

Observações preliminares sobre a transmissão de oncocercose no rio Toototobi, Amazonas, Brasil

A. J. Shelley (*)
J. A. S. Nunes de Mello (**)
R. G. O. Rees (*)

Resumo

Em dezembro de 1975 os autores estudaram vários fatores que influenciam a transmissão de *Onchocerca volvulus* ao norte do Amazonas, no rio Toototobi. Observaram que a densidade de microfilárias de *O. volvulus* era maior no tronco do que nos membros de dois índios Yanomama examinados. Foram capturados três espécies antropófilas de Simuliidae, provisoriamente denominados *Simulium* sp. A, S.sp.B e S.sp.C. A primeira espécie foi coletada em grande número no começo da tarde, atacando o homem. O encontro de larvas salsichóides em espécimes naturalmente infetados e o sucesso da infecção experimental de espécimes selvagens com microfilárias de *O. volvulus* que desenvolveram até o final do estágio salsichóide, sugerem que o provável vetor de oncocercose nesta área é o *Simulium* sp. A.

INTRODUÇÃO

Bearsoti *et al.* (1967) foram os primeiros a assinalar a presença de oncocercose no Brasil. Mais tarde, Moraes & Dias (1972), Moraes *et al.* (1973), e Moraes & Chaves (1974a, b) demonstraram a existência desta doença, principalmente entre os índios Yanomama, no norte do Brasil. Rassi (1974) e Rassi *et al.* (1975) referem-se à observação de uma nova espécie vetora, *Simulium amazonicum*, naturalmente infetada por *O. volvulus* às margens do rio Toototobi, no Amazonas.

Em dezembro de 1975 os autores fizeram uma viagem de dez dias à missão Toototobi, realizando investigações preliminares sobre a distribuição de microfilárias de *O. volvulus* no corpo humano. Também foram feitas coletas de simulídeos antropófilos para estudar seus hábitos e testar seu desempenho como vetores em potencial de oncocercose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feita biópsia de pele dos ombros e nádegas de sete índios; o material foi tratado segundo a técnica de Duke (1962), e as lâminas coradas com hematoxilina de Mayer. Por falta de condições não foi possível proceder a pesagem dos fragmentos de pele. Dois destes índios, Roberto e Raimundo, ambos com cerca de 40 anos, foram selecionados para os experimentos de distribuição de microfilárias de *O. volvulus* na pele, por apresentarem na amostra as maiores densidades destas microfilárias. Estes índios não apresentaram microfilárias de *Mansonella* sp. nas biópsias de pele, nem em esfregaços de sangue periférico. Procedeu-se à avaliação da distribuição das microfilárias na pele dos voluntários pela retirada de fragmentos de tamanhos aproximadamente iguais do pescoço, parte superior e inferior das costas, nádegas, peito, abdome, antebraços, braços, coxas e pés de Raimundo. Também foi aplicada em ambos a técnica de Leon & Duke (1966), que utiliza a ingestão de microfilárias por simulídeos. As coletas de simulídeos foram realizadas na varanda de uma casa entre 16,00 e 18,00 horas, hora local, usando-se Roberto como isca durante dois dias consecutivos, e Raimundo um dia apenas. As fêmeas, quando repletas, eram coletadas em frascos e mortas com fumaça de tabaco. O estômago era dissecado e feito esfregaço do repasto sanguíneo que, após desemoglobinização, era corado com hematoxilina de Mayer. Procedia-se então a identificação e a contagem das microfilárias nas preparações.

Para tentar determinar a identidade do vetor de oncocercose no Toototobi foram coletadas fêmeas de simulídeos entre 16,00 e 18,00

(*) — Universidade de Brasília, DF.

(**) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

horas, usando-se Roberto e Raimundo como iscas durante quatro dias seguidos. As fêmeas repletas coletadas das diferentes partes do corpo da isca eram guardadas individualmente em tubos de vidro de 5 x 1 cm com fundo e boca cobertos respectivamente com discos de papel de filtro e gaze fina. Uma tira estreita de papel de filtro era colocada em posição vertical em cada tubo para servir de repouso aos simulídeos.

Todos os tubos foram guardados inicialmente em um dessecador no qual uma solução saturada de sulfato de amônio mantinha a umidade cerca de 80%. Entretanto a temperatura variou entre 20 e 32°C, causando condensação nos tubos e provocando uma alta taxa de mortalidade entre os insetos. Nos três dias subsequentes os tubos foram colocados em uma caixa de isopor contendo papel molhado, obtendo-se assim um ambiente com temperatura entre 19 e 20°C e umidade relativa maior que 85%. Um dia após o repasto infectante foram feitas tentativas para que os dípteros aceitassem novas refeições sanguíneas, apesar de ter sido colocado na boca de cada tubo um algodão embebido em solução açucarada a 10% ou papa de banana. De 12 em 12 horas examinava-se os tubos e todo inseto encontrado morto era conservado em álcool a 70%, os vivos eram transferidos para tubos limpos e novamente tentado o processo de alimentação. No laboratório os insetos preservados eram deixados em água durante um dia e em seguida cada espécime colocado em uma lâmina e dividido em cabeça, tórax e abdome. Preparados esfregaços com o conteúdo do abdome após dissecação. Quando presente, geralmente era possível macerar o sangue em água com agulhas finas de dissecação. O tegumento abdominal era espalhado uniformemente na lâmina perto do conteúdo do estômago e a preparação deixada secar ao ar. Cabeça e tórax, ligeiramente quebrados para expor a musculatura, eram colocados em outra lâmina. Foi posta uma gota de hematoxilina de Mayer sobre cada porção do corpo do inseto durante 30 a 45 minutos, e peças transferidas em seguida para a água. Cabeça e tórax foram dissecados separadamente em uma gota de glicerina e depois montadas. A lâmina

com o esfregaço de sangue e a parede abdominal foi também montada em glicerina. A procura de parasitas foi feita com 200x aumento.

Durante três dias consecutivos observou-se a incidência de picadas dos simulídeos, usando-se um índio como isca. Ele permanecia de pé durante todo o dia na varanda da casa, com pequenos intervalos de descanso. As coletas realizadas por dois coletores começaram ao alvorecer (06,00 horas) prolongando-se até um pouco depois do anoitecer (19,00 horas), registrando-se sempre a hora em que os insetos eram coletados. Os simulídeos capturados foram sacrificados e conservados em álcool para serem examinados mais tarde. Temperatura, umidade relativa, chuva e nebulosidade eram registrados de hora em hora durante estas observações. Mais tarde no laboratório, foram feitas dissecações à procura de infecção com *O. volvulus*, como descrito acima.

RESULTADOS

Três espécies de simulídeos foram capturados enquanto picavam isca humana. Como não foi possível ainda uma identificação definitiva os insetos capturados serão referidos como *Simulium* sp. A, sp. B, e sp. C., sendo a primeira espécie encontrada em grande quantidade.

DISTRIBUIÇÃO DE MICROFILÁRIAS NA PELE

No quadro I são apresentados os números de microfilárias de *O. volvulus* em biópsias de pele de várias partes do corpo de Raimundo. No quadro II estão os resultados das dissecações de *Simulium* sp. A. repletas, coletadas uma vez em Raimundo e duas vezes em Roberto. Os insetos não atacaram o pescoço e os pés. Na análise dos resultados não foi feita distinção entre as metades direita e esquerda das diferentes regiões do corpo, combinando-se os resultados dos dípteros coletados no peito e abdome, e nas partes superior e inferior das costas, devido ao número de espécimes coletado. Foi calculada para cada região do corpo a média geométrica (M_G) se-

gundo Williams (Leon & Duke, 1966) de microfíliarias de *O. volvulus*. Quando houve 5 mosquitos coletados em uma determinada área do corpo, não foi calculada a média geométrica, sendo apresentado no quadro o número de microfíliarias encontradas em cada mosquito. Os resultados acima mostram que em ambos os índios as microfíliarias de *O. volvulus* estavam em maior densidade no tronco que nos membros.

QUADRO I

Distribuição de microfíliarias de *O. volvulus* nas diferentes áreas do corpo de Raimundo

Áreas do corpo	Biopsias	Microfíliarias
Pescoço	1	77
Costas	5	37, 111, 20, 8, 88
Nádegas	2	1, 1
Peito	2	52, 19
Ventre	2	96, 2
Braços	4	64, 1, 16, 25
Antebraços	4	20, 6, 15, 0
Coxas	4	6, 7, 12, 1
Pernas	3	25, 3, 5

QUADRO II

Microfíliarias de *O. volvulus* ingeridas por *Simulium* sp.A em diferentes regiões do corpo

Local de picada	N.º de insetos dissecados	Microfíliarias ingeridas	
		(Variação)	(M) G
ROBERTO			
Costas	22	0-201	58.2
Nádegas	7	12-156	58.4
Coxas	7	7-129	30.0
Braços	20	2-450	28.8
Antebraços	2	—	21, 230 *
Pernas	2	—	0,9 *
Peito	2	—	0,5 *
RAIMUNDO			
Costas	22	4-372	56.3
Nádegas	3	—	1, 19, 26 *
Coxas	13	0-120	8.6
Braços	9	3-171	24.6
Antebraços	1	—	76 *
Pernas	2	—	6, 24 *
Peito	3	—	38, 57, 511 *

(*) Contagem direta.

Observações preliminares...

ÍNDICE DE INFECÇÃO EXPERIMENTAL

Os resultados da infecção experimental de *Simulium* sp. A. alimentados em portadores de *O. volvulus* estão no quadro III. Os insetos não sobreviveram mais do que 84 horas, morrendo a maioria 36 horas após o repasto infetante. Todos os exemplares recusaram outra refeição sanguínea e aparentemente não se alimentaram da solução açucarada ou da papa de banana. Um grande número de microfíliarias era facilmente evidenciado no conteúdo estomacal dos mosquitos mortos até 36 horas após o repasto. Muitas destas microfíliarias estavam quebradas, provavelmente devido à ação dos fortes dentes do cibário e da maceração do sangue no processo de preparação. As microfíliarias encontradas no conteúdo estomacal geralmente coram-se mal.

Dos 241 dípteros originalmente infetados, 18,2% (44) apresentavam microfíliarias ou larvas salsichóides nos músculos torácicos. Apenas 3 mosquitos apresentaram dois estágios larvários nos músculos, mas morreram 24 horas após o repasto infectante. Do número total de exemplares dissecados, 24,1% (58) apresentaram microfíliarias livres no tórax. O máximo de microfíliarias e larvas salsichóides encontradas nos músculos de um só exemplar foi de 8 e 9, respectivamente. Apenas uma larva salsichóide com intestino em desenvolvimento foi encontrada nos músculos de um exemplar que morreu 60 horas após a infecção. No transcurso das primeiras 24 horas após o repasto infetante foi grande o número de insetos encontrados com microfíliarias no conteúdo estomacal (quadro II). Em 36 horas houve um decréscimo considerável destas formas e depois de 48 horas tornaram-se progressivamente mais raras até não serem mais detectáveis no conteúdo estomacal.

No quadro IV estão lançados os números de dípteros positivos tanto para microfíliarias como para larvas salsichóides na musculatura torácica em relação à ingestão teórica de microfíliarias pelos insetos que morreram até 24 horas após a ingestão de sangue infectante, antes que pudesse ocorrer a digestão e excreção de microfíliarias. A ingestão inicial é calculada pela soma dos parasitos em qual-

QUADRO III

Infecção experimental de *Simulium* sp. A. com microfilárias de *O. volvulus*

Horas após infecção	Insetos dissecados	Insetos com mfs no abdomen (%)	Insetos com mfs livre no torax (%)	Insetos com mfs nos músculos torácicos (%)	Insetos e/ larvas salsichóides nos músculos torácicos (%)	Insetos com mfs e larvas salsichóides nos músculos torácicos (%)
12 horas	90	72(80)	25(27.8)	10(11.1)	7(7.8)	14(15.5)
24 horas	32	30(93.7)	9(28.1)	2(6.2)	4(12.5)	6(18.7)
36 horas	67	46(68.7)	21(31.3)	3(4.5)	8(11.9)	11(16.4)
48 horas	31	9(29.0)	3(9.7)	0(0)	4(12.9)	4(12.9)
60 horas	16	2(12.5)	0(0)	0(0)	4(25.0)	4(25.0)
72 horas	3	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
84 horas	2	0(0)	0(0)	0(0)	2(100.0)	2(100.0)
TOTAIS	241	159(65.9)	58(24.1)	15(6.2)	29(12.0)	44(18.2)

quer estágio encontrado por dípteros. Nos casos em que teoricamente era ingerida uma quantidade menor que 20 microfilárias somente uma pequena percentagem apresentou invasão dos músculos torácicos. Nos casos de maiores quantidades ingeridas a invasão era significativamente maior.

Dos simulídeos coletados entre 16,00 e 18,00 horas nos dias 16 e 18/12/75 para as observações sobre a incidência de ataque, 278

deles foram dissecados para a procura de fiárias, encontrando-se apenas um entre eles com larva salsichóide. A diferença entre a infecção experimental (18,2%) e a infecção natural (0.4%) foi significativa ($\chi^2 - 50, P = 0,1$),

podendo-se concluir que as microfilárias e larvas salsichóides encontradas na musculatura torácica dos dípteros experimentalmente infetados foram consequência do repasto sanguíneo.

QUADRO IV

Invasão dos músculos torácicos de *Simulium* sp. A por microfilárias de *O. volvulus* em relação ao número de microfilárias ingeridas

Ingestão inicial de mfs	Insetos dissecados	Insetos com mfs ou larvas salsichóides nos músculos	% de insetos com mfs ou larvas salsichóides
0-10	63	4	6.3
11-20	18	1	5.5
21-30	11	3	27.3
31-40	9	3	33.3
41-50	4	2	50.0
51-60	6	2	33.3
Acima de 61	11	5	45.5
Totais	122	20	16.4

INCIDÊNCIA DE ATAQUE

Durante os três dias de coletas, foram capturadas 2852 espécimes de *Simulium* sp. A, três de sp. B e 1 de sp. C atacando o homem. Apenas *Simulium* sp. A foi coletado em número suficiente para se poder avaliar a incidência de ataque. Como o padrão de picada foi o mesmo, reuniram-se os dados obtidos nos três dias de coletas (quadro V). Cada resultado de captura de meia hora foi expresso pela média de Williams (M) e em percentagem do total de coletas diárias. Os resultados sobre incidência de ataque são apresentados na fig. 1. O ataque começou entre 06,30 e 07,00 horas de manhã e gradualmente foi aumentando até formar um pico entre 10,00 e 10,30 horas havendo uma estabilização dos ataques até às 13,00 horas. Depois desta hora houve

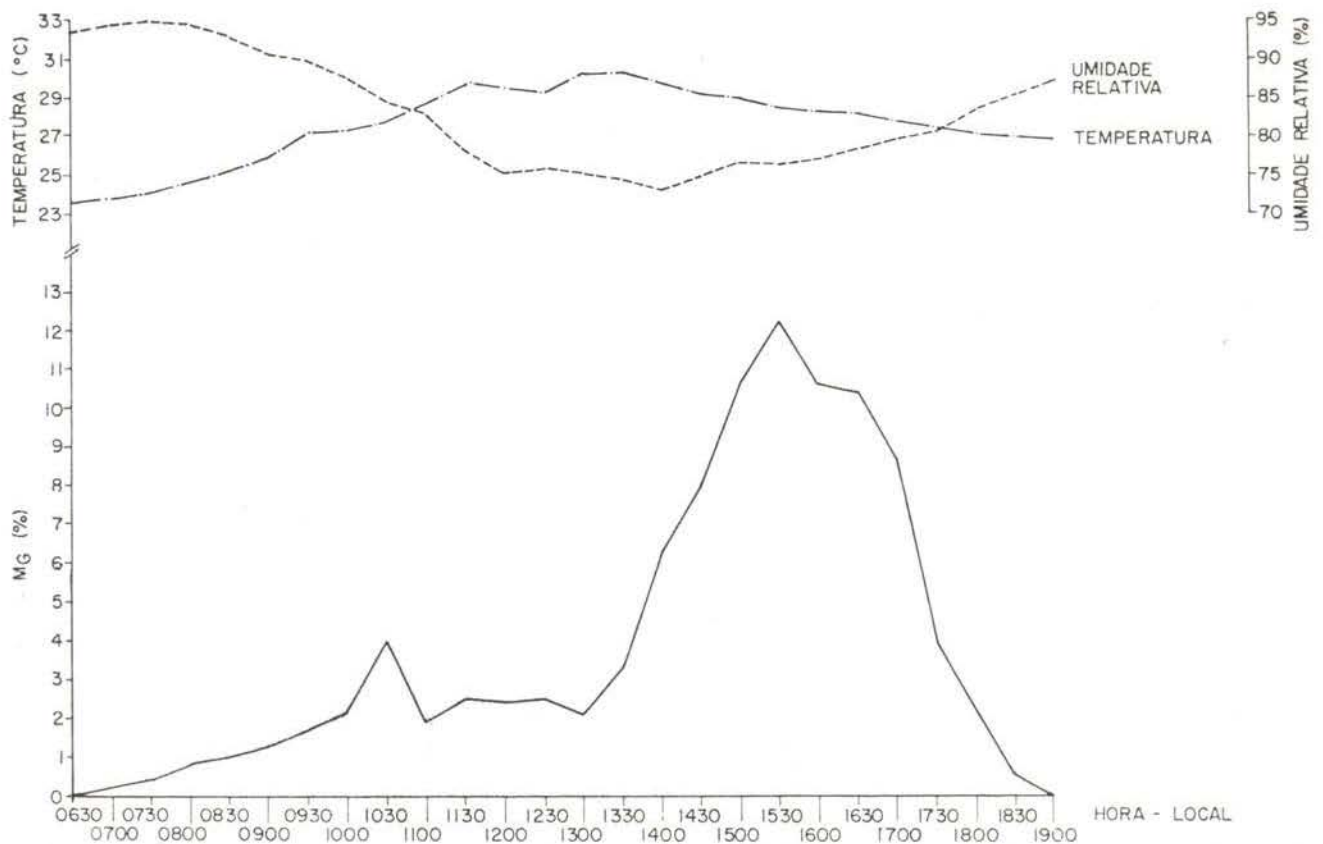


Fig. 1 — Atividade hematófaga (biting cycle) de *Simulium* sp. A em Toototobi.

uma grande ativação das picadas, sendo o máximo atingido às 15,30 horas. O ataque continuou intenso até às 17,00 horas, decrescendo rapidamente depois e cessando um pouco antes das 18,30 horas.

Durante os três dias de coletas, as manhãs apresentavam-se com grande nebulosidade, que foi diminuindo até ao meio dia, quando o céu apresentava nuvens esparsas. Em dois dias ocorreram leves pancadas de chuvas por períodos curtos, aparentemente sem efeitos sobre a incidência de ataque.

DISCUSSÃO

Diante dos dados obtidos pode-se ter apenas uma idéia aproximada da distribuição de microfilárias de *O. volvulus* nos dois índios Yanomama.

• Aplicando-se a técnica de Leon & Duke (1966), ou seja, deixando o *Simulium* sp. A picar diferentes áreas do corpo, observou-se

uma grande variação no número de microfilárias ingeridas por inseto, devido provavelmente, à grande dispersão de picadas em uma determinada área corpórea. Pode ser explicada do mesmo modo a grande variação do número de parasitos encontrados nas biópsias de pele, mesmo levando em consideração o fato dos fragmentos de pele não terem sido pesados. Usando-se os dois métodos para a avaliação da densidade de microfilárias na mesma região do corpo do mesmo índio, quase sempre o número de larvas obtidas foi maior no *Simulium* sp. A do que nas biópsias de pele. É possível que, ao se alimentar, esta espécie exerça algum efeito sobre a concentração de microfilárias da pele do hospedeiro, como assinalaram Leon & Duke (1966) nos simulídeos guatemaltecos. Diante desta interação entre simulídeos e microfilárias, este seria o método de escolha na detecção de infecções de baixa densidade, em lugar da tradicional biópsia de pele.

QUADRO V

Frequências de picadas em homem por *Simulium* sp. A no rio Toototobi

HORA LOCAL	INSETOS COLETADOS			TOTAL INSETOS COLETADOS	M _G	% M _G
	16/12/75	17/12/75	18/12/75			
06,30	0	0	0	0	—	—
07,00	7	0	2	9	1.9	0.2
07,30	7	1	5	13	3.6	0.4
08,00	15	4	6	25	7.2	0.8
08,30	26	2	9	37	8.3	1.0
09,00	16	7	13	36	11.4	1.3
09,30	22	13	10	45	14.7	1.7
10,00	38	11	16	65	18.8	2.2
10,30	46	26	34	106	34.4	4.0
11,00	19	18	12	49	16.0	1.9
11,30	16	9	60	85	21.6	2.5
12,00	26	13	25	64	20.4	2.4
12,30	36	19	14	69	21.3	2.5
13,00	34	6	26	66	17.8	2.1
13,30	34	23	29	86	28.3	3.3
14,00	60	30	89	179	54.4	6.3
14,30	108	53	56	217	68.5	8.0
15,00	126	95	65	286	92.0	10.7
15,30	169	98	68	335	104.1	12.2
16,00	219	73	47	339	91.0	10.6
16,30	149	90	53	292	89.3	10.4
17,00	113	107	34	254	74.3	8.7
17,30	59	49	13	121	33.8	3.9
18,00	26	22	12	60	19.0	2.2
18,30	9	3	2	14	3.9	0.5
19,00	0	0	0	0	—	—
TOTAIS	1380	772	700	2852	8562	99.8

Rassi *et al.* (1975), após seus estudos em maio e junho de 1974 apontam o *S. amazonicum* Goeldi, 1905, como o vetor de *O. volvulus* na região do Toototobi. Consideremos esta afirmativa prematura se baseada nas provas apresentadas. Em primeiro lugar, não estamos totalmente convencidos de que a identificação dos insetos feita por eles esteja correta. A descrição das fêmeas de *S. amazonicum* dadas por Rassi (1974) corresponde em todos os detalhes às fêmeas de *Simulium* sp. A encontradas em nosso levantamento. Muito embora a genitália feminina do *Simulium* sp. A seja semelhante à do *S. amazonicum* descritas do cótipo por Smart (1942), o desenho do escudo figurado por Porto (1939) e confirmado

por Smart (1942) como sendo de *S. amazonicum* difere do *Simulium* sp. A. Como constatamos que o escudo de *Simulium* sp. A é muito semelhante ao de *S. haematopotum* Malloch 1914, e a genitália feminina difere desta espécie, preferimos chamar de *Simulium* sp. A à espécie antropófila mais comum no rio Toototobi, até que possamos examinar um cótipo de *S. amazonicum* Goeldi, 1905. Em segundo lugar, Rassi *et al.* (1975) pressupõem que as larvas salsichóides por eles obtidas de 7 dos 922 "*S. amazonicum*" capturados no Toototobi eram de *O. volvulus*, desde que demonstraram que não existe *M. ozzardi* na área. Os macacos da região amazônica e quase certamente os de Toototobi são encontrados co-

mumente com microfilárias no sangue e, como ainda não foram realizados estudos sobre as preferências alimentares de *Simulium* sp. A no Toototobi, não se pode garantir que a espécie seja apenas antropófila ou também vetor de filárias de macacos. Ao que sabemos não há uma técnica apropriada para se fazer a distinção com segurança das larvas salsichóides das diferentes espécies de filárias.

Diante dos dados obtidos fica bem evidenciado que, ao se alimentar, o *Simulium* sp. A ingere imediatamente as microfilárias de *O. volvulus* e é suscetível à penetração destas microfilárias na musculatura torácica, seguindo-se o desenvolvimento do parasito até o estágio salsichóide, 48 horas após o repasto sanguíneo infectante. Este fato, associado ao grande número de *Simulium* sp. A picando o homem em Toototobi, sugere que esta espécie é um possível vetor de oncocercose. Contudo, seu desempenho como vetor só poderá ser confirmado quando fêmeas da *Simulium* sp. A forem encontradas naturalmente albergando larvas infectantes de *O. volvulus* e quando esta forma do parasito for obtida de simulídeos experimentalmente infetados. Notou-se que era maior a probabilidade de invasão do torax de *Simulium* sp. A quando havia ingestão de mais de 20 microfilárias de *O. volvulus*, embora não se pudesse determinar o efeito de uma ingestão maciça sobre a longevidade dos simulídeos. Achado semelhante foi feito por Leon & Duke (1966) com *S. ochraceum*, o vetor mais eficiente de oncocercose na Guatemala. Para avaliar a ingestão teórica de microfilárias pelo vetor, Leon & Duke usaram a média geométrica de microfilárias na área corpórea onde os insetos estavam se alimentando. Não pudemos efetuar a avaliação usando o mesmo método devido à grande variação do número de microfilárias em uma determinada área de pele, substituindo-a pela contagem direta dos parasitos em cada inseto, considerando que todas as larvas salsichóides originaram-se das microfilárias sugadas durante o repasto sanguíneo. Tal determinação de ingestão de microfilárias é apenas aproximada, tanto pelos dificuldades de obtenção de macerados homogêneos de sangue retirado do estômago de espécimes preservados em ál-

cool, quanto pelas possíveis perdas naturais por excreção. Numa amostra pequena como esta, é provável que a contagem direta forneça dados mais exatos do que os obtidos pela média de microfilárias por área de pele.

AGRADECIMENTOS

Desejamos agradecer aos Srs. Waldomiro Santos de Albuquerque, Benedito Faustino da Silva e Eduardo Vieira da Silva pela assistência técnica, ao Sr. e Sra. B. Hartman pelas condições de trabalho na missão Toototobi e ao Professor W. L. Paraense pelas facilidades de trabalho na Universidade de Brasília.

O trabalho foi realizado com a ajuda financeira do Conselho Nacional de Desenvolvimento Técnico e Científico, Programa do Trópico Úmido.

Summary

Preliminary studies on various factors influencing the transmission of onchocerciasis were made in December 1975 on the river Toototobi in northern Amazonas. Microfilariae of *O. volvulus* were more abundant in the trunk than in the limbs of two Yanomama indian volunteers. Three anthrophilic species of Simuliidae were captured and have been temporarily named as *Simulium* sp.A., sp.B., sp.C. until a definitive identification is made. Only the former species was abundant biting mainly in the early afternoon. The finding of sausage larva in a naturally infected fly and the successful experimental infection of wild flies with microfilariae of *O. volvulus*, which subsequently developed to the late sausage stage, suggest that *Simulium* sp.A is a probable vector of onchocerciasis in the area.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- BEARZOTTI, P., LANE, E. & MENEZES, F.º, J.
1967 — Relato de um caso de oncocercose adquirida no Brasil. *Rev. Paul. Med.*, 70: 102.
- DUKE, B.O.L.
1962 — A standard method of assessing microfilarial densities on onchocerciasis surveys. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 27(4-5): 629-632.
- LEON, J.R. DE & DUKE, B.O.L.
1966 — Experimental studies on the transmission of Guatemalan and West African

strains of *Onchocerca volvulus* by *Simulium ochraceum*, *S. metallicum* and *S. callidum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60(6) : 735-752.

MORAES, M. & DIAS, L.B.

1972 — Oncocercose no Estado do Amazonas, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 14(5) : 330-333.

MORAES, M.A.P., FRAIHA H. & CHAVES, G.M.

1973 — Onchocerciasis in Brazil. *Bull. Panam. Hlth. Org.*, 7(4) : 50-56.

MORAES, M.A.P. & CHAVES, G.M.

1974a — Um caso de oncocercose no Território de Roraima, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 16(2) : 110-113.

1974b — Onchocerciasis in Brazil; new findings among the Yanomama indians. *Bull. Panam. Hlth. Org.*, 8(2) : 95-99.

PORTO, C.E.

1939 — Simulídeos da região neotropical. (II — Genero *Simulium*). *Bol. Biol. (N.S.)*, 4(3) : 369-373.

RASSI, E.

1974 — Assessoria para a pesquisa e o controle de oncocercose no Brasil. **PAHO, WHO (Brasil-1000D) 1-34**. Documento não publicado.

RASSI, E.; LACERDA, N.; GUIMARÃES, J.A.; VULCANO, M.A.; RAMIREZ PÉRES, J. & RAMIREZ, A.

1975 — Informe preliminar sobre un nuevo vector de la oncocercosis en las americas: el *Simulium amazonicum* (Goeldi, Lutz, 1910 y 1917). *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, 79(2) : 136-138.

SMART, J.

1942 — Notes on Simuliidae (Diptera). *Proc. R. Ent. Soc. Lond. (B)*, 11(3) : 46-50.