

OS MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) E A SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA EM PORTUGAL

Desafios para o Século XXI

A. Paulo GOUVEIA de ALMEIDA

RESUMO

Os mosquitos são insectos dípteros, responsáveis pela transmissão de vários agentes patogénicos à espécie humana, causadores de doenças de transmissão vectorial de que se destacam a malária, as filarioses linfáticas e outras, e várias arboviroses entre as quais a febre amarela e o dengue. Nesta revisão caracteriza-se sumariamente a família Culicidae ou mosquitos, a sua bioecologia, morfologia interna, fisiologia da digestão e maturação ovárica, bem como os principais métodos de captura e controlo. A epidemiologia das doenças transmitidas por mosquitos depende de grandezas tais como a Eficácia vectorial, a Competência vectora e a Capacidade vectorial, cujos conceitos se apresentam.

Em Portugal Continental foram até à data assinaladas 41 espécies de mosquitos. A malária foi endémica até 1959, foram registados surtos de febre-amarela no século XIX, e foram já registados casos humanos de dirofilariose e febre do vírus do Nilo Ocidental. Perante as alterações climáticas em curso e a ameaça de (re)-introdução de espécies exóticas de mosquitos não só poderão registar-se novos casos de algumas destas doenças, aumentando o seu risco, mas também poderá ocorrer a introdução de outras doenças de transmissão por mosquitos constituindo desafios para o Século XXI, implicando uma vigilância continuada numa perspectiva de Saúde Pública.

SUMMARY

MOSQUITOES (DIPTERA, CULICIDAE) AND THEIR MEDICAL IMPORTANCE FOR PORTUGAL

Challenges for the XXI Century

Mosquitoes are dipterous insects, responsible for the transmission of several pathogenic agents to humans, causing vector-borne diseases, such as malaria, lymphatic and other filariasis, and several arboviral diseases such as yellow fever and dengue. In this revision, Culicidae or mosquitoes are summarily characterized, as well as their bioecology, internal morphology, digestive and egg maturation physiology, and the main methods for their collection and control. The epidemiology of mosquito-borne diseases depends on parameters such as Vectorial efficiency, Vector competence and Vectorial capacity, the concepts of which are presented.

Forty one species of mosquitoes have been detected so far in mainland Portugal. Malaria was endemic till 1959, yellow fever outbreaks were registered in the XIX century, and human cases of dirofilariasis and West Nile fever have been detected. In face of the current climate changes in course and the threat of the (re)-introduction of exotic mosquito species, not only new cases of some of these diseases may occur, increasing their risk, but also other mosquito-borne diseases may be introduced constituting challenges for the XXI century, demanding a continued surveillance in a Public Health perspective.

A.P.G.A.: Unidade de Entomologia Médica. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Universidade Nova de Lisboa. Lisboa. Portugal

© 2011 CELOM

Se quisesse ver toda a Natureza reunida num único lugar, em todo o seu encanto, em toda a sua habilidade, e em toda a sua capacidade de provocar a morte, e em toda a sua sexualidade, onde encontraria um símbolo mais perfeito que no Mosquito?

- Havelock Ellis, 1920

INTRODUÇÃO

Grupo distribuído a todo o globo, excepto Antártida, desde 1250 m abaixo do nível do mar (em minas) até 5.500 m de altitude¹, os mosquitos são insectos cuja notoriedade se deve ao facto de serem vectores de importantes doenças à espécie humana, tal como a malária, várias arboviroses e filarioses linfáticas, responsáveis por elevadas cifras de morbilidade e mortalidade. Estima-se que em 2006 tenham ocorrido 247 milhões de casos de malária (189 - 327 milhões, percentis 5-95 %), com 881.000 mortes (610.000–1.212.000) dos quais 92% em crianças com menos de cinco anos de idade². Quanto ao dengue, o número de casos por ano estima-se em 50 milhões, com cerca de 19.000 mortes em 2002^{3,4}. Estimam-se em 200.000 por ano os casos de febre amarela, com 30.000 mortes, e em 50.000 por ano os casos de encefalite japonesa, com 14.000 mortes^{3,4}. Quanto à febre do Nilo Ocidental nos anos de 2006 e 2007 registaram-se 3.887-3.630 casos com cerca de 3% de mortalidade, apenas nos Estados Unidos da América⁵. Foram igualmente registados 1,25 milhões de casos de chikungunya em 2005-2007 em ilhas do Oceano Índico e na Índia⁴. Quanto às filarioses linfáticas estima-se que haja um total de 120 milhões de casos de doença⁴. Estas cifras e a sua importância em Saúde Pública são mais do que razão suficiente para o estudo dos mosquitos.

Caracterização dos Mosquitos (Diptera, Culicidae)

Os mosquitos pertencem ao Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Diptera, Subordem Nematocera, Família Culicidae Meigen, 1830¹.

Os mosquitos são dípteros nematóceros com 3-6 mm de comprimento em média, delgados, com patas longas e finas, corpo com escamas mais ou menos abundantes. A cabeça é pequena e esférica, com olhos reniformes e dicóticos, compostos por 350 a 500 omatídeos, e sem ocelos. Possuem um probóscis longo e flexível, adaptado, nas fêmeas, à perfuração dos tegumentos, e palpos constituídos por cinco segmentos, antenas com um flagelo longo, de 13 artículos, apresentando dimorfismo sexual, sendo plumosas, em regra, nos machos e pilosas nas fêmeas. O tórax apresenta três pares de patas, dois orifícios respiratórios ou espiráculos, um par de asas membranosas compridas e estreitas, com nervuras cobertas de escamas

e uma franja de escamas estreitas ao longo do bordo posterior, e um segundo par de asas modificadas, os halteres. O abdómen é longo e delgado, com oito segmentos visíveis e na sua extremidade encontram-se os orifícios genital e anal, rodeados de estruturas mais ou menos complexas as genitálias, sendo a masculina saliente e de importância para a sistemática.

A Família Culicidae subdivide-se nas subfamílias Toxorhynchitinae, de probóscis curvado para baixo e para trás, cujas fêmeas não se alimentam de sangue de vertebrados, e na Anophelinae e Culicinae, onde se encontram as espécies com importância médica, já que as fêmeas são hematófagas.

Os ovos são postos isoladamente e possuem flutuadores nos anofelíneos, e sem estas estruturas e postos isoladamente ou em grupo, nos culicíneos.

As larvas têm cabeça distinta do tórax, com sedas orais fortes e adaptadas à predação na subfamília Toxorhynchitinae, tórax globoso e abdómen mais estreito, com 8 segmentos, possuindo um sifão respiratório nas subfamílias Culicinae e Toxorhynchitinae, e sem esta estrutura nos anofelíneos.

As pupas, em forma de vírgula, têm um cefalotórax grande e abdómen longo e encurvado, terminando em paletas natatórias.

A Família Culicidae está dividida em géneros, que podem ser 37⁶⁻⁹ ou 95 após elevação de vários subgéneros a género¹⁰⁻¹³, ainda longe de consensual. O número de espécies de mosquitos reconhecidas actualmente varia entre 3.510¹⁴ e 3.700¹⁵. Alguns mosquitos constituem complexos de espécies, espécies gémeas, ou seja identidades isoladas reprodutivamente mas sem clara diferenciação morfológica. O primeiro destes complexos a ser descrito foi o *Anopheles maculipennis* no qual se encontram os *antigos* vectores de malária na Europa. Estes complexos de espécies foram progressivamente identificados por zymotaxonomia, eletroforese de enzimas¹⁶, citotaxonomia, identificação de cromossomas politénicos¹⁷ e métodos moleculares baseados em sondas de ácidos nucleicos¹⁸ ou na amplificação destes¹⁹.

Ciclo de Vida e Bioecologia dos Culicidae

Os mosquitos são insectos holometabólicos (*Endopterygota* ou *Holometabola*), com metamorfoses

completas, em que as formas imaturas, ovo, larva com quatro estádios larvares, e pupa, não se assemelham ao insecto adulto (Figura 1).

O ciclo de vida dos mosquitos passa-se em dois meios separados; os adultos vivem no meio aéreo, mas todas as formas imaturas evoluem em colecções de água. Consideramos assim, no seu ciclo de vida, uma fase aérea e uma fase aquática. A duração de cada uma das fases e estádios é variável, dependendo essencialmente das condições atmosféricas e do acesso ao alimento. A duração do ciclo de vida desde o ovo ao adulto pode variar entre 7 dias a 31°C, a 20 dias a 20°C. Cada espécie tem o seu intervalo óptimo de temperatura. Nos climas temperados o período larvar pode durar 4 semanas, passando algumas espécies o inverno na forma larvar, que pode assim durar vários meses. Há espécies que fazem diapausa no ovo, outras na larva, outras no adulto, não se conhecendo diapausa no estado pupal.

As larvas podem ser necrófagas ou predadoras, alimentar-se no fundo em detritos ou serem filtradoras de fitoplâncton ou zooplâncton, á superfície ou não. As pupas não se alimentam, no entanto são bastante activas

movendo-se em ziguezague ou cambalhota. A sua duração depende também da temperatura. O local escolhido pelas fêmeas para a oviposição e subsequente desenvolvimento larvar é o biótopo larvar ou criadouro de mosquitos.

Praticamente qualquer colecção de água permanente ou temporária, de várias dimensões, pode constituir um biótopo larvar. Assim, as colecções de água que servem de habitat às larvas dos mosquitos podem ser temporárias ou permanentes, naturais ou artificiais. Há uma grande diversidade de tipos de habitats utilizados pelas várias espécies, o que está relacionado com os factores envolvidos na selecção do local de oviposição, pela fêmea. Estes dizem respeito a características físicas como a exposição à luz solar, temperatura, agitação da água; características químicas como o teor de gases dissolvidos, oxigénio e dióxido de carbono, pH, salinidade, teor de matéria orgânica; características biológicas como microrganismos que servem de fonte alimentar, vegetação, mas também parasitas, predadores e outros. As fêmeas possuem quimiorreceptores tarsais que detectam e medem os níveis de salinidade e poluição das águas.

Os biótopos larvares podem encontrar-se em charcos

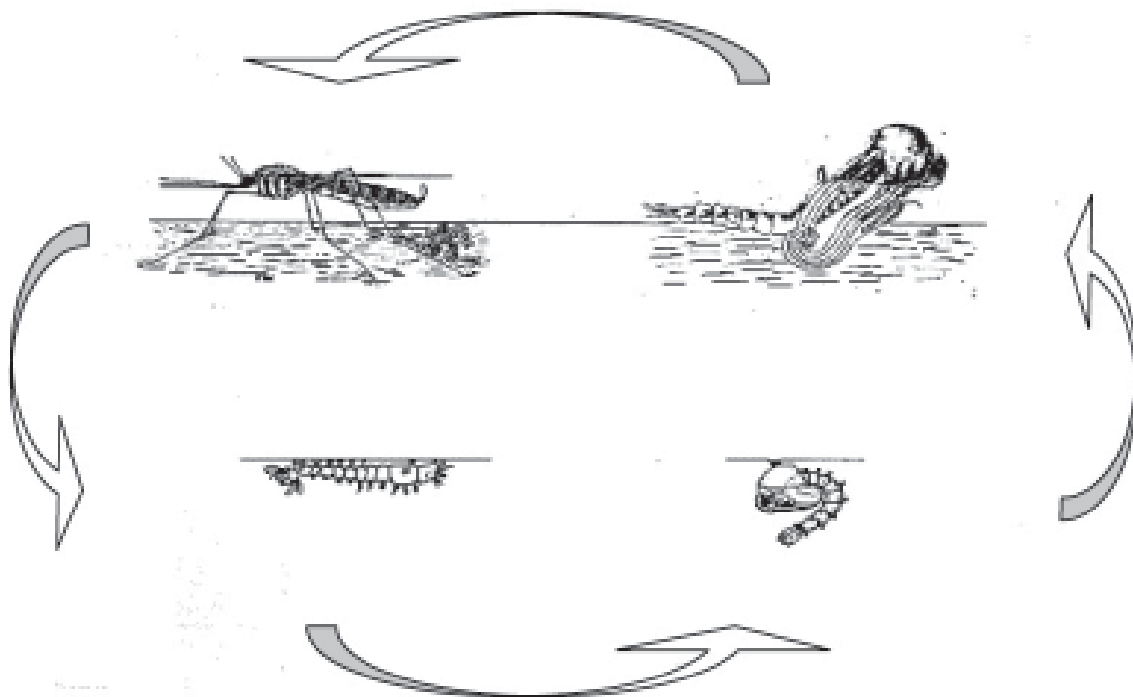


Fig. 1 - Ciclo de vida dos mosquitos. A fêmea põe os ovos sobre a água, estes transformam-se em larvas que depois passam a pupas donde eclodem os mosquitos adultos.

ou pântanos de água doce ou salobra (*Anopheles atroparvus*, *An. melas* e *An. merus*); algumas espécies mostram preferência por vegetação flutuante ou emergente (*An. nili*, *Mansonia* spp. e *Coquillettidia* spp.); outras preferem buracos de árvore com água das chuvas (*An. plumbeus*, *Aedes africanus*, *Ae. berlandi*); e outras seleccionam axilas de plantas bromeliáceas contendo água (*Ae. simpsoni*). Algumas espécies (*An. gambiae*) adaptam-se às condições existentes no seu habitat, e pronta e rapidamente desenvolvem-se em poças de água da chuva que se formam nas pegadas dos animais de grande porte. Grandes extensões de água a céu aberto, sem vegetação, raramente contêm larvas de mosquitos, embora possa haver criação em lagoas e braços de água relativamente parada, ao longo das margens de lagos, rios e ribeiros, com vegetação. Os recipientes artificiais, como bilhas, selhas, cisternas, poços, latões, e outros recipientes artificiais, por vezes de dimensão muito reduzida como jarras e garrafas, são habitualmente colonizados por várias espécies (*Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*) no interior ou na vizinhança das habitações humanas. Nesta categoria, encontram-se também os pneus, importante veículo de dispersão destas espécies a nível mundial. Outras, como *Culex quinquefasciatus* e *Cx. pipiens* tem a capacidade de se estabelecer em águas com relativa/elevada poluição orgânica, como excrementos, como latrinas, fossas sépticas ou estações de tratamento de águas residuais.

A longevidade do mosquito adulto depende das suas características intrínsecas, tal como o grande vigor de certas espécies, mas também de factores externos tais como a temperatura, humidade e presença de inimigos naturais ou predadores. Várias espécies hibernam com as baixas temperaturas, quer parcialmente, continuando a alimentar-se mas não fazendo posturas (dissociação gonotrófica) ou totalmente, cessando as refeições sanguíneas. Quando a temperatura média ultrapassa os 35°C, ou a humidade é menor que 50%, a longevidade é drasticamente reduzida, a não ser que encontrem condições mais favoráveis nos microclimas dos seus locais de repouso, podendo também entrar em estivação. A duração média duma fêmea em condições climáticas favoráveis é de quatro a cinco semanas e ocasionalmente vários meses, enquanto os machos vivem menos.

A cópula em muitas espécies é precedida pela formação de enxames, pelos machos, ao crepúsculo. É provável que as fêmeas na maioria das espécies recebam, de uma só cópula, espermatozoides suficientes para a fecundação de todas as suas oviposições. Em algumas espécies a cópula é seguida da introdução na câmara genital de um rolhão formado por secreção das glândulas acessórias do

macho.

Quanto à alimentação, enquanto o macho se alimenta exclusivamente de sucos vegetais e néctares, a fêmea alimenta-se preferencialmente de sangue de animais vertebrados. Podem ter preferência por animais, zoofilia, ou pelo homem, antropofilia, o que vai condicionar o seu papel como vectores. Por outro lado, a refeição sanguínea tanto pode ser feita fora, exofagia, ou dentro, endofagia, das habitações. Após a refeição sanguínea a fêmea passa por um período de inactividade relativa em que se dá a digestão e maturação dos ovos. Este repouso pode também ser fora ou dentro das habitações humanas, exofílicas ou endofílicas respectivamente, independentemente do local onde se deu a refeição sanguínea.

Morfologia Interna e Fisiologia da Digestão e da Maturação Ovária

Os órgãos do mosquito encontram-se na cavidade geral ou cavidade celómica, preenchida por um líquido denominado hemolinfa que circula através da acção de um coração com a forma de bomba tubular aberta.

A armadura bucal dos mosquitos ou probóscis, é do tipo perfurante e sugadora, constituída pelo labrum-epifaringe que é um tubo aberto de concavidade para baixo, à qual se justapõe, fechando-o e formando o canal alimentar, a hipofaringe em cujo interior corre o canal salivar. A este conjunto juntam-se um par de mandíbulas e um par de maxilas em forma de estilete, sendo por fim estas peças englobadas por um canal aberto de concavidade para cima: o labium ou bainha do probóscis, que termina distalmente por duas dilatações os labelos, e que no acto da picada, fica apoiado na pele do hospedeiro não penetrando a pele.

As glândulas salivares, situadas na parte antero-ventral do torax, são um par de glândulas trilobadas, cada lobo com a forma de dedo de luva formado por uma camada de células epiteliais e um canal interno. A saliva, bombeada durante a refeição sanguínea, contém vasodilatadores para melhor localização dos vasos sanguíneos e maior aporte de sangue²⁰, bem como anticoagulantes, antiagregantes plaquetários que impedem que este venha a coagular e obstruir o canal alimentar durante a refeição, e que condicionam um melhor desenvolvimento dos parasitas por eles transmitidos²¹. Neste momento conhecem-se mais de uma centena de proteínas da saliva de mosquitos e respectivos transcriptomas²².

O tubo digestivo é formado por três partes, o tubo digestivo anterior, o tubo digestivo médio e o tubo digestivo posterior (revisto por Clements²³). O intestino médio é a parte mais importante para a digestão da refeição

sanguínea e ao mesmo tempo para a transmissão de agentes patogénicos. É revestido por um epitélio cilíndrico simples com a membrana apical com microvilosidades, e a membrana baso-lateral diferenciada num conjunto de invaginações formando um extenso labirinto²⁴. Este epitélio é revestido por uma lâmina basal ou matriz extracelular, e por uma rede de fibras musculares longitudinais e transversais que suporta todo o intestino médio dando-lhe suporte quando se distende ao ingerir uma refeição sanguínea.

As fêmeas da maioria das espécies necessitam de pelo menos duas refeições sanguíneas para que a primeira postura ovos se desenvolva e ocorra a oviposição no quarto ou quinto dia de vida, dependendo da duração do ciclo gonotrófico que é o período que vai duma oviposição a outra (revisto por Clements²³). Nos ciclos subsequentes, produz-se habitualmente uma postura após cada refeição sanguínea. A temperaturas acima dos 23°C o ciclo gonotrófico completa-se em 48h, de modo que a oviposição e a procura de hospedeiro, fonte alimentar para a refeição sanguínea seguinte, se repete cada 2-3 dias. A fêmea adulta responde a vários estímulos na procura de alimento, reagindo à luz, humidade, odor e calor, mostrando uma capacidade discriminatória na procura de um hospedeiro conveniente.

A quantidade de sangue ingerida pela fêmea depende do seu tamanho e varia entre 2-10 µl, aproximando-se do seu peso. O sangue vai para o estômago provocando-lhe uma grande dilatação e constituindo uma sobrecarga, da qual se liberta através de dois mecanismos, a prediurese e a diurese. A prediurese consiste na excreção de gotículas de líquido enquanto ainda se está a alimentar²⁵, resultado da filtração do sangue pela armadura do piloro, enquanto a diurese consiste na excreção de líquido após ter terminado a refeição sanguínea e resulta da acção da bomba de sódio-potássio localizada no labirinto basal do epitélio que provoca uma corrente de líquido do lúmen do estômago para a cavidade celómica, sendo controlada por uma hormona diurética²⁶. O excesso de líquido neste espaço é excretado pelos tubos de Malpighi, o *rim* do mosquito.

A refeição vai ser depois digerida entre um a vários dias, dependendo da temperatura ambiente, e tendo como resultado final a maturação ovárica e a produção de ovos. Quando a temperatura ambiente desce abaixo de um certo limiar, as fêmeas de algumas espécies de mosquitos entram num processo de hibernação durante o qual desenvolvem o corpo adiposo e cessam a produção de ovos. Este processo, conhecido como dissociação gonotrófica, pode também ocorrer em zonas tropicais nos períodos de seca.

Após a ingestão de uma refeição sanguínea, forma-se

no estômago a matriz peritrófica (MP) que é uma camada acelular constituída por uma matriz de glicoproteínas, com estrutura laminar e que nos mosquitos resulta da secreção de grânulos pelas células epiteliais, formando-se ao redor da refeição sanguínea²⁷. Pensa-se que a MP tem como função proteger o epitélio intestinal contra os cristais de hematina, bactérias, e obstrução das microvilosidades, ou seja uma espécie de substituto do muco do intestino dos vertebrados, e também delimitar um espaço endo e ectoperitrófico que aumenta a eficiência dos enzimas digestivos.

A digestão da refeição sanguínea dá-se através da secreção das enzimas digestivas, tais como peptidases, lipases e glucosidades²⁸. Das peptidases destacam-se a tripsina, quimotripsina e a aminopeptidase, que sendo a composição da refeição sanguínea cerca de 90% de proteína, são as enzimas mais importantes para a digestão. A sua secreção aumenta após a ingestão, atingindo o seu pico cerca das 30h e decrescendo a níveis basais cerca das 45-60h. A α -glucosidade, responsável pela digestão dos açúcares, é secretada a níveis basais aumentando com a ingestão sanguínea. A sua função é principalmente a digestão dos néctares e sucos vegetais, embora participe na digestão dos resíduos glicídicos das glicoproteínas. Quanto às lipases, estas são principalmente esterases.

A maturação ovárica dá-se através da síntese de vitelogenina no corpo adiposo, sendo depois transferida através da hemolinfa para os óocitos e armazenada sob a forma de proteína vitelogénica²⁹. À medida que os ovos vão ficando maduros, e vão descendo o oviducto, são fecundados pelos espermatozóides da espermateca.

Os ovos são depositados na água ou perto dela, habitualmente de noite, isoladamente ou em grupo, consoante o género de mosquito, e o número por postura varia entre 100 e 200. Após a oviposição, os ovos requerem habitualmente um período de repouso de 2-3 dias antes de eclodirem, e nalgumas espécies podem durar semanas em lama húmida, ou até resistirem à dessecação durante meses, como é o caso do *Ae. aegypti*, eclodindo em poucos minutos quando em contacto com a água.

Métodos de Colheita

Os métodos de colheita ou captura de culicídeos dependem das formas que se pretendem colectar e dos objectivos a que se destinam³⁰.

A captura de imaturos faz-se prospectando colecções de água passíveis de serem biótopos larvares de mosquitos, utilizando caços metálicos em forma de concha com fundo plano e uma abertura rectangular de lado protegida por uma rede metálica fina que permite concentrar as formas imaturas e de superfície interna de cor clara (branca) para sua melhor

visualização. A colheita é feita sempre com o esforço mínimo de captura de cinco caços por biótopo, só se considerando este negativo se não se registar qualquer forma imatura, ovos, larvas ou pupas.

As prospecções são realizadas no maior número e variedade possível de colecções de água com características compatíveis com a potencial criação de mosquitos, de modo a maximizar as hipóteses de identificação de criadouros na região a prospectar. Para cada potencial biótopo são anotadas as características ecológicas (natureza e origem do suporte, exposição solar, vegetação, aspecto da água, presença de outros animais) e registados alguns parâmetros físico-químicas da água, como a temperatura, pH, potencial redox (mV), conductância específica (μS), total de sólidos dissolvidos (mg/l), salinidade (partes por mil 0/00) e oxigénio dissolvido (mg/l), com a ajuda de uma sonda.

As larvas do 3^o-4^o estádios capturadas são mantidas em etanol 80^o, glicerinado a 4%, até à sua identificação, e os ovos, larvas dos 1^o-2^o estádios, ou pupas, são mantidas na água do biótopo até evolução para estádio ou forma de melhor identificação.

Quanto aos métodos de captura de adultos, estes variam consoante os objectivos e espécies que se pretende capturar, tendo em conta a reacção a diferentes estímulos e locais de repouso das mesmas. Assim, podem ser utilizadas armadilhas luminosas CDC (*Centers for Disease Control*)³¹ com dióxido de carbono congelado como atractante adicional (CDC/CO₂)³², que ao sublimar mimetiza a respiração de vertebrados, capturando também as fêmeas que reagem a este estímulo na sua busca de hospedeiro para efectuar a refeição sanguínea. As armadilhas são colocadas na proximidade ou interior de instalações animais ou humanas, desde o pôr ao nascer do Sol. São também efectuadas capturas de mosquitos em repouso no interior de instalações animais e/ou humanas, com ou sem a presença destes, com aspirador manual mecânico. Menos frequentes, são ainda realizadas colheitas de mosquitos em repouso no exterior, nomeadamente sobre a vegetação, usando um aspirador mecânico de costas. Outro método utilizado na captura de adultos em actividade é a colheita sobre isco humano, quer no exterior ou no interior. Para além de possibilitar a captura de espécies antropofílicas, este tipo de colheitas, quando efectuadas por períodos de 24 horas, permite esclarecer o seu ciclo diário de actividade.

Consoante os objectivos das colheitas efectuadas, inventariação faunística e/ou avaliação das densidades das diferentes espécies, pesquisa de arbovírus, separação de indivíduos para formação de colónias ou realização de ensaios de sensibilidade a insecticidas, os exemplares capturados são mortos pelo frio *in loco* de modo a evitar

danificações que dificultem a sua posterior identificação e determinação do estado gonotrófico no momento da colheita, ou apenas refrigerados em caixas isotérmicas durante o transporte até ao laboratório.

Importância Médica dos Mosquitos

Como referido na introdução, os mosquitos são vectores de vários agentes de doenças humanas, algumas das quais com reservatórios animais e que constituem verdadeiras zoonoses. Os agentes transmitidos por mosquitos contam-se os protozoários, os plasmódios agentes da malária humana, os helmintas, as filárias, agentes das filaríoses linfáticas ou elefantíase, ou outras como a dirofilariose, e os arbovírus, agentes de várias arboviroses (Quadro 1).

A Epidemiologia das Doenças Transmitidas por Mosquitos

A epidemiologia das doenças transmitidas por mosquitos é estudada por várias grandezas entre as quais destacamos a Eficácia Vectorial, a Competência Vectorial e a Capacidade Vectorial.

A Eficácia Vectorial é a eficiência de um dado vector para transmitir um certo agente (parasita, bactéria ou vírus) numa determinada região. Será função das características do meio biótico (outros hospedeiros e/ou vectores eventualmente intervenientes, predadores, competidores, etc.) e abiótico (meiofísico, factores climáticos, edáficos e outros) em que o sistema biológico: artrópode vector-agente-hospedeiro vertebrado, se insere. E será da interacção entre factores exógenos e endógenos ao vector, que resultará a eficácia com que o agente é transmitido. Depende fundamentalmente duas grandezas: a competência vectorial (V) e a capacidade vectorial (C).

A Competência Vectorial é função da constituição genética do vector, sendo múltiplos os genes que regulam os mecanismos fisiológicos da respectiva refractoriedade ou susceptibilidade natural ao agente. Dentro da mesma espécie de vector há uma significativa variabilidade genética, podendo-se seleccionar estirpes homogéneas deste ponto de vista, a partir das populações naturais. A competência vectorial de uma população ou estirpe pode ser definida como a razão entre o número de fêmeas de mosquitos ensaiados num hospedeiro potencialmente infectante e o número desses indivíduos que de facto infectam hospedeiros susceptíveis, uma vez transcorrido o correspondente período de incubação extrínseca. A competência vectorial varia então entre zero e a unidade ($0 < V < 1$), conforme nenhum dos indivíduos ensaiados se infectar ou, infectando-se, nenhum deles for capaz de transmitir, no primeiro caso, ou todos transmitirem o

agente, no segundo caso. Em vária literatura médica é frequente ver a Competência Vectorial designada, erroneamente, como Capacidade Vectorial.

A Vectorial (C) foi primeiro estudada na epidemiologia da malária para tentar quantificar a sua transmissão pelos mosquitos vectores, e para melhor adaptar as medidas de controlo vectorial. Este conceito e a própria grandeza foram criadas por Garret-Jones³³, seguindo a linha da modelação matemática da malária de Macdonald³⁴, e poderá ser aplicada a outras doenças transmitidas por mosquitos. A capacidade vectorial de uma determinada espécie de anofelíneo para transmitir uma dada espécie de plasmódio ao Homem, é o número de novas inoculações de esporozoítos (potencialmente infectantes) que a população local de uma dada espécie de anofelíneo é capaz de produzir a partir de um dia de um único doente:

the Vectorial Capacity of the mosquito population is the number of new infections (potentially infective contacts) produced by the vector per case per day (per infectious person-day) (Garrett-Jones, 1964)

O valor da Capacidade Vectorial varia entre zero e cerca de duas centenas. Numa zona endémica, esta grandeza dá-nos o potencial de reprodução de novos casos, enquanto numa zona em que não exista doença mas exista

o vector, a capacidade vectorial é uma medida da receptividade desse local à (re)-introdução dessa doença. Por exemplo, em Macau dada a presença de um bom vector de dengue, o *Aedes albopictus*, foi estimada em 1998 a susceptibilidade do território à sua introdução, tendo-se obtido valores de C que variavam entre 144 e 482 consoante se tratasse da estação seca ou das chuvas, respectivamente³⁵, valores altos que o surto epidémico de dengue em 2001 veio a confirmar.

Métodos de Controlo

Os métodos de controlo vectorial podem ser dirigidos quer às formas imaturas ou adultas, designando-se por controlo larvar ou de adultos.

Por outro lado, podem ser de três tipos quanto á natureza do meio usado³⁶:

- os métodos de gestão ambiental;
- os métodos químicos;
- os métodos biológicos.

O controlo vectorial integrado engloba os três tipos de métodos com o objectivo da diminuição da densidade populacional de mosquitos de modo a que a sua actividade de incomodidade seja minimizada e a transmissão de doenças seja reduzida ou interrompida, com o mínimo de efeitos adversos para o ambiente³⁶.

Quadro 1 – Principais agentes de doenças humanas transmitidas por mosquitos (Diptera, *Culicidae*)

Doença/Agente	Principais vectores (*)
1. Malária/Paludismo <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>P. malariae</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. vivax</i>	<i>Anopheles</i> spp.
2. Filariose bancrofti <i>Wuchereria bancrofti</i>	<i>Anopheles</i> spp., <i>Culex</i> spp. e <i>Aedes</i> spp.
3. Filariose malayi <i>Brugia malayi</i>	<i>Aedes</i> spp., <i>Anopheles</i> spp. e <i>Mansonia</i> spp.
4. Filariose timori <i>Brgia timori</i>	<i>Anopheles</i> spp. e <i>Mansonia</i> spp
5. Dirofilariose <i>Dirofilaria immitis</i> , <i>D. repens</i>	<i>Anopheles</i> spp., <i>Culex</i> spp.
6. Arboviroses/Arbovírus	
6.1 Chikungunya	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes albopictus</i>
6.2 Encefalites equinas E. E. Este, E. E. Oeste, E. E. Venezuelana	* <i>Aedes</i> spp., * <i>Culex</i> spp., * <i>Culiseta</i> spp.
6.3 Onyong nyong	* <i>Anopheles</i> spp.
6.4 Dengue	<i>Aedes</i> spp, (<i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes albopictus</i>)
6.5 Encefalites do grupo B E. Japonesa, E. Vale Murray, E. S. Louis	* <i>Culex</i> spp.
6.6 Febre Amarela	* <i>Aedes aegypti</i> , <i>Ae. africanus</i> , <i>Ae. simpsoni</i> , * <i>Haemagogus</i> spp.
6.7 Wesselsbron	* <i>Aedes</i> spp.
6.8 Febre do Nilo Ocidental	* <i>Culex</i> spp.
6.9 Febre do Vale de Rift	* <i>Aedes</i> spp., * <i>Culex</i> spp.

Actualmente a Organização Mundial de Saúde tem promovido a Gestão Vectorial Integrada [*Integrated Vector Management (IVM)*] definida como o uso de diferentes métodos de controlo para prevenir ou reduzir o contacto vector-humano de uma forma custo-benefício e sustentada, principalmente em países em desenvolvimento³⁷.

O Larvar faz-se com recurso a métodos de Gestão Ambiental como a Engenharia sanitária, o saneamento básico, os aterros e drenagens de pântanos e a irrigação intermitente dos arrozais, e outras medidas de redução das fontes. Acrescenta-se-lhes a remoção de criadouros artificiais, principalmente peridomésticos e a protecção adequada dos reservatórios de água, o fornecimento de água canalizada, a eliminação apropriada de depósitos de sucata/lixo, em que abundam os recipientes que podem colectar água das chuvas, e pneus descartados, medidas da maior importância, necessitando de atenção por parte do sistema de saneamento³⁸. Os métodos químicos para controlo larvar incluem o Verde de Paris (acetoarsenito de cobre), óleos e insecticidas larvicidas, os inibidores do desenvolvimento (hormonas juvenis) e os inibidores da formação de quitina. O controlo larvar biológico consiste no uso de predadores (inimigos naturais, peixes larvívoros, larvas de *Toxorhynchites*) e agentes patogénicos e parasitas (vírus, bactérias, fungos, protozoários, nemátodos). Entre estes, os que mais sucesso tiveram foram as bactérias *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) e *B. sphaericus* (*Bs*), que ao esporular, produzem uma toxina cristalina que é letal para as larvas dos mosquitos quando ingerida. *Bti* e *Bs*, ou os seus esporos, consistem nos bioinsecticidas mais utilizados para controlo larvar de mosquitos³⁹.

O de Adultos é processado com medidas de gestão ambiental como as plantações de bloqueio/protecção, a zooprofilaxia, a protecção das habitações e a protecção individual, redução do contacto vector-humano por redes mosquiteiras³⁶. Como métodos químicos englobamos os insecticidas (quer para uso doméstico, pulverização residual de habitações, ou aplicação comunitária em situações de emergência como os aerossóis), os sinergistas e os repelentes (quer para uso individual quer para impregnação de redes mosquiteiras). Os aerossóis são muito usados para o controlo dos mosquitos. Existem vários tipos de aplicadores: os nebulizadores a quente ou a frio que formam uma nuvem visível de gotículas relativamente grandes, e que são operados em viaturas ou operadores³⁶. São eficazes sobretudo para espécies exofílicas e que são agentes de incomodidade embora a sua aplicação para vectores do dengue como o *Aedes aegypti* é praticamente nula³⁸. Os aerossóis de ULV (*ultra*

low volume) são aplicações de insecticida por máquinas que libertam gotículas muito pequenas que ficam em suspensão no ar durante mais tempo, podendo assim entrar em contacto com mais insectos em voo³⁶. São preferidos aos anteriores por maior facilidade de preparação, já que não é necessária maquinaria para diluição do insecticida, o aparelho de aerossol é mais simples e pequeno com menor carga de líquido necessário, o aerossol é quase invisível enquanto as nebulizações são opacas, a aplicação é mais rápida e os custos mais baixos³⁸. A sua aplicação tem sido usada nos últimos 25 anos para o controlo de *Ae. aegypti* tendo algumas das primeiras utilizações decorrido na Tailândia³⁸ e na epidemia de Febre Amarela em Luanda em 1971⁴⁰.

A manipulação genética, técnica dos machos esterilizados e engenharia genética de insectos transgénicos, podem ser consideradas como tipos especiais de controlo biológico dirigidos aos mosquitos adultos, necessitando ainda de resolução de várias dificuldades logísticas e científicas, antes de poderem ser considerados meios eficientes de controlo¹.

Fauna Culicideológica de Portugal Continental

O estudo dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de Portugal Continental foi iniciado em 1901 por Sarmiento & França^{41,42}, Figueiredo⁴³ e Jorge & Sarmiento⁴⁴ que assinalaram nove espécies. Contudo, foi apenas em 1931 que Braga⁴⁵ assinalou 21 espécies, acrescentando 13 taxa. A investigação sobre fauna culicideológica de Portugal foi continuada com os trabalhos de Landeiro e de Cambournac que acrescentaram três espécies⁴⁶⁻⁴⁸. Entre 1977 e 1988 foi levado a cabo um inventário de todo o território continental por Ribeiro et al numa série de 13 publicações, tendo acrescentado 16 taxa (revisto por Ribeiro et al⁴⁹). No Quadro 2 apresentamos as 41 espécies assinaladas em Portugal Continental, bem como os autores que as assinalaram no território pela primeira vez. Aqui, referimos os 10 anofelíneos e 30 culicíneos referidos por Ribeiro et al⁴⁹, com a excepção de *Anopheles* (*Anopheles*) *subalpinus* que entretanto caiu em sinonímia com *An. melanoon*, com a adição de *Aedes aegypti* que foi assinalado pela última vez no território continental em 1956⁵⁰, e de *Ae. coluzzi*, espécie gémea de *Ae. detritus*, cuja presença foi confirmada por Capela⁵¹.

As Doenças Transmitidas por Mosquitos em Portugal

Em Portugal continental, as doenças transmitidas por mosquitos, de que já houve registo, englobam a malária, a febre amarela, a febre do vírus do Nilo Ocidental e a dirofilariose.

A malária foi endémica até à sua erradicação em 1959⁵²,

registando-se seis zonas sazonáticas ou palúdicas, a bacia do Douro, do Mondego, alto e baixo Tejo, Sado e Guadiana⁵³. O vector era *An. atroparvus*, membro do complexo de espécies *Anopheles maculipennis*, que embora mais abundante nas zonas orizícolas⁵³, continua ainda com elevadas densidades por todo o país⁵⁴. A Organização Mundial de Saúde considerou a malária extinta em Portugal em 1973, depois de extensas campanhas de controlo⁵².

Surtos de Febre Amarela eram comuns em vários portos marítimos europeus e a última epidemia de que existe registo em Lisboa ocorreu em 1857, tendo-se registado 1800 casos com 1/3 de mortos⁵⁵. O vector seria muito provavelmente o *Aedes aegypti*, uma vez que só foi identificado como vector desta arbovirose em 1900 pela comissão científica do Exército dos EUA em Cuba, chefiada por Walter Reed, apesar de já ter sido apontado como vector pelo médico cubano Carlos Finlay em 1881⁵⁵. *Aedes aegypti* foi detectado em Portugal continental, e mesmo considerada abundante na área de Lisboa⁴⁴, onde foi assinalado pela última vez em 1956⁵⁰. Em prospeções posteriores, por todo o território continental, não voltou a ser encontrado até à data^{49,54}.

A circulação do Vírus do Nilo Ocidental foi detectada nas décadas de 60-70 do século XX por serologia quer em cavalos (29%) após um surto epizootico de encefalomielite na zona de Beja^{56,57}, quer em humanos (3%)⁵⁸. O vírus foi isolado em 1971 de mosquitos do complexo *An. maculipennis*⁵⁹, igualmente na zona de Beja, donde, dada a conhecida distribuição das espécies deste complexo no nosso país⁴⁹, seria certamente *An. atroparvus*. Foi também detectado num lote de fêmeas desta mesma espécie sem refeição sanguínea capturadas no estuário do Tejo em 1996⁶⁰.

Durante os anos de 2001-2003 foram capturados por todo o território continental cerca de 30 mil mosquitos de 15 das 41 espécies já assinaladas. Entre estas destacam-se *Anopheles atroparvus*, *Culex pipiens*, *Cx. theileri* e *Aedes caspius* como as mais abundantes, cerca de 92% do total das capturas, e mais amplamente distribuídas, na maioria dos 18 distritos⁵⁴. Estes mosquitos foram submetidos a rastreio para detecção de *Flavivirus*, e *Bunyavirus*, por reacção de polimerase em cadeia após transcrição reversa (RT-PCR), e por inoculação de culturas celulares, sem que se detectasse a presença daqueles vírus⁵⁴.

No entanto, no Verão de 2004, dois casos humanos de síndrome meníngeo por vírus do Nilo Ocidental foram putativamente infectados na zona da Ria Formosa⁶¹, ao que se seguiu o isolamento deste vírus em mosquitos *Culex pipiens* e *Cx. univittatus* capturados por nós na mesma zona, e com taxa mínima de infecção conjunta de

2,8/1000⁶². A sequenciação do genoma destes isolados virais a a sua comparação com o anterior isolado de 1971, revelou tratar-se de uma nova introdução⁶³, pertencendo a uma linhagem filogenética de vírus circulantes na bacia do Mediterrâneo desde o fim dos anos 90⁶⁴.

Quanto à Dirofilariose é uma parasitose que afecta sobretudo canídeos e felinos domésticos, sendo na Europa causada por *Dirofilaria immitis* e *D. repens*, em que os vermes adultos se alojam no coração direito e vasos pulmonares⁶⁵. Em Portugal continental foi registado um caso humano de dirofilariose ocular⁶⁶, tendo sido encontradas larvas de *Dirofilaria immitis* em *Culex theileri* na área da Comporta, Alcácer do Sal⁶⁷. Dada a prevalência desta parasitose em canídeos, particularmente no distrito de Setúbal⁶⁸, torna-se necessário um melhor conhecimento de quais os seus vectores e prevalência em humanos.

Desafios para o Século XXI

Os estudos sobre as alterações climáticas actualmente em curso prevêem para Portugal vários cenários com impacto potencial em saúde humana⁶⁹. A influência destas alterações poderá traduzir-se num aumento da densidade de mosquitos na Primavera e Outono, que se tornarão mais quentes, aumentando o período favorável para a sua reprodução e para o ciclo extrínseco de agentes patogénicos⁶⁹. Assim, estima-se que possam surgir condições favoráveis para o desenvolvimento de doenças transmitidas por mosquitos, tais como a febre do Nilo Ocidental e a malária, para além de outras transmitidas por outros vectores, podendo afectar a população portuguesa e com implicações para o turismo⁶⁹. É exemplo a incomodidade causada pelas picadas de mosquitos, que em determinadas zonas húmidas, como é o caso do estuário do Sado onde se chegam a registar 300 picadas por pessoa e por hora⁷⁰, com as consequentes reacções alérgicas que acarretam.

A reintrodução da malária era até há pouco tempo remota dada a baixa antropofilia de *An. atroparvus*⁷⁰ e o facto de este ser refractário a plasmódios de origem africana⁷¹. No entanto, as elevadas densidades em que continua a observar-se por todo o país⁵⁴, coincidindo com as anteriores zonas endémicas e o facto de se ter revelado susceptível, mesmo que em baixo grau, a *Plasmodium falciparum*⁷⁰, recomendam vigilância, pois apesar do risco continuar muito baixo, há outros vectores competentes no território, como *An. plumbeus*, responsável por casos autóctones na Alemanha⁷², verificam-se cerca de 50-100 casos de malária importada no nosso país, e assim, num evento de transmissão autóctone será possível estabelecer

Quadro 2 - Lista das espécies de mosquitos de Portugal Continental e autores que pela primeira vez os assinalaram.

Género	Subgénero	Espécie	Autor(es)	
<i>Anopheles</i>	<i>(Anopheles)</i>	<i>algeriensis</i> Theobald, 1903	Ramos <i>et al.</i> , 1982	
		<i>atroparvus</i> Van Thiel, 1927	Landeiro & Cambournac, 1933	
		<i>claviger</i> (Meigen, 1804)	Sarmiento & França, 1901	
		<i>maculipennis</i> Meigen, 1818	Sarmiento & França, 1902	
		<i>marteri</i> Senevet & Prunelle, 1927	Ribeiro <i>et al.</i> , 1985	
		<i>melanoon</i> Hackett, 1934	Ribeiro <i>et al.</i> , 1980	
		<i>petragnanii</i> Del Vecchio, 1939	Figueiredo, 1904	
		<i>plumbeus</i> Stephens, 1828	Braga, 1931	
		<i>cinereus hispaniola</i> (Theobald, 1903)	Ribeiro <i>et al.</i> , 1980	
		<i>Aedes</i>	<i>(Aedimorphus)</i>	<i>vexans</i> (Meigen, 1830)
<i>(Fredwardsius)</i>	<i>vittatus</i> (Bigot, 1861)		Ribeiro <i>et al.</i> , 1977-78	
<i>(Finlaya)</i>	<i>echinus</i> (Edwards, 1920)		Braga, 1931	
	<i>geniculatus</i> (Olivier, 1791)		Braga, 1931	
<i>(Ochlerotatus)</i>	<i>berlandi</i> Séguy, 1921		Cambournac, 1938	
	<i>caspicus</i> (Pallas, 1771)		Braga, 1931	
	<i>coluzzii</i> (Rioux <i>et al.</i> , 1998)		Capela, 1986	
	<i>detritus</i> (Haliday, 1833)		Braga, 1931	
	<i>mariae</i> (Sergent & Sergent, 1903)		Braga, 1931	
	<i>pulchritarsis</i> (Rondani, 1827)		Jorge & Sarmiento, 1906	
	<i>punctor</i> (Kirby, 1837)		Ribeiro <i>et al.</i> , 1983b	
	<i>rusticus</i> (Rossi, 1790)		Braga, 1931	
	<i>aegypti</i> (Linnaeus, 1762)			
<i>(Stegomyia)</i>	*Não detectado no território continental desde 1956.		Sarmiento & França, 1901	
<i>Culex</i>	<i>(Barraudius)</i>		<i>modestus</i> Ficalbi, 1890	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977-78
	<i>(Culex)</i>	<i>laticinctus</i> Edwards, 1913	Braga, 1931	
		<i>mimeticus</i> Noé, 1899	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977	
		<i>molestus</i> Forskal, 1775 (forma de <i>pipiens</i> ?)	Ribeiro <i>et al.</i> , 1983a	
		<i>pipiens</i> Linnaeus, 1758	Sarmiento & França, 1901	
		<i>theileri</i> Theobald, 1903	Braga, 1931	
		<i>torrentium</i> Martini, 1925	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977	
		<i>univittatus</i> Theobald, 1901	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977-78	
	<i>(Maillotia)</i>	<i>hortensis</i> Ficalbi, 1889	Braga, 1931	
		<i>impudicus</i> Ficalbi, 1890	Jorge & Sarmiento, 1906	
	<i>(Neoculex)</i>	<i>europaeus</i> Ramos <i>et al.</i> , 2003	Braga, 1931	
	<i>Culiseta</i>	<i>(Alloteobaldia)</i>	<i>longiareolata</i> (Macquart, 1838)	Sarmiento & França, 1901
		<i>(Culicella)</i>	<i>fumipennis</i> (Stephens, 1825)	Capela <i>et al.</i> , 1983
<i>litorea</i> (Shute, 1928)			Capela <i>et al.</i> , 1983	
<i>(Culiseta)</i>		<i>annulata</i> (Schrank, 1776)	Sarmiento & França, 1901	
		<i>subochrea</i> (Edwards, 1921)	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977	
<i>Coquillettidia</i>	<i>(Coquillettidia)</i>	<i>richiardii</i> (Ficalbi, 1899)	Braga, 1931	
<i>Orthopodomyia</i>		<i>pulchripalpis</i> (Rondani, 1872)	Cambournac, 1943	
<i>Uranotaenia</i>	<i>(Pseudoficalbia)</i>	<i>unguiculata</i> Edwards, 1913	Ribeiro <i>et al.</i> , 1977-78	

mecanismos de alerta rápidos.

Quanto ao risco de surtos de Febre do Nilo Ocidental é deveras maior, dado os episódios anteriores no passado recente⁶¹, a elevada densidade de vectores competentes⁵⁴, e a possível reintrodução de vírus por via das aves migratórias na sua rota entre África e Europa, bem como os cenários climáticos susceptíveis de favorecer a manutenção de mosquitos e vírus⁶⁹.

A introdução de espécies exóticas de mosquitos vectores é outro factor a acrescentar às actuais preocupações. É exemplo a introdução do *mosquito tigre* *Aedes albopictus* na Europa e nos Estados Unidos da América na década de noventa, vindo do Sudoeste Asiático através do comércio de pneus⁷³. Este mosquito, actualmente em 10 Estados Europeus, inclusive Espanha, continua a disseminar-se, podendo atingir Portugal, onde, de acordo com as previsões climáticas, terá grande sucesso de implantação^{74,75}. Em 2007 esta espécie foi responsável por um surto epidémico do vírus *Chikungunya* na Itália, até aí apenas conhecido de África e da Índia⁷⁶. É igualmente preocupante a recente introdução do mosquito *Aedes aegypti*, reconhecido vector da febre amarela e do dengue, na Ilha da Madeira estando o seu controlo a revelar-se deveras difícil e existindo a possibilidade de ser transportado para o território continental⁷⁷ onde não é detectado desde 1956. Saliente-se que no ano de 2009 *Ae. aegypti* foi o vector de uma epidemia de dengue na República de Cabo Verde, onde apesar deste mosquito ter sido de longa data assinalado, esta patologia não tinha ainda ocorrido, o que corrobora o quão frágil é o equilíbrio na situação das doenças de transmissão vectorial.

CONCLUSÕES

A importância dos mosquitos em Saúde Pública é por de mais justificada pelo elevado número de casos de malária, filarioses linfáticas e arboviroses que causam em todo o mundo. O seu papel como vectores destas doenças está intimamente relacionado com a necessidade de alimentação hematófaga que permite às fêmeas a maturação ovárica. As características bioecológicas, nomeadamente os hábitos e preferências alimentares, de repouso e de escolha de biótopos larvares, condicionam, entre outras, o seu papel como vectores. Para estimar este papel vários indicadores têm sido propostos, entre os quais se destaca a capacidade vectorial.

Em Portugal Continental foram já assinaladas 41 espécies de mosquitos, tendo já sido responsáveis pela transmissão de malária, febre-amarela, febre do Nilo

Ocidental e dirofilarioses.

Entre os impactos que as alterações climáticas em curso se estima venham a ter no nosso País, inclui-se um possível aumento das populações de mosquitos na Primavera e Outono. Acresce, por outro lado, a introdução de espécies exóticas que se tem vindo a operar nos últimos anos em áreas *próximas* do nosso território, e a que inevitavelmente estamos vulneráveis. A situação geográfica do País, na rota de migração de aves, com vários santuários destas, em proximidade com aglomerados urbanos, e que por sua vez constituem áreas de grande densidade de mosquitos, constitui outro factor de risco para a introdução de arboviroses transmitidas por estes vectores. Por fim, a mobilidade cada vez maior das populações humanas tem contribuído para a importação de casos de doenças transmitidas por mosquitos.

Tomados em conjunto, todos estes factores colocam o nosso País numa situação em que a vigilância sobre os mosquitos, quer populações locais, quer introdução de espécies exóticas, se torna mandatária em termos de Saúde Pública.

AGRADECIMENTOS

Aos meus Mestres no estudo dos mosquitos, Henrique Ribeiro e Helena Ramos, a quem fico grato para sempre.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

REFERÊNCIAS

1. SERVICE MW: Mosquitoes (Culicidae). In Lane, R.P. & Crosskey, R.W., Eds. *Medical Insects and Arachnids*, Chapman & Hall, London, UK 1993;120-240
2. World Health Organization: *World Malaria Report 2008*. WHO Geneva 2008;215 pp
3. World Health Organization: *World Health Report 2004*. WHO Geneva 2004;167 pp
4. World Health Organization: Fact Sheets WHO: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/>, [Acedido em 6 Outubro de 2008]
5. CDC: West Nile Virus <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/>
6. KNIGHT KL, STONE A: A Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae). The Thomas Say Foundation. Entomological Society of America, Maryland, USA 1977;611pp
7. KNIGHT KL: Supplement to "A catalog of the mosquitoes of

- the World". Entomological Society of America, Maryland, USA 1978;107 pp
8. WARD RA: Second supplement to "A catalog of the mosquitoes of the World" (Diptera, Culicidae). Mosquito Systematics 1984;16: 227-270
 9. WARD RA: Third supplement to "A catalog of the mosquitoes of the world" (Diptera, Culicidae). Mosquito Systematics 1992;24:177-230
 10. REINERT JF: New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. J Am Mosq Control Assoc 2000;16: 175-188
 11. REINERT JF, HARBACH RE, KITCHING IJ: Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae) based on morphological characters of all life stages. Zool J Linn Soc 2004;142:289-368
 12. REINERT JF, HARBACH RE, KITCHING IJ: Phylogeny and classification of *Finlaya* and allied taxa (Diptera: Culicidae: Aedini) based on morphological characters of all life stages. Zool J Linn Soc 2006;148:1-101
 13. HARBACH RE, HOWARD TM: Index of currently recognized mosquito species (Diptera: Culicidae). Eur Mosq Bull 2007;23:1-66
 14. HARBACH RE: Mosquito Taxonomic Inventory. <http://mosquito-taxonomic-inventory.info>, 2008 [Acedido em 14 de Novembro de 2008]
 15. WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit): Mosquito Catalogue. <http://www.mosquitocatalog.org> [Acedido em 6 de Outubro de 2008]
 16. BULLINI L, COLUZZI M: Electrophoretic studies on gene-enzyme systems in mosquitoes (Diptera, Culicidae). Parassitologia 1973;15:221-248
 17. FRIZZI G: Salivary gland chromosomes of *Anopheles*. Nature 1947;160:226-7
 18. GALE KR, CRAMPTON JM: DNA probes for species identification of mosquitoes in the *Anopheles gambiae* complex. Med Vet Entomol 1987;1:127-136
 19. PASKEWITZ SM, COLLINS FH: Use of the polymerase chain reaction to identify mosquito species of the *Anopheles gambiae* complex. Med Vet Entomol 1990;4:367-373
 20. RIBEIRO JM, ROSSIGNOL PA, SPIELMAN A: Role of mosquito saliva in blood vessel location. J Exp Biol 1984;108:1-7
 21. RIBEIRO JM: Vector saliva and its role in parasite transmission. Exp Parasitol 1989;69:104-6
 22. RIBEIRO JM, ARCÀ B, LOMBARDO F et al: An annotated catalogue of salivary gland transcripts in the adult female mosquito, *Aedes aegypti*. BMC Genomics 2007;8:6 <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/8/6> [Acedido em 6 de Outubro de 2008]
 23. CLEMENTS AN: The Biology of Mosquitoes. Development, nutrition and reproduction. Chapman & Hall, London, UK 1992;Vol.1:509
 24. HECKER H: Structure and function of midgut epithelial cells in Culicidae mosquitoes (Insecta, Diptera). Cell Tissue Res 1977;184:321-341
 25. BRIEGEL H, REZZONICO L: Concentration of host blood protein during feeding by anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 1985;22:612-8
 26. NIJHOUT HF, CARROW GM: Diuresis after a bloodmeal in female *Anopheles freeborni*. J Insect Physiol 1978;24: 293-8
 27. FREYVOGEL TA, STAUBLI W: The formation of the peritrophic membrane in Culicidae. Acta Trop 1965;22:118-147
 28. BILLINGSLEY PF, HECKER H: Blood digestion in the mosquito, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae): Activity and distribution of trypsin, aminopeptidase, and \pm glucosidase in the midgut. J Med Entomol 1991;28:865-871
 29. RAIKHEL AS: The biology of mosquito vitellogenesis. Mem Inst Oswaldo Cruz 1987;82(Suppl.III):93-101
 30. SERVICE MW: Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. Applied Science Publishers Ltd, London, 1976;583 pp.
 31. SUDIA WD, CHAMBERLAIN RW: Battery-operated light trap. An improved model. Mosquito News 1962;22:126-9
 32. NEWHOUSE VR, CHAMBERLAIN RW, JOHNSTON JF, SUDIA WD: Use of dry ice to increase mosquito catches of the CDC miniature light trap. Mosquito News 1966;26:30-5
 33. GARRETT-JONES C: Prognosis for interruption of Malaria transmission through assessment of the mosquito's Vectorial Capacity. Nature 1964;204:1173-5
 34. MACDONALD G: The epidemiology and Control of Malaria. Oxford University Press, London 1957;201pp
 35. ALMEIDA APG, BAPTISTA SS, SOUSA CA et al: Bioecology and vectorial capacity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in relation to dengue virus transmission. J Med Entomol 2005;42:419-428
 36. World Health Organization: Integrated vector control. Seventh report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. WHO Technical Report Series 1983;688:1-72
 37. World Health Organization: Global strategic framework for Integrated Vector Management. WHO/CDS/CPE/PVC/2004.10. WHO Geneva 2004;12pp
 38. REITER P, GUBLER DJ: Surveillance and control of urban dengue vectors. In Gubler DJ & Kuno G, eds. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. CAB International, Wallingford, UK 1997;425-462
 39. BECKER N, ZGOMBA M: Mosquito control in Europe. In Takken W & Knols BGJ eds. Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. Ecology and control of vector-borne diseases. Vol.1. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands 2007;369-388
 40. RIBEIRO H: The control of *Aedes aegypti* during the yellow fever epidemic in Luanda, Angola, in 1971. Bull WHO 1973;48:504-5
 41. SARMENTO MMM, FRANÇA C: Nota sobre alguns culicídeos portugueses. Revista Portuguesa de Medicina e Cirurgia Práticas 1901;XI: 38-43
 42. SARMENTO M, FRANÇA C: Sur quelques Culicides portugais. Compt. Rend. Hebd. Séance et Memoires de la Societé de Biologie 1902;54:152-3
 43. FIGUEIREDO AC: Da existência do *Anopheles bifurcatus* em Portugal. A Medicina Contemporânea, série II 1904;VII:184-225
 44. JORGE R, SARMENTO MMM: La malaria em Portugal. Annaes de Saude Publica do Reino 1906;III:1-23
 45. BRAGA JM: Culicídeos de Portugal. Instituto de Zoologia da Universidade do Porto. Porto, Portugal 1931;83pp
 46. LANDEIRO F, CAMBOURNAC F: O Sezonismo em Portugal. Missão Direcção Geral de Saúde – Rockefeller Foundation. Divisão de Publicações e Biblioteca, Agência Geral das Colónias, Ministério das Colónias, Lisboa 1933;142 pp.

47. CAMBOURNAC FJC: *Aedes (Ochlerotatus) longitubus*, a new species from Portugal (Diptera, Culicidae). The Proceedings of the Royal Entomological Society of London, Series B. Taxonomy 1938;7:74-86
48. CAMBOURNAC FJC: *Orthopodomyia pulchripalpis* Rondani (Diptera, Culicidae); sua ocorrência em Portugal. An Inst Hig Med Trop (Lisb) 1943;1:71-7
49. RIBEIRO H, RAMOS HC, PIRES CA, CAPELA RA: An annotated checklist of the mosquitoes of continental Portugal (Diptera Culicidae). Actas do III Congreso Ibérico de Entomologia 1988;233-253
50. COSTA L, QUEIROZ JS, RÊS JF: Notas sobre um trabalho de prospecção entomológica na cidade de Lisboa e arredores. Boletim dos Serviços de Saúde Pública 1956;vol III:7-40
51. CAPELA RA: Contribuição para o conhecimento da sistemática, fisiologia, ecologia e etologia de duas espécies halófilas de mosquitos (Diptera, Culicidae) de Portugal: *Aedes (Ochlerotatus) caspius* Pallas, (1771) e *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833). Tese de doutoramento, Lisboa 1986;252 pp
52. BRUCE-CHWATT LJ, ZULUETA J: Malaria eradication in Portugal. Trans R Soc Trop Med & Hyg 1977;71:232-240
53. CAMBOURNAC FJC: Sobre a epidemiologia do sezonismo em Portugal. Sociedade Industrial de Tipografia, Lda Lisboa 1942;235 pp
54. ALMEIDA APG, GALÃO RP, SOUSA CA et al: Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection. Trans R Soc Trop Med & Hyg 2008;102: 823-832
55. BRÈS PLJ: Un siècle de progrès dans la lutte contre la fièvre jaune. Bull World Health Organ 1987;65:149-160
56. FILIPE AR, PINTO MR: Survey for antibodies to arboviruses in serum of animals from southern Portugal. Am J Trop Med Hyg 1969;18: 423-6
57. FILIPE AR, SOBRAL M, CAMPANIÇO FC: Encefalomielite equina por arbovírus. A propósito de uma epizootia presuntiva causada pelo vírus West Nile. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 1973;68:90-101
58. FILIPE AR, ANDRADE HR: Arboviruses in the Iberian Peninsula. Acta Virol 1990;34: 582-591
59. FILIPE AR: Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. Acta Virol 1972;16:361-7
60. FERNANDES T, CLODE MHH, SIMÕES MJ, RIBEIRO H, ANSELMO ML: Isolation of virus West Nile from a pool of unfed *Anopheles atroparvus* females in the Tejo River estuary, Portugal. Acta Parasitológica Portuguesa 1998;5:7
61. CONNELL J, MCKEOWN P, GARVEY P et al: Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourists in the Algarve, Portugal. Euro Surveill 2004;8, 05/08/2004. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/040805.asp#1> [Acedido em 6 de Outubro de 2008]
62. ESTEVES A, ALMEIDA APG, GALÃO RP et al: West Nile Virus in Southern Portugal, 2004. Vector Borne Zoonotic Dis 2005;5:410-3
63. PARREIRA R, SEVERINO P, FREITAS F, PIEDADE J, ALMEIDA APG, ESTEVES A: Two distinct introductions of the West Nile virus in Portugal disclosed by phylogenetic analysis of genomic sequences. Vector Borne Zoonotic Dis 2007;7:344-352
64. ZELLER HG, SCHUFFENECKER I: West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004;23:147-156
65. BOREHAM PL, ATWELL RB: Dirofilariasis. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1988;249 pp
66. ROMBERT PC, NUNES J, AZEVEDO V, SINARI V: Um caso de dirofilariose ocular. 1ªs Jornadas de Doenças Infecciosas e de Medicina Tropical, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Lisboa, Portugal, 1992 Cartaz
67. RIBEIRO H, RAMOS HC, PIRES CA: Contribuição para o estudo das filariases animais em Portugal. Jornal da Sociedade de Ciências Médicas de Lisboa, 1983;147:143-6
68. GOMES JJC: Estudo epidemiológico da dirofilariose canina no Concelho de Setúbal. Sua importância como zoonose. Tese de Mestrado em Parasitologia Médica, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa 2002;95 pp
69. CALHEIROS JM, CASIMIRO E, ALMEIDA APG et al: 6 - Saúde Humana e Implicações para o Turismo. In Santos, F.D, & Miranda, P., eds. Alterações Climáticas em Portugal: Cenários, Impactos e Medidas de Adaptação. Projecto SIAM II. Gradiva, Lisboa 2006;233-270
70. SOUSA CA: Malaria vectorial capacity and competence of *Anopheles atroparvus* Van Thiel, 1927 (Diptera: Culicidae): Implications for the potential re-emergence of malaria in Portugal. Tese de doutoramento, Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Lisboa 2008;pp187
71. RIBEIRO H, BATISTA JL, RAMOS HC et al: An attempt to infect *Anopheles atroparvus* from Portugal with African *Plasmodium falciparum*. Rev Port Doenças Infecciosas 1989;12:81-2
72. KRUGER A, RECH A, SU XZ, TANNICH E: Two cases of autochthonous *Plasmodium falciparum* malaria in Germany with evidence for local transmission by indigenous *Anopheles plumbeus*. Trop Med Int Health 2001;6:983-5
73. MITCHELL CJ: Geographic spread of *Ae. albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the Medit. Basin. J Vector Ecol 1995;20:48-58
74. BENEDICT MQ, LEVINE RS, HAWLEY WA, LOUNIBOS LP: Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. Vector Borne Zoonotic Dis 2007;7:76-85
75. STRAETEMANS M, ALMEIDA AP, BELLINI et al: Vector-related risk mapping of the introduction and establishment of *Aedes albopictus* in Europe. Euro Surveill 2008;13: http://www.eurosurveillance.org/edition/v13n07/080214_4.asp [Acedido em 6 de Outubro de 2008]
76. ANGELINI P, MACINI P, FINARELLI AC et al: Chikungunya epidemic outbreak in Emilia-Romagna (Italy) during summer 2007. Parassitologia 2008;50: 97-8
77. ALMEIDA AP, GONÇALVES Y, NOVO MT, SOUSA CA, MELIM M, GRÁCIO A: Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. Euro Surveill 2007;12: E071115.6. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/071115.asp#6> [Acedido em 6 de Outubro de 2008]

