noturnas de mosquitos, obtidos nas estações da área de Casa Grande, de outubro de 1963 a março de 1966.

Estações	EBB	BRR	GT	CG	Total
Períodos	X.63 a III.66	XI.63 a III.66	XI.63 a XII.64	I.65a III.66	
Número de horas de captura	200	220	72	110	602
SABETHINI ..... totais.....	446	5946	65	167	6624
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) frontosum</u>	38	641	22		701
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) pallidiventer</u>	37	84		17	138
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) reversum</u>	128	1926	19	112	2185
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) theobaldi</u>	7	12			19
<u>Trichoprosopon (Trichoprosopon)</u> <u>compressum</u>		1			1
<u>Trichoprosopon (Trichoprosopon)</u> <u>digitatum</u>		17		1	18
<u>Wyeomyia (Dendromyia) aporonoma</u>		87			87
<u>Wyeomyia (Dendromyia) confusa</u>	35	1117		8	1160
<u>Wyeomyia (Menolepis) leucostigma</u>	2	10			12
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) oblita</u>	3	12			15
Total .....	3820	20612	2068	1739	28329

Tabela 5.4 - Percentagens das várias espécies coletadas nas capturas noturnas de mosquitos, nas estações da área de Casa Grande (§).

Espécies	EBB	BRR	GT	CG	Total
<b>ANOPHELINI</b> .....	86,8	67,5	88,7	36,6	69,8
<u>Anopheles cruzii</u>	86,6	67,4	88,5	36,6	69,5
<b>CULICINI</b> .....	1,5	3,6	8,1	53,8	6,8
<u>Aedes scapularis</u>	+	+	1,2		+
<u>Aedes serratus</u>	+	2,1	5,4	49,3	5,1
<u>Psorophora ferox</u>	+	1,0	1,1	4,1	1,1
<b>SABETHINI</b> .....	11,7	28,8	3,1	9,6	23,4
<u>Phoniomyia longirostris</u>	1,8	2,9	+		2,3
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	2,9	4,5	+	1,4	3,8
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	+	1,2	+	+	1,0
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	1,0	3,1	1,1		2,5
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>	1,0	+		1,0	+
<u>Trichoprosopon reversum</u>	3,3	9,3	+	6,4	7,7
<u>Wyeomyia confusa</u>	+	5,4		+	4,1

(§) Somente figuram aquelas que compareceram com proporções iguais ou maiores do que 1,0%, pelo menos em uma das estações.

+ Percentagem inferior a 1,0%.

Considerando-se as espécies que foram coletadas em, pelo menos uma das quatro estações, em proporção não inferior a 1,0% do total, verificamos os resultados constantes das Tabelas 5.2 e 5.4. Pode-se observar, em relação às duas capturas, uma como que inversão nas proporções de Sabethini e Anophelini, ou melhor, Anopheles cruzii. Com efeito, nos períodos diurnos verificamos o franco predomínio dos primeiros, perfazendo 74,1% e com preponderância dos gêneros Phoniomyia, Trichoprosopon e Wyeomyia. Nessas ocasiões, o Anopheles cruzii se fez representar com 21,%. Nas capturas crepusculares/noturnas, a situação praticamente se inverteu, passando esse anofelino a quase 70,0% e os sabetinos a 23,4%. Note-se o papel dominante do Anopheles cruzii, desempenhando-o como única espécie da tribo na composição específica de todo o conjunto de culicídeos capturados.

Os culicídeos se fizeram representar pobremente, chegando apenas Aedes serratus e Psorophora ferox a merecer algum destaque. Estes mosquitos se mostraram mais frequentes na estação CG do que nas outras, onde os sabetinos foram sempre mais abundantes. Isso talvez possa sugerir o caráter acentuadamente selvático destes, com menor tendência a se aproximarem do ambiente humano que, no caso particular de CG, seria representado pelo núcleo habitado de Casa Grande.

É de se assinalar também a escassez ou mesmo ausência de certas espécies de interesse epidemiológico na transmissão de alguns vírus, como o da febre amarela. Assim é que, ao lado da inexistência de representantes de Haemagogus, foi insignificante o comparecimento de Aedes leucocelaenus e pobre, o de Sabethes. Tais resultados sugerem portanto que, mediante o emprêgo de isca humana nesta região, a fauna atraída é composta principalmente por Anopheles cruzii e várias espécies de Sabethini. Deve-se admitir que a atividade e a antropofilia desses culicídeos são suficientes para se tornarem dominantes. É lícita, portanto, a suposição de que esta região se constitui em nicho ecológico de tais mosquitos e que eles deverão manter relações com outros componentes, entre os quais, os arbovírus locais. Compreende-se por conseguinte que nas considerações a serem feitas nos parágrafos seguintes, as atenções se concentrem nesses representantes.

Resumindo, de 93016 mosquitos capturados nas quatro estações, as espécies mais frequentes distribuíram-se da seguinte forma:

	N.	%
<u>Anopheles cruzii</u>	33217	35,7
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	19123	20,5
<u>Phoniomyia longirostris</u>	10069	10,8
<u>Trichoprosopon reversum</u>	8788	9,4
<u>Wyeomyia confusa</u>	4468	4,8
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	4425	4,7
<u>Aedes serratus</u>	3039	3,3
<u>Phoniomyia palmata</u>	2507	2,7
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	2054	2,2
<u>Psorophora ferox</u>	1573	1,7
<u>Phoniomyia davisii</u>	693	0,7
<u>Wyeomyia aporonoma</u>	589	0,6
<u>Sabethes albiprivus</u>	446	0,5
<u>Wyeomyia oblita</u>	442	0,5
<u>Sabethes intermedius</u>	365	0,4
Outros	1218	1,3
Total .....	93016	99,8

### Distribuição Vertical.

Desde as observações iniciais com o gênero Haemagogus na Colombia (Bugher e cols. 1944, Bates 1944), sabe-se que certos mosquitos na floresta, denotam evidente estratificação ou distribuição vertical. Algumas espécies mostram marcada preferência em exercer suas atividades no nível da copa elevada das árvores, propriedade para a qual foi proposto o nome de acrodendrofilia, por Garnham, Harper e Highton (1946).

Em vista disso, a finalidade das coletas executadas nas plataformas das estações, destina-se a possibilitar a obtenção de amostra passível de ser comparada com aquela conseguida concomitantemente no solo. As informações sobre a fauna culicídana dos altos níveis apresentam particular interesse, pois os hospedeiros vertebrados de certos vírus possuem hábitos arborícolas. Daí a possibilidade de relacionar as espécies de mosquitos ali encontradas, com o ciclo enzoótico natural desses agentes. Assim pois, seguindo a orientação levada a efeito por vários pesquisadores, estabelecemos tais níveis de coletas, nos períodos diurnos e crepusculares/noturnos já citados (Bates 1944, Causey e Santos 1949, Galindo, Trapido e Carpenter 1950, Deane Damasceno e Arouck 1953, Trapido, Galindo e Carpenter 1955, Trapido e Galindo 1957, Alvarado e cols. 1959, Groot, Morales e Vidales 1961, Morales e Vidales 1962).

Nas Tabelas 5.5 e 5.6 encontram-se os resultados gerais da distribuição vertical, observados nas capturas diurnas e noturnas. Para a avaliação dessa distribuição, consideramos somente as espécies que compareceram com cinquenta ou mais espécimens em, pelo menos, uma das estações. Dessa maneira, as percentagens e as médias horárias foram calculadas separadamente para cada um desses postos de coleta.

O critério para separar os mosquitos, sob o ponto de vista de sua estratificação vertical na mata, apresenta certa variação de acordo com os investigadores. Nas Américas, os trabalhos iniciais levados a efeito em ambiente silvestre tropical úmido de regiões do Panamá, consideraram predominantemente arbóreos aqueles cuja proporção de coleta na copa das árvores fosse de 80 a 100% (Galindo, Trapido e Carpenter 1950, Trapido, Galindo e Carpenter 1955). Em consequência, seriam predominantemente terrestres os que revelassem proporções análogas em relação ao solo, e mais ou menos indiferentes, com possíveis preferências para um ou outro, os que apresentassem valores inferiores a esses para qualquer um dos níveis. Contudo, deve-se assinalar que essa distribuição vertical pode apresentar-se com maior ou menor evidência, de acordo com o tipo de floresta. Ela geralmente se mostra mais nítida nas matas tropicais úmidas, onde as copas das árvores são altas e densas, e assim o solo é acentuadamente sombreado e protegido das condições climáticas gerais. Naquelas menos espessas e onde ocor

rem estações secas prolongadas, tais diferenças tendem a diminuir. Em nossa região, como vimos no capítulo 2, embora as copas arbóreas sejam apreciavelmente densas, a altura florestal não é grande. Além disso, observou-se que a variação da umidade e da temperatura microclimáticas, referentes aos dois pontos, não se mostrou acentuadamente diferente. Por conseguinte, quer nos parecer que o critério supracitado para a discriminação das espécies capturadas, poderia ser menos rigoroso. Resolvemos pois, considerar o valor de 60%, como limite para a separação. Aliás, aqueles mesmos autores, já o tinham adotado em suas ulteriores investigações (Trapido e Galindo, 1957).

No que concerne aos possíveis fatores orientadores desta distribuição vertical, em linhas gerais atribui-se papel de relêvo às condições microclimáticas. Estas, por sua vez, são diretamente influenciadas pelas características locais de topografia, tipo de floresta e clima. Dessa maneira, compreende-se que para as quatro estações de coletas, teremos de levar em consideração êsses diferentes aspectos, os quais não foram os mesmos para tôdas. Pondo-se de lado a influência relativamente uniforme do clima, os demais foram necessariamente diferentes, como se depreende da descrição dêsses locais de trabalho, feita linhas atrás. Acresce ainda a presença ou ausência de população humana próxima. Com efeito, enquanto a estação CG encontrava-se nas vizinhanças do núcleo de Casa Grande, as BRR e GT situavam-se em pontos da mata virgem, completamente afastados de zonas habitadas. Contudo, o tipo de floresta, principalmente no que concerne à altura da copa das árvores, foi diferente. O mesmo pode ser dito em relação à EBB. Assim sendo, acreditamos difícil considerar o comportamento de mosquitos, baseados em resultados globais das quatro estações de coleta. Preferimos descrever os resultados para cada uma delas e, com êles, passar às considerações gerais das prováveis causas influenciadoras na estratificação observada.

Fauna arbórea. - Compulsando-se os dados constantes das supramencionadas Tabelas 5.5 e 5.6, verifica-se certa variação para os mosquitos arbóreos. E não somente em cada estação como também em relação às capturas diurnas e noturnas. As proporções conseguidas na copa, encontram-se representadas pelos histogramas das Figs. 5.6 a 5.9. Êles foram ordenados de maneira decrescente para as primeiras e comparados, para cada espécie, em relação às últimas.

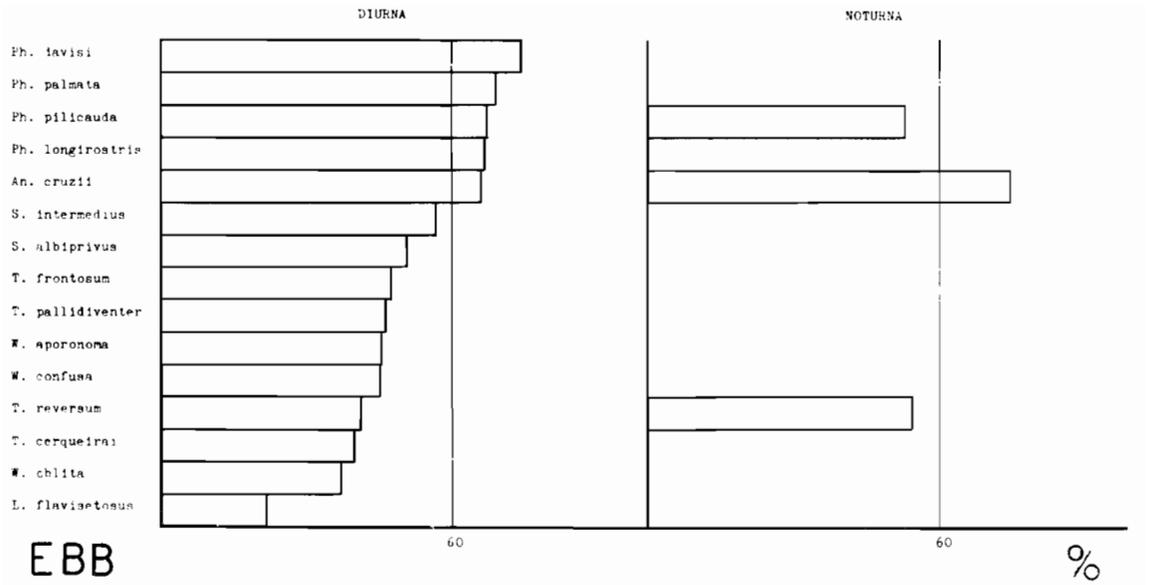
Das quinze espécies encontradas na estação EBB, cinco compareceram na copa com mais de 60% dos exemplares. Das demais, oito forneceram percentagens variáveis de 40 a 60% nesse nível. Aquelas que podemos considerar como arbóreas, foram constituídas por quatro representantes do gênero Phoniomyia e o Anopheles cruzii. Contudo, êsse aspecto foi observado nas capturas diurnas pois nas noturnas somente êsse último mosquito man

teve, e acentuou o caráter arborícola, passando de 65,8 a 74,4%. Os demais deixaram de comparecer no período de coleta crepuscular/noturno, exceto Phoniomyia pilicauda a qual todavia, teve a sua presença diminuída. As outras oito espécies foram, na sua grande maioria, encontradas apenas nas coletas diurnas. Entre elas, a única que esteve presente nas noturnas, foi Trichoprosopon reversum. Este mosquito aliás, aumentou o seu comparecimento nessas capturas, sem porém ultrapassar os 54,7%. Assim sendo, nesta estação EBB mostraram-se com hábitos diurnos arbóreos os mosquitos Phoniomyia davisii, P. palmata, P. pilicauda, P. longirostris e Anopheles cruzii. Este último, não apenas manteve, como aumentou a sua presença nesse nível, por ocasião das coletas noturnas. Oito outros culicídeos forneceram também substanciais capturas de 40 a 60% na copa. Foram eles, Sabethes intermedius, S. albiprivus, Trichoprosopon frontosum, T. pallidiventer, T. reversum, T. cerqueirai, Wyeomyia aporonomia e W. confusa.

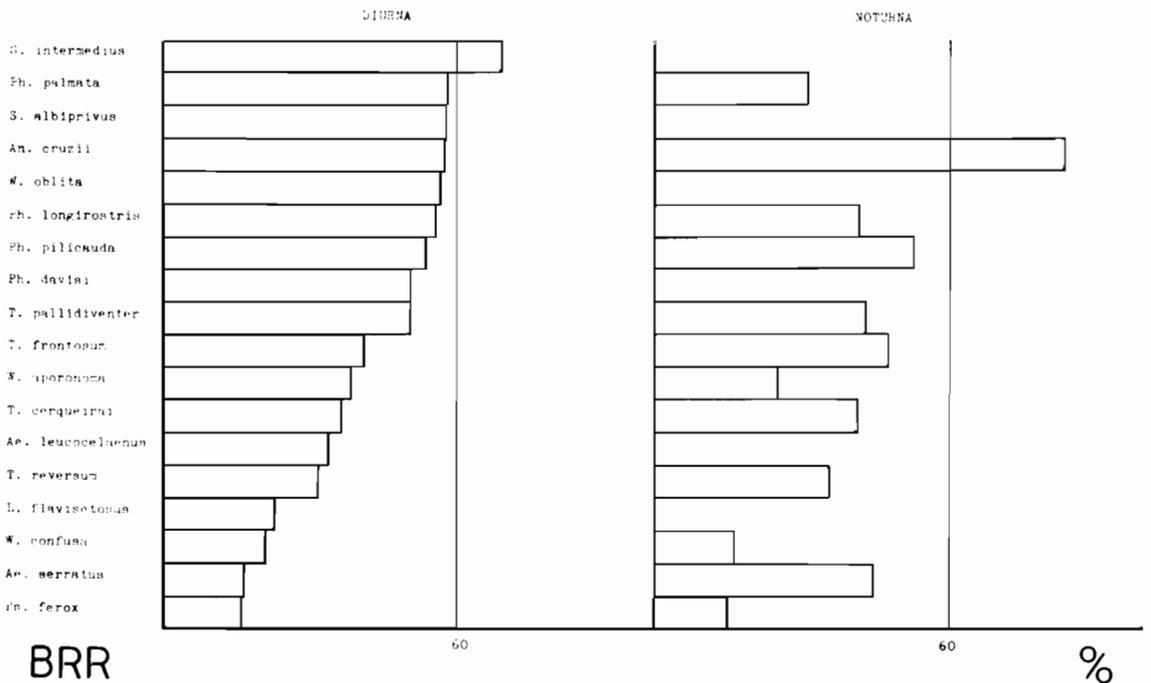
No que concerne à estação BRR, foram coletadas e compulsadas dezoito espécies na copa arbórea. Todas elas compareceram nas capturas diurnas, mas somente Sabethes intermedius o fez com mais de 60%, em tais ocasiões. Ainda nessas coletas, registrou-se a presença de nove mosquitos com substanciais situações de 40% a 60% nesse nível. Nas noturnas observou-se o desaparecimento de vários deles, entre os quais a própria espécie supracitada. Contudo, o Anopheles cruzii aumentou sensivelmente a sua presença, passando a 83,3% dos espécimens conseguidos nessas coletas noturnas. Em linhas gerais, portanto, repetiu-se aqui o observado na estação anterior, com esse anofelino reafirmando o seu hábito arbóreo por ocasião do crepúsculo e início da noite. É de se notar o elevado valor de 52,6 atingido pela média horária em tais oportunidades indicando, positivamente, acentuada atividade da espécie nesse nível. Os outros oito culicídeos que, embora sem predominante caráter arbóreo, apresentaram-se substancialmente nas capturas diurnas efetuadas na copa foram, Phoniomyia palmata, P. longirostris, P. pilicauda, P. davisii, Sabethes albiprivus, Trichoprosopon pallidiventer, T. frontosum e Wyeomyia oblita. De noite porém, como mencionamos, desaparecem ou diminuem o seu comparecimento, havendo alguns casos de aumento, mas sem atingir o limite de 60%.

---

Figs. 5.6 a 5.9 - Histogramas das percentagens de mosquitos capturados na copa das árvores das várias estações. As observações referem-se às coletas diurnas e noturnas, ordenadas para as primeiras. Acham-se incluídas somente as espécies que forneceram 50 ou mais exemplares em, pelo menos, uma das estações de captura.



5.6



5.7





Tabela 5, 5 - Distribuição vertical de mosquitos da área de Casa Grande, observada nas capturas diurnas (§).

Estação	Espécies	Copa			Solo		
		n.	mh.	%	n.	mh.	%
EBB							
	<u>Anopheles cruzii</u>	1579	2,6	65,8	821	1,4	34,2
	<u>Limatus flavisetosus</u>	13	+	21,7	47	+	78,3
	<u>Phoniomyia davisii</u>	104	0,2	74,3	36	+	25,7
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	1204	2,0	66,5	607	1,0	33,5
	<u>Phoniomyia palmata</u>	344	0,6	69,2	153	0,2	30,8
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	1971	3,3	66,7	985	1,6	33,3
	<u>Sabethes albiprivus</u>	49	+	50,5	48	+	49,5
	<u>Sabethes intermedius</u>	30	+	56,6	23	+	43,4
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	180	0,3	40,3	266	0,4	59,6
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	449	0,7	47,6	494	0,8	52,4
	<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>	47	+	46,5	54	+	53,5
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	796	1,3	41,5	1120	1,9	58,4
	<u>Wyeomyia aporonoma</u>	25	+	45,4	30	+	54,5
	<u>Wyeomyia confusa</u>	168	0,3	45,3	203	0,3	54,7
	<u>Wyeomyia oblita</u>	26	+	38,2	42	+	61,8
BRR							
	<u>Anopheles cruzii</u>	5372	8,9	57,9	3903	6,5	42,1
	<u>Aedes leucocelaenus</u>	33	+	34,4	63	0,1	65,6
	<u>Aedes serratus</u>	58	0,1	16,5	294	0,5	83,5
	<u>Psorophora ferox</u>	39	+	16,4	198	0,3	83,5
	<u>Limatus flavisetosus</u>	14	+	23,3	46	+	76,7
	<u>Phoniomyia davisii</u>	226	0,4	50,8	219	0,4	49,2
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	3603	6,0	56,7	2753	4,6	43,3
	<u>Phoniomyia palmata</u>	934	1,5	58,5	662	1,1	41,5
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	6383	10,6	54,4	5347	8,9	45,6
	<u>Sabethes albiprivus</u>	147	0,2	58,1	106	0,2	41,9
	<u>Sabethes intermedius</u>	151	0,2	69,3	67	0,1	30,7
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	348	0,6	36,5	605	1,0	63,5
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	889	1,5	41,2	1267	2,1	58,8
	<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>	61	0,1	50,8	59	0,1	49,2
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	1169	1,9	32,2	2462	4,1	67,8
	<u>Wyeomyia aporonoma</u>	166	0,3	38,6	264	0,4	61,4
	<u>Wyeomyia confusa</u>	532	0,9	21,1	1983	3,3	78,8
	<u>Wyeomyia oblita</u>	192	0,3	57,0	145	0,2	43,0

Tabela 5.5 - Distribuição vertical de mosquitos da área de Casa Grande, observada nas capturas diurnas (§).

Estação	Espécies	C o p a			S o l o		
		n.	mh.	%	n.	mh.	%
GT	<u>Anopheles cruzii</u>	476	1,7	72,8	178	0,6	27,2
	<u>Aedes serratus</u>	13	+	11,9	96	0,3	88,1
	<u>Psorophora ferox</u>	24	+	8,7	253	0,9	91,3
	<u>Phoniomyia davisii</u>	34	0,1	52,3	31	0,1	47,7
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	727	2,6	61,1	463	1,6	38,9
	<u>Phoniomyia palmata</u>	150	0,5	64,1	84	0,3	35,9
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	416	1,5	57,6	306	1,1	42,4
	<u>Sabethes albiprivus</u>	28	0,1	50,0	28	0,1	50,0
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	70	0,2	25,1	209	0,7	74,9
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	176	0,6	28,9	432	1,5	71,0
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	97	0,3	20,2	382	1,4	79,7
	<u>Wyeomyia confusa</u>	24	+	33,8	47	0,2	66,2
CG	<u>Anopheles cruzii</u>	792	2,8	65,2	423	1,5	34,8
	<u>Aedes serratus</u>	101	0,3	9,0	1025	3,6	91,0
	<u>Psorophora discrucians</u>	42	0,1	32,5	87	0,3	67,4
	<u>Psorophora ferox</u>	76	0,3	10,2	669	2,3	89,8
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	39	0,1	69,6	17	+	30,3
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	1782	6,2	67,5	857	3,0	22,5
	<u>Sabethes intermedius</u>	18	+	23,1	60	0,2	76,9
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	11	+	12,9	74	0,2	87,0
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	150	0,5	26,0	427	1,5	74,0
	<u>Wyeomyia confusa</u>	30	0,1	8,5	321	1,1	91,4

(§) Com mais de cinquenta exemplares.

+ Menos de 0,1.

mh. - média horária.

Tabela 5.6 - Distribuição vertical de mosquitos da área de Casa Grande, observada nas capturas noturnas. (§)

Estação	Espécies	C o p a			S o l o		
		n.	mh.	%	n.	mh.	%
<b>EBB</b>							
	<u>Anopheles cruzii</u>	2462	12,3	74,4	848	4,2	25,6
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	58	0,3	52,7	52	0,3	47,3
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	70	0,3	54,7	58	0,3	45,3
<b>BRR</b>							
	<u>Anopheles cruzii</u>	11585	52,6	83,3	2315	10,5	16,6
	<u>Aedes serratus</u>	197	0,9	44,4	247	1,1	55,6
	<u>Psorophora ferox</u>	31	0,1	15,3	172	0,8	84,7
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	252	1,1	41,8	351	1,6	58,2
	<u>Phoniomyia palmata</u>	54	0,2	31,6	117	0,5	68,4
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	490	2,2	52,5	443	2,0	47,5
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	107	0,5	41,8	149	0,7	58,2
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	306	1,4	47,7	335	1,5	52,3
	<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>	36	0,2	42,8	48	0,2	57,1
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	684	3,1	35,5	1242	5,6	64,5
	<u>Wyeomyia aporonomia</u>	22	0,1	25,3	65	0,3	74,7
	<u>Wyeomyia confusa</u>	183	0,8	16,4	934	4,2	83,6
<b>GT</b>							
	<u>Anopheles cruzii</u>	1337	18,6	73,0	494	6,9	27,0
	<u>Aedes serratus</u>	8	0,1	7,1	104	1,4	92,8
<b>CG</b>							
	<u>Anopheles cruzii</u>	319	2,9	50,1	318	2,9	49,9
	<u>Aedes serratus</u>	125	1,1	14,6	733	6,7	85,4
	<u>Psorophora ferox</u>	8	+	11,1	64	0,6	88,9
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	10	0,1	8,9	102	0,9	91,1

(§) Com mais de cinquenta exemplares.

+ Menos de 0,1.

mh. - média horária.

Na estação GT foram assinaladas doze espécies na copa, durante às capturas diurnas. Três delas, a saber, Anopheles cruzii, Phoniomyia palmeta e P. longirostris, fizeram-se presentes a êsse nível, com mais de 60% dos totais obtidos no pôsto de coleta. De noite, contudo, sòmente o primeiro dêsses mosquitos continuou presente, e na considerável porcentagem de 73,0%. Os outros dois desapareceram, o mesmo ocorrendo com quase todos os demais. Dêstes, foram assinalados Phoniomyia pilicauda, P. davisii e Sabethes albiprivus como fornecendo 40 a 60% de espécimens nesse nível. Os outros estiveram abaixo disso e apenas o Aedes serratus esteve presente em reduzido número na oportunidade da captura crepuscular/noturna. Em suma, também aqui o Anopheles cruzii mostrou o seu caráter arbóreo, acentuando-se por ocasião do início do período noturno.

Finalmente, as coletas levadas a efeito na copa da estação CG, mostraram o comparecimento, de dia, de Phoniomyia longirostris, P. pilicauda e Anopheles cruzii com mais de 60% dos exemplares obtidos. De noite, as duas primeiras espécies desapareceram dêsse nível e a terceira diminuiu a sua presença, continuando porém a comparecer substancialmente, com 50,1% dos espécimens coletados. Foram conseguidos mais sete espécies, tôdas elas porém ocorrendo em percentagens abaixo de 40% e, nas coletas no turnas, chegando a desaparecer, diminuir ou aumentar de maneira insignificante. De qualquer forma, o Anopheles cruzii teve outra oportunidade para reafirmar o caráter arbóreo de seus hábitos, tanto de dia como no início da noite.

Resumindo os resultados obtidos na copa das diversas estações, podemos dizer que, nas capturas diurnas, a fauna de mosquitos arbóreos foi constituída por algumas espécies de Phoniomyia, Sabethes intermedius e Anopheles cruzii. Êste último compareceu de maneira constante com êsse hábito, em todos os quatro postos, ao passo que aquêles sabetinos variaram de acôrdo com a estação. Nas coletas crepusculares/noturnas esta fauna restringiu-se apenas ao Anopheles cruzii. Em tais ocasiões, êste mosquito não sòmente manteve o seu caráter arbóreo, como também aumentou-o. Isso foi observado em praticamente tôdas as estações. Em algumas delas o comparecimento noturno dêsse anofelino foi muito pronunciado, fornecendo elevadas médias horárias neste nível.

Fauna do solo. - Compulsando ainda os dados constantes das Tabelas 5.5 e 5.6, poderemos ter idéia, para os diversos postos de coleta, das espécies que preferiram exercer a sua atividade ao nível do solo da floresta.

Na estação EBB verificou-se que das quinze espécies diurnas, sòmente duas, Limatus flavisetosus e Wyeomyia oblita, compareceram com mais de 60% ao nível do solo. Contudo, boa parte delas contribuiu substancialmente para essa coleta, como Trichoprosopon cerqueirai e T. reversum, para

os quais pouco faltou para atingirem aquêlê limite. Nas capturas noturnas nenhum mosquito se mostrou nitidamente terrestre, sendo mais ou menos in diferentes as duas espécies de sabetinos ali conseguidos.

Em BRR observou-se que oito dos dezoito mosquitos capturados de dia, mostraram preferência pelo solo, com percentagem acima de 60% de comparecimento. Foram êles, Aedes leucocelaenus, Ae. serratus, Psorophora ferox, Limatus flavisetosus, Trichoprosopon cerqueirai, T. reversum, Wyeomyia aporonomia e W. confusa. Mereceram atenção também as substanciais coletas de Trichoprosopon frontosum, T. pallidiventer e Phoniomyia da visi. Nas capturas noturnas compareceram, como preferencialmente do solo, com mais de 60%, Psorophora ferox, Phoniomyia palmata, Trichoprosopon reversum, Wyeomyia aporonomia e W. confusa, e forneceram também a precíavel contingente para êste nível, Phoniomyia longirostris, Trichoprosopon cerqueirai, T. pallidiventer e Ae. serratus.

Nas capturas diurnas em GT, mostraram-se decididamente terrestres, Aedes serratus, Psorophora ferox, Trichoprosopon reversum, T. cerqueirai, T. frontosum e Wyeomyia confusa. Nas noturnas, Aedes serratus foi a única espécie predominante no solo, comparecendo a êsse nível com 92,8% dos espécimens obtidos.

No que concerne a CG, os mosquitos diurnos do solo foram Aedes serratus, Wyeomyia confusa, Psorophora ferox, Ps. discrucians, Sabethes intermedius, Trichoprosopon cerqueirai e T. reversum. Nas coletas noturnas, embora ocorresse certa participação do Anopheles cruzii, as espécies nitidamente terrestres, foram Aedes serratus, Psorophora ferox e Trichoprosopon reversum.

Em resumo, os resultados obtidos nas capturas efetuadas no solo das várias estações, revelaram fauna um tanto variável. Com presença nitidamente constante acima de 60%, foram assinalados Aedes serratus, Psorophora ferox, Limatus flavisetosus, Wyeomyia confusa e Trichoprosopon cerqueirai. Outras espécies limitaram-se a comparecer de maneira predominante, ou substancial, de acôrdo com o pôsto de coleta. Dessa forma, alguns mosquitos variaram nesse particular, contribuindo numa estação para a fauna do solo e em outra para a arbórea. Foi o caso de alguns representantes de Wyeomyia e Trichoprosopon. Assinalou-se o comportamento de Sabethes intermedius como culicídeo do solo na estação CG, tendo se mostrado essencialmente arbóreo em BRR, conforme citamos linhas atrás. Notou-se também a presença de Aedes leucocelaenus somente na estação BRR, sendo ali coletado no solo, de maneira predominante.

Considerações. - Os aspectos supradescritos mostram a estratificação vertical observada nas horas de coletas e mediante o uso de isca humana.

Nas diurnas verificou-se que, em geral, certos sabetinos disputam com o Anopheles cruzii a predominância na copa arbórea. Tal aspecto modifica-se por ocasião do crepúsculo e início da noite, quando aquêles mosquitos declinam ou desaparecem e êste passa então a predominar. Isso sugere que os representantes noturnos de Phoniomyia e Trichoprosopon sejam meros componentes da população diurna que estendem a sua atividade até o início da noite. Tu do indica que, nessa oportunidade, aquela espécie anofélica não predomine somente por falta das outras, mas sim também através do incremento de sua própria atividade.

A presença dêsses mosquitos com hábitos arbóreos encontra explicação, possivelmente em vários fatores. Um dêles seria o concernente aos criadouros situados em bromélias epífitas e ocos de árvores. Nesse particular, resultados semelhantes foram obtidos em outras regiões, como em Trinidad e Panamá, onde outras espécies do subgênero Kerteszia, Anopheles bellator e Anopheles neivai, forneceram substanciais coletas nesse nível (Downs e Pittendrigh 1946, Trapido, Galindo e Carpenter 1955). É interessante assinalar que na região de Passos, Estado de Minas Gerais, no sul do Brasil, investigações análogas efetuadas em pequenas áreas de florestas residuais, revelaram baixa proporção de sabetinos na copa, não indo além de 35,4% o máximo observado (Causey e Santos, 1949). Por sua vez, na região de Brusque, Estado de Santa Catarina, não foi encontrada variação significativa nas capturas de três espécies de Kerteszia em três níveis diferentes, correspondentes ao solo e duas plataformas arbóreas (Veloso e cols. 1956).

Por outro lado, boa parte de representantes de Sabethini, juntamente com Aedes e Psorophora, apresentaram-se com grande comparecimento no solo. Inclusive o Aedes leucocelaenus, embora se trate de mosquito que se cria em buracos de árvores.

Outro fator ao qual se tem atribuído influência na estratificação vertical, vem a ser aquêle representado pelas condições microclimáticas locais e climáticas gerais. Desde as observações de Bates (1944) na Colombia, tem se verificado a possibilidade dessa distribuição sofrer alterações durante as diferentes horas do dia e as épocas sêcas e úmidas do ano. Tais variações são devidas às modificações no microclima em consequência da presença de condições climáticas gerais, tornando ou não, sensivelmente diferentes a temperatura e a umidade na copa e no solo das matas. Essas diferenças atingem valores mais acentuados nas florestas úmidas do que naquelas constituídas por vegetação decídua. Nestas últimas o microclima tende a se uniformizar e a estratificação a se tornar menos evidente do que naquelas onde as diferenças entre copa e solo são mais pronunciadas (Trapido e Galindo, 1957). Em outras palavras, a ação das condições climáticas gerais se faz sentir mais acentuadamente nas florestas decíduas do que naquelas formadas por plantas latifoliadas e de ambiente úmido. Contudo, mesmo nestas, o aspecto microcli

mático não é o mesmo para tôdas. No sul do Brasil, a época sêca do ano coincide também com a mais fria, e a tal fato atribuem Causey e Santos (1949) o não terem observado diferença apreciável na estratificação de mosquitos durante tais períodos, na zona de Passos, Estado de Minas Gerais. Ainda no Brasil meridional, região de Brusque, Estado de Santa Catarina, as observações de Veloso e cols. (1956) com três espécies de *Kerteszia* concluíram que o vôo desses anofelinos parecia estar intimamente ligado à umidade relativa. Dessa maneira, tanto a distribuição anual como diurna tenderiam a aumentar com a diminuição desse fator. Contudo, como já assinalamos, nessas investigações não se detectou variação significativa entre o solo e os níveis arbóreos.

Como já tivemos ocasião de descrever no capítulo 2, a floresta na qual realizamos essas observações é do tipo tropical úmido. Contudo, difere dela em múltiplos aspectos da equatorial. É isso devido, em boa parte, não apenas àquêles concernentes à temperatura e precipitações, mas também à insolação e ao estado higrométrico do ar (Aragão, 1961). Com efeito, nesta encosta atlântica, é bem mais prolongado o período de tempo em que o céu se apresenta encoberto e também mais frequentes os nevoeiros. Isso condiciona maiores valores da umidade do ar, o que pode explicar as variações que se observam na vegetação. É o caso da riqueza em epífitas nesta região sul e a pobreza dessas plantas em matas amazônicas. Por conseguinte, é de se esperar que, como mencionamos, as diferenças microclimáticas da copa e do solo, não sejam acentuadas em nossa região.

Todavia, além dessa possível uniformidade microclimática, deve-se levar em conta que a altura média da copa das árvores não é grande. Tal aspecto torna viável a suposição de que seja ainda maior a influência do clima geral nas condições correspondentes aos dois níveis florestais.

Com o objetivo de observar a distribuição vertical em diversas épocas do ano, levamos em conta espaço de tempo constituído pelos vinte e quatro meses decorridos de março de 1964 a fevereiro de 1966. Baseados nos dados climáticos já conhecidos e explanados no segundo capítulo deste trabalho, consideramos como secos os intervalos correspondentes aos meses de março a agosto, e úmidos os de setembro a fevereiro. Assim sendo, eles representaram os conjuntos de outono-inverno e primavera-verão, respectivamente, com as temperaturas mais baixas acompanhando o primeiro e as mais altas o último (v. Tabelas 2.1 e 2.2). Dessa maneira, pudemos dispor de dois períodos secos e dois úmidos para os quais calculamos as percentagens das capturas diurnas e noturnas, na copa e no solo, concernentes aos postos EBB e BRR. Para os outros dois, só foi possível levar em consideração um só desses períodos para CG, pois em GT as atividades foram suspensas em dezembro de 1964. Os resultados constam das Tabelas 5.7 a 5.10. Ali se encontram compulsados somente os dados das espécies que apresentaram médias horárias não inferiores a 1,0, pelo menos em um dos níveis, e cujo comparecimento no período considerado, não se fez com número inferior a cinquenta es

Tabela 5.7 - Distribuição vertical de mosquitos na área de Casa Grande, observada no 1º período sêco (III.64 - VIII.64). (§)

Estação	Espécies	Total	Copa		Solo	
			n.	%	n.	%
EBB - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	284	152	53,5	132	46,5
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	800	489	61,1	311	38,9
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	726	483	66,5	243	33,5
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	336	169	50,3	167	49,7
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	68	66	97,0	2	2,9
BRR - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	1938	1336	68,9	602	31,1
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	2056	1067	51,9	989	48,1
	<u>Phoniomyia palmata</u>	536	274	51,1	262	48,9
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	1800	988	54,9	812	45,1
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	436	194	44,4	242	55,5
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	1191	570	47,8	621	52,1
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	875	398	45,5	477	54,5
	<u>Wyeomyia confusa</u>	291	113	38,8	178	61,2
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	2873	2610	90,8	263	9,1
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	202	74	36,6	128	63,4
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	145	47	32,4	98	67,6
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	243	111	45,7	132	54,3
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	153	51	33,3	102	66,7
	<u>Wyeomyia confusa</u>	84	19	22,6	65	77,4

(§) Sòmente figuram as espécies que compareceram com médias horárias superiores a 1,0, pelo menos em um dos níveis, e com número de exemplares não inferior a cinquenta, no período considerado.

Tabela 5.8 - Distribuição vertical de mosquitos na área de Casa Grande, observada no 1º período úmido (IX, 64 - II.65). (§)

Estação	Espécies	Total	Copa		Solo	
			n.	%	n.	%
EBB - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	757	456	60,2	301	39,8
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	356	235	66,0	121	34,0
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	281	176	62,6	105	37,4
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	472	202	42,8	270	57,2
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	1129	839	74,3	290	25,7
BRR - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	2199	1390	63,2	809	36,8
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	2487	1628	65,5	859	34,5
	<u>Phoniomyia palmata</u>	289	208	72,0	81	28,0
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	2958	1815	61,3	1143	38,6
	<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	192	30	15,6	162	84,4
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	221	57	25,8	164	74,2
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	728	184	25,3	544	74,7
	<u>Wyeomyia confusa</u>	347	51	14,7	296	85,3
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	2949	2278	77,2	671	22,7
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	164	91	55,5	73	44,5
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	144	102	70,8	42	29,2
	<u>Trichoprosopon frontosum</u>	217	106	48,8	111	51,1
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	496	201	40,5	295	59,5
	<u>Wyeomyia confusa</u>	71	15	21,1	56	78,9

(§) Somente figuram as espécies que compareceram com médias horárias superiores a 1,0, pelo menos em um dos níveis, e com número de exemplares não inferior a cinquenta, no período considerado.

Tabela 5.9 - Distribuição vertical de mosquitos na área de Casa Grande, observada no 2º período sêco (III.65 -VIII.65). (§)

Estação	Espécies	Total	Copa		Solo	
			n.	%	n.	%
EBB - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	259	192	74,1	67	25,9
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	764	514	67,3	250	32,7
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	440	131	29,8	309	70,2
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	411	398	96,8	13	3,2
BRR - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	863	523	60,6	340	39,4
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	1583	917	57,9	666	42,1
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	648	219	33,8	429	66,2
	<u>Wyeomyia confusa</u>	338	51	15,1	287	84,9
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	1626	1253	77,1	373	22,9
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	148	79	53,4	69	46,6
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	474	200	42,2	274	57,8
	<u>Wyeomyia confusa</u>	211	21	9,9	190	90,0
CG - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	199	136	68,3	63	31,6
	<u>Aedes serratus</u>	251	50	19,9	201	80,0
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	913	616	67,5	297	32,5
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	239	93	38,9	146	61,1
	<u>Wyeomyia confusa</u>	183	25	13,7	158	86,3
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	65	26	40,0	39	60,0
	<u>Aedes serratus</u>	104	1	9,6	103	99,0

(§) Sòmente figuram as espécies que compareceram com médias horárias superiores a 1,0, pelo menos em um dos níveis, e com número de exemplares não inferior a cinquenta, no período considerado.

Tabela 5.10 - Distribuição vertical de mosquitos na área de Casa Grande, observada no 2º período úmido (IX.65 - II.66). (§)

Estação	Espécies	Total	Copa		Solo	
			n.	%	n.	%
EBB - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	559	375	67,1	184	32,9
	<u>Phoniomyia longirostris</u>	57	34	59,6	23	40,3
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	509	346	68,0	163	32,0
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	359	167	46,5	192	53,5
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	986	621	63,0	365	37,0
BRR - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	2601	1238	47,6	1363	52,4
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	2870	1422	49,5	1448	50,4
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	710	140	19,7	570	80,3
	<u>Wyeomyia confusa</u>	616	58	9,4	558	90,6
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	2126	1809	85,1	317	14,9
	<u>Aedes serratus</u>	143	37	25,9	106	74,1
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	310	170	54,8	140	45,2
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	601	173	28,8	428	71,2
	<u>Wyeomyia confusa</u>	510	84	16,5	426	83,5
CG - capturas diurnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	305	154	50,5	151	49,5
	<u>Aedes serratus</u>	320	4	1,2	316	98,7
	<u>Psorophora ferox</u>	181	18	9,9	163	90,0
	<u>Phoniomyia pilicauda</u>	526	349	66,3	177	33,6
	<u>Trichoprosopon reversum</u>	61	7	11,5	54	88,5
	<u>Wyeomyia confusa</u>	67	1	1,5	66	98,5
capturas noturnas:						
	<u>Anopheles cruzii</u>	62	41	66,1	21	33,9
	<u>Aedes serratus</u>	223	21	9,4	202	90,6

(§) Somente figuram as espécies que compareceram com médias horárias superiores a 1,0, pelo menos em um dos níveis, e com número de exemplares não inferior a cinquenta, no período considerado.

Verifica-se portanto que, em ambos os períodos, o Anopheles cruzii, manteve o seu caráter arbóreo. Com efeito, a percentagem de 60% foi ultrapassada na maioria das coletas efetuadas nesse nível. Fizeram exceção algumas variações que podem ser atribuídas a fatores locais. Foi o caso das coletas diurnas referentes ao 1º período sêco em EBB e 2º úmido em BRR e CG, além das noturnas do 2º sêco em CG. Contudo, em tôdas elas o seu comparecimento foi substancial, nunca inferior a 40,0% dos exemplares coletados. Como regra geral, verificou-se também o incremento da presença arborea deste mosquito, por ocasião das capturas noturnas. Como exceção apresentaram-se aquelas referentes ao 2º período sêco em CG, em que houve de crêscimo do comparecimento do anofelino na copa.

Portanto, considerando o Anopheles cruzii como mosquito acrodendrófilo, julgamos de interêsse a observação de possíveis variações dessa qualidade, segundo os locais (estações), as coletas (diurnas e noturnas) e as condições climáticas gerais (períodos secos e úmidos). Para tanto lançamos mão do procedimento de Gold (1960, 1962). Êle permite a realização simultânea, a um nível de significância global prefixado, de todos os testes de hipóteses relativos à comparação de proporções em sua forma mais geral (contrastes), numa distribuição multinomial. Dessa maneira, os dados relativos a essa acrodendrofilia, encontram-se expostos na Tabela 5.11. Nela estão incluídos todos os elementos necessários para as comparações que julgamos necessárias. Assim por exemplo, para comparar, em EBB, a proporção de capturas no período diurno com aquelas do noturno independentemente do clima, procedemos da seguinte maneira:

$$\begin{aligned}
 & \frac{1}{4} \sum_{i=1}^4 p_i - \frac{1}{4} \sum_{i=5}^8 p_i \\
 & \sqrt{\frac{1}{4^2} \sum_{i=1}^4 s_i^2 + \frac{1}{4^2} \sum_{i=5}^8 s_i^2} = \\
 & = \frac{\frac{1}{4} (0,535+0,741+0,602+0,671) - \frac{1}{4} (0,970+0,968+0,743+0,630)}{\sqrt{\frac{1}{4^2} (0,00087 + 0,00075 + 0,00031 + 0,00040) + \frac{1}{4^2} (0,00043 + 0,00007 + 0,00017 + 0,00023)}} = 13,41
 \end{aligned}$$

Esse valor revelou-se maior do que o crítico que, sendo apenas função do número total de categorias, é igual a 5,605. Por conseguinte, isso mostra a existência de diferença significativa entre a proporção de espécimens de Anopheles cruzii capturados na copa, nos períodos diurnos e noturnos em EBB. Da mesma forma, realizamos êsses cálculos para as várias comparações seguintes.

Tabela 5.11 - Dados sôbre a acrodendrofilia do Anopheles cruzii, segundo as estações de coleta, as capturas e os períodos secos e úmidos do ano.

Estação	Captura	Período	$x_i$	$n_i$	$\hat{p}_i$	$s_i^2$
EBB	Diurna	S1	152	284	$p_1 = 0,535$	$s_1 = 0,00087$
		S2	192	259	$p_2 = 0,741$	$s_2 = 0,00075$
		U1	456	757	$p_3 = 0,602$	$s_3 = 0,00031$
		U2	375	559	$p_4 = 0,671$	$s_4 = 0,00040$
	Noturna	S1	66	68	$p_5 = 0,970$	$s_5 = 0,00043$
		S2	398	411	$p_6 = 0,968$	$s_6 = 0,00007$
		U1	839	1129	$p_7 = 0,743$	$s_7 = 0,00017$
		U2	621	986	$p_8 = 0,630$	$s_8 = 0,00023$
BRR	Diurna	S1	1336	1938	$p_9 = 0,689$	$s_9 = 0,00011$
		S2	523	863	$p_{10} = 0,606$	$s_{10} = 0,00028$
		U1	1390	2199	$p_{11} = 0,632$	$s_{11} = 0,00010$
		U2	1238	2601	$p_{12} = 0,476$	$s_{12} = 0,00009$
	Noturna	S1	2610	2873	$p_{13} = 0,908$	$s_{13} = 0,00003$
		S2	1253	1626	$p_{14} = 0,771$	$s_{14} = 0,00011$
		U1	2278	2949	$p_{15} = 0,772$	$s_{15} = 0,00006$
		U2	1809	2126	$p_{16} = 0,851$	$s_{16} = 0,00006$
CG	Diurna	S2	136	199	$p_{17} = 0,683$	$s_{17} = 0,00108$
		U2	154	305	$p_{18} = 0,505$	$s_{18} = 0,00082$
	Noturna	S2	26	65	$p_{19} = 0,400$	$s_{19} = 0,00369$
		U2	41	62	$p_{20} = 0,661$	$s_{20} = 0,00361$

$x_i$  = número de exemplares capturados na copa

$n_i$  = número total de exemplares capturados

$$\hat{p}_i = \frac{x_i}{n_i}$$

$$s_i^2 = \frac{x_i(n_i - x_i)}{n_i^3}$$

S1 = 1º período sêco

S2 = 2º período sêco

U1 = 1º período úmido

U2 = 2º período úmido

Quanto aos locais de coleta, os dados globais das várias estações forneceram os resultados:

EBB X BRR = 2,42

EBB X CG = 6,81

BRR X CG = 6,22

Observa-se significância nas últimas duas comparações, o que permite supor que a estação CG difere das outras duas, no que concerne ao total do material coletado. Com efeito, como vimos assinalando em páginas anteriores, êste pôsto se situa próximo ao núcleo habitado de Casa Grande e isso talvez possibilite maior ação por parte do homem, no sentido de introduzir modificações no primitivo ambiente natural. Por outro lado, pode ocorrer a presença de peculiaridades locais, não estudadas. Seria o caso de diferenças na densidade de bromélias e na composição da fauna e flora. De qualquer forma, embora o Anopheles cruzii conserve em nível apreciável o seu caráter acrodendrófilo, em CG êle se comporta de maneira um tanto diferente do que em EBB e BRR. Quanto a estas duas últimas estações, sob o ponto de vista dos resultados globais, elas aparentemente não diferem.

Em relação aos dados gerais das coletas diurnas e noturnas, as comparações forneceram os resultados seguintes:

Capturas diurnas X Capturas noturnas:

EBB = 13,41

BRR = 30,99

CG = 1,32

Observa-se significância para o rendimento total nas coletas noturnas da copa arbórea, em EBB e BRR. Mais uma vez, verifica-se a discrepância da estação CG, pois as diferenças observadas não foram expressivas.

Finalmente, se compararmos os dados obtidos nos períodos secos e úmidos para as capturas diurnas e noturnas, obteremos o seguinte.

Períodos secos X Períodos úmidos:

1) Capturas diurnas

EBB = 0,06  
BRR = 7,80  
CG = 4,08

2) Capturas noturnas

EBB = 18,83  
BRR = 3,50  
CG = 3,06

Constata-se que em períodos secos ocorreu aumento relevante das proporções arbóreas noturnas em EBB e diurnas em BRR. Não houve diferença significativa em relação aos demais períodos e na estação CG. É claro que a explicação dêsse aspecto, no estado atual de nossos conhecimentos, não passará do terreno das hipóteses. Contudo, cremos que em virtude de fatores locais, a uma menor densidade que ocorra no período seco e frio do ano, corresponda, proporcionalmente, maior número de exemplares dêsse anofelino no alto das árvores. Em outras palavras, diminuindo o número total de mosquitos pode acontecer que, em circunstâncias independentes do dia ou da noite, os exemplares capturados venham a ser, em sua maior proporção, encontrados na copa arbórea. Nesse caso, teríamos o hábito acrodendrófilo determinando maior acúmulo nesse nível, em tais ocasiões. De resto, as outras comparações não revelaram significância, mostrando assim que tais discrepâncias adquirem aspectos de peculiaridades locais.

Em suma, o Anopheles cruzii mostrou-se mosquito essencialmente acrodendrófilo, apesar de em CG, ter revelado êsse caráter em menor grau. Todavia, mesmo ali êle contribuiu substancialmente para as coletas a êsse nível. Tal hábito parece acentuar-se nas capturas noturnas e, como regra geral, não sofreu influência por parte das condições climáticas gerais.

Em relação aos demais culicídeos, pôde-se observar variações. Foram elas, em linhas gerais, semelhantes àquelas descritas em parágrafos anteriores, para os resultados globais das coletas nos dois níveis da mata. Dessa maneira, verifica-se entre os sabetinos, a manutenção da preferência arbórea por parte dos representantes de Phoniomyia, com a contribuição substancial de alguns Trichoprosopon. Por sua vez, Wyeomyia confusa conservou caráter predominantemente terrestre, bem como alguns representantes do último da quêle gênero. O que se verifica é variação em relação aos locais de coleta. No que diz respeito aos culicinos, o caráter terrestre das capturas de Aedes seratus e de Psorophora ferox parece também não ter sofrido mudanças com as épocas consideradas.

No que pesem tais variações, o aspecto geral da distribuição vertical manteve-se tanto nos períodos secos, como nos úmidos. Portanto, no estado atual de nossos conhecimentos, acreditamos ser difícil atribuir às mudanças climáticas alguma influência marcante na estratificação. O que se poderá observar em decorrência delas, será o aumento, diminuição ou mesmo desaparecimento de algumas espécies. Mas o caráter arbóreo ou do solo, pelo menos para o Anopheles cruzii, parece não depender do clima em geral ou do microclima, em particular. Êste aliás, no seu aspecto global, não se mostrou acentuadamente diferente nos dois níveis da floresta. Em conclusão a estas observações, acreditamos que êsse mosquito tenha acrodendrofilia que se intensifica por ocasião do início da noite. Por conseguinte, é lícito pensar que o fator determinante de tal comportamento seja o da procura de animais sôbre os quais êsse anofelino tenha alguma preferência hematófaga. Isso sugere fortemente que tais vertebrados sejam constituídos por aves, pois são elas que no fim da tarde procuram abrigar-se na copa das árvores, onde passam a noite. Voltaremos a êste assunto, no capítulo 6.

#### Ciclo anual da densidade.

As variações anuais de temperatura e umidade, corresponde fenômeno análogo em relação à densidade populacional de mosquitos. Contudo, como as sinalamos em trabalho precedente (Forattini, 1962), essa densidade constitui talvez fator epidemiológico dos mais difíceis de ser medido. O que se faz comumente, e adotamos neste trabalho, é a realização de capturas contínuas em determinados períodos de tempo e com técnica preestabelecida. Ê bem verdade de que, com isso, não se pode evitar certa ação seletiva. Contudo, na impossibilidade de adoção de melhores métodos, êste fornece dados aceitáveis para o estudo dessa variação ou distribuição estacional. Deve-se porém ter sempre em mente que êles se referem a coletas em determinadas horas e com o emprêgo de isca humana. Os resultados são pois, reduzidos à expressão de mé dias horárias.

Desta forma, entre os motivos que nos levaram à realização dessas coletas contínuas por tempo prolongado, está o desejo de conseguir o quadro

do ciclo anual dessa densidade. É de se notar contudo, que certas espécies de desaparecem das capturas, após terem comparecido de maneira substancial. Tal comportamento, na aparência independente da variação estacional, pôde ser observado com vários mosquitos, como se depreende do exame das Tabelas Gerais dos Resultados Entomológicos (v. Apêndice). Assim sendo, isso parece indicar a existência, para tais culicídeos, de ciclos maiores envolvendo vários períodos anuais. Nesse caso, somente as capturas continuadas através de considerável espaço de tempo, poderão surpreender êsse fenômeno. Na fase atual de nossos trabalhos, dispomos de resultados relativos a 24 meses, de março de 1964 a fevereiro de 1966, para as estações EBB e BRR e 12 meses para a CG. Pelas mesmas razões já expostas, deixamos de considerar os resultados concernentes ao posto de GT, pois as suas atividades tiveram de ser interrompidas em dezembro de 1964, não chegando assim a completar um ciclo inteiro análogo aos demais.

Como dissemos, ocorreram espécies que, considerando o espaço de tempo de dois anos, desapareceram das coletas durante longo período. Como o que pretendemos atualmente é a observação do ciclo anual da densidade, deixamos de levar em conta tais mosquitos. Assim sendo, dedicamos a nossa atenção para aqueles que compareceram nas capturas, de maneira a poder evidenciar a sua variação estacional. Além disso, restringimos as nossas atenções àqueles que forneceram número de exemplares não inferior a 100, no período considerado. Compreende-se que tenhamos sido levados a isso, uma vez que se trata de observar variações durante espaço de tempo bastante longo.

Nas Tabelas 5.12 e 5.13, encontram-se expostas as médias horárias mensais obtidas nas coletas diurnas e levadas a efeito nessas estações de captura. Considerando-se os períodos correspondentes ao outono, inverno, primavera e verão, observa-se como aspecto geral, a diminuição daqueles valores nos dois primeiros, e seu aumento nos dois últimos. Contudo, essa regra é apenas geral, porque podem ser verificadas variações, não somente em relação às espécies, como no que concerne ao posto de coleta.

Para o Anopheles cruzii, verificou-se ciclo correspondente ao supra descrito, tanto nas capturas diurnas como noturnas das estações EBB e BRR. Se considerarmos as médias horárias referentes aos períodos trimestrais supracitados, obteremos os dados constantes da Tabela 5.14.

Tais dados se encontram expressos nos gráficos das Figs. 5.10 e 5.11. Verifica-se que, embora as médias observadas variem de acordo com o posto de coleta e sejam maiores à noite do que durante o dia, o ciclo anual obedece ao esquema citado. Os meses mais secos e frios pertencentes ao outono e inverno, são acompanhados de diminuição da densidade, chegando mesmo ao desaparecimento do mosquito. O contrário ocorre naqueles mais úmidos e quentes da primavera e verão, quando a densidade atinge seus maiores valores.

Tabela 5.12 - Distribuição das médias horárias mensais de alguns mosquitos nas estações de coleta de Casa Grande, observadas nas capturas diurnas de III. 64 a II. 66. (§)

Espécies	Anos	Mço	Abr	Mai	Jun	Jul	Ag	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev
<b>EBB</b>													
<u>Anopheles cruzii</u>	1964-65	3,8	0,9	0,9	0,2	0,1	0,4	1,4	0,6	1,8	4,3	7,3	5,0
	1965-66	2,2	1,3	0,6	0,3	0,9	0,8	0,3	1,3	2,4	5,9	3,8	1,1
<u>Phoniomyia pili-cauda</u>	1964-65	9,0	2,8	3,1	0,6	0,1	0,8		0,6	0,7	1,3	1,9	3,0
	1965-66	3,7	4,0	1,2	3,2	1,8	3,0	1,2	0,9	2,4	2,0	2,7	3,3
<u>Trichoprosopon reversum</u>	1964-65	4,1	0,9	1,1	0,2	0,5	0,7	1,8	2,6	0,6	2,0	3,8	2,3
	1965-66	3,1	3,9	1,5	0,6	0,9	0,7	1,6	2,2	1,5	0,7	0,8	2,0
<u>Wyeomyia confusa</u>	1964-65	2,7	0,2	0,1				+	+		+	0,1	+
	1965-66	0,6	0,1	+	+	+	+	0,1	+	0,1	0,3	0,1	0,1
<b>BRR</b>													
<u>Anopheles cruzii</u>	1964-65	26,6	7,2	4,7	3,3	0,4	5,0	9,3	4,4	1,8	4,2	19,1	17,8
	1965-66	4,5	10,6	1,9	1,6	1,9	2,6	1,8	1,9	4,0	6,8	18,5	34,2
<u>Phoniomyia pili-cauda</u>	1964-65	23,9	12,6	3,3	1,0	0,8	2,5	0,8	1,0	5,4	5,6	19,5	41,9
	1965-66	14,4	11,7	4,8	4,2	1,2	5,9	5,1	1,2	8,0	11,0	23,0	26,1
<u>Trichoprosopon reversum</u>	1964-65	11,8	4,5	1,3	1,3	0,3	2,3	2,9	4,3	1,2	2,2	2,1	6,7
	1965-66	3,5	3,4	3,1	1,0	1,6	4,2	2,5	1,1	4,1	2,6	4,1	3,9
<u>Wyeomyia confusa</u>	1964-65	3,2	1,9	0,8	0,7	+	0,4	0,2	0,3	0,5	0,5	1,5	5,6
	1965-66	1,7	2,5	2,1	1,1	0,4	1,0	0,7	0,3	3,7	4,9	3,6	3,4
<b>CG</b>													
<u>Anopheles cruzii</u>	1965-66	0,6	1,4	0,2	0,5	1,4	1,7	0,3	0,3	4,0	0,7	1,8	0,6
<u>Aedes serratus</u>	1965-66	3,5	3,6	0,3	+		+		0,1	2,7	2,4	1,9	1,4
<u>Psorophora ferox</u>	1965-66	0,7	0,2	+	+				0,2	0,7	0,8	2,1	0,8
<u>Phoniomyia pili-cauda</u>	1965-66	8,8	4,3	2,7	2,7	2,3	5,4	0,9	0,6	2,6	4,2	3,4	2,5
<u>T. reversum</u>	1965-66	2,1	1,0	0,7	0,4	0,9	2,1	0,2	0,2	+	0,8	0,4	0,1
<u>Wyeomyia confusa</u>	1965-66	1,8	1,5	0,7	0,4	0,4	0,2	0,1	0,2	0,3	0,6	0,3	0,2

(§) Com mais de cem exemplares capturados durante o período.

+ Menos de 0,1.

Tabela 5.13 - Distribuição das médias horárias mensais de alguns mosquitos, nas estações de coleta de Casa Grande, observada nas capturas noturnas de II.64 a II.66. (§)

Espécies	Anos	Mço	Abr	Mai	Jun	Jul	Ag	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev
EBB													
<u>Anopheles cruzii</u>	1964-65	3,3					3,7	1,0	7,8	0,9	22,8	17,9	30,7
	1965-66	19,1	2,7	3,2				0,2	5,7	18,1	16,2	13,9	5,9
BRR													
<u>Anopheles cruzii</u>	1964-65	59,4	20,7	38,3	17,6	8,6	32,8	34,6	20,0	45,0	35,2	42,5	39,6
	1965-66	32,5	14,7	3,7	21,5	24,2	28,7	31,6	20,0	17,3	24,4	29,0	24,3
<u>Phoniomyia pili-cauda</u>	1964-65	1,7	6,2			0,1	1,1	0,9	1,2	1,7	1,7		3,9
	1965-66	4,9	2,5	0,4	1,3		0,9	1,2	0,4	1,4	5,6	15,0	3,4
<u>Trichoprosopon reversum</u>	1964-65	3,9	1,7	0,2	0,4	0,8	2,3	14,1	1,5	3,1	3,2	7,7	3,3
	1965-66	10,1	5,0	2,0	4,9	1,0	11,2	10,2	2,3	4,2	10,6	8,1	6,6
<u>Weomyia confusa</u>	1964-65	0,9	1,6	0,4	0,6	0,4	1,2	0,9		0,6	1,2	1,4	1,3
	1965-66	3,0	2,2	1,9	2,7		3,0	1,6	1,5	2,4	9,1	12,4	11,2
CG													
<u>Anopheles cruzii</u>	1965-66	0,3	2,2			2,1		1,7	0,2		0,1	1,4	0,3
<u>Aedes serratus</u>	1965-66	2,2	4,1		0,1				1,2	2,2	0,9	0,6	9,2

(§) Com mais de cem exemplares capturados durante o período.

res. Essa flutuação pode ser notada também nas coletas noturnas em BRR, onde foram observadas elevadas médias horárias, mesmo nos períodos secos e frios. Na estação CG, o comportamento da distribuição anual deste ano felino foi um tanto irregular, embora esboçando ciclo semelhante. Tudo leva a crer que fatores locais possam influir com eficácia na diminuição ou aumento da densidade, além do clima pròpriamente dito.

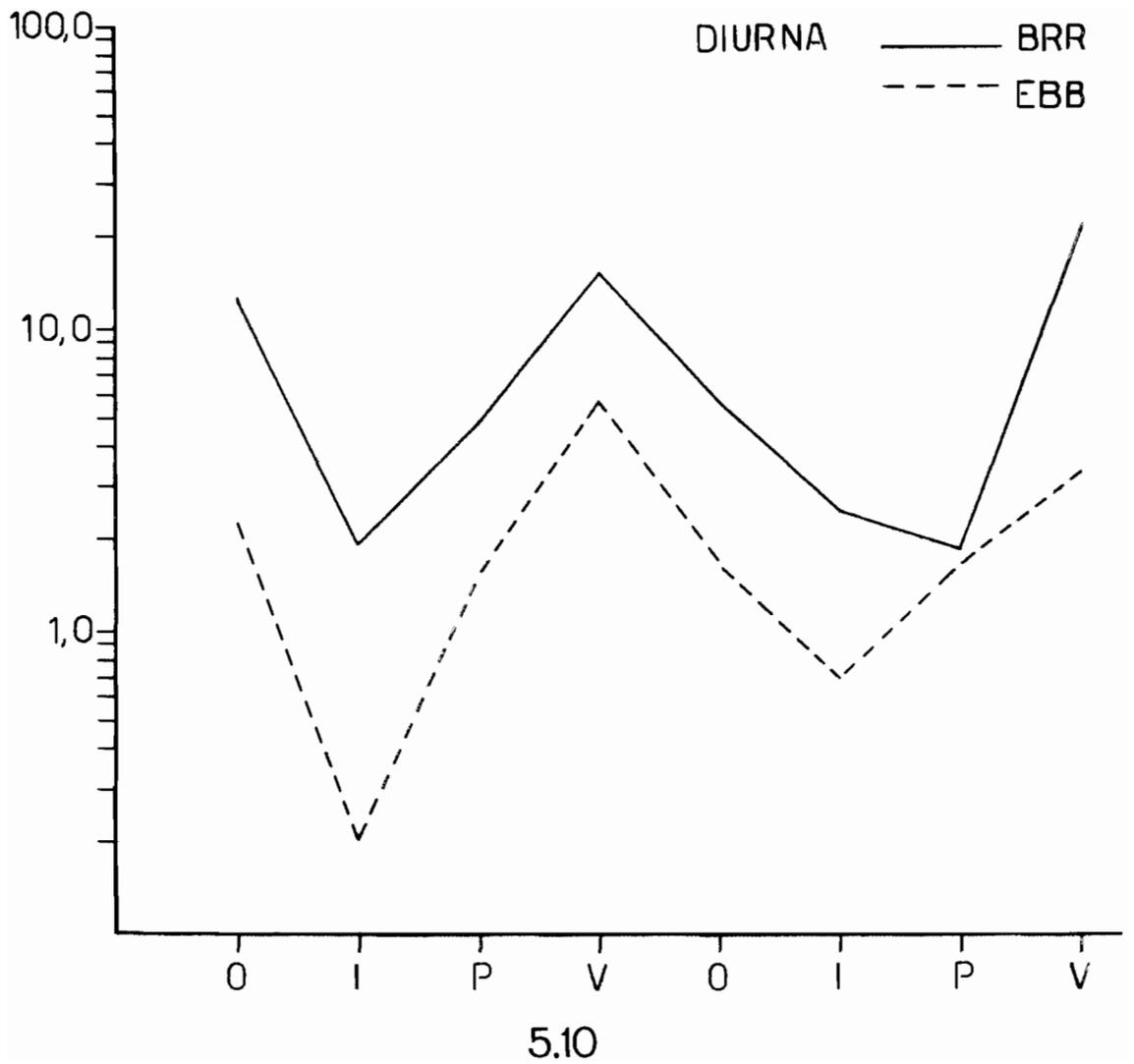
Tabela 5.14 - Médias horárias das capturas de Anopheles cruzii nas Estações EBB e BRR, obtidas nos quatro períodos anuais de III. 1964 a II. 1966.

Períodos	EBB		BRR	
	diurnas	noturnas	diurnas	noturnas
Outono III. 64 - V. 64	2,1	1,8	12,2	39,4
Inverno VI. 64 - VIII. 64	0,2	0,4	1,9	18,8
Primavera IX. 64 - XI. 64	1,3	3,7	4,9	32,3
Verão XII. 64 - II. 65	5,7	24,5	14,6	38,8
Outono III. 65 - V. 65	1,4	7,9	5,8	15,5
Inverno VI. 65 - VIII. 65	0,7	0,0	2,1	24,5
Primavera IX. 65 - XI. 65	1,4	7,8	1,6	23,2
Verão XII. 65 - II. 66	3,1	12,0	20,8	25,2

Quanto aos demais mosquitos, observou-se distribuição estacional análoga. Alguns chegaram mesmo a desaparecer nas capturas, durante as épocas frias e secas. Esse fenômeno verificou-se da maneira mais evidente com Aedes serratus e Psorophora ferox em CG. É o que se pode observar pela Tabela 5.15 e gráficos da Fig. 5.12. Para tais culicinos, notou-se a presença de meses completamente negativos, enquanto em outros, a densidade elevou-se bruscamente.

Figs. 5.10 e 5.11 - Gráficos da distribuição das médias horárias das capturas de Anopheles cruzii nas estações EBB e BRR. Observações referentes às coletas diurnas e noturnas, nos quatro períodos do ano, de março de 1964 a fevereiro de 1966.

O - Outono; I - Inverno; P - Primavera; V - Verão.



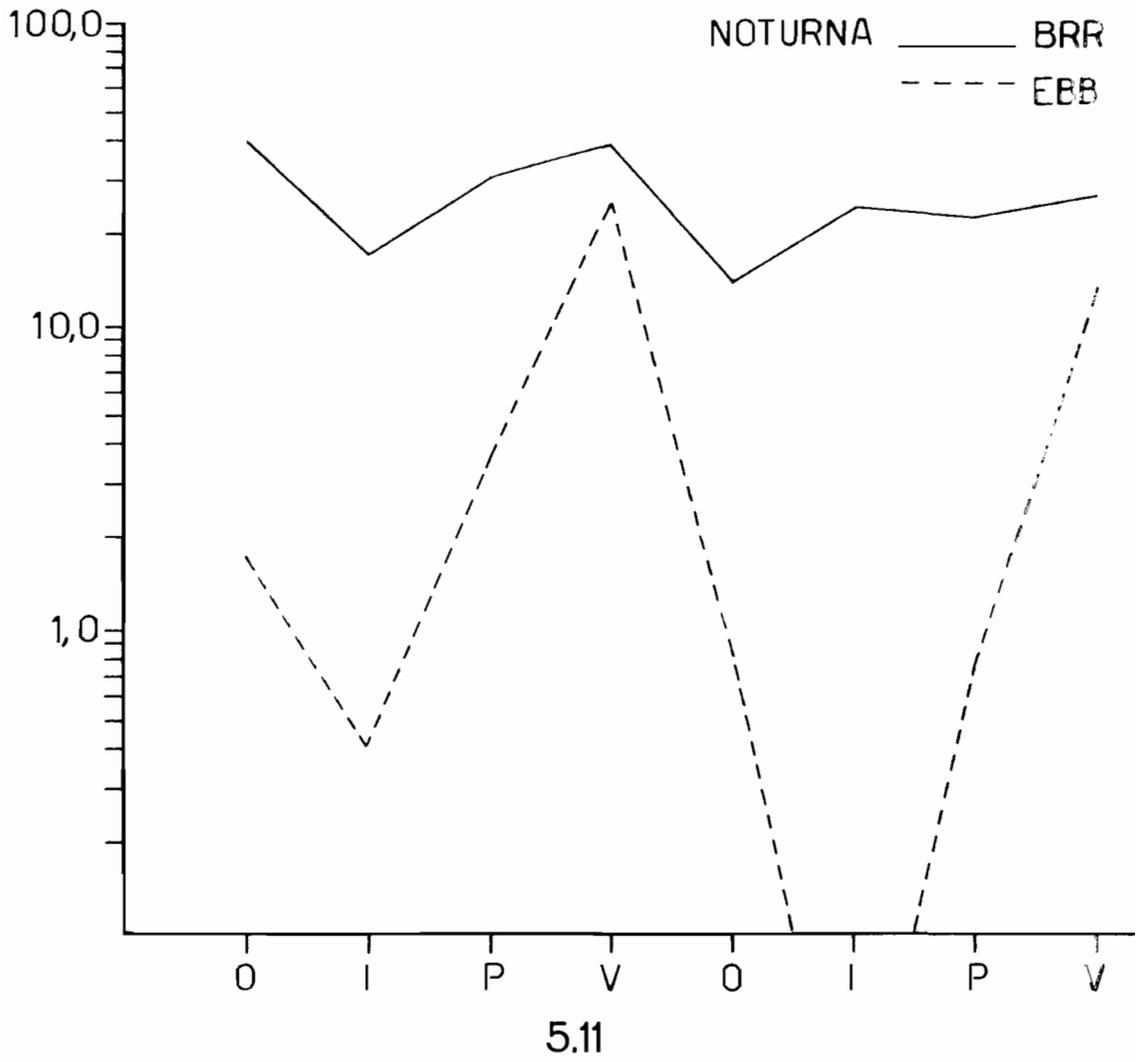


Tabela 5.15 - Médias horárias das capturas de Aedes serratus e Psorophora ferox na estação CG, obtidas nos quatro períodos do ano, de III. 65 a II. 66.

Períodos	<u>Aedes serratus</u>		<u>Psorophora ferox</u>	
	diurnas	noturnas	diurnas	noturnas
Outono III. 65 - V. 65	2,3	2,1	0,3	+
Inverno VI. 65 - VIII. 65	+	+	+	+
Primavera IX. 65 - XI. 65	0,9	1,1	0,3	+
Verão XII. 65 - II. 66.	1,9	3,6	1,3	0,2

+ Menos de 0,1.

Outras espécies mostraram apreciável variação, inclusive em relação a períodos correspondentes nos dois anos. É claro que o próprio clima é passível de sofrer alterações no seu ciclo, de ano para ano. Contudo, mesmo assim não se pode afastar a influência de fatores locais outros, ainda não suficientemente conhecidos. De qualquer maneira, observou-se como linha geral, o aumento da densidade culicídica por ocasião do advento da primavera, chegando ao máximo nos meses estivais de dezembro a janeiro.

#### Armadilha de Shannon.

Como já foi dito, as coletas com a armadilha de Shannon dotadas de isca luminosa, foram levadas a efeito em três locais, correspondentes às estações EBB, BRR e CG. Em linhas gerais, foram realizadas na primeira metade da noite, uma vez por semana, desde setembro de 1964. O objetivo principal foi conseguir material de culicídeos para as tentativas de isolamento. Em vista disso, essas capturas foram suficientemente irregulares para não permitirem considerações além daquelas referentes à composição específica. Assim sendo, deixaremos de levantar dados relativos à densidade e suas variações. Contudo, julgamos conveniente assinalar que, em investigação anterior realizada em EBB, foi observada a média horária total de 82,6 para o Anopheles cruzii, durante os meses de XI. 1960 a II. 1961 (Forattini e cols., 1961).

#### Composição Específica.

A Tabela 5.16, resume o material obtido nestas capturas. Por ela se

pode verificar que o total de 30843 espécimens distribui-se por cêrca de trinta e seis espécies, das quais cinco pertencentes a Anophelini, quinze a Culicini e dezesseis a Sabethini.

A semelhança do que foi geralmente observado nas outras coletas, notou-se o franco predomínio do Anopheles cruzii. Este anofelino que compareceu em todos os locais e, com o total geral de 26919 exemplares, por si só constituiu 87,3% de todo o material capturado. Como se pode ver, trata-se de mosquito que mantém o caráter dominante, parecendo incrementá-lo no período do noturno.

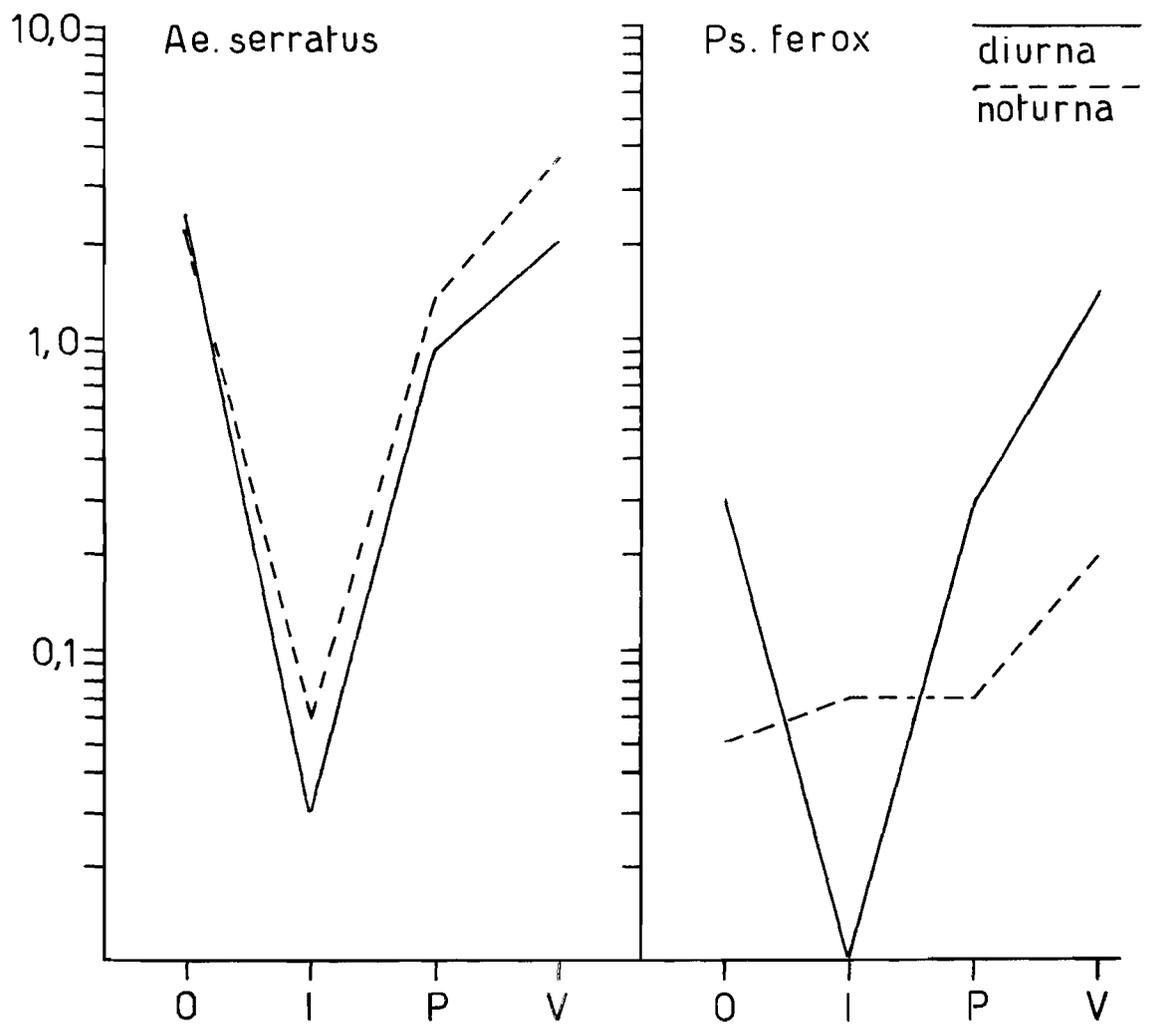
No que concerne aos culicinos, pôde-se assinalar a presença de Aedes serratus e de Psorophora ferox, devido principalmente às capturas realizadas em CG. Alguns gêneros se fizeram representar com maior número de representantes do que nas coletas diurnas, como foi o caso de Mansonia e Ura notenia. Mas, mesmo assim, em número negligenciável.

Quanto aos sabetinos, como que numa reafirmação do caráter predominantemente diurno de seus hábitos, contribuíram com a menor parcela. Alguns dêles, como o Trichoprosopon reversum, parecem ter certa tendência a prolongarem a atividade após o advento da noite. Todavia, os dados disponíveis não são de molde a sugerir que isso corresponda a aumento substancial dêsse aspecto, como se verifica com o anofelino supracitado.

---

Fig. 5.12 - Gráficos da distribuição das médias horárias das capturas de Aedes serratus e Psorophora ferox na estação CG. Observações referentes às coletas diurnas e noturnas, nos quatro períodos do ano, de março de 1965 a fevereiro de 1966.

O - Outono ; I - Inverno; P - Primavera; V - Verão.



5.12

Tabela 5.16 - Resultados globais das capturas de mosquitos com armadilha de Shannon dotada de isca luminosa, na área de Casa Grande de setembro de 1964 a março de 1966.

Locais	EBB	BRR	CG	Total
ANOPHELINI ..... totais .....	2020	23359	1819	27198
<u>Anopheles (Arribalzagia) intermedius</u>			1	1
<u>Anopheles (Kerteszia) cruzii</u>	1998	23180	1741	26919
<u>Anopheles (Lophopodomyia) pseudotibiamaculatus</u>		13	7	20
<u>Anopheles (Myzorhynchella) lutzii</u>	10	80	20	110
<u>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</u>	12	86	50	148
CULICINI ..... totais .....	102	726	1763	2591
<u>Aedes (Finlaya) fluviatilis</u>		16	15	31
<u>Aedes (Finlaya) leucocelaenus</u>	2	125	16	143
<u>Aedes (Finlaya) terreus</u>	1	27	1	29
<u>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</u>	8	7	31	46
<u>Aedes (Ochlerotatus) serratus</u>	62	435	1323	1820
<u>Culex (Culex) sp.</u>	4	5	9	18
<u>Culex (Melanoconion) sp.</u>	1	1	9	11
<u>Culex (Microculex) sp.</u>	6	3		9
<u>Mansonia (Mansonia) titillans</u>		2		2
<u>Mansonia (Mansonia) wilsoni</u>		4		4
<u>Mansonia (Rhynchotaenia) albifera</u>		32	43	75
<u>Psorophora (Janthinosoma) albipes</u>		24	21	45
<u>Psorophora (Janthinosoma) discrucians</u>		10		10
<u>Psorophora (Janthinosoma) ferox</u>	18	34	291	343
<u>Uranotaenia ditaenionota</u>		1	4	5
SABETHINI ..... totais .....	478	549	27	1054
<u>Limatus flavisetosus</u>	1			1
<u>Phoniomyia longirostris</u>	35	1		36
<u>Phoniomyia palmata</u>	2			2
<u>Phoniomyia pilicauda</u>	54	51	2	107
<u>Sabethes (Sabethes) albiprivus</u>	1	2		3
<u>Sabethes (Sabethinus) intermedius</u>	4	2		6
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) cerqueirai</u>	51	22	10	83
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) frontosum</u>	26	14		40

Tabela 5.16 - Resultados globais das capturas de mosquitos com armadilha de Shannon dotada de isca luminosa, na área de Casa Grande de setembro de 1964 a março de 1966.

Locais	EBB	BRR	CG	Total
SABETHINI ..... totais .....	478	549	27	1054
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) pallidiventer</u>	34	88	5	127
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) reversum</u>	254	256	6	516
<u>Trichoprosopon (Trichoprosopon) compressum</u>		1		1
<u>Trichoprosopon (Trichoprosopon) digitatum</u>		5		5
<u>Wyeomyia (Dendromyia) aporonomia</u>			1	1
<u>Wyeomyia (Dendromyia) confusa</u>	16	104	1	121
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) oblita</u>			2	2
<u>Wyeomyia (Wyeomyia) sabethea</u>		3		3
Total .....	2600	24634	3609	30843

#### OBSERVAÇÕES NO AMBIENTE DOMÉSTICO.

Desde que o aumento da densidade culicidiana, em linhas gerais, ocorre no verão, decidimos considerar os resultados obtidos durante os meses que incluem esse período. Com efeito, as coletas domiciliares executadas nas épocas frias, ou foram totalmente negativas ou forneceram número limitado de exemplares. Isso nos levou à conclusão, sob o ponto de vista prático, da nulidade dessa frequência domiciliar por parte dos culicídeos em tais períodos. Por sua vez, é lícito supor que essa visita aos domicílios deva se tornar mais evidente quando do aumento da densidade. Por conseguinte, para a investigação epidemiológica interessou-nos saber se, em tais épocas, ao aumento da atividade na floresta seguiu-se fenômeno análogo em relação à procura de casas. Dessa maneira, levamos em consideração os dados referentes ao espaço de tempo decorrido entre o fim da primavera e início do outono. Em outras palavras, consideramos os meses de novembro a março, a exemplo do que foi feito em investigações anteriores (Forattini e cols. 1961, Forattini 1961).

Da maneira como já foi descrita, as coletas domiciliares foram levadas a efeito após o crepúsculo, com a duração de duas horas. Nos supracitados períodos, totalizaram os seguintes números de horas:

Locais	EBB	BRR	CG
XI. 1964 a II. 1965	38	34	30
XI. 1965 a II. 1966	36	42	36

### Composição Específica.

A análise da Tabela 5.17 mostra a presença de cêrca de vinte e duas espécies de culicídeos encontrados dentro das casas pesquisadas. Tais representantes distribuíram-se entre 5048 exemplares, incluindo 5 Anophelini, 13 Culicini e 4 Sabethini. Todavia, chama logo a atenção o franco predomínio do Anopheles cruzii o qual, contribuiu com 4270 espécimens, o que significa 84,6% do total coletado. Merece também algum destaque, o Aedes serratus, principalmente em CG. Esse culicino compareceu com 419 representantes, o que equivale a 8,3% do material obtido. Como se vê, pois, essas duas espécies representaram cêrca de 93% das capturas domiciliares, restando somente 7, % para as outras vinte.

Compreende-se pois, que sob o ponto de vista epidemiológico, as atenções devam convergir sôbre êsses dois mosquitos. Os demais deverão ser tidos como meros visitantes causais das residênciãs, pelo menos nos períodos considerados. Com efeito, observou-se a captura de alguns sabetinos nas residências de EBB e BRR, as quais são justamente as que estão em contato mais estreito com a floresta. Por outro lado, verificou-se que entre os mosquitos que se apresentaram discretamente nestas coletas, existem alguns que já foram encontrados com apreciável freqüência aos domicílios. É o caso de Aedes scapularis que em período análogo de 1960/61, mostrou-se regularmente presente nessas capturas (Forattini, 1961). Isso, a nosso ver, evidencia mais uma vez, fenômeno comumente observado pelos investigadores que se dedicam a estas pesquisas. Trata-se da possível modificação na composição faunística numa mesma região, com o correr do tempo. Em outras palavras, isso seria devido à existência de ciclos de abundância, maiores do que aquêle que inclui apenas um ano climático.

Tabela 5.17 - Resultados globais das capturas domiciliares de mosquitos, na área de Casa Grande, nos períodos de novembro a março de 1964/65 e 1965/66.

Locais	EBB		BRR		CG		Total
	64/65	65/66	64/65	65/66	64/65	65/66	
Períodos							
Número de horas de captura	38	36	34	42	30	36	216
<u>Anopheles (Arribalzagia) intermedius</u>	1						1
<u>Anopheles (Kerteszia) cruzii</u>	769	497	627	1919	289	169	4270
<u>Anopheles (Myzorhynchella) lutzii</u>	5	2	5	2	23		37
<u>Anopheles (Nyssorhynchus) braziliensis</u>						1	1
<u>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</u>	20	5	23	12	17		77
<u>Aedes (Finlaya) fluviatillis</u>	5	2	7	50			64
<u>Aedes (Finlaya) leucocelaenus</u>	4	3	9	11			27
<u>Aedes (Finlaya) terreus</u>			2				2
<u>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</u>	4	5	6	4	11		30
<u>Aedes (Ochlerotatus) serratus</u>	26	16	42	36	185	114	419
<u>Culex (Culex) sp.</u>	2	1					3
<u>Culex (Lutzia) bigoti</u>					1	1	2
<u>Mansonia (Mansonia) titillans</u>				12	1		13
<u>Mansonia (Mansonia) wilsoni</u>						8	8
<u>Mansonia (Rhynchotaenia) albifera</u>	1	3		12	2	3	21
<u>Mansonia (Rhynchotaenia) venezuelensis</u>	2						2
<u>Psorophora (Janthinosoma) discruciens</u>				2	1		3
<u>Psorophora (Janthinosoma) ferox</u>			2	1	37	13	53
<u>Phoniomyia Longirostris</u>			6				6
<u>Phoniomyia pilicauda</u>				3			3
<u>Trichoprosopon (Runchomyia) reversum</u>		2	1				3
<u>Wyeomyia (Dendromyia) confusa</u>		1	1	1			3
Total .....	839	537	731	2065	567	309	5048

### Anopheles cruzii

A frequência deste anofelino a domicílios de Casa Grande e Boracéia, já tinha sido objeto de investigações levadas a efeito em 1960/61, em época correspondente a estas (Forattini e cols. 1961). Nessa ocasião verificou-se apreciável densidade domiciliar maior na segunda daquelas localidades. As médias globais para as duas, foram de 3, 9 e 21,7 respectivamente. As observações atuais feitas três anos após, revelaram em linhas gerais, situação semelhante, como se depreende pelos dados da Tabela 5.18.

Observou-se que as médias horárias foram mais baixas em CG do que nos outros locais. Contudo, verificou-se também a existência de variações dignas de nota, de ano para ano. Com efeito, em EBB notou-se aumento considerável dessa frequência, a qual atingiu elevado valor no início de 1966. O contrário ocorreu nas outras duas localidades, onde se registrou relativa diminuição em relação ao ano anterior. Observando-se porém cada mês em particular, pode-se ver que essa flutuação se fez em ambos os sentidos.

De qualquer maneira, a frequência desta espécie aos domicílios da região, continua a se fazer sentir. A exemplo do verificado em outras áreas do sul do Brasil, como em Florianópolis, Estado de Santa Catarina, onde as médias horárias para os períodos noturnos chegaram a 33,5 (Rachou 1946, 1958). Contudo, tais valores sofrem alterações de acordo com fatores locais. Entre eles se situam os que dizem respeito à situação da casa em relação à floresta. Em nossas observações notamos que as menores densidades obtidas em CG, corresponderam ao núcleo urbano de Casa Grande, o qual não se encontra em tão íntima proximidade com a mata, quando comparado com EBB e BRR. Outros fatores podem ser responsabilizados pelas alterações dessas médias. De fato, embora a nossa região não tenha sido submetida à dedetização domiciliar, os moradores de Casa Grande lançam mão do uso de inseticidas, mesmo de maneira irregular. É de se supor pois, que isso constitua fator passível de provocar certa diminuição nas visitas anofélicas (Forattini e cols., 1961).

Em resumo, o Anopheles cruzii constitui espécie que, respeitadas as variações devidas a fatores locais, frequenta as casas da área de Casa Grande, com apreciável densidade. Esta pode chegar a atingir níveis elevados, especialmente em residências localizadas em íntimo contato com o ambiente silvestre. É o caso da habitação situada na Barragem do Rio do Campo (BRR).

### Aedes serratus.

Esta espécie também foi encontrada dentro das casas, embora com densidade bem menor do que a anterior. Sua presença nesse ambiente foi

Tabela 5.18 - Resultados das capturas domiciliares de Anopheles cruzii, na área de Casa Grande, nos períodos de novembro a março de 1964/65 e 1965/66.

Lo - cais	Perí- dos	Nv			Dz			Jn			Fv			Mço			Total	
		n	mh	nh	n	mh	nh	n	mh	nh	n	mh	nh	n	mh	nh	n	mh
EBB	1964/65	15	1,9	8	103	12,9	8	469	58,6	8	190	16,7	6	82	10,2	8	769	20,7
	1965/66	62	10,3	6	146	18,2	8	123	15,4	8	121	20,2	6	45	5,6	8	497	13,8
BRR	1964/65	35	4,4	8	78	13,0	6	181	30,2	6	256	32,0	8	77	12,8	6	627	18,4
	1965/66	219	24,4	8	63	7,9	8	1356	135,6	10	241	40,2	6	40	4,0	10	1919	45,7
CG	1964/65	43	10,7	4	112	18,7	6	65	10,8	6	48	6,0	8	21	3,5	6	289	9,6
	1965/66	56	9,3	6	17	2,1	8	58	7,2	8	23	3,8	6	15	1,9	8	169	4,7

n - número de exemplares

mh - médias horárias

nh - número de horas de captura.

digno de nota somente na localidade CG, sendo desprezível nas demais. A Tabela 5.19, resume os resultados obtidos.

Verifica-se pois, que as médias horárias totais foram de 6,2 e 3,2 para os dois períodos, respectivamente. Contudo, observando-se, separadamente os valores mensais, nota-se que em alguns dêles, conseguiu-se os níveis mais altos de 11,9 e 10,8, correspondentes aos meses de II.65 e XI.65. Ocorreu portanto, apreciável variação dessa média, o que de certo modo, está de acôrdo com os hábitos dos representantes dêste gênero, que se caracterizam pelo aspecto explosivo de seu aparecimento. De qualquer maneira, trata-se de culicino cuja visita aos domicílios, em CG e nessa época mostrou-se digna de nota. Suas médias horárias, em algumas ocasiões, chegaram a atingir valores apreciáveis.

#### Outras espécies.

Como foi assinalado, os demais culicídeos foram coletados dentro das casas, em pequeno número. Poderia parecer de algum significado as capturas de Psorophora ferox em CG. Todavia, êste mosquito apenas foi coletado em alguns meses e somente em XII.64 a sua média horária forneceu valor de 4,0. Acreditamos, pois, na suposição de que juntamente com os outros, faça parte do contingente dos visitantes ocasionais.

Seria interessante ressaltar aqui dois aspectos. Em primeiro lugar, o desaparecimento quase total do Aedes scapularis que, em período análogo de 1960/61 compareceu com regularidade dentro do domicílio de CG, embora com médias horárias baixas (Forattini, 1961). Já tivemos ocasião de tecer considerações sôbre êste fato, linhas atrás. Em segundo lugar, a ausência do Culex pipiens fatigans. Com efeito, tratando-se de mosquito essencialmente doméstico, não esperávamos, de início, encontrá-lo em EBB e BRR. Contudo, como CG representa núcleo habitado há bastante tempo, era de se supor que êle viesse a comparecer nessas coletas. Isso não ocorreu, a exemplo do que aconteceu nas observações de 1960/61, e tal fato pode dar margem a várias hipóteses. Estas irão desde a sua inexistência no local, até a presença de formas com hábitos, no máximo, peridomiciliares. Voltaremos a êste assunto, no capítulo 6.

Em resumo, das observações no ambiente domiciliar, verificamos que as casas desta região podem ser freqüentadas regularmente por culicídeos silvestres. Entre êles, ressalta-se o Anopheles cruzii, com apreciável densidade. O Aedes serratus parece comportar-se com certa regularidade, embora em menor densidade, no núcleo de Casa Grande. Quanto aos outros, mesmo representando considerável número de espécies, podem ser encarados como simples visitantes acidentais.

Tabela 5.19 - Resultados das capturas domiciliares de Aedes serratus na localidade CG, nos períodos de novembro a março de 1964/65 e 1965/66. (§)

Períodos	Nv		Dz		Jn		Fv		Mço		Total	
	n	mh	n	mh	n	mh	n	mh	n	mh	n	mh
1964/65	4	1,0	35	5,8	26	4,3	95	11,9	24	4,1	185	6,2
1965/66	65	10,8	3	0,4	25	3,1	10	1,7	11	1,4	114	3,2

(§) O número de horas de captura corresponde àquêle da Tabela 5.18.

n - número de exemplares

mh - média horária.

## CAPÍTULO Nº 6 - COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

	pg.
Presença de Arbovírus .....	172
Dados Sorológicos .....	173
No meio silvestre .....	173
No ambiente doméstico .....	175
Dados Sobre a Fauna Culicidiana .....	178
No meio silvestre .....	178
No ambiente doméstico .....	180
Conclusões .....	181
Presença de focos naturais.....	181
Aspecto panorâmico do ecossistema.....	182
Biocenoses .....	182
Transporte para o ambiente doméstico .....	186
Considerações finais .....	187

Os resultados expostos nos capítulos anteriores, permitem elaborar alguns comentários e, conseqüentemente, chegar a certas conclusões a respeito dos objetivos almejados com esta investigação. Claro está que os trabalhos em região natural como essa, deverão se prolongar ainda por tempo apreciável. Todavia, os dados conseguidos nestes anos de atividade, são de molde a deixar entrever a existência de ciclos enzoóticos naturais de arbovírus, e a abrir interessantes perspectivas para a continuação das pesquisas.

### PRESENÇA DE ARBOVÍRUS

A existência de agentes arbovirais no ambiente natural da área de Casa Grande, revelou-se através dos vários isolamentos e resultados das provas sorológicas levadas a efeito até agora. No que concerne aos primeiros, é interessante assinalar as fontes das quais foram obtidos.

Com efeito, de total de treze isolamentos, oito foram de mosquitos e três de camundongos sentinelas. Entre aquêles, ocupa posição de destaque, o Anopheles cruzii, com o total de seis amostras obtidas. Em que pesem as questões que possam surgir no julgamento da natureza arboviral desses agentes, as evidências a respeito são bastante sugestivas.

Apesar de não termos ainda conseguido a identificação definitiva de todas essas cêpas, pudemos determinar a presença do vírus Tacaiuma (SPAr 2317) e do novo agente Boracéia (SPAr 395), ambos isolados do supramencionado anofelino. Não deixa de despertar a atenção a presença de um vírus amazônico em nossa região, como é o caso do primeiro (Causey e cols. 1961). Ainda mais, tendo sido agora isolado de espécie de mosquito própria da Região Sul do Brasil. É possível portanto que a área de distribuição desse agente seja bastante grande, podendo atingir outras partes do nosso país, e mesmo da América do Sul. Aliás, é o que parecem indicar certos achados sorológicos, como veremos adiante.

Também no que diz respeito a êstes isolamentos, é de se assinalar as circunstâncias nas quais alguns deles foram feitos. Assim, o SPAn 4148 foi conseguido de camundongos sentinelas colocados no meio domiciliar (periferia da casa nº 98 do núcleo de Casa Grande), e o SPAr 4770, de lote de Anopheles cruzii coletados dentro da casa situada na Barragem do Rio do Campo. Tais achados são sugestivos e parecem indicar seguramente a possibilidade de carreação de agentes arbovirais para o ambiente humano.

As demais descobertas desta natureza, concernentes a outras espécies de mosquitos e a alguns mamíferos silvestres, sugerem a presença do ciclo enzoótico natural.

De qualquer modo, os isolamentos obtidos demonstraram a existência de arbovírus nesta região. As investigações seguintes destinam-se pois, a esclarecer algo sobre a estrutura do seu ciclo natural e a possível repercussão de sua presença no meio domiciliar.

### DADOS SOROLÓGICOS

É claro que, apenas os isolamentos dos agentes não poderiam fornecer conhecimentos mais amplos sobre a atividade arboviral da região e o consequente comprometimento de animais e homens nos ciclos desses vírus. Mesmo porque, o rendimento desse processo não se faz de maneira a se poder conseguir aspecto global satisfatório da questão. Assim sendo, embora com as limitações interpretativas já assinaladas no capítulo correspondente, a investigação sorológica oferece perspectivas interessantes. Além disso, desde que dois dos arbovírus isolados possibilitaram sistema de diagnóstico, viável em nosso laboratório, eles puderam ser incluídos nesse inquérito.

#### No meio silvestre.

Como se viu no capítulo 4, em relação aos vertebrados silvestres, observou-se positividade apreciável nos mamíferos, para ampla gama dos antígenos utilizados.

Entre os roedores, que constituíram o grosso do material coletado, notou-se a presença mais freqüente da reatividade para o Grupo B, Tacaiuma e Boracéia. É de se assinalar que, entre os animais que se mostraram positivos, figuram alguns espécimens de Rattus rattus, o que poderia ter algum significado no possível mecanismo de transporte desses vírus para o ambiente doméstico. Com relação aos outros grupos arbovirais, merece atenção aquele ao qual pertence Junin, pois o representante que leva esse nome é encontrado na parte meridional da América do Sul. É provável, portanto, que a sua distribuição inclua a nossa região ou então que aqui se encontrem outros agentes a ele relacionados. Quanto aos demais, mesmo tendo sido detectados em menor escala, isso sugere a existência de diversos vírus de grupos distintos que ali tenham estabelecido focos naturais.

No que diz respeito aos marsupiais, embora tenham sido representados somente por duas espécies, elas demonstraram sorologia positiva para vários grupos, inclusive o único caso para o de Cocal. Essa ampla gama de reatividade sorológica, poderia também ocorrer por conta dos hábitos predatórios de que são dotados esses animais.

Com relação aos quirópteros, note-se que a quase totalidade foi representada por Myotis albescens, que revelou positividade para Tacaiuma e mais dois grupos sorológicos. Convém considerar que essa espécie, de ampla dis-

tribuição pela América do Sul, possui hábitos insetívoros (Vieira 1942, 1955). Em vista disso, é tida como devoradora de mosquitos, atrás dos quais fre  
qlentemente invade as casas (Vieira, 1949). Além do mais, coletamos os  
nossos exemplares no espaço compreendido entre o fôrro e o telhado, da ca  
sa situada na Barragem do Rio do Campo. Isso pois poderia explicar, pelo  
menos parcialmente, a aquisição de infecções arbovirais por parte de mor  
cegos e certa associação dêsses animais com o ambiente doméstico.

Em suma, o exame de mamíferos silvestres revelou positivi  
dade sorológica para variados grupos de arbovírus. Podemos dizer, de ma  
neira específica, que os agentes Tacaiuma e Boracéia, isolados na região,  
infectam roedores, marsupiais e, para o primeiro também quirópteros. Por  
consequente, o ciclo natural de tais agentes possivelmente deverá incluir al  
gumas dessas espécies circulando entre elas não apenas mediante a ação de  
artrópodes hematófagos, mas também graças a hábitos predatórios e insetí  
voros. Tudo indica que, entre essa fauna de mamíferos, outros vírus este  
jam circulando. Entre êles convirá assinalar a possível existência de repre  
sentantes dos Grupos B, C, Bunyamwera, Tacaribe (Junin) e Phlebotomus.  
Para os demais, os resultados até agora obtidos não são de molde a forne  
cer evidências consistentes.

A respeito das aves, os dados conseguidos não foram dignos de nota.  
Com efeito, a não ser pequeno número de espécimens que reagiram positiva  
mente à IH, nada mais foi possível constatar. Essa pequena positividade, re  
feriu-se aos Grupos B, A, Phlebotomus e C, por ordem de frequência. Nada  
se conseguiu verificar ainda quanto a Tacaiuma e Boracéia e outros. Provà  
velmente, como já foi assinalado no capítulo correspondente, isso se deveu  
ao considerável número de espécies, em relação ao de exemplares captura  
dos. Por consequente, só o exame de material mais abundante poderá trazer  
maiores esclarecimentos.

Em relação à região meridional da América do Sul, são bastante es  
cassos os dados sorológicos sôbre animais silvestres. Atualmente, êles se  
acham restritos aos de Pereira e cols. (1964) no Estado de São Paulo, Brasil,  
e Sabattini, Shope e Vanella (1965) na Província de Córdoba, Argentina. Os  
primeiros levaram a efeito observações para vírus de encefalites, em soros  
de dezoito aves coletadas na região de Itaporanga, onde anteriormente ti  
nham sido isoladas cêpas de EL (Nilsson e Sugay, 1962). A positividade dês  
ses animais forneceu a percentagem relativamente elevada de 33,3% para a  
amostra local de EL, com oemprêgo da reação IH. Quanto às investigações  
argentinas, foram executadas mediante reações de IH e NT para 24 arboví  
rus, em 478 soros de aves e 18 de mamíferos. Em relação a êstes últimos,  
os resultados foram negativos, provavelmente em vista do pequeno número  
de espécimens examinados. Para aquêles, foram obtidos dados relativamen  
te escassos, reagindo para os Grupos A e B, dezessete e dezesseis exempla

res respectivamente, enquanto que apenas dois forneceram positividade para o C. Assinalou-se ainda a presença de um caso positivo para o Grupo Phlebotomus e outro para o agente Tacaiuma. Este último resultado, que interessa particularmente às nossas investigações, referiu-se a um exemplar de Zonotrichia capensis, espécie que também encontramos na área de Casa Grande.

De modo geral, verifica-se que os resultados conseguidos até agora, nessas investigações com aves na região meridional sul-americana, foram semelhantes aos nossos atuais, com discreta reatividade para alguns grupos arbovirais.

#### No ambiente doméstico.

Em se tratando do meio domiciliar, é evidente que devam ser levados em conta, não apenas os habitantes, mas também os animais domésticos ali instalados. Além da possibilidade do homem infectar-se ao penetrar no ambiente silvestre, pode ocorrer que este vá até aquele. Por conseguinte, a investigação sorológica poderá fornecer valiosas evidências a respeito desses contatos,

Os resultados já expostos em capítulo anterior foram de molde a indicar que a população humana da região estudada, apresenta infecções autóctones provocadas por arbovírus silvestres locais. A análise dos dados para Boracéia, Tacaiuma e agentes do Grupo B, revelaram prevalências correspondentes a cerca de 26% para o primeiro, e aproximadamente de 13% para os outros dois. Além disso, embora em menores proporções, foi possível detectar reatividade para os Grupos C, Bunyamwera e Phlebotomus.

Em relação a essa população, a atividade desse vírus parece não se fazer de maneira contínua. Tudo indica que os diversos agentes apresentem épocas favoráveis durante as quais se mostram ativos, a elas devendo seguir-se períodos de pausa. Surge pois a questão de saber se isso corresponderia à introdução dos vírus na região ou então à verdadeira intermitência na atividade desses agentes. São aspectos que somente poderão ser esclarecidos mediante o exame sorológico continuado dos habitantes locais, durante apreciável espaço de tempo. De qualquer forma, as observações levadas a efeito em duas ocasiões consecutivas, revelaram a transmissão ativa para o homem, de Boracéia, Tacaiuma e componentes do Grupo B, durante o ano que mediou entre os exames.

Embora não tenhamos detectado casos clinicamente manifestos, a reatividade sorológica evidenciou a presença de infecções humanas, algumas das quais assinaladas aqui pela primeira vez. Aliás, o encontro de quadros clínicos em áreas com focos naturais dessas arboviroses, constitui fenômeno esporadicamente raro de ser observado.

Não são também muito abundantes os dados sôbre a reatividade sorolôgica humana na parte meridional de nosso Continente. No Brasil, o Estado da Guanabara foi sede de algumas observações para os Grupos A e B, com o emprêgo da reação de IH. Os resultados mostraram a presença de positividade para ambos, em soros de habitantes do Rio de Janeiro e arredores (Bruno-Lobo, Bruno-Lobo e Travassos, 1961). Por sua vez, e com o emprêgo da mesma prova, no Estado de São Paulo não foi ainda possível evidenciar a presença de anticorpos humanos para vírus encefalíticos, nas regiões de Conchas e Itaporanga. E isso após a ocorrência nesses locais, de surtos dessas infecções em eqüídeos (Pereira, Moreira e Rojas 1962, Pereira e cols., 1964). Na Argentina, com a utilização das reações de IH e NT para ampla gama de arbovírus, foram testados alguns soros procedentes da região norte e nordeste do país (Mettler, Parodi e Casals 1961, Sabattini, Shope e Vanella 1965). Como resultado, foi observada positividade para os Grupos B e Bunyamwera. No que concerne ao primeiro, as evidências indicaram a possível presença de agente intimamente relacionado ao da ESL. Quanto ao segundo, o mesmo se pôde dizer em relação ao Vale Cache (BeAr 7272). Além disso, foi revelada certa reatividade para os Grupos A, C, Guamá, Phlebotomus e agente Tacaiuma. Êste último resultado foi observado em único sôro. Ê de se assinalar, todavia, que tôdas essas investigações não se referem a amostras provavelmente representativas das populações locais. Por êsse motivo, não podem fornecer idéia precisa sôbre a provável prevalência dos resultados positivos observados.

No que concerne aos animais domésticos, os nossos resultados também mostraram alguma evidência sorológica. Observa-se que nos mamíferos, verificou-se positividade para o Grupo B em representantes de tôdas as espécies examinadas, a saber, bovinos, equinos, cães e suínos. Nestes últimos, aliás, êsse resultado constitui o único que observamos até agora. Os três primeiros também mostraram reações positivas ao vírus Boracéia, ao passo que o Tacaiuma e o Grupo Phlebotomus sômente foram encontrados em bovinos e cães. Não obstante, houve alguns dêsses últimos animais que reagiram para o Grupo Bunyamwera, além de um bovino com reação para Junin. Ê de se assinalar que foram os cães que mostraram maior multiplicidade nas repostas sorológicas. Entre êles pudemos encontrar resultados positivos para os Grupos B, Bunyamwera, Phlebotomus e agentes Tacaiuma e Boracéia. Isso talvez encontre explicação no fato dêsses animais estarem frequentemente, em maior contato com a floresta. Assim sendo, existe a possibilidade dêles se constituírem em elementos transportadores dessas infecções para o ambiente doméstico.

Quanto às aves, a quase totalidade representada por galinhas, forneceram resultado que chamou nossa atenção. Com efeito, seus soros foram totalmente negativos, exceto para o vírus Boracéia que se manifestou em proporção de cêrca de 60% dos animais examinados. Referido achado nos sugere al

guns aspectos a serem levados em conta, quando do estudo da estrutura epidemiológica de vírus. É o que veremos mais adiante.

Os dados sobre sorologia dos animais domésticos nesta mesma região sul-americana que consideramos para os parágrafos anteriores, além de es cas os, referem-se quase que somente a eq lí de os e a vírus encefalíticos. No Brasil, foram objeto de algumas observações nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Guanabara. No primeiro, a positividade encontrada referiu-se ao Grupo A e, de maneira especial, para o vírus EL. Dessa forma, através do uso da reação NT com cêpa isolada nessa região, foi possível verificar a existência de positividade em Chavantes, Cafelândia, Mogi-Guaçu e Araraquara (Carneiro, 1946). E, com o emprêgo de IH com outras amostras isoladas, posteriormente em Itaporanga observou-se reações positivas em animais de sa mes ma lo ca li da e da região de Conchas (Pereira, Moreira e Rojas 1962, Pereira e cols. 1964). É de se notar que, nestas últimas investigações, houve completa negatividade para os antígenos correspondentes a amostras de vírus EO e EV. Resultados semelhantes em relação ao vírus EL, foram observados em Campos, Estado do Rio de Janeiro, mediante a prova NT (Cunha, Ribeiro e Passos 1948, Cunha 1951). Finalmente, no Estado da Guanabara procedeu-se a inquérito pela reação IH e para os Grupos A e B, em soros de equinos pr o ced en tes de várias regiões do Brasil, obtendo-se positividade para ê s se s gr u p o s (Travassos, Bruno-Lobo e Bruno-Lobo, 1961). Ressalte-se, nessas ob ser va ç õ es, a obtenção de apreciável percentagem de positividade (32,4%) pa ra o Grupo A, no qual figurava cêpa de EO isolada na região.

Em relação à Argentina, os dados disponíveis referem-se a áreas da Província de Córdoba e adjacências (Sabattini, Shope e Vanella, 1965). Ali fo ra m l e v a d as a efeito reações IH e NT para ampla gama de arbovírus e em v á ri as espécies de animais domésticos. Foi observada reatividade positiva di g na d e n o t a para o Grupo Bunyamwera que incluiu apreciável número de eq ui no s, além de alguns bovinos e um caprino. Da mesma forma, registraram-se vários resultados para o Grupo B em numerosos equinos, um bovino e um ca pr ino, além de várias aves domésticas incluindo galinhas, patos e perus. O Grupo A manifestou-se através de positividade apenas em alguns cavalos e ga lin has, o mesmo tendo sido observado para o Grupo Turlock. Houve um res ul ta d o p o s i t i v o em relação a equino para os Grupos C e Guamá, a bovino para Phlebotomus, e cavalo para o agente Tacaiuma.

Como se pode ver, os efeitos que obtivemos se assemelham, aproximadamente, a ê s se s. É bem verdade que a nossa casuística, até o momento, é pequena. De qualquer forma, despertou nosso interêsse a reatividade para o Grupo B, além daquela para os agentes locais Tacaiuma e Boracéia.

## DADOS SÔBRE A FAUNA CULICIDIANA

Pelos resultados expostos no capítulo 5, pode-se verificar que nossas observações na área de Casa Grande, restringiram-se até agora, ao estudo da fauna culicidiana. É fora de dúvida que outros artrópodes devam merecer nossas atenções. Entre êles, os ácaros ocupam lugar de destaque, máxime a pós a investigação sorológica que revelou a possível presença local de vírus provàvelmente relacionado a Junin. Todavia, como tivemos ocasião de declarar, os mosquitos ocupam tal lugar de relêvo nos conhecimentos epidemiológicos atuais sôbre as arboviroses que, de início, impunha-se dedicar-lhes a maior atenção.

O aspecto global dos dados obtidos ressalta sobremaneira a presença marcante do Anopheles cruzii, além de prováveis papéis desempenhados por alguns representantes de Culicini e Sabethini. Por esta razão, nossos comentários focalizarão diretamente êsses mosquitos.

### No meio silvestre.

Sendo o Anopheles cruzii espécie florestal, a sua dominância nesse meio se revela através dos consideráveis valôres que podem atingir as médias horárias. Em nossas observações com isca humana, apresentou-se êle com densidade elevada, tanto nas capturas diurnas, como nas crepusculares-noturnas. Nesta região da encosta atlântica meridional do Brasil, situa-se o bioma natural dêsse anofelino, em cujas matas predomina (Velooso, Moura e Klein 1956, Rachou 1958, Forattini 1962).

Em nossas investigações, o Anopheles cruzii revelou-se mosquito do tipo de apreciáveis tendências acrodendrófilas. Tal encontro está um tanto em desacôrdo com observações levadas a efeito em Brusque, Estado de Santa Catarina, Brasil. Com efeito, nessa região, Velooso e cols. (1956) considerando de maneira global o subgênero Kerteszia, levaram a cabo investigações em estações dotadas de duas plataformas para cada árvore, a primeira entre 7 e 9 metros e a segunda entre 12 e 17 metros de altura. Êsses autores não encontraram diferença significativa entre o solo, a 1a. e a 2a. plataformas de duas dessas estações e certa variação, para mais, nos níveis elevados da terceira. Todavia, deve-se ter presente que essas capturas foram executadas com a finalidade de observar, especificamente, o vôo dêsses mosquitos e portanto, com a preocupação de evitar a influência excessiva do fator "isca-humana". Dessa maneira, foi determinado como sendo de 30 minutos o tempo máximo para que o homem capturador não exercesse atração acentuada sôbre mosquitos situados mais distantes a níveis sensivelmente diferentes do que aquêle em que estava situado. Com êsse tempo, as coletas foram feitas em vários pontos, sucessivos e em rodízio, perfazendo período total de 24 horas contínuas, das 12:00 de um dia até o mesmo horário do dia seguinte.

Compreende-se pois que êsse processo foi totalmente diferente do que utilizamos. Ocorre que tínhamos interêsse em focalizar a nossa atenção essencialmente sôbre a hematofagia dos mosquitos. Poderíamos tê-la dirigido não sômente em relação ao homem, como também a diversas espécies animais. Em virtude de dificuldades várias, até agora isso não foi realizado, bem como deixamos de efetuar coletas de 24 horas sucessivas. Contudo, apesar dessas omissões, somos de parecer que, à semelhança de outros investigadores que levaram a efeito pesquisas idênticas, o método que empregamos é capaz de fornecer idéia razoável dessa atividade. Se não, vejamos. O emprêgo de apenas dois níveis estabeleceu a diferença necessária para julgar do caráter acrodendrôfilo, e as capturas simultâneas em ambos, possibilitaram razoavelmente essa observação. O revezamento dos homens capturadores, procedido de hora em hora, reduziu ao mínimo as possíveis influências individuais. Finalmente, desde que nos interessava observar a hematofagia, a permanência mais prolongada da isca no local vinha ao encontro dêsse objetivo. De resto, as nossas verificações concordam com as de Veloso e cols. (1956) no que concerne, de maneira geral, ao aumento dessa atividade com o cair da noite.

Quanto à periodicidade anual, o rendimento de nossas coletas aumentou nos meses em que registramos maiores valores da umidade relativa. Tais resultados parecem constituir o inverso do observado ainda por Veloso e cols. (1956). Quer nos parecer que tal fato deva ocorrer por conta de diferenças regionais das áreas em que foram realizadas as duas pesquisas. Com efeito, como já assinalamos em capítulos precedentes, a nossa região situa-se no alto de terreno montanhoso da Serra do Mar, tudo parecendo indicar a presença de certa uniformidade microclimática durante apreciável período do ano. Deve-se lembrar também que, nossas coletas não cobriram as 24 horas seguidas. Ainda mais, enquanto as investigações naquela região são concernentes só ao subgênero Kerteszia, para as três espécies ali existentes (Veloso 1958), as nossas se referem apenas a uma delas, o Anopheles cruzii, mas incluem também os demais membros locais da família Culicidae.

De qualquer forma, de nossas investigações no meio silvestre de Casa Grande, acreditamos poder afirmar o que segue. Nas estações de coleta situadas em áreas escassamente habitadas ou mesmo despovoadas, como foi o caso de EBB, BRR e GT, a maior densidade de mosquitos diurnos repartiu-se entre vários representantes de Sabethini e o Anopheles cruzii. Por outro lado, nas capturas noturnas, ocorreu sensível diminuição dos primeiros e aumento considerável por parte do segundo. Na estação CG, situada próximo ao núcleo habitado de Casa Grande, os resultados foram também semelhantes, mas ali pudemos notar também a presença um tanto marcada de alguns Culicini. Possivelmente as diferenças de ordem local determinaram tais variações em relação aos outros dois postos de captura. É de se supor também ali a influência da atividade humana, em virtude da proximidade do núcleo habitado.

O caráter acrodendrófilo parece ser evidente em relação ao Anopheles cruzii além de, embora com certa irregularidade, para alguns Sabethini. O hábito arbóreo daquele anofelino tende a acentuar-se com o início da noite. Esse aspecto poderia dar margem a algumas considerações sobre a possível motivação para esse comportamento. A nosso ver, desde que ele parece não depender do clima ou microclima, é lícito supor que papel de significante in fluência venha ser desempenhado pelas possíveis fontes para o repasto san guíneo. Em outras palavras, a presença de vertebrados arbóreos seria hipó tese bastante viável na determinação dessa acrodendrofilia. E, ao se levar em conta que no início da noite as copas arbóreas servem de abrigo para a fauna aviária da região, não seria descabido supor que esses animais pudes sem vir a ser importantes fontes para a atividade hematófaga do Anopheles cruzii. Nesse particular, chama necessariamente a atenção a presença de apreciável número de galinhas encontradas com positividade para ovírus Bo racéia, o qual é agente isolado desse anofelino. Por conseguinte, deve-se admitir que, no quadro geral da zoofilia dessa espécie, em algumas regiões a ornitofilia desempenharia papel importante.

#### No ambiente doméstico.

Foi ainda o Anopheles cruzii que desempenhou papel de relêvo em nossas observações sobre a frequência aos domicílios da região. Em alguns casos, como no da residência situada em BRR, a densidade intradomiciliar chegou a atingir consideráveis valores. Convirá assinalar que o comporta mento dessa espécie nesse sentido, parece ter se mantido de maneira cons tante nesta região. E isso porque as nossas atuais observações confirmam outras, levadas a efeito anteriormente na mesma área (Forattini e cols.1961).

O mesmo contudo, parece não ter ocorrido com outros mosquitos. Foi o caso de Aedes scapularis que, coletado com certa frequência em época an terior (Forattini, 1961), desapareceu praticamente das capturas atuais. Es se mosquito, como que foi substituído pelo Aedes serratus cujo compareci mento, em algumas ocasiões, acusou mesmo apreciáveis níveis nas médias horárias. É possível pois que, as populações de tais culicídeos estejam su jeitas a ciclos mais longos do que o anual, no intervalo dos quais, podem chegar a diminuir muito de densidade. Outra explicação seria a ocorrência de modificações na composição da mesma população específica, levando-se em conta que tais hábitos poderiam obedecer a comando genético. De tôdas maneiras, são assuntos interessantes para pesquisa.

O que importa considerar para a atual investigação é que desde nos sas anteriores observações (Forattini e cols. 1961), até as atuais, o Anophe les cruzii manteve o seu caráter de frequentador de domicílios. Nestes últi mos dois anos e, especificamente, no núcleo de Casa Grande, foi-nos possí vel notar inclusive a atividade nesse sentido, por parte do Aedes serratus.

É interessante notar que o Anopheles cruzii consegue alcançar, com boa densidade, mesmo casas situadas a certa distância de seus criadouros. Foi o caso da habitação nº 98 do núcleo de Casa Grande, e que se encontra instalada a mais de 200 metros da margem florestal, tendo ainda o rio Claro de permeio. Isso pode encontrar explicação, pelo menos em parte, no apreciável alcance de vôo dêsse anofelino. Algumas observações têm revelado êsse fato. É o caso daquelas levadas a efeito em Cananéia, Estado de São Paulo, Brasil, onde exemplares marcados foram recapturados a distâncias superiores a 1000 metros do local de soltura. E note-se que, nessas investigações, foi possível verificar a capacidade de travessia, em ambos os sentidos, de canal de água salgada com largura mínima de 800 metros (Corrêa e cols. 1961).

Por conseguinte, essa freqüência aos domicílios da região, permite considerar importante fator epidemiológico no possível mecanismo de transporte dos vírus, do meio silvestre para o doméstico.

Desde o início, chamou-nos a atenção a ausência da espécie doméstica Culex pipiens fatigans. Com efeito, nas capturas a sua presença foi absolutamente nula, mesmo naquelas levadas a cabo no núcleo habitado de Casa Grande. Na tentativa de trazer alguma explicação para êsse fato, programamos a pesquisa de criadouros domiciliares. Até o momento, os resultados foram negativos para essa espécie, exceção feita de alguns reduzidos focos no próprio núcleo de Casa Grande. Dessa maneira, até que o prosseguimento das investigações nos traga maiores dados, somente podemos supor que êsse mosquito se encontre ainda em fase de adaptação ao ambiente doméstico desta área. É possível que ela ainda não se tenha processado de maneira eficaz.

## CONCLUSÕES

As informações que pudemos colher nestes cinco anos de pesquisa na área de Casa Grande, permitem algumas conclusões a respeito dos objetivos inicialmente visados. Êstes foram expostos no primeiro capítulo dêste trabalho e, conseqüentemente, a êles nos referiremos nas considerações que se seguem.

### Presença de focos naturais.

Em relação aos objetivos correspondentes aos itens 1, 2 e 3 (capítulo 1), podemos dizer que, nesta região, existem focos naturais de arbovírus. Os dados disponíveis até o momento, parecem indicar que tais agentes partem de biocenoses instaladas nesse ecossistema.

Aspecto panorâmico do ecossistema. - Pelas considerações expostas no capítulo 2, podemos verificar que o panorama ou a paisagem natural do ecossistema de Casa Grande, apresenta certas feições características. São elas constituídas pelo conjunto formado com o aspecto acidentado do terreno e o revestimento vegetal que é feito, de maneira predominante, pela floresta latifoliada tropical rica em bromeliáceas. O primeiro condiciona a presença de cursos de água pouco volumosos e pouco profundos. Todavia, êles são bastante movimentados e correm sôbre leito e entre blocos graníticos, constituídos por pedras e rochas dos mais variados tamanhos. Foram elas postas a descoberto em virtude do processo de lavagem a que foram submetidas as finas camadas superficiais, antes existentes, e que constituem peculiaridade dos solos predominantes na região. Por sua vez, o tipo climático condiciona feição geral de elevado teor de umidade e de temperaturas médias não muito elevadas.

Êsse aspecto paisagístico caracteriza o ambiente natural da Serra do Mar, na encosta atlântica meridional do Brasil. São montanhas revestidas por florestas fechadas, escuras, com árvores não muito altas e onde, o caráter peculiar do clima condiciona ambiente de elevada umidade e frequentemente nevoado. A atenção do observador é prontamente despertada pela alta densidade de bromélias, tanto epífitas como terrestres. Estas últimas chegam a formar verdadeiros tapetes que revestem grandes extensões do solo das matas. As figuras que ilustram o capítulo 2, fornecem alguns aspectos dêsse panorama.

Deve-se, portanto, admitir que neste ecossistema existam diversos biótopos nos quais tenham sede várias associações biocenóticas. Em outras parcelas, ali se encontram instaladas biogeocenoses das quais poderão fazer parte vários agentes arbovirais.

Biocenoses. - Os conhecimentos obtidos até agora, fazem supor que das biocenoses nas quais devam estar incluídos os arbovírus assinalados, façam parte diversos vertebrados e culicídeos. Compreende-se que, estas informações iniciais, somente permitem delinear o aspecto geral de alguns agentes. Em vista disso, nas considerações que irão se seguir, com frequência nos referiremos de maneira global aos arbovírus assinalados na região. Embora êles sejam provávelmente diferentes e, portanto, possivelmente participem de associações biocenóticas distintas, as considerações gerais poderão aplicar-se a todos êles. As diferenças ecológicas, próprias para cada caso, serão certamente obtidas com o prosseguimento das investigações. Apesar disso porém, certas feições particulares permitirão referências específicas a alguns agentes.

Pelos dados de isolamento e da investigação sorológica, pode-se admitir a existência de papel desempenhado pelos mamíferos. Entre êsses animais, os indícios apontam a participação de roedores e marsupiais. Com efeito, os dois agentes SPAn 2356 e SPAn 2546, foram obtidos de Oryzomys ratticeps e

Proechimys iheringi, respectivamente. Além disso, os resultados das provas sorológicas revelaram vários resultados positivos para Akodon, Oryzomys e outros, além dos marsupiais Didelphis marsupialis e Philander opossum.

Se analisarmos tais resultados de maneira mais específica, notaremos o seguinte. Os dois supracitados isolamentos não foram ainda definitivamente identificados, de maneira que, nesse particular, pouco se poderá dizer. Mas os resultados da sorologia mostram que êsses animais tiveram experiências com os vírus Tacaiuma, Boracéia, dos Grupos B e Tacaribe (Junin), além de outros em menor escala.

É bem verdade que não dispomos de conhecimentos suficientes sôbre tais populações. Em relação à pequena área de EBB, existem algumas observações recentes que indicam a presença dominante de Delomys, sendo os Oryzomys, Proechimys e Thaptomys observados em menor densidade (Carvalho, 1965). Por outro lado, o número de cada espécie examinada, não foi de molde ainda, a constituir amostra suficientemente representativa que nos permitisse alcançar idéia aproximada sôbre a possível prevalência de tais viroses nessas populações. Por conseguinte, no momento teremos que nos ater a considerações especulativas.

De todos os modos, a presença de infecção nos roedores mostra possível sensibilidade dêsses mamíferos aos vírus. Em vista disso, êles poderiam participar ativamente do ciclo natural dêsses agentes. O caráter normal dessa participação estará condicionado a comprovação mediante o prosseguimento destas pesquisas.

A transmissão, entre êsses roedores, deverá se fazer graças a mecanismo já explanado no primeiro capítulo. É de se pensar que, no que concerne aos artrópodes, os ectoparasitos em geral e os ácaros em particular, possam desempenhar algum papel. Quer nos parecer que, neste caso, a ação dos mosquitos deva merecer algumas restrições. Com efeito, os representantes dessa fauna encontrados por nós, pertencem a grupos de hábitos essencialmente crepusculares e noturnos. Além disso, as espécies examinadas, mesmo as de Akodon, Nectomys, Oxymycterus e outros, pelo que se conhece até agora, não são arborícolas (Moojen 1952, Carvalho 1965). Ora, como já se viu, a espécie de culicídeo dominante, ou seja o Anopheles cruzii, mostrou-se bastante arbórea e tendendo a aumentar sensivelmente em densidade, por ocasião do início da noite. Pensamos pois que seria lógico supor a possibilidade de que os reservatórios para êsse mosquito deveriam ser constituídos, principalmente por animais que habitassem ou frequentassem êsse ambiente. Em vista disso, é de se admitir que a transmissão dos vírus entre os citados roedores, possa se fazer mediante a contaminação, a amamentação, a atividade de artrópodes ectoparasitos, o predatismo, e de maneira mais hipotética e em menor escala, a ação de culicídeos. Aliás, entre os dípteros hematófagos, seria lícito pen

sar também em representantes que podem viver em nichos estáveis, como é o caso do ambiente constituído pelas tocas dêsses animais.

Por sua vez, em relação aos marsupiais, podemos tecer as mesmas considerações feitas para os roedores, ou seja, a deficiência em conhecimentos suficientes sobre a composição e dinâmica populacionais. Todavia, sem entrar em detalhes, podemos dizer que êles mostraram multiplicidade de regostas à investigação sorológica, incluindo os dois agentes Tacaiuma e Boracéia, isolados na região. A maneira pela qual êsses animais adquiriram as infecções, presta-se também a várias hipóteses.

Ao contrário dos supramencionados roedores, os Didelphis e Philander possuem hábitos arbóreos em grau elevado. Vivem grande parte do tempo nas árvores, podendo porém ser encontrados no solo, com certa frequência. Acresce o fato de que, enquanto os roedores não parecem possuir acentuada tendência a se afastarem consideravelmente de suas tocas, o mesmo parece não ocorrer rigorosamente com os marsupiais. Com efeito, algumas observações têm sugerido tais aspectos, contrapondo, à freqüente recaptura daqueles, a raridade do mesmo resultado, pelo menos em relação a exemplares de Didelphis do sexo masculino (Davis 1945, Carvalho 1965). Por conseguinte, o aspecto arborícola dêsses animais aproxima-os dos culicídeos, principalmente daqueles que, como o Anopheles cruzii, também apresentam esse aspecto no seu comportamento. Tal fato, possibilita a hipótese de que êles possam desempenhar o papel de reservatórios dêsses vírus em relação à fauna culicidiana. É de se supor pois, que a transmissão, entre êles, deva ser feita em boa parte, por êsses mosquitos. Todavia, não se deve desprezar a possibilidade de obterem infecção mediante a atividade predatória de que são dotados. Com efeito, alimentando-se de roedores infectados poderiam desse modo adquirir a virose. Embora não existam evidências experimentais, permitimo-nos admitir que, em seguida à infecção, por uma ou outra via, êles venham a apresentar viremias capazes de transferir os agentes virais para os culicídeos hematófagos. Não estão fora de cogitação também os outros mecanismos já citados, passíveis de possibilitar a circulação dos vírus entre êstes animais.

Quanto aos morcegos, poderíamos dizer inicialmente que as espécies hematófagas como as do gênero Desmodus, teriam a oportunidade de adquirir as viroses graças a êsse hábito alimentar. Todavia, em nossas investigações até o momento, os dados disponíveis sobre êsse grupo são praticamente inexistentes. Em compensação, no que concerne aos insetívoros, a espécie Myotis albescens mostrou, como se viu, reatividade sorológica para alguns agentes. À semelhança do citado para os outros mamíferos, a transmissão viral entre êsses morcegos, poderia se fazer a custa dos vários mecanismos já considerados. Entre êles, merece algum destaque o tipo de alimentação dêsses animais. Com efeito, essa espécie em particular é considerada gran

de devoradora de insetos entre os quais, os mosquitos. Assinala-se mesmo que, em perseguição destes últimos, chegam a invadir residências. Ora, a nosso ver isso poderia explicar, pelo menos parcialmente, a aquisição de infecções arbovirais por parte desses quirópteros. De qualquer forma, a veiculação de arbovírus entre tais mamíferos parece prescindir, em muitos casos, do concurso de artrópodes. Assim, para nos atermos aos agentes isolados de morcegos no Continente Americano, podemos dizer que, embora um deles tenha sido também isolado de mosquitos (Downs e cols. 1963), os outros parecem ter a sua transmissão assegurada através da contaminação salivar pelas mordidas, e láctea pela amamentação (Johnson 1957, Bell e Thomas 1964).

Como vimos, em relação às aves, os nossos resultados foram, até agora, bastante pobres. Todavia, como já tivemos oportunidade de referir, há indícios que não nos permitem descartar a possibilidade desses vertebrados virem a desempenhar papel de importância na circulação pelo menos de alguns dos vírus em seu nicho natural. Dizem eles respeito ao caráter arbóreo da atividade do Anopheles cruzii e à apreciável positividade que conseguimos observar em galinhas, para o agente Boracéia isolado desse mosquito. É claro que, à semelhança dos outros casos, são escassas as informações disponíveis sobre as circunstâncias imediatas que aproximem os mosquitos das aves (Stam, 1966). Não se sabe com segurança, pelo menos em nosso meio, se isso ocorre de dia ou de noite, se por ocasião do nascimento, se no ninho ou durante o repouso desses animais, e outras questões que ainda permanecem obscuras. Seja como for, e apesar de ainda não podermos apresentar dados concretos sobre o assunto, acreditamos que, ao menos para o vírus Boracéia, as aves devam ter capacidade de albergá-lo. A transmissão entre elas deverá ser executada graças à atividade hematófaga dos culicídeos, principalmente daqueles que, como o Anopheles cruzii, tem preferência pela copa das árvores. Evidentemente, da mesma maneira que para os mamíferos, a ação predatória de aves de rapina e a alimentação insetívora, poderiam também propiciar a transmissão.

Em resumo, os arbovírus encontrados no meio florestal de Casa Grande, parecem participar de biocenose. Desta, pelos dados que pudemos levantar até agora, fazem parte roedores, marsupiais e talvez morcegos, além de pelo menos para o vírus Boracéia, também aves. Neste último caso, a biocenose estaria estabelecida em nicho instável correspondente ao biótopo da copa arbórea. Dêles participariam os reservatórios constituídos pelas aves, e, possivelmente, também por mamíferos marsupiais, enquanto os transmissores seriam representados pelos componentes da fauna culicidiana. Nesta última, pelo menos até agora, parece desempenhar papel de destaque a espécie Anopheles cruzii. É evidente que esses possíveis ciclos deverão ser confirmados e novos dados deverão ser acrescentados. É o que esperamos conseguir com o prosseguimento das investigações. O esquema representado na Fig. 6.1 su

maria o que acima foi descrito.

#### Transporte para o ambiente doméstico.

Pelos resultados conseguidos, tanto na investigação sorológica, como nas tentativas de isolamento, verificamos que os vírus silvestres alcançam o ambiente doméstico da área de Casa Grande. Assim é que se pôde detectar a ocorrência de infecções em homens e animais domésticos. Além disso, foram bastante sugestivas as circunstâncias em que se obtiveram os isolamentos SPAn 4148 e SPAr 4770. Com efeito, o primeiro foi conseguido de camundongo sentinela colocado em dependência domiciliar, enquanto que o segundo foi de espécimens de Anopheles cruzii coletados dentro de habitação. A nosso ver, isso indica fortemente o transporte de arbovírus do meio silvestre para o doméstico.

Tais dados levam à admissão da hipótese de que essa transferência deva se fazer, pelo menos em grande parte, graças à atividade de culicídeos que frequentem as casas. Como vimos no capítulo correspondente, o Anopheles cruzii desempenha, nesse particular, papel de relêvo. A ele pois, é de se atribuir apreciável responsabilidade nesse processo de transporte. Por sua vez, no caso particular do núcleo habitado de Casa Grande, o Aedes sergatus também parece ter tido a possibilidade de desempenhar algum papel nesse sentido.

Outros elementos que poderiam contribuir em tal transporte, seriam constituídos por vertebrados domésticos que, graças às suas possibilidades de locomoção, entrariam em contato com membros das biocenoses naturais.

Dessa maneira, o achado de reatividade sorológica em ratos e cães domiciliares pode sugerir êsse fato. Ambos teriam a possibilidade de acesso aos participantes de ciclos naturais, principalmente roedores. Tais contatos, entre os quais o predatismo deve ser encarado como importante, facilitariam a transferência de vírus para aqueles animais domésticos.

Quanto à frequência de morcegos insetívoros às residências, talvez possa ter algum significado epidemiológico. Todavia, sua interpretação requer ainda maiores investigações.

Embora tenhamos conseguido demonstrar a presença de múltiplas infecções arbovirais no conjunto domiciliar da região de Casa Grande, nada podemos ainda afirmar quanto à possibilidade de ali se instalar foco artificial que mantenha os vírus nesse meio. É fora de dúvida que os agentes arbovirais alcançaram o ambiente doméstico, sem interrupção, pelo menos durante o período de nossas investigações. Todavia, ainda não conseguimos indícios suficientes que nos permitissem admitir a ocorrência de subsequente transmiss

são entre os habitantes locais, tanto humanos como animais. De fato, já nos referimos à escassez de espécies domésticas, em especial modo, do Culex pipiens fatigans, que poderiam contribuir para essa veiculação. Restaria a possibilidade da contaminação do ambiente. Embora isso seja possível, faltam dados que sugiram esta hipótese. Assim sendo, no estado atual de nossos conhecimentos, resta-nos considerar que, na região de Casa Grande, o homem e os animais domésticos, sob o ponto de vista epidemiológico, comportam-se como hospedeiros terminais. É o que se encontra representado no esquema da Fig. 6.1.

### Considerações finais.

Para terminar esta exposição dos dados atuais sobre os nossos trabalhos na região de Casa Grande, julgamos interessante ressaltar os pontos que se seguem. Eles resumem as conclusões a que chegamos com os conhecimentos adquiridos até agora.

1. - Na área de Casa Grande, que é apreciavelmente extensa, encontram-se condições para a existência de biocenoses, de algumas das quais participam arbovírus. Isso equivale a dizer que ali estão presentes nichos naturais desses agentes.

2. - A existência desses vírus pôde ser demonstrada através a obtenção de diversos isolamentos. A identificação revelou, até agora, além da presença de vírus novo, denominado Boracéia, a de outro já conhecido na região amazônica, o Tacaiuma.

3. - Os dados sobre os ciclos desses agentes na região, são ainda insuficientes. Todavia, falando de maneira geral, os indícios levam a crer que nas biocenoses estejam envolvidos vários mamíferos, aves e culicídeos. A mecânica dos ciclos é ainda em grande parte obscura, porém nos parece relevante a participação do Anopheles cruzii na transmissão.

4. - Na população humana e de animais domésticos, não nos foi possível detectar a presença de manifestações clínicas atribuíveis a arboviroses. Contudo, isso era de se esperar, dadas as condições de trabalho e o fato do mesmo estar sendo levado a efeito em região que encerra focos naturais. Assim sendo, a pesquisa sorológica demonstrou a presença de atividade, não apenas para os dois supracitados agentes, mas também para possíveis outros pertencentes a vários grupos. Entre estes ocupou posição de destaque o Grupo B. Por conseguinte, existem em nossa região vários arbovírus silvestres cuja presença se reflete na população local, tanto humana como a constituída pelos vertebrados domésticos.

5. - A atividade desses vírus parece não se fazer de maneira contínua. Com efeito, a análise dos dados relativos ao homem, revelou a pouca signifi

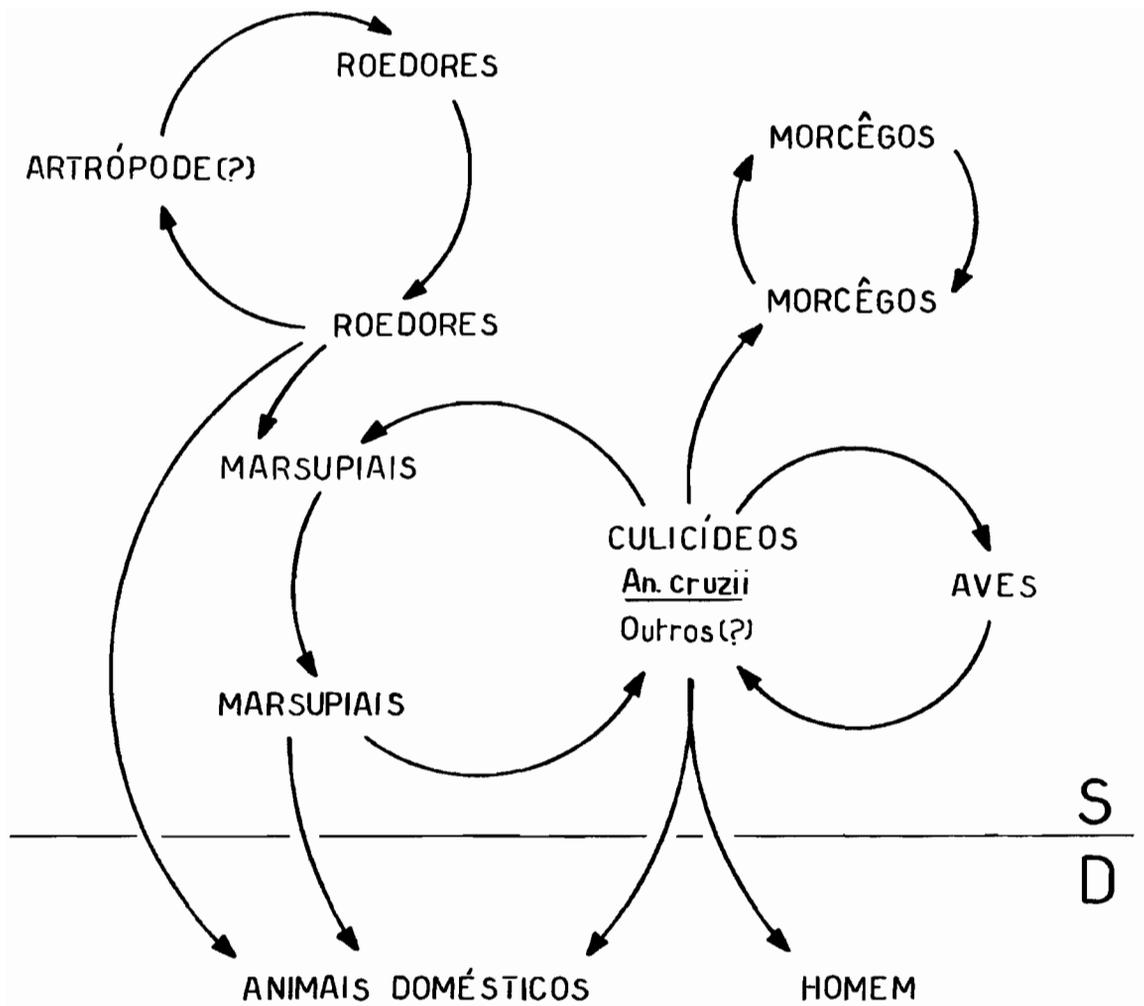


Fig. 6.1 - Representação esquemática de prováveis ciclos de arbovírus na área de Casa Grande.

S - meio silvestre

D - ambiente doméstico

cância do fator representado pelo tempo de residência. Mesmo para os resultados inespecíficos relativos ao Grupo B, pode-se interpretar isso como sendo devido a vários agentes do mesmo conjunto agindo com maior intensidade em épocas diversas. Em nossas tentativas de isolamento, pensamos talvez ter surpreendido um desses períodos em relação a agente que ainda não identificamos definitivamente. Trata-se dos isolamentos mais recentes, SPAn 4148, e SPAr 4080, 4175, 4770 e 5261, obtidos na mesma época e que as provas iniciais parecem indicar tratar-se do mesmo vírus.

6. - Desde que o ambiente natural apresenta condições favoráveis à instalação de ciclos arbovirais, pode-se pensar que êle seja também receptível à introdução de arbovírus procedentes de outras regiões.

7. - Até o momento, não nos foi possível surpreender evidências que indicassem a instalação de focos artificiais no ambiente doméstico. Embora não possuamos dados detalhados a respeito, quer parecer-nos que o meio domiciliar de Casa Grande não reúne condições muito favoráveis à manutenção dêsse ciclo. Além da escassa presença de culicídeos domésticos, senso estrito, as habitações apresentam bom padrão de construção, o que torna um tanto difícil a contaminação do ambiente.

8. - A região representada pelo ecossistema de Casa Grande, pode ser considerada como representativa da Serra do Mar, pelo menos nessa parte norte do Estado de São Paulo. Pode-se pois dizer que ali existem nichos naturais de arbovírus passíveis de serem transmitidos e assim infectar o homem. Esse fenômeno apresenta, portanto, a possibilidade de se manifestar, em caráter epidêmico, quando populações sem prévia experiência com tais agentes, entrarem em contato com as biocenoses locais. A aplicação de tais investigações se reveste de interêsse, ao considerarmos as possibilidades de povoamento de novas áreas.

9. - Finalmente, deve-se considerar a presença de novas infecções, desconhecidas até o momento. Sua existência e veiculação mediante vetores reconhecidos como tais para outras endemias, merece a atenção mesmo de pesquisadores dedicados ao estudo dessas últimas. É o caso do Anopheles cruzii o qual, conhecido como transmissor epidemiològicamente eficaz de malária na região litorânea meridional do Brasil, revelou-se em nossa área como provável vetor de múltiplos arbovírus.

## APÊNDICE

pgs.

Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Humanos .....	190
Tabela Geral dos Resultados Sorológicos Animais .....	198
Tabelas Gerais de Resultados de Investigação Entomológica .....	201
Número de espécimens obtidos nas capturas diurnas da estação EBB .....	201
Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas da estação EBB .....	202
Número de espécimens obtidos nas capturas diurnas da estação BRR .....	203
Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas da estação BRR .....	204
Número de espécimens obtidos nas capturas diurnas das estações GT e CG .....	205
Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas das estações GT e CG .....	206

TABELA GERAL DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS HUMANOS

Nº	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	BORACEIA		TACAIUMA		GRUPO B		GRUPO C		Id.	Sx.	LOCAL
			+ S <sub>1</sub>	+ S <sub>2</sub>									
t.r. 1													
1	4				-	-	-	-	-	-	33	m	
2	17	4	-	-	-	-	-	-	-	-	28	m	
3	20		-	-	-	-	-	-	-	-	23		
4	193		+		-	-	-	-	-	-	12		
5	206		+		-	-	-	-	-	-	8		
6	226		+		-	-	-	-	-	-	9	m	
7	229				-	-	-	-	-	-	8		
8		23			-	-	-	-	-	-	54		
9		81			-	-	-	-	-	+	21		
10		124			-	-	-	-	-	-	13		
11		125			-	-	-	-	-	-	47	m	Bairro da 3ª
12		144			-	-	-	-	-	-	12	m	Campinho
13		145		+	+	-	-	-	-	-	9	m	Bairro da 2ª
14		162		-	-	-	-	-	-	-	8	m	
15		198			-	-	-	-	-	-	9	m	
16		202			-	-	-	-	-	-	30	m	
17		262			+	+	-	+	-	-	42	m	Serengue
18		265		-	-	-	-	-	-	-	30	m	
19		308		-	-	+	-	+	-	-	27	m	Ribeirão Grande
20		311		-	-	+	-	-	-	-	44		" "
21		316			-	-	-	-	-	-	23		" "
22		317			-	-	-	-	-	-	19		" "
23		321			-	-	-	-	-	-	18	m	" "
24		323			-	-	-	-	-	-	55	m	" "
25		325		-	+	-	-	-	-	-	23	m	" "
26		326		-	-	-	-	-	-	-	12	m	" "
27		327			-	-	-	-	-	-	60	m	" "
28		328		-	-	+	-	-	-	-	28	m	" "
29		335		-	-	-	-	-	-	-	29	m	" "
30		336		-	-	-	-	-	-	-	20		" "
31		352			-	-	-	-	-	-	42	m	Fazenda Palma
32		354			-	-	-	-	-	-	38	m	" "
33		355		+	+	-	-	+	-	-	52	m	" "
34		356		+	-	-	-	-	-	-	43	m	" "
35		357		-	-	-	-	-	-	-	21		" "
36		358		-	-	-	-	-	-	-	30		" "
t.r. 2.													
37	16	31	-	-	-	-	-	-	-	-	22	m	
38	18	85	-	-	-	-	-	-	-	-	47	m	
39	43	226	-	-	-	-	-	-	-	-	25	m	
40	46	252	+	+	-	-	-	-	-	-	38	m	
41	122	37	-	-	-	-	-	-	-	-	10	m	Bairro da 2ª
42	135	33	+	+	-	+	-	-	-	-	10		
43	195	76	-	-	-	-	-	-	-	-	10		Serengue
44	210		-	-	-	-	-	-	-	-	14	m	
45	222		+	-	-	-	-	-	-	-	11	m	Serengue
46	225	64	-	-	-	-	-	-	-	-	11	m	
47	232	135	-	-	-	-	-	-	-	-	21		
48		6	-	-	-	-	-	-	-	-	24		
49		138	-	-	-	-	-	-	-	-	10		Bairro da 3ª
50		197	-	-	-	+	-	+	-	-	7		
51		273	-	-	-	-	-	-	-	-	36	m	
52		293	-	-	-	-	-	-	-	-	24		
t.r. 3													
53	75	290	-	-	-	-	-	-	-	-	54		
54	130	28	-	-	-	-	-	-	-	-	10	m	
55	150	42	+	+	-	-	-	-	-	-	14		
56	197		-	-	-	-	-	-	-	-	12		Serengue
57	213	62	+	+	-	-	-	-	-	-	9	m	
58		11	-	-	-	-	-	+	-	-	24		
59		318	-	-	-	-	-	-	-	-	33	m	Ribeirão Grande

.Nº	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	BORACEIA		TACAIUMA		GRUPO B		GRUPO C		Id.	Sx.	LOCAL
			+ S <sub>1</sub>	+ S <sub>2</sub>									
t.r. 4													
60	14	19	-	-	+	+	-	-	-	-	28	m	
61	15	18	-	-	-	-	-	-	-	-	46	m	
62	81	291	-	-	-	-	+	-	-	-	17		
63	85	97	-	-	-	-	+	-	-	-	39		
64	86	177	-	-	-	+	-	-	-	-	33		
65	87	78	-	-	-	+	-	+	-	-	8		
66	136	94	+	+	-	-	-	-	-	-	12		
67	145	32	-	-	-	-	-	-	-	-	10		
68	188	102	-	-	+	+	-	-	-	-	16	m	
69	189	117	-	-	-	-	-	-	-	-	15	m	
70	199	66	-	-	-	+	-	-	-	-	9	m	
71		51	-	-	-	-	-	-	-	-	9	m	
72		179	-	-	-	-	-	-	-	-	12	m	
t.r. 5													
73	48	268	-	-	-	-	-	-	-	-	45	m	Bairro da 3ª
74	129		-	-	-	-	-	-	-	-	11	m	
75		12	-	-	-	-	-	-	-	-	5	m	
76		80	-	-	-	-	-	-	-	-	27		
77		128	-	-	-	-	+	-	-	-	5	m	
78		142	-	-	-	-	-	-	-	-	13	m	Bairro da 2ª
79		161	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
80		233	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
81		279	-	-	-	-	-	-	-	-	35	m	
82		337	-	-	-	-	-	-	-	-	42	m	Ribeirão Grande
t.r. 6													
83	82	243	-	-	-	-	-	-	-	-	17		
84	185		-	-	-	-	-	-	-	-	6		
85		26	-	-	-	-	-	-	-	-	6		
86		113	-	-	-	-	-	-	-	-	19	m	
87		122	-	-	-	-	-	-	-	-	6		
88		127	-	-	-	-	-	-	-	-	6	m	
89		165	-	-	-	-	+	-	-	-	6	m	
90		170	-	-	-	-	-	-	-	-	6		
91		231	-	-	-	-	-	-	-	-	6	m	
92		272	-	-	-	-	-	-	-	-	46	m	
93		350	-	-	-	-	-	-	-	-	41	m	
t.r. 7													
94	103	178	+	+	-	-	-	-	+	-	7	m	
95	192		+	-	-	-	-	-	-	-	7		
96	205	79	-	+	-	-	-	-	-	-	7		
97		13	-	+	-	-	-	-	-	-	7	m	
98		30	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	
99		105	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
100		158	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	
101		159	-	-	+	-	+	-	-	-	7		
102		160	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
103		163	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
104		183	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	
105		184	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
106		185	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
107		195	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	Bairro da 2ª Caminho
108		196	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
109		199	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	
110		200	-	+	+	+	+	-	-	-	7		
111		201	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
112		228	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	
113		229	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
114		230	-	-	-	-	-	-	-	-	7		
115		232	-	-	-	-	-	-	-	-	7	m	



Nº	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	BORACEIA		TACAIUMA		GRUPO B		GRUPO C		Id.	Sx.	LOCAL
			+ S <sub>1</sub>	+ S <sub>2</sub>									
t.r. 12													
240		106		-	-	-	-	-	-	-	35		
241		116			-	-	-	-	-	-	33	m	Pedra Queimada
242		126		-	-	-	-	-	-	-	31	m	
243		137		-	-	-	-	-	-	-	12	m	Bairro da 3ª
244		146		-	-	-	-	-	-	-	12		
245		263		-	-	-	-	-	-	-	82	m	Serengue
246		276		-	-	-	-	-	-	-	21	m	Pedra Queimada
247		342			-	-	-	-	-	-	35		
248		347			-	-	-	-	-	-	12		
t.r. 13													
249	28	307	-		-	-	-	-	-	-	35	m	
250	44	248	-	-	-	+	-	-	-	-	13	m	
251	53	260	-	-	-	-	-	-	-	-	42	m	Campinho
252	62	9	-	+	-	-	-	-	-	-	52	m	
253	65	110	-	-	-	+	+	-	-	-	37	m	
254	76				-		+	-	-	-	13	m	
255	101	91	+	+	-	-	-	-	-	-	13		
256	107		+		-	-	-	-	-	-	13		Serengue
257	111	281	-	-	-	-	-	-	-	-	13	m	
258	113				-	-	-	-	-	-	13	m	Campinho
259	118		+		-	-	-	-	-	-	13	m	Pau a Pique
260	131		-		-	-	-	-	-	-	13	m	
261	138	93	-	-	-	-	+	-	-	-	13		
262	143	204	+	+	-	-	-	-	-	-	13		
263	144	211	-	-	-	-	+	-	-	-	13		
264	172	258	-	-	-	-	-	-	-	-	13		
265	190	341	+	+	-	-	-	-	-	-	69	m	
266	204		-		-	-	-	-	-	-	13	m	
267	211	283	-	-	-	-	-	-	-	-	13	m	
268		84		-	-	-	-	-	+	-	48	m	
269		109			-	-	-	-	-	-	39	m	
270		206			-	-	-	-	-	-	13		
271		235			-	-	-	-	-	-	13		
272		267			-	-	-	-	-	-	33	m	
273		271			-	-	-	-	-	-	21	m	
274		274		-		-	-	-	-	-	13		
t.r. 14													
275	5	108	-	-	-	-	-	-	-	-	38	m	
276	9				-		+	-	-	-	26	m	
277	77	305	-	-	-		+	-	-	-	14	m	
278	98	345	-	-	+	+	-	-	-	-	14	m	
279	108	299	+	+	-	-	-	-	-	-	14		Serengue
280	115	300	-	-	-	-	-	+	-	-	14	m	
281	116		-		-	-	-	-	-	-	14	m	Bairro da 2ª
282	183	175	-	-	-	+	-	+	-	-	14		
283		214			-	-	-	-	-	-	14		
284		249			-	-	-	-	-	-	14	m	
285		277			-	+	-	-	-	-	45	m	
286		286			-	-	-	-	-	-	35		
287		295			-	-	-	-	-	-	23		
t.r. 15													
288	13	256	+	+	+	+	-	-	-	-	55	m	
289	120		-		-	-	-	-	-	-	15	m	Serengue
290	177	339	-	-	-	-	+	-	-	-	44	m	
291		205		+	-	-	-	+	-	-	15		
292		269			-	-	-	-	-	-	15		
293		285			-	-	-	-	-	-	42		
294		301			-	-	-	-	-	-	15		
295		314			-	-	-	-	+	-	29	m	Ribeirão Grande
296		322			-	-	-	-	-	-	21	m	" "
297		344			-	-	-	-	-	-	30		



Nº	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	BORAGETIA		TACATUMA		GRUPO B		GRUPO G		Id.	Sx.	LOCAL
			+ S <sub>1</sub>	+ S <sub>2</sub>									
t.r. 22													
352	36		+	-	-	-	-	-	-	-	29	m	Pau a Pique
353	42	257	-	-	-	-	+	-	-	-	30	m	
354	49	346	+	+	-	-	-	-	-	-	22	m	
355	54	223	-	-	-	-	-	-	-	-	22		
356	95	306	-	-	-	-	-	-	+	+	30	m	
357	203	166	+	+	-	-	-	-	-	-	22		
358		95	-	-	-	-	-	-	-	-	22		
t.r. 23													
359	3	100	-	+	-	-	-	-	-	-	56	m	Pau a Pique " " Ribeirão Grande
360	23	238	-	-	-	-	+	+	-	-	48	m	
361		86	-	-	-	-	-	-	-	-	57	m	
362		172	-	-	-	-	-	-	-	-	23	m	
363		296	-	-	-	+	-	-	-	-	55	m	
364		298	-	-	-	-	-	-	-	-	56		
365		310	-	-	-	-	-	-	-	-	53	m	
t.r. 24													
366	178	255	-	-	-	-	-	-	-	-	24	m	
t.r. 25													
367	11	1	+	+	-	-	-	+	-	-	54	m	Ribeirão Grande
368	24	87	-	-	-	+	+	+	-	-	56	m	
369	39	140	+	+	-	+	-	+	-	-	58	m	
370	69	219	-	-	-	-	-	-	-	-	56	m	
371	100	284	+	+	-	-	-	-	-	-	28		
372	186		-	-	-	-	-	-	-	-	50		
373		333	-	-	-	-	-	-	-	-	25	m	
374		351	+	+	-	+	+	+	+	+	65	m	
t.r. 26													
375	55	182	-	-	-	+	+	-	-	-	35	m	
376	61	15	-	-	-	-	-	-	-	-	26	m	
377		96	-	-	-	-	-	-	-	-	55		
378		164	-	-	-	-	-	-	-	-	36		
t.r. 27													
379	201	247	-	-	-	-	+	+	-	-	44	m	
380	233	220	-	-	-	-	-	-	-	-	54	m	
381		173	-	-	-	-	-	-	-	-	48		
t.r. 28													
382	27	131	-	-	-	+	+	+	-	-	47	m	
383	171		-	-	-	-	-	-	-	-	57		
t.r. 29													
384	52	118	+	+	+	+	+	-	-	-	30	m	Ribeirão Grande
385		312	-	-	-	-	-	-	-	-	29	m	
t.r. 30													
386	10	171	+	+	-	-	+	+	-	-	54	m	
387	21	27	-	-	-	-	-	-	-	-	32	m	
388	64	221	-	-	-	-	-	-	-	-	38	m	
389	70	242	-	-	-	-	+	+	-	-	34		
390	102	10	-	-	+	+	+	-	-	-	54	m	
391	169	244	+	+	-	-	-	-	-	-	54	m	
392	170	302	-	-	-	-	-	-	-	-	53	m	
t.r. 31													
393	224	216	-	-	+	+	+	+	-	-	33	m	

Nº	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	BORACEIA		TACAIUMA		GRUPO B		GRUPO C		Id.	Sx.	LOCAL
			+ S <sub>1</sub>	+ S <sub>2</sub>									
t.r. 32 394	83				+		-		+		32		
t.r. 33 395	174	130	-	+	+	+	-	+	-	-	33	m	
t.r. 36 396		332			-		-		-		36	m	Ribeirão Grande
t.r. 37 397	59		+		-		+		-		67	m	
t.r. 40 398	31	88	+	+	-	-	-	-	-	-	50		

As localidades acham-se assinaladas com o respectivo nome. Quando não existe especificação, trata-se de Casa Grande (toda a área).

**Sangrias:**

S<sub>1</sub> - Primeira Sangria, 1964 (números de identificação)

S<sub>2</sub> - Segunda Sangria, 1965 (números de identificação)

**Resultados:**

- - Negativo

+ - Positivo

em branco - não feito

**Caracteres:**

m - Masculino

em branco - feminino

A idade e o tempo de residência acham-se expressos em anos.

id. = idade

sx. = sexo

t.r. = tempo de residência.

TABELA GERAL DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS ANIMAIS

Espécies	IH																				NT								
	n.	+	Gr. A				Gr. B				Gr. C			Gr. Buny		Cx. Clf.		Gr. Phlebt.			TCA	Beóia.		Cocal		Junin			
			EL	EO	MY	MC	BSS	ESL	FA	ILH	MR	OR	CR	GOA	VC	CLF	TY	ANH	IC	IT		n.	+	n.	+	n.	+		
<b>ANIMAIS DOMÉSTICOS</b>																													
<b>Mamíferos</b>																													
Bovinos	7	6						3		4								2						4	2	6		4	1
Cães	15	7				1	2		3				1	1					1				10	4	8		8		
Equinos	8	3					3		2														6	2	6		6		
Suínos	3	1							1														2		2		2		
<b>Aves</b>																													
Galinhas	39																						22	13	22		22		
Gansos	3																						2	1	2		2		
<b>MAMÍFEROS SILVESTRES</b>																													
<b>Roedores</b>																													
<b>CRICETIDAE</b>																													
<i>Akodon arviculoides</i>	56	6				3	2	2	2				1			1	1					4	10	3	10		12	4	
<i>Delomys dorsalis</i>	11	2				2	1	1	1		1											1	7	1	2		5		
<i>Holochilus brasiliensis</i>	3	1						1	1		1					1							-	-	-	-	-	-	
<i>Nectomys squamipes</i>	15	3		1		1	1	1	1			1											11	4	10		9	2	
<i>Oryzomys nigripes</i>	58	9				2	2		3											1		4	13		11		13	1	
<i>Oryzomys ratticeps</i>	38	6		1		2	1															3	13		9		13	2	
<i>Oryzomys sp.</i>	17	4							1				1				1	1	1			1	14	1	1		5		
<i>Oxymycterus quaestor</i>	12	4							1		1		2									1	8	1	3		8		
<i>Rhipidomys sp.</i>	3																					3	1	-	-	-	-	-	
<i>Thaptomys nigrita</i>	11																					3	-	-	-	-	-	-	
<b>ECHIMYIDAE</b>																													
<i>Euryzgomatomys guirara</i>	4	1											1										1		1		-	-	
<i>Proechimys iheringi</i>	12	3		1		1	1		1													1	9	2	9		8		
<b>MURIDAE</b>																													
<i>Rattus rattus</i>	6	4						1	1			1										1	3	6		3		3	
<b>Marsupiais</b>																													
<b>DIDELPHIDAE</b>																													
<i>Didelphis marsupialis</i>	37	5				1	2	1	1				1								1	1	31	6	24		31	1	
<i>Philander opossum</i>	25	5				2	1	2	1		3		1			2						2	19	1	14	1	20	3	
<b>Morcegos</b>																													
<b>DESMODONTIDAE</b>																													
<i>Desmodus sp.</i>	1																						-	-	-	-	-	-	
<b>VESPERTILIONIDAE (*)</b>																													
<i>Myotis albescens</i>	9	3					2		2			2										2	9		4		8		





Numero de especimens obtidos nas capturas diurnas da estação EBB

	1963			1964												1965												1966			T.
	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	
Número de horas .....	20	15	20	20	20	25	15	20	20	25	20	15	15	20	15	20	20	20	20	20	25	20	25	20	20	25	15	20	20	25	600
<u>Anopheles cruzii</u>	10	36	342	66	63	189	26	37	8	7	17	42	17	74	130	292	202	90	52	24	16	35	42	11	54	122	177	151	44	24	2400
<u>Aedes leucocelaenus</u>																			1								1				2
<u>Aedes scapularis</u>						1																									1
<u>Aedes serratus</u>			4													1		2	2									1	2		12
<u>Culex (Culex) sp.</u>														1																	1
<u>Culex (Melanoconion) sp.</u>																		1													1
<u>Culex aureus</u>																		1	2												3
<u>Psorophora discrucians</u>																		4												1	5
<u>Psorophora ferox</u>			1		1													1									1	7		11	
<u>Limatus flavisetosus</u>			3	24	22	2					1								1	1								1	5	60	
<u>Phoniomyia davisii</u>			13	51		17	59																								140
<u>Phoniomyia longirostris</u>	21	59	304	103	99	493	80	107	84	17	19	199	28	10	13	63	43	7	2			3		25		32				1811	
<u>Phoniomyia palmata</u>	13	12	101	61	43	167	57			11				13	11	1	1				1	1				4				497	
<u>Phoniomyia pilicauda</u>			306	54	124	450	85	124	27	6	34		17	28	38	78	120	148	160	58	160	88	150	49	38	122	60	108	132	192	2956
<u>Sabethes albiprivus</u>	5	4	8	6	11	26	2				1	1	1			1	3	1	1	1		1	4	4	7	2		1	6	97	
<u>Sabethes intermedius</u>																	4	4	2		1		2	1	4	2	6	6	14	7	53
<u>Sabethes quasicyaneus</u>											1				1		1	1													4
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	20	7	3	52	23	90	29	3			5	7	6	40	49	32	9	28	2		1			1				39		446	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	26	38	91	57	53	402	17	54	12	15	51	16	23	10	10	9	4	7	36	1	2	3				6				943	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																		1	6	1	3	2	6	3	23	51		3	2	101	
<u>Trichoprosopon reversum</u>	34	35	46	30	65	204	27	45	8	23	29	53	79	25	60	162	93	123	158	59	28	36	36	65	87	73	20	33	81	99	1916
<u>Trichoprosopon theobaldi</u>					2		5	4																							11
<u>Wyeomyia aporonoma</u>	4	11	11	10	8	5										1	1									2			2	55	
<u>Wyeomyia confusa</u>	6	23	36	28	31	134	5	4			3	2	2		2	6	1	24	4	1	1	3	1	5	2	7	8	4	4	24	371
<u>Wyeomyia leucostigma</u>																													1		1
<u>Wyeomyia lutzi</u>																											1				1
<u>Wyeomyia oblita</u>	8		25	7	4	12		3		1		1			4		2				1									68	
<u>Wyeomyia sabethea</u>	1																														1
T O T A L	148	238	1332	498	566	2234	333	381	139	80	160	322	173	201	319	645	492	436	422	152	211	173	237	167	197	395	322	342	284	369	11968

Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas da estação EBB

	1963			1964										1965										1966			T.					
	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.		Dz.	Jn.	Fv.	Mço	
Número de horas .....	6	2	8	8	8	8	2	4	8	8	2	6	8	6	6	6	8	8	10	8	6	4	2	8	10	8	8	8	8	8	200	
<u>Anopheles cruzii</u>	15	8	133	250	177	53						15	12	125	11	274	215	492	306	54	51				4	115	289	260	223	95	133	3310
<u>Anopheles lutzii</u>	1		2			3																									6	
<u>Aedes leucocelaenus</u>			1														3										1				5	
<u>Aedes scapularis</u>						2																			9						11	
<u>Aedes serratus</u>									1								13	8	4												26	
<u>Culex (Culex) sp.</u>																	4														4	
<u>Culex worontzowi</u>																		6													6	
<u>Psorophora ferox</u>																	5										1				6	
<u>Phonimosia davisii</u>			1																												1	
<u>Phonimosia longirostris</u>			3		8	3										1	26		1								3				45	
<u>Phonimosia palmata</u>			1														6														7	
<u>Phonimosia pilicauda</u>			2														87	1	3							2	6		6	3	110	
<u>Sabethes albiprivus</u>																	1														1	
<u>Sabethes intermedius</u>																	3														3	
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	2															3	18	3	3												29	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	2		5	2	11	3			1	2						2										6	4				38	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																									1	4	15	5	12		37	
<u>Trichoprosopon reversum</u>	5			2	3	1										8	30	23	19	2					5	6	8	4	6	6	128	
<u>Trichoprosopon theobaldi</u>	3		2	2																											7	
<u>Wyeomyia confusa</u>			2													1	17	2	1						9			2	1		35	
<u>Wyeomyia leucostigma</u>																													2		2	
<u>Wyeomyia oblita</u>																										3					3	
<b>T O T A L</b>	<b>28</b>	<b>8</b>	<b>152</b>	<b>256</b>	<b>199</b>	<b>65</b>			<b>2</b>	<b>2</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>125</b>	<b>11</b>	<b>288</b>	<b>429</b>	<b>535</b>	<b>337</b>	<b>56</b>	<b>51</b>				<b>4</b>	<b>139</b>	<b>314</b>	<b>294</b>	<b>234</b>	<b>122</b>	<b>142</b>	<b>3820</b>	

Número de espécimens obtidos nas capturas diurnas da estação BRR

203.

	1963			1964												1965												1966			T.
	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	
Número de horas .....	20	25	20	25	20	20	20	25	20	20	20	20	15	25	15	20	20	15	20	20	20	10	25	20	20	20	15	20	20	25	600
<u>Anopheles cruzii</u>	20	52	236	469	585	1065	290	233	132	18	200	372	131	92	127	766	711	136	423	75	63	38	128	73	75	161	203	722	1367	312	9275
<u>Anopheles lutzii</u>	1								1			1			3		1	1	1			1									10
<u>Aedes leucocelaenus</u>		1		2	5			1	4						1	4	10	12	3	5	1					17	6	10	9	5	96
<u>Aedes scapularis</u>					16			1	1							5															23
<u>Aedes serratus</u>					25		1				1				3	30	26	12	16						1	37	20	37	75	68	352
<u>Aedes taeniorhynchus</u>		1						1																							2
<u>Aedes terreus</u>					8			1									2														11
<u>Culex (Culex) sp.</u>																1															1
<u>Psorophora discrucians</u>																	7													1	8
<u>Psorophora ferox</u>					8	5										2	22	32	5	2	1				1	21	2	77	24	35	237
<u>Limatus flavisetosus</u>		3	1	19	12	7		3							1	1	1		2	1	1	2				2		3	1	60	
<u>Phoniomyia davisii</u>	8	15	89	47	149	112	25																								445
<u>Phoniomyia longirostris</u>	52	117	557	420	655	966	557	245	124	6	158	429	78	144	206	1060	570			1	1					10				6356	
<u>Phoniomyia palmata</u>	10	33	205	248	270	361	121	54				141		18	31	11	88	3								2				1596	
<u>Phoniomyia pilicauda</u>		16	502	459	704	957	503	165	42	34	99	34	30	268	167	781	1678	432	468	195	168	24	296	206	50	319	331	921	1043	838	11730
<u>Sabethes albiprivus</u>	22	16	29	28	39	27	24	13	2	2	1	13	5	5	6	7	7	1	1				1	1					2	253	
<u>Sabethes intermedius</u>																3	41	15	13	10	5	1	3	17	3	11	18	28	30	20	218
<u>Sabethes quasicyaneus</u>					7							2			1												2				12
<u>Sabethes tarsopus</u>															1												1				2
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	12	72	38	26	165	233	81	40	31	9	42	25	14	12	91	16	34	11						1						953	
<u>Trichoprosopon digitatum</u>																							1								1
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	28	65	151	79	408	609	256	89	86	18	133	80	89	10	32		10		9	1					2	1				2156	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																			6	6		8	6	9	13	12	47	6	2	5	120
<u>Trichoprosopon reversum</u>	3	31	81	32	347	474	180	63	53	11	94	116	130	61	67	86	268	104	138	124	39	33	210	100	44	165	78	165	158	176	3631
<u>Trichoprosopon theobaldi</u>							3																								3
<u>Wyeomyia aporonoma</u>	5	30		33	150	145	32	22						4			7	1										1		430	
<u>Wyeomyia confusa</u>	44	63	170	99	352	130	75	41	28	1	16	10	8	26	16	62	225	52	100	83	43	9	51	30	12	147	147	143	137	195	2515
<u>Wyeomyia leucostigma</u>																												4	2		6
<u>Wyeomyia oblita</u>	9	12		55	172	58		6	6	2	1	3			7		1					1	4							337	
<u>Wyeomyia rooti</u>	5																														5
<u>Wyeomyia sabethea</u>	1																														1
T O T A L	220	527	2059	2023	4070	5152	2145	978	510	101	745	1226	485	644	768	2857	3719	776	1185	498	320	115	697	441	199	907	856	2109	2853	1660	30830

Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas da estação BRR

	1963			1964										1965										1966			T.				
	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.		Dz.	Jn.	Fv.	Mço
Número de horas .....	8	8	10	8	8	8	8	8	8	10	8	10	8	6	6	4	8	6	10	8	8	4	6	8	10	6	8	4	8	8	220
<u>Anopheles cruzii</u>	780	917	1217	1088	950	331	613	282	172	525	693	320	540	423	340	633	390	294	60	344	194	344	505	401	208	391	232	389	324	13900	
<u>Anopheles lutzii</u>			2					1			4		1	3	2	1														14	
<u>Chagasia fajardoi</u>							1																							1	
<u>Aedes leucocelæus</u>	0			2							1			2	4		4		5				3	1		6	3	5	1	37	
<u>Aedes scapularis</u>			3	14	11						1				4															33	
<u>Aedes serratus</u>	3	3	6	27		1		1	7			1		6	10	21	13	14		5	1		3	14	15	6	42	63	182	444	
<u>Aedes terreus</u>							2	1				1																		4	
<u>Mansonia albifera</u>																														1	
<u>Orthopodomyia albicosta</u>											1																			1	
<u>Psorophora discrucians</u>																											18	10		28	
<u>Psorophora ferox</u>				4	2	1								5	8	2	1	4							2	12		123	19	20	203
<u>Limatus flavisetosus</u>								1											1	2	1			1			2	3		11	
<u>Phonimya davisi</u>			1	31	10																									42	
<u>Phonimya longirostris</u>			9	15	209	57	97	11	7	6	24	34	6		20	96	8		4											603	
<u>Phonimya palmata</u>			2	5	61	12	53					29			8		1													171	
<u>Phonimya pilicauda</u>			2	2	129	27	99		2	17	19	20	21	21		63	59	51	6	21			11	19	9	17	90	120	55	933	
<u>Sabethes albiprivus</u>	1			2	3	1					1			1																9	
<u>Sabethes intermedius</u>																2	2						1				3	4		1	13
<u>Sabethes quassicyanus</u>																				1										1	
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	3	4	9	65	40	12	1	6	13	17	54	1		8		11	12													256	
<u>Trichoprosopon compressum</u>																			1											1	
<u>Trichoprosopon digitatum</u>			1		1	1		4				1		1		1			4			1				1		1		17	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	9	12	22	134	76	52	24	15	30	46	185	17	2	3	8	2		2		2										641	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																		4		1			7	1	1	9	32	8	17	4	84
<u>Trichoprosopon reversum</u>	4	4	12	68	62	28	3	6	17	37	282	24	37	38	62	53	121	100	32	78	8	135	163	47	50	170	65	106	114	1926	
<u>Trichoprosopon theobaldi</u>	1											5		6																12	
<u>Wyeomyia aporronoma</u>			2	7	63	3	4				3	2			3															87	
<u>Wyeomyia confusa</u>			14	11	118	14	26	6	10	9	19	18		7	14	11	21	36	64	31	44		36	26	31	29	145	99	180	98	1117
<u>Wyeomyia leucostigma</u>																													10		10
<u>Wyeomyia oblita</u>			1	1	1		2		2		3		1											1						12	
T O T A L	801	975	1309	2017	1268	707	661	336	256	692	1328	392	614	560	541	817	634	545	132	505	203	535	722	506	340	864	706	848	798	20612	

Número de espécimens obtidos nas capturas diurnas das estações GT e CG

	GT															T.	CG															T.	
	1963			1964													1965												1966				
	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.		Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço		
Número de horas .....	25	15	25	20	20	25	15	20	10	25	25	15	15	10	15	280	15	20	15	20	20	25	15	15	20	20	20	15	20	20	25	285	
<u>Anopheles cruzii</u>	5	16	16	88	222	140	16	3		1	10	12	2	22	101	654	178	435	18	57	8	24	41	51	12	14	162	20	74	23	98	1215	
<u>Anopheles lutzii</u>																		1	1													2	
<u>Aedes leucocelaenus</u>																	5	1				4						1	2			13	
<u>Aedes scapularis</u>					2										22	24																	
<u>Aedes serratus</u>													12	97	109		211	260	104	131	14	1		1		6	108	72	77	57	84	1126	
<u>Aedes terreus</u>														1	1																		
<u>Culex (Culex) sp.</u>																	3															3	
<u>Psorophora albipes</u>														1	4	5																	
<u>Psorophora discruciata</u>																		50										31	48			129	
<u>Psorophora ferox</u>			3											9	265	277	178	295	20	10	1	1			10	30	23	86	32	59	745		
<u>Psorophora lanei</u>																		3														3	
<u>Limatus flavisetosus</u>					5	4		1								10									1		1	2				4	
<u>Phonimosia davisi</u>	1	20	19			25										65																	
<u>Phonimosia longirostris</u>	16	96	142	90	80	276	82	30	17	10	40	84		63	164	1190	50	2		4												56	
<u>Phonimosia palmata</u>	1	72	44	17	35	55								9	1	234		2														2	
<u>Phonimosia pilicauda</u>		33	113	92	113	197	29	5	14					7	50	69	722	331	457	264	172	109	137	68	163	37	24	104	127	135	99	412	2639
<u>Sabethes albiprivus</u>	4	1	13	10	2	9	4			2	1	3			7	56	3	7	3	4	2		2			2	1					24	
<u>Sabethes intermedius</u>																		9	2	2		1		1		2	3	19	11	16	12	78	
<u>Sabethes quasicyaneus</u>														1	1	2	1	4									3					8	
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>	21	32	10	10	36	44	16	11	2	10				4	10	73	279	23	55	6	1												85
<u>Trichoprosopon digitatum</u>														1		1												1				1	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	39	91	68	26	74	123	65	18	12	5	4	37	13	3	30	608	6			5		6										17	
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																				2	2	2	1	2			11	5	7	1	33		
<u>Trichoprosopon reversum</u>	37	19	36	14	63	92	37	17	14		4	40	17	7	82	479	94	146	62	41	29	19	26	62	8	7	1	23	16	6	37	577	
<u>Trichoprosopon theobaldi</u>	1	3	10		5	6										25																	
<u>Wyeomyia aporonoma</u>	2	8			2			1						1		14		1	2													3	
<u>Wyeomyia confusa</u>	1	18	5	7	5	19		1							2	13	71	23	48	53	61	29	22	12	6	5	10	14	17	12	9	30	351
<u>Wyeomyia leucostigma</u>																														1		1	
<u>Wyeomyia oblita</u>	1		1	1		4							1	1	11	20		1					1									2	
<u>Wyeomyia sabethea</u>	1															1																	
<b>T O T A L</b>	130	409	480	360	643	990	250	86	59	28	59	187	45	182	939	4847	1106	1777	535	490	194	213	154	287	62	74	424	317	450	250	784	7117	

Número de espécimens obtidos nas capturas noturnas das estações GT e CG

	GT														CG																	
	1963		1964												T.	1965												1966		T.		
	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.		Jn.	Fv.	Mço	Abr	Mio	Jnh	Jlh	Ag.	St.	Out	Nv.	Dz.	Jn.	Fv.		Mço	
Número de horas .....	4	4	8	4	4	4	4	4	6	4	6	8	6	6	72	6	8	8	8	8	8	6	2	8	10	6	8	8	8	8	110	
<u>Anopheles cruzii</u>	98	159	379	421	3		131			1	95	396	100	48	1831	177	265	5	35			25		28	5		2	22	5	68	637	
<u>Anopheles evansae</u>															2	2																
<u>Anopheles lutzii</u>															2	2																
<u>Aedes fluviatilis</u>								1							1																	
<u>Aedes leucocelaenus</u>								1							1	2												2			2	
<u>Aedes scapularis</u>					1	1							3		21	26																
<u>Aedes serratus</u>			1	1											24	86	112	71	310	36	66		2			25	26	15	10	147	150	858
<u>Culex (Culex) sp.</u>																	1														1	
<u>Maneonia albifera</u>																1	1			1											1	
<u>Psorophora albipes</u>																4	4															
<u>Psorophora discrucians</u>																												1			1	
<u>Psorophora ferox</u>																22	22	6	47		2		2		2	1	2	2	4	4	72	
<u>Phonimomyia longirostris</u>				7			1									8																
<u>Phonimomyia pilicauda</u>				6												7		1				8						17		26		
<u>Sabethes albiprivus</u>				5												6																
<u>Trichoprosopon cerqueirai</u>				3												3	1	2													3	
<u>Trichoprosopon digitatum</u>																		1													1	
<u>Trichoprosopon frontosum</u>	3	1		15												22																
<u>Trichoprosopon pallidiventer</u>																				2		1						10	4		17	
<u>Trichoprosopon reversum</u>				5			1									19	1	1		1		96		2					11	112		
<u>Wyeomyia confusa</u>																				1		1						5	1		8	
T O T A L	101	160	380	464	4		135			1	95	417	128	183	2068	257	628	41	107			3	132		30	32	27	19	34	172	257	1739

## GLOSSÁRIO DE SIGLAS E ABREVIações

ADC	- Ácido desoxicólico (DCA).
ANH	- Anhangá (vírus).
Bcêia	- Boracéia (vírus).
BRR	- Estação da Barragem do Rio do Campo.
BSS	- Bussuquara (vírus).
Buny	- Bunyamwera (grupo).
CG	- Estação de Casa Grande.
CLF	- Califórnia (vírus e grupo).
CR	- Caraparu (vírus).
DAE	- Departamento de Águas e Esgotos da Secretaria de Obras do Estado de São Paulo.
DAEE	- Departamento de Águas e Energia Elétrica da Secretaria de Obras do Estado de São Paulo.
DCS	- Desoxicolato de sódio (SDC).
DICT 50	- Dose infectante em cultura de tecido, 50% (TCID <sub>50</sub> ).
DL 50	- Dose letal para camundongos, 50% (LD 50).
DZ	- Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.
EBB	- Estação Biológica de Boracéia.
ECP	- Efeito citopatogênico (CPE).
EL	- Encefalite tipo leste (EE).
EO	- Encefalite tipo oeste (WE)
ESL	- Encefalite de São Luís (SLE).
EV	- Encefalite venezuelana (VE).
FA	- Febre amarela (YF).
FC	- Reação de fixação do complemento (CF).
GOA	- Guaroa (vírus).
GT	- Estação de Guaratuba.
IC	- Icoaraci (vírus).
i. c.	- Inoculação intracerebral.
IH	- Reação de inibição da hemaglutinação (HI).
ILH	- Ilhéus (vírus).
i. p.	- Inoculação intraperitoneal.
i. s.	- Inoculação subcutânea.
log.	- Diluição correspondente da base 10.
MC	- Mucambo (vírus).
MR	- Marituba (vírus).
MY	- Mayaro (vírus).
NT	- Reação de neutralização.
OR	- Oriboca (vírus).

Phlebt. - Phlebotomus (grupo).  
PP - Estação de Poço Preto.  
S<sub>1</sub> - Primeira Sangria (1964).  
S<sub>2</sub> - Segunda Sangria (1965).  
TCA - Tacaiuma (vírus).  
TMS - Tempo médio de sobrevivência (AST).  
TY - Tahyna (vírus).  
VC - Vale Cache (vírus).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARADO, C.A.; COLL, H.A.; UMANA, A.C.; HEREDIA, R.L., 1959 - Contribucion al conocimiento de la biologia de vectores selvaticos de fiebre amarilla en el noroeste argentino. In: Jornadas Entomologicas Argentinas, 1a., Buenos Aires, 1959. v.1, p.183-200.
- ANDERSON, C.R.; DOWNS, W.G.; WATTLEY, G.H.; AHIN, N.W.; REESE, A.A., 1957 - Mayaro virus: a new human disease agent. II. Isolation from blood of patients in Trinidad, B.W.I. Amer. J. trop. Med. Hyg., 6: 1012-6.
- \_\_\_\_\_ SPENCE, L.; DOWNS, W.G.; AITKEN, T.H.G., 1961. - Orou pouche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. Amer. J. trop. Med. Hyg., 10: 574-8.
- ARAGÃO, M.B., 1958 - Algumas medidas microclimáticas, em mata da região "Bromélia-Malária", em Santa Catarina, Brasil. I. Temperatura do ar, umidade relativa e evaporação. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 56: 415-51.
- \_\_\_\_\_ 1959. Ibid. II. Efeito do abrigo, temperaturas extremas, amplitude de térmica diária, temperatura do solo, radiação global, velocidade do vento e deficit de saturação. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 57: 45-72.
- \_\_\_\_\_ 1960. Ibid. III. Condições de umidade medidas com higrógrafos. Rev. bras. Malar., 12: 395-414.
- \_\_\_\_\_ 1961 - Sobre a vegetação de zonas úmidas do Brasil. Rev. bras. Biol., 21: 317-24.
- BANERJEE, K., 1965 - Comparative agglutinability of erythrocytes of different species of animals with arboviruses. Indian J. med. Res., 53: 199-203.
- BANG, F.B. & GEY, G.O., 1952 - Comparative susceptibility of cultured cell strains to the virus of eastern equine encephalomyelitis. Bull. Johns Hopk. Hosp., 91: 427-61.
- BATES, M., 1944 - Observations on the distribution of diurnal mosquitoes in a tropical forest. Ecology, 25: 159-70.
- BELL, J.F. & THOMAS, L.A., 1964 - A new virus "MML", enzootic in bats (Myotis lucifugus) of Montana. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 607-12.
- BERQUÓ, ELZA & MARQUES, R.M., 1963. - Análise de variância: curso 5.2. São Paulo, FHSF Departamento de Estatística Aplicada.
- BHATT, P.N. & WORK, T.H., 1957 - Tissue culture studies on arboviruses of the Japanese B-West Nile complex. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 96: 213-8.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1948 - Atlas pluviométrico do Brasil (1914 - 1938). Rio de Janeiro. (Sec. Hidrologia, Boletim 5).
- BRUNO-LOBO, M.; BRUNO-LOBO, G.; TRAVASSOS, J., 1961 - Estudos sobre os arbovírus. II. Presença de anticorpos para certos vírus dos grupos A e B em soros de pessoas residentes no Rio de Janeiro. An. Microbiol. (Rio de Janeiro), 9 (A): 155-81.

- BRUNO-LOBO, G.; BRUNO-LOBO, M.; TRAVASSOS, J.; PINHEIRO, F<sup>o</sup>, F.; PAZIN, I.P., 1961 - Estudos sôbre os arborvírus. III. Isola-  
mento de um vírus sorolôgicamente relacionado ao sub-grupo wes-  
tern-sindbis de um caso de encefalite equina ocorrido no Rio de Ja-  
neiro. An. Microbiol. (Rio de J.), 9 (A): 183-95.
- BUCKLEY, Sonja M., 1962 - Application of tissue culture methods to the  
study of the arthropod-borne group of animal virus (with special re-  
ference to the HeLa(Gey) strain of human malignant epithelial cells).  
In: Internationaler Kongress f. Entomologie, 9., Wien, 1960. |Wien|  
v. 2, p. 762-8.
- \_\_\_\_\_ 1964 - Applicability of the HeLa(Gey) strain of human malignant  
epithelial cells to the propagation of arboviruses. Proc. Soc. exp.  
Biol. (N.Y.), 116: 354-8.
- BUGHER, J.C., 1941 - The use of baby mice in yellow fever studies. Amer.  
J. trop. Med., 21: 299-307.
- \_\_\_\_\_ BOSCHELL-MANRIQUE, J.; ROCA-GARCIA, M.; OSORNO-  
MESA, E., 1944 - Epidemiology of jungle yellow fever in eastern  
Colombia. Amer. J. Hyg., 39: 16-51.
- CARNEIRO, V., 1937 - A encefalomielite infecciosa dos equídeos no Bra-  
sil. Arg. Inst. Biol. (S. Paulo), 8: 115-34.
- \_\_\_\_\_ 1946 - Novos focos de encefalomielite infecciosa do cavalo em  
São Paulo, identificados pelas provas de sôro-neutralização. Arg.  
Inst. Biol. (S. Paulo), 17: 183-98.
- CARVALHO, C.T. de, 1965 - Bionomia de pequenos mamíferos em Bora-  
céia. Rev. Biol. Trop., 13: 239-57.
- CASALS, J., 1957 - The arthropod-borne group of animal viruses. Trans.  
N. Y. Acad. Sci. (Ser. n. 2), 19: 219-35.
- \_\_\_\_\_ 1961 - Procedures for identification of arthropod-borne viru-  
ses. Bull. Wld. Hlth. Org., 24: 723-34.
- \_\_\_\_\_ 1964 - Antigenic variants of eastern equine encephalitis virus.  
J. exp. Med., 119: 547-65.
- \_\_\_\_\_ & WHITMAN, L., 1960 - A new antigenic group of arthropod -  
borne viruses. The Bunyamwera group. Amer. J. trop. Med. Hyg.,  
9: 73-7.
- CAUSEY, C.E., 1963 - The role of small mammals in the maintenance of  
arboviruses in the Brazilian Amazon forests. An. Microbiol. (Rio  
de J.), 11 (A): 119-21.
- \_\_\_\_\_ & CAUSEY, O.R., 1958 - Situação em relação às espécies co-  
nhecidas e ao esquema de Casals, dos arbovírus isolados em Be-  
lém, segundo os sintomas observados nos camundongos inoculados.  
Rev. Serv. Esp. Saúde Públ. (Rio de J.), 10: 78-80.
- CAUSEY, O.R., 1962 - The isolation of virus from natural and sentinel  
hosts in the Amazon valley. Rev. Serv. Esp. Saúde Públ. (Rio de J.)  
12: 25-31.

- CAUSEY, O.R., 1965a apud CASALS, J. & CLARKE, Delphine H. Arboviruses: group A. In: HORSFALL Jr., F.L. & TAMM, I. Viral and rickettsial infections of man. 4th ed. Philadelphia, Lippincott. p.583-605.
- \_\_\_\_\_ 1965b apud CASALS, J. & CLARKE, Delphine H. Arboviruses other than groups A and B. Ibid p.659-84.
- \_\_\_\_\_ CASALS, J.; SHOPE, R.E.; UDOMSAKDI, S., 1963 - Aura and Una, two new group A arthropod-borne viruses. Amer. J. trop. Med. Hyg., 12: 777-81.
- \_\_\_\_\_ CAUSEY, C.E.; MAROJA, O.; MACEDO, D.G., 1961 - The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto undescribed serological groups, in the Amazon region of Brazil. Amer. J. trop. Med. Hyg., 10: 227-49.
- \_\_\_\_\_ & MAROJA, O., 1957 - Mayaro virus: a new human disease agent. III. Investigation of an epidemic of acute febrile illness on the river Guamá in Pará, Brazil, and isolation of Mayaro virus as causative agent. Amer. J. trop. Med. Hyg., 6: 1017-23.
- \_\_\_\_\_ & SANTOS, G.V. dos, 1949 - Diurnal mosquitoes in an area of small residual forests in Brazil. Ann. ent. Soc. Amer., 42: 471-82.
- \_\_\_\_\_ & SHOPE, R., 1965 apud CASALS, J. & CLARKE, Delphine H. Arboviruses other than groups A and B. In: HORSFALL Jr., F.L. & TAMM, I. Viral and rickettsial infections of man. 4th ed. Philadelphia, Lippincott. p.659-84.
- \_\_\_\_\_ SHOPE, R.E.; RODRIGUES Filho, A., 1962 - Isolamento do vírus Guaroa do fígado por biopsia percutânea de um caso humano com paralisia. Rev. Serv. Esp. Saúde Públ. (Rio de J.), 12: 55-9.
- \_\_\_\_\_ & THEILER, M., 1958 - Virus antibody survey on sera of residents of the Amazon valley in Brazil. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7: 36-41.
- CHAMBERLAIN, R.C. & SIKES, R.K., 1954 - Effects of storage on eastern equine encephalitis virus. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 85: 667-70.
- CHEVALIER, A., 1949 - Observações sobre a flora e a vegetação do Brasil. Bol. Geog., 7 (78): 623-5.
- CLARKE, Delphine H., 1960 - Antigenic analysis of certain group B arthropod-borne viruses by antibody absorption. J. exp. Med., 111: 21-32.
- \_\_\_\_\_ 1963 - Antigenic variation and geographic distribution of arboviruses. An. Microbiol. (Rio de J.), 11 (A): 143-8.
- \_\_\_\_\_ 1964 - Further studies on antigenic relationships among the viruses of the group B tick-borne complex. Bull. Wld.Hlth.Org., 31: 45-56.
- \_\_\_\_\_ & CASALS, J., 1958 - Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7: 561-73.

- CORRÊA, R.R.; FORATTINI, O.P.; GUARITA, O.; RABELLO, E.X., 1961 - Observações sôbre a dispersão de anofelinos Kerteszia no Estado de São Paulo, Brasil. Arq.Hig. (S. Paulo), 26: 333-42.
- CRAIGHEAD, J.E.; SHELOKOV, A.; PERALTA, P.H., 1962 - The lizard: a possible host for eastern equine encephalitis in Panama. Amer. J. Hyg., 76: 82-7.
- CUNHA, R., 1951 - Viroses neurotropicais. In: Congresso Brasileiro de Veterinária. 5º, São Paulo, 1950. Anais... São Paulo, p.197-220.
- \_\_\_\_\_ RIBEIRO, L.; PASSOS, W., 1948 - Ocorrência de encefalomielite equina no município de Campos, com verificação de anticorpos neutralizantes para a amostra "Este" em sôro de equídeos. Bol.Soc.Brs. Med. Vet. (Rio de J.), 17: 21-35.
- DAVIS, D.E., 1945 - The home range of some brazilian mammals. J.Mammal 26: 119-32.
- DEANE, L.M.; DAMASCENO, R.G.; AROUCK, R., 1953 - Distribuição vertical de mosquitos em uma floresta dos arredores de Belém, Pará. Folia clin.biol. (S. Paulo), 20: 101-10.
- DICK, G.W.A. & TAYLOR, R.M., 1949 - Bovine plasma albumin in buffered saline solution as a diluent for viruses. J.Immunol., 62: 311-7.
- DOWNS, W.G., 1965 apud HAMMON, W.McD. Diseases transmitted by an arthropod vector viral infections. In: SÁRTWELL, P.É. ed. Maxcy-Rosenau preventive medicine and public health. 9th ed. New York, Appleton-Century-Crofts. p.290-311.
- \_\_\_\_\_ ANDERSON, C.R.; AITKEN, T.H.G.; DELPECHE, K.A., 1956 - Notes on the epidemiology of the Ilheus virus infection in Trinidad, B.W.I. Carib. med. J., 18: 74-9.
- \_\_\_\_\_ ANDERSON, C.R.; SPENCE, L.; AITKEN, T.H.G.; GREENHALL, A.H., 1963 Tacaribe virus a new agent isolated from Artibeus bats and mosquitoes in Trinidad, West Indies. Amer. J. trop. Med. Hyg., 12: 640-6.
- \_\_\_\_\_ ANDERSON, C.R.; THEILER, M.; 1956 - Neutralizing antibodies against certain viruses in the sera of residents of Trinidad, B.W.I. Amer. J. trop. Med. Hyg., 5: 626-41.
- \_\_\_\_\_ & PITTENDRIGH, C.S., 1946 - Bromeliad malaria in Trinidad, British West Indies. Amer. J. trop. Med., 26: 47-66.
- DULBECCO, R., 1952 - Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 38: 747-52.
- EKLUND, C.M., 1963 - Role of mammals in maintenance of arboviruses. An. Microbiol., (Rio de J.), 11(A): 99-105.
- ELISBERG, B.L., 1963 - Clinical patterns of human arbovirus infections. An. Microbiol., (Rio de J.), 11(A): 165-74.
- FAISSOL, S., 1959 - Divisão regional do Brasil. In: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas do Brasil. Rio de Janeiro. p.4-5.

- FORATTINI, O. P., 1961 - Some data on the domesticity of Aedes scapularis (Rondani) in São Paulo, Brazil. Mosquito News, 21: 295-6.
- \_\_\_\_\_ 1961/62 - Arboviroses. Arq. Fac. Hig. S. Paulo, 15/16: 109-99.
- \_\_\_\_\_ 1962 - Entomologia Médica. São Paulo, Fac. Hig. Saúde Públ. v.1.
- \_\_\_\_\_ 1965 - Entomologia Médica. São Paulo, Ed. USP. v.3.
- \_\_\_\_\_ CORRÊA, R. R.; RABELLO, E. X.; GUARITA, O., 1961 - Algumas observações sobre a densidade de anofelinos Kerteszia no Estado de São Paulo, Brasil. Arq. Hig. (S. Paulo), 26(89): 249-56.
- FROESCHLE, J. E. & REEVES, W. C., 1965 - Serologic epidemiology of western equine and St. Louis encephalitis virus infection in California. Amer. J. Epidemiol., 81: 44-51.
- FULTON, F. & DUMBELL, K. R., 1949 - The serological comparison of strains of influenza virus. J. gen. Microbiol., 3: 97-111.
- GALINDO, P.; TRAPIDO, H.; CARPENTER, S. J., 1950 - Observations on diurnal forest mosquitoes in relation to sylvan yellow fever in Panama. Amer. J. trop. Med., 30: 533-74.
- GARNHAM, P. C. C.; HARPER, J. O.; HIGHTON, R. B., 1946 - The mosquitoes of the Kaimosi forest, Kenya colony, with special reference to yellow fever. Bull. ent. Res., 36: 473-96.
- GEY, G. O.; COFFMAN, W. D.; KUBICEK, M. T., 1952 - Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. Cancer Res., 12: 264-5.
- GIBBS, Jr., C. J.; BRUCKNER, E. A.; SCHENKER, S., 1964 - A case of Apeu virus infection. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 108-13.
- GILMORE, R. M., 1943 - Mammalogy in an epidemiological study of jungle yellow fever in Brazil. J. Mammal., 24: 144-62.
- GÓES, P. de, 1961 - Estudos sobre os arborvírus. VII. Apreciação dos dados sobre a ocorrência de arborvírus na cidade do Rio de Janeiro (Estado da Guanabara). Perspectivas e novos planos de estudo. An. Microbiol. (Rio de J.), 9(A): 247-72.
- \_\_\_\_\_ 1964 - Arbovírus e arboviroses. Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia.
- \_\_\_\_\_ & BRUNO-LOBO, M., 1961 - Estudos sobre os arborvírus. I. Síntese do problema. Plano inicial de trabalho. An. Microbiol. (Rio de J.), 9(A): 11-153.
- GOLD, Ruth Z., 1960 - Inference about non-stationary Markov chain. Ann. Math. Statist., 31: 533-9.
- \_\_\_\_\_ 1962 - On comparing multinomial probabilities. Brooks Air Force Base, Texas, School of Aerospace Med., USAF Aerospace Medical Division. 13.p.
- GREENWAY, D. J.; RUGIERO, H. R.; PARODI, A. S.; FRIGERIO, M.; RIVERO, E.; BARRERA, J. de la; GARZON, F.; BOXACA, M.; METTLER, N.; GUERRERO, L. B. de; NOTA, N., 1959 - Epidemic hemorrhagic fever in Argentina. Pub. Hlth. Rep. (Wash.), 74: 1011-4.

- GROOT, H., 1964 - Estudios sobre virus transmitidos por artropodos en Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exact. Fis. Nat., 12: 197-217.
- \_\_\_\_\_ OYA, A.; BERNAL, C.; BARRETO-REYES, P., 1959 - Guaroa virus, a new agent isolated in Colombia, South America. Amer. J. trop. Med. Hyg., 8: 604-9.
- \_\_\_\_\_ MORALES, A.; VIDALES, H., 1961 - Virus isolations from forest mosquitoes in San Vicente de Chucuri, Colombia. Amer. J. trop. Hyg., 10: 397-402.
- \_\_\_\_\_ & RIBEIRO, R. B., 1962 - Neutralizing and haemagglutination-inhibiting antibodies to yellow fever 17 years after vaccination with 17D vaccine. Bull. Wld. Hlth. Org., 27: 699-707-
- HAAGEN, E. M. & THEILER, M., 1932 - Studies of yellow fever in tissue culture. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 29: 435-6.
- HAMMON, W. McD., 1965 - Diseases transmitted by an arthropod vector. Viral infections. In: SARTWELL, P. E. ed. Maxcy-Rosenau preventive medicine and public health. 9th ed. New York, Appleton-Century-Crofts. p. 290-309.
- \_\_\_\_\_ REEVES, W. C.; GRAY, M., 1943 - Mosquito vectors and inapparent animal reservoirs of St. Louis and western equine encephalitis viruses. Amer. J. publ. Hlth, 33: 201-7.
- \_\_\_\_\_ & WORK, T. H., 1964 - Arbovirus infection in man. In: LENNETTE, E. H. & SCHMIDT, N. J., ed. Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. 3rd ed. New York, Amer. Publ. Health Assoc. p. 268-311.
- HARDY, J. L.; SCHERER, W. F.; WARNER, D. W., 1964 - Arbovirus neutralizing substances in avian plasmas. II. Studies on their mechanism of release and specificity after collection of plasmas by shooting and cardiac puncture of birds. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 867-75.
- HAYES, R. O., 1961 - Studies on eastern encephalitis in Massachusetts during 1960. Proc. New Jers. Mosq. Exterm. Ass., 48: 59-61.
- \_\_\_\_\_ DANIELS, J. B.; MAXFIELD, H. K.; WHEELER, R. E., 1964 - Field and laboratory studies on eastern encephalitis in warm-and-cold-blooded vertebrates. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 595-606.
- HEISCH, R. B., 1956 - Zoonoses as a study in ecology with special reference to plague, relapsing fever and leishmaniasis. Brit. med. J., 2: 669-73.
- HENDERSON, J. R.; KARABATSOS, N.; BOURKE, A. T. C.; WALLIS, R. C.; TAYLOR, R. M., 1962 - A survey of arthropod-borne viruses in South-Central Florida. Amer. J. trop. Med. Hyg., 11: 800-10.
- HUANG, C. H., 1942 - Titration and neutralization of the western strain of equine encephalomyelitis virus in tissue culture. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 51: 396-8.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 1958- Enciclopédia dos municípios brasileiros. Rio de Janeiro. v. 10.

- JOHNSON, H.N., 1957 - The Rio Bravo virus: virus identified with group B arthropod-borne viruses by hemagglutination inhibition and complement fixation tests. In: Pacific Science Congress. 9th, 1957. Proceedings..... v.17, p.39.
- \_\_\_\_\_ 1960 - Ecologia de las enfermedades virales del hombre transmitidas por artropodos. Bol. Ofic. sanit. panamer., 48: 134-40.
- \_\_\_\_\_ 1963 - The ecological approach to the study of small mammals in relation to arboviruses. An. Microbiol. (Rio de J.), 11 (A):107-9.
- \_\_\_\_\_ 1965 - Diseases derived from wildlife. Calif. Hlth, 23: 35-9.
- JOHNSON, K.M.; WIEBENGA, N.H.; MACKENZIE, R.B.; KUNS, M.L.; TAURASO, N.M.; SHELOKOV, A.; WEBB, P.A.; JUSTINES, G.; BEYE, H.K., 1965 - Virus isolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 118: 113-8.
- \_\_\_\_\_ VOGEL, J.E.; PERALTA, P.H., 1966 - Clinical and serological response to laboratory-acquired human infection by Indiana type vesicular stomatitis virus (VSV). Amer. J. trop. Med. Hyg., 15: 244-6.
- KARSTAD, L., 1961 - Reptiles as possible reservoir host for eastern encephalitis virus. In: North America Wildlife Conference. 26th, 1961. p. 186-202.
- KISSLING, R.E., 1957 - Growth of several arthropod-borne viruses in tissue culture. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 96: 290-4.
- KOEPPEW, W., 1948 - Climatologia. México, D.F., Fondo Cultura Economica.
- LENNETTE, E.H.; OTA, M.I.; HO, H.; SCHMIDT, N.J.; 1961 - Comparative sensitivity of four host systems for the isolation on certain arthropod-borne viruses from mosquitoes. Amer. J. trop. Med. Hyg., 10: 897-904.
- LOPES, O. de S.; LACERDA, J.P.G.; FONSECA, I.E.M., CASTRO, D. P.; FORATTINI, O.P.; RABELLO, E.X., 1956. - Cotia virus: a new agent isolated from sentinel mice in São Paulo, Brazil. Amer. J. trop. Med. Hyg., 14: 156-7.
- \_\_\_\_\_ FORATTINI, O.P.; FONSECA, I.E.M.; LACERDA, J.P.G.; SACCHETTA, L.A.; RABELLO, E.X., 1966 - Virus Bertioga e Embu. (Dados inéditos).
- LOW, S.H., 1957 - Banding with mist nets. Bird Banding, 28: 115-28.
- MACKENZIE, R.B.; BEYE, H.K.; VALVERDE, C.L.; GARRON, H. Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia. I. A preliminary report of the epidemiologic and clinical findings in a new epidemic area in South America. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 620-25.
- METSELAA R. D.; VERLINDE, J.D.; VERSTEEG, J., 1964 - Paramaribo virus. Properties of a group A arbovirus isolated from human blood in Surinam. Arch. ges. Virusforsch., 14: 336-43.
- METTLER, Norma E.; PARODI, A.S.; CASALS, J., 1963 - Survey for antibodies against arthropod-borne viruses in man in Argentina. Amer. J. trop. Med. Hyg., 12: 653-6.

- MEYER, K.F., 1953 - Vectors and reservoirs of virus diseases. Amer. J. trop. Med. Hyg., 2: 757-70.
- MOOJEN, J., 1952 - Os roedores do Brasil. Rio de Janeiro, Inst. Nacional do Livro.
- MORAES, N.L. de A., 1961 - Ciclos epidemiológicos básicos das arborvírus. (Apresentado ao Simpósio Sobre Arbovírus, XV Assembléia Geral da Associação Médica Mundial, Rio de Janeiro.)
- MORALES, A. & VIDALES, H., 1962 - Distribucion de mosquitos selváticos en San Vicente de Chucuri, Colombia. Lozania (Acta Zool. colomb.), n.13.
- MUCHA-MACIAS, J. de & SÁNCHEZ-SPÍNDOLA, J., 1965 - Two human cases of laboratory infection with Mucambo virus. Amer. J. trop. Med. Hyg., 14: 475-8.
- NILSSON, M.R. & SUGAY, W., 1962 - Ocorrência da encefalomielite equina em Itaporanga, Estado de São Paulo. I. Isolamento e identificação do vírus. Arq. Inst. Biol., 29: 63-8.
- NOVAES, H. de, 1927 - Relatório da Comissão de Obras Novas de Abastecimento de Água da Capital. São Paulo, Secretaria da Agricultura.
- OFICINA SANITARIA PANAMERICANA (OSP), 1954 - Informe anual del director, 1953. Washington, D.C. p.44-5.
- \_\_\_\_\_ 1966 - Informe Epidemiologico Semanal, 38 (10, 11, 13, 16, 17, 21, 24)
- ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS), 1959 - Informe anual del director, 1958. Washington, D.C. p.34-5. (Doc. oficiales, 30).
- \_\_\_\_\_ 1965 - Informe anual del director, 1964. Washington, D.C. p. 6-7. (Doc. oficiales, 63).
- PAVLOVSKII, E.N., 1956 - The actual state of the doctrine of natural nidity of diseases of man. Rev. appl. Ent. B, 44: 145-6.
- PAVLOVSKY, Y.N., |1960| - The current status of the theory of natural focality of human diseases. In: ———. Human diseases with natural foci. Moscow, Foreign Languages Publ. House. p. 9-56.
- PAVLOVSKY, E., |1965| - Natural nidity of transmissible diseases in relation to landscape epidemiology of zoonoses. Moscow, Peace Publisher.
- PERALTA, P.H.; SHELOKOV, A.; BRODY, J.A., 1965 - Chagre virus: a new human isolate from Panama. Amer. J. trop. Med. Hyg., 14: 146-51.
- PEREIRA, O.A.; MOREIRA, L.P.; ROJAS, E., 1962 - Encefalomielite equina em Conchas, Estado de São Paulo. Incidência de anticorpos inibidores da hemaglutinação no homem e em equídeos. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 4: 149-51.
- \_\_\_\_\_ NILSSON, M.R.; SUGAY, W.; TRAPP, E.E., 1964 - Ocorrência de encefalomielite equina em Itaporanga, Estado de São Paulo (Brasil). II. Estudos sorológicos. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 6: 1-4.

- PESSOA, S.B., 1956 - Febre amarela. An. paul. Med. Cir. 71: 411-7.  
 \_\_\_\_\_ 1963 - Endemias parasitárias da zona rural brasileira. São Paulo, Fundo Ed. Prociencx.
- PINHEIRO, F.; PINHEIRO, M.; BENSABATH, G.; CAUSEY, O.R.; SHOPE, R., 1962 - Epidemia de virus Oropouche em Belém (Nota prévia). Rev. Serv. Esp. Saúde Públ. (Rio de J.), 12: 15-23.
- PORTERFIELD, J.S., 1957 - Use of goose cells in haemagglutination tests with arthropod-borne viruses. Nature, 180: 1201-2.  
 \_\_\_\_\_ WILLIAMS, M.C.; WOODALL, J.P., 1960 - A plaque technique for the primary isolation of arthropod-borne viruses. Nature, 188: 252-3.
- RACHOU, R.G., 1946 - Da domesticidade dos anofelinos do subgênero Kerteszia no litoral do Estado de Santa Catarina. Folha méd., 27: 1-8.  
 \_\_\_\_\_ 1958 - Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vectoras da malária. Rev. bras. Malar., 10: 145-81.
- REED, L.J. & MUENCH, H., 1938 - A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Amer. J. Hyg., 27: 493-7.
- REEVES, W.C., 1963 - General ecology of arboviruses. An. Microbiol. (Rio de J.), 11(A): 37-44.
- ROCA-GARCIA, M., 1944 - The isolation of three neurotropic viruses from forest mosquitoes in eastern Colombia. J. infect. Dis., 75: 160-9.
- RODANICHE, Enid de; ANDRADE, A.P. de; GALINDO, P., 1964 - Isolation of two antigenically distinct arthropod-borne viruses of group C in Panama. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 839-43.
- SAAD, E.A.; LINS, C.; PAOLA, D.de; DIAS, L.B.; SILVA, J.R., 1961 - Estudos sobre os arborvirus. VI. Estudo clínico e laboratorial de um caso de infecção humana pelo vírus WEE. An. Microbiol. (Rio de J.), 9 (A): 229-45.
- SABATTINI, M.S.; SHOPE, R.E.; VANELLA, J.M., 1965 - Serological survey for arboviruses in Córdoba Province, Argentina. Amer. J. Med. Hyg., 14: 1073-8.
- SANMARTIN, C. & DUEÑAS, A., 1959 - Hemagglutination-inhibition and neutralization tests for the venezuelan equine encephalomyelitis virus. Amer. J. trop. Med. Hyg., 8: 346-8.  
 \_\_\_\_\_ & ARBELAEZ, N., 1965 - Inmunidad al virus de la encefalitis venezolana en la población de la Guajira, Colombia, en Abril de 1963. Bol. Ofic. sanit. panamer., 59: 516-25.
- SANTOS, J.A. dos; LESSA, J.; PASSOS, W., 1946 - Estudos sobre um foco de encefalo-mielite equina (virus Este) observado no Distrito Federal. In: Congresso Inter-Americano de Medicina. 1ª, Rio de Janeiro, 1946... Rio de Janeiro, Academia Nacional de Medicina. p.11-30)
- SANTOS, L.B., 1943 - Aspecto geral da vegetação do Brasil. Bol. Geog., 1 (5): 68-73.
- SARTORELLI, A.C.; FISCHER, D.S.; DOWNS, W.G., 1966 - Use of sarcoma 180/TG to prepare hyperimmune ascitic fluid in the mouse. J. Immunol., 96: 666-82.

- SCHAEFFER, M.; GAJDUSEK, D.C.; LEMA, A.B.; EICHENWALD, H., 1959 - Epidemic jungle fevers among Okinawan colonists in the bolivian rain forest. I. Epidemiology. Amer. J. trop. Med. Hyg., 8: 372-96.
- SCHERER, W.F., 1963 - The higher prevalence of arbovirus neutralizing substances in avian plasmas after collection of birds by shooting and cardiac puncture than after netting and jugular venipuncture. An. Microbiol. (Rio de J.), 11(A): 135-7.
- \_\_\_\_\_ & SYVERTON, J.T., 1954 - The viral range in vitro of a malignant human epithelial cell (strain HeLa Gey). II Studies with encephalitis viruses of the eastern, western, West Nile, St. Louis, and japanese B types. Amer. J. Path., 30: 1075-83.
- \_\_\_\_\_ HARDY, J.L.; GRESSER, I.; McCLURE, H.E., 1964 - Arbovirus neutralizing substances in avian plasmas. I. Their higher prevalences after collection of birds by shooting and cardiac puncture than after netting and jugular venipuncture. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 859-66.
- \_\_\_\_\_ DICKERMAN, R.W.; WONG CHIA, C.; VENTURA, A.; MOORHOUSE, A.; GEIGER, R.; DIAZ NAJERA, A., 1964 - Venezuelan equine encephalitis virus in Veracruz, Mexico, and the use of hamster as sentinels. Science, 145: 274-5.
- \_\_\_\_\_ & MIURA, T., 1965 - Polyvalent group B arbovirus antiserum produced in monkeys. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 118: 1167-72.
- SCHMIDT, J.R.; GAJDUSEK, D.C.; SCHAEFFER, M.; GORRIE, R.H., 1959 - Epidemic jungle fever among Okinawan colonists in the bolivian rain forest. II. Isolation and characterization of uruma virus, a newly recognized human pathogen. Amer. J. trop. Med. Hyg., 8: 479-87.
- SCHMIDT, N.J., 1964 - Tissue culture methods and procedures for diagnostic virology. In: LENNETTE, E.H. & SCHMIDT, N.J. ed. Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. 3rd ed. New York, Amer. Publ. Health Assoc. p.78-176.
- SEREBRENICK, S., 1942 - Aspectos geográficos do Brasil (O clima, a terra e o homem.) Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura.
- SETZER, J., 1946 - Contribuição para o estudo do clima do Estado de São Paulo. São Paulo, Escolas Profissionais Salesianas.
- \_\_\_\_\_ 1949 - Os solos do Estado de São Paulo. Rio de Janeiro, IBGE. (Bibliografias geográficas brasileiras - Série A, 6).
- SEVER, J.L., 1962 - Application of a microtechnique to viral serological investigations. J. Immunol., 88: 320-9.
- SHELOKOV, A., 1963 - Additional remarks on virus isolation procedures in laboratory diagnosis of arboviruses. An. Microbiol. (Rio de J.), 11(A): 181-2.
- SHOPE, R.E., 1962 - The serological identification of arthropod-borne viruses. Rev. Serv. Esp. Saúde Públ. (Rio de J.), 12: 33-8.
- \_\_\_\_\_ 1963 - The use of a micro hemagglutination-inhibition test to follow antibody response after arthropod-borne infection in a community of forest animals. An. Microbiol. (Rio de J.), 11(A): 167-71.

- SHOPE, R.E.; CAUSEY, C.E.; CAUSEY, O.R., 1961 - Itaquí virus, a new member of arthropod-borne group C. Amer. J. trop. Med. Hyg., 10: 264-5.
- \_\_\_\_\_ & CAUSEY, O.R., 1962 - Further studies on the serological relationships of group C arthropod borne viruses and the application of these relationships to rapid identification of types. Amer. J. trop. Med. Hyg., 11: 283-90.
- \_\_\_\_\_ CAUSEY, O.R.; ANDRADE, A.H.P. de; THEILER, M., 1964 - The venezuelan equine encephalomyelitis complex of group A - arthropod-borne viruses, including mucambo and pixuna from the Amazon Region of Brazil. Amer. J. trop. Med. Hyg., 13: 723-7.
- SMITHBURN, K.C.; HADDOW, A.J.; LUMSDEN, W.H.R., 1949 - An outbreak of sylvan yellow fever in Uganda with Aedes (Stegomyia) africanus Theobald as principal vector and insect host of the virus. Ann. trop. Med. Parasit., 43: 74-89.
- SOFTLY, A. & STANLEY, N.F., 1965 - The use of sentinel infant mice for virus isolation. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 43: 171-4.
- SOUTHAM, C.M. & MOORE, A.E., 1951 - West Nile, Ilheus and Bunyamwera virus infection in man. Amer. J. trop. Med., 31: 724-41.
- SPENCE, L.; ANDERSON, C.R.; DOWNS, W.G., 1962 - Isolation of Ilheus virus from human beings in Trinidad, West Indies. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 56: 504-9.
- \_\_\_\_\_ ANDERSON, C.R.; AITKEN, T.H.G.; DOWNS, W.G. 1964 - Trinití virus a new agent isolated from trinidadian mosquitoes. Amer. J. trop. Med. Hyg. 73: 114-7.
- \_\_\_\_\_ ANDERSON, C.R.; AITKEN, T.H.C.; DOWNS, W.G., 1966 - Nepuyo virus, a new group C agent isolated in Trinidad and Brazil. I. Isolation and properties of the trinidadian strain. Amer. J. trop. Med. Hyg., 15: 71-4.
- SRIHONGSE, S. & JOHNSON, C.M., 1965 - Wyeomyia subgroup of arbovirus: isolation from man. Science, 149: 863-4.
- STAMM, D.D., 1966 - Relationships of birds and arboviruses. The Auk, 83: 84-7.
- \_\_\_\_\_ & NEWMAN, R.J., 1963 - Evidence of southward transport of arboviruses from the U.S. by migratory birds. An. Microbiol. (Rio de J.), 11 (A): 123-33.
- \_\_\_\_\_ DAVIS, D.E.; ROBBINS, C.S., 1960 - A method of studying wild bird populations by mist netting and banding. Bird Banding, 31: 115-30.
- STOKER, M. & MACPHERSON, I., 1964 - Syrian hamster fibroblast cell line BHK 21 and its derivatives. Nature, 203: 1355-7.
- SUKHATME, P.V., 1954 - Sampling theory of surveys with applications. New Delhi, Indian Society Agricultural Statistics.
- SUNAGA, H.; TAYLOR, R.M.; HENDERSON, J.R., 1960 - Comparative sensitivity of viruses to treatment with diethyl ether and sodium deoxycholate. Amer. J. trop. Med. Hyg., 9: 419-24.

- THEILER, M., 1930 - Studies on the action of yellow fever virus in mice. Ann. trop. Med. Parasit., 24: 249-72.
- \_\_\_\_\_ 1957 - Action of sodium desoxycholate on arthropod-borne viruses. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 96: 380-2.
- \_\_\_\_\_ & CASALS, J., 1958 - The serological reactions in yellow fever. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7: 585-94.
- \_\_\_\_\_ & SMITH, H.H., 1937 - The effect of prolonged cultivation in vitro upon the pathogenicity of yellow fever virus. J. exp. Med. 65: 767-86.
- \_\_\_\_\_ CASALS, J. & MOUTOUSSES, C., 1960 - Etiology of the 1927-28 epidemic of dengue in Greece. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 103: 244-6.
- \_\_\_\_\_ & EKLUND, C.M., 1960 - Overwintering of western equine encephalomyelitis virus in experimentally infected garter snakes and transmission to mosquitoes. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 105: 52-5.
- THOMAS, L.A.; EKLUND, C.M.; RUSH, W.A., 1958 - Susceptibility of garter snakes (Thamnophis spp.) to western equine encephalomyelitis virus. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 99: 698-700.
- TIKASINGH, E.S., SPENCE, L.; DOWNS, W.G., 1966 - The use of adjuvant and sarcoma 180 cells in the production of mouse hyperimmune ascitic fluid to arboviruses. Amer. J. trop. Med. Hyg., 15: 219-26.
- TRAPIDO, H.; GALINDO, P.; CARPENTER, S.J., 1955 - A survey of forest mosquitoes in relation to sylvan yellow fever in Panama isthmian area. Amer. J. trop. Med. Hyg., 4, 525-42.
- \_\_\_\_\_ & GALINDO, P., 1957 - Mosquitoes associated with sylvan yellow fever near Almirante, Panama. Amer. J. trop. Med. Hyg., 6: 114-44.
- TRAPP, E.E.; ANDRADE, A.H.P. de; SHOPE, R.E., 1965 - Itaporanga, a newly recognized arbovirus from São Paulo State, Brazil. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 118: 421-2.
- TRAVASSOS, J.; BRUNO-LOBO, M.; BRUNO-LOBO, G.G., 1961 - Estudo sobre os arborvirus. V. Inquérito sorológico e avaliação da imunidade pós-vacinal em equinos no Rio de Janeiro. An. Microbiol. (Rio de J.), 9 (A): 213-28.
- TRAVASSOS FILHO, L. & CAMARGO, H.F. de A., 1958 - A estação biológica de Boracéia. Arq. Zool. Est. S. Paulo, 11: 1-21.
- VELOSO, H.P., 1958 - Considerações gerais sobre os biótopos e habitats dos anofelíneos do sub-gênero Kerteszia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 56: 163-79.
- \_\_\_\_\_ 1962 - Os grandes climaxes do Brasil. I. Considerações sobre os tipos vegetativos da região sul. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 60: 175-94.
- \_\_\_\_\_, MOURA, J.V. de; KLEIN, R.M., 1956 - Delimitação ecológica dos anofelíneos do sub-gênero Kerteszia na região costeira do sul do Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 54: 517-48.
- \_\_\_\_\_ FONTANA, Jr., P.; KLEIN, R.M.; SIQUEIRA-JACCOUD, R.J., de, 1956 - Os anofelinos do sub-gênero Kerteszia em relação à dis

- tribuição das bromeliáceas em comunidades florestais do município de Brusque, Estado de Santa Catarina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 54: 1-86.
- VIEIRA, C.O. da C., 1942 - Ensaio monográfico sôbre os quirópteros do Brasil. Arq. Zool. Est. S. Paulo, 3: 219-471.
- \_\_\_\_\_ 1949 - Morcegos úteis e nocivos. São Paulo, Secretaria da Agricultura. (Páginas agrícolas).
- \_\_\_\_\_ 1955 - Lista remissiva dos mamíferos do Brasil. Arq. Zool. Est. S. Paulo, 8: 341-474.
- WARMING, E., 1947 - Da vegetação na América tropical. Bol. Geog., 4: (46) 1308-16.
- WHITMAN, L., 1961 apud CASALS, J. - Procedures for identification of arthropod-borne viruses. Bull. Wld. Hlth. Org. 24: 723-34.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 1961. Study-Group on Arthropod-Borne Viruses. - Arthropod-borne viruses: report. Geneva. (Tech. Rep. Ser., 219).
- WORK, T.H., 1961 - The expanding role arthropod-borne viruses in tropical medicine. In: Conference of the Industrial Council for Tropical Health. 4th, Boston, 1960. Industry and tropical health: proceedings... Boston. p.225-240.
- \_\_\_\_\_ 1963 - Overt disease of arbovirus etiology in wild vertebrates. An. Microbiol. (Rio de J.), 11 (A): 241-55.
- WORTH, C.B., 1963 - Small mammals in relation to arthropod-borne virus cycles in Trinidad, West Indies. An. Microbiol. (Rio de J.) 11(A): 111-4.

## ERRATA

Pg.	onde se lê:	leia-se:
8, 1a. linha	cefaléa	cefaléia
9, Tabela 1.1, última coluna, 35a. linha	(Causey 1965)	(Causey 1965a)
37, (Fig. 2.27), antepe- núltima linha	que pode	que se pode
52, 2º parágrafo, 7a. linha	micra	milimicra
67, Tabela 3.1, 2a. linha, 1a. coluna	(indiana)	(Indiana)
181, 11a. linha, primeiro parágrafo	300 m	700 m