



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

EDSON KENJI KAWABATA

**MONITORAMENTO E ANÁLISE DA CIRCULAÇÃO VIRAL
EM CULICIDAE (DIPTERA) ADULTOS NO MUNICÍPIO DE
SERTANÓPOLIS, PARANÁ, BRASIL**

Londrina – Paraná

2024

EDSON KENJI KAWABATA

**MONITORAMENTO E ANÁLISE DA CIRCULAÇÃO VIRAL
EM CULICIDAE (DIPTERA) ADULTOS NO MUNICÍPIO DE
SERTANÓPOLIS, PARANÁ, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: João Antonio Cyrino Zequi
Coorientador: Letícia Bernadete da Silva

Londrina – Paraná

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

E24m Kawabata, Edson Kenji.
Monitoramento e análise da circulação viral de Culicidae (Diptera) adultos no município de Sertanópolis, Paraná, Brasil / Edson Kenji Kawabata. - Londrina, 2024.
68 f. : il.

Orientador: João Antonio Cyrino Zequi.
Coorientador: Letícia Bernadete da Silva.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, 2024.
Inclui bibliografia.

1. *Aedes aegypti* - TCC. 2. Arbovírus - TCC. 3. Influência climática - TCC. 4. Mosquito - TCC. I. Zequi, João Antonio Cyrino. II. Silva, Letícia Bernadete da. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU 574

EDSON KENJI KAWABATA

**MONITORAMENTO E ANÁLISE DA CIRCULAÇÃO VIRAL DE
CULICIDAE (DIPTERA) ADULTOS NO MUNICÍPIO DE
SERTANÓPOLIS, PARANÁ, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi

Membro 1: Prof. Dr. Laurival Antônio Vilas Bôas

Membro 2: Dra. Bianca Piraccini Silva

Londrina, 10 de maio de 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço minha família, principalmente meus pais, pelo apoio durante todos esses anos, por não terem medido esforços para proporcionar as condições para o meu sucesso na vida acadêmica, a firmeza com que me ensinaram a caminhar, as lições de responsabilidade, honestidade e humildade, e todo amor dedicado.

Agradeço o professor Dr João Antonio Cyrino Zequi, meu orientador, pelo apoio e pelos ensinamentos em todos os anos ao qual fiz/faço parte do laboratório de Entomologia Geral e Média da Universidade Estadual de Londrina. Além de ser alguém a quem admiro muito, durante todos esses anos, propiciou-me diversas oportunidades para crescer como pesquisador e como indivíduo, seja durante os projetos do laboratório ou as atividades de educação ambiental junto à comunidade externa a universidade (uma das quais até acabou até me rendendo um apelido memorável ✧). Também agradeço o café nervoso, e pelos momentos de descontração e risadas, que tornam a vida acadêmica mais leve e proveitosa.

Agradeço a Ma. Letícia Bernadete da Silva, pela amizade e por se tornar minha coorientadora durante a execução e planejamento do projeto. Sempre ajudando e proporcionando conversas e situações que não somente contribuem para a vida acadêmica, mas também proporcionam alegrias e muitas risadas.

Agradeço o amigo e parceiro de projeto, Felipe Augusto Reche, não somente pela ajuda na execução deste projeto, mas também por ser alguém que sempre esteve disposto a ajudar e encarar os problemas durante todos esses anos de laboratório, compartilhando dos perrengues e dos momentos de alegria nos anos da graduação.

Um agradecimento especial a Pedro Lucas Moraes, amigo e parceiro durante a execução do projeto em Sertanópolis, que esteve disposto a encarar as dificuldades da realização do monitoramento em um enorme município, e por te compartilhado momentos de descontração e alegria durante os meses de coleta.

Agradeço o amigo e parceiro de projeto, Eduardo Alves Marques, não somente pela amizade, mas também por ter encarado juntamente com a equipe, a execução de um projeto de monitoramento em dois municípios.

Aos técnicos Aparecido Souza (Cidão), Edson Santana (Edsão) e Robson Rock, pelo apoio, pelas conversas descontraídas, e por terem nos auxiliado enormemente durante as coletas para este estudo. Sem essa ajuda, não somente

este projeto, mas muitos outros executados dentro do laboratório de Entomologia não seriam possíveis.

Aos membros do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) pela hospitalidade e carinho recebidos durante minha estadia em Curitiba, para a realização das análises de presença viral, que foram fundamentais para a realização deste trabalho, agregando muito para o meu conhecimento acadêmico, proporcionando novas experiências.

Ao Prof. Dr Mário Antônio Navarro da Silva da UFPR, por conceder o espaço em seu laboratório, pela orientação e pelas dicas durante o processo.

A Dr^a Angela Palacio da UFPR por dedicar seu precioso tempo em nos ensinar as técnicas para extração e análise viral, com toda paciência e carinho possíveis.

A Doutoranda Ana Carolina Felício Alves, por todo o auxílio durante o processo, pelas dicas e ensinamentos, não só durante a estadia no LAMFIC, mas anteriormente, quando ainda estava realizando seu mestrado no Laboratório de Entomologia Geral e Médica da UEL.

Aos membros do Laboratório de Entomologia Geral e Médica, sejam aqueles que partiram para enfrentar novas áreas na pesquisa ou aqueles que ainda estão presentes. Agradeço por terem compartilhado comigo seus conhecimentos, alegrias e dificuldades.

Agradeço enormemente a Dr^a Bianca Piraccini por ter, durante o seu doutorado, guiado e ensinado valiosas lições não somente a mim, mas para toda uma equipe de laboratório, ensinamentos que fizeram muita diferença nos meus anos iniciais da graduação. Agradeço também por ter concordado em fazer parte da banca avaliadora deste trabalho de conclusão de curso, tornando esta experiência mais memorável.

Agradeço meus os grandes amigos Guilherme Akira Awane e José Otávio Pagliari dos Santos, não só pela amizade, mas também por proporcionarem conversas e experiências que fogem da minha área de pesquisa, e pelas dicas e ensinamentos que fizeram toda a diferença, contribuindo para o meu crescimento como pesquisador. Obrigado também pelas risadas e pelos momentos descontraídos durante todos esses anos.

Agradeço também ao Prof. Dr Laurival Antônio Vilas Bôas e a Prof. Dr^a Gislayne Trindade Vilas Boas pelos ensinamentos e ajuda na escrita deste trabalho,

pelos insights durante as aulas da graduação que permitiram enxergar com outros olhos a temática do trabalho. E por terem concordado em fazer parte deste trabalho de conclusão de curso.

Agradeço também a todos os meus amigos que, de alguma forma, fizeram parte deste momento.

A Universidade Estadual de Londrina e FAUEL, pela estrutura fornecidas para realização das coletas do projeto e ao Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) pelo fomento.

Um agradecimento especial a toda equipe da Secretaria de Saúde de Sertanópolis/PR e a equipe de Vigilância Entomológica do município, especialmente a Noeli e Rosana, que tanto nos auxiliaram e proveram grande parte da logística por traz de todas as coletas realizadas.

A todos os moradores do município que sempre foram receptivos e permitiram instalação de armadilhas e execução da aspiração em suas casas e prédios.

RESUMO

KAWABATA, Edson K. **Monitoramento e análise da circulação viral de Culicidae (Diptera) adultos no município de Sertanópolis, Paraná, Brasil.** 2024. 48p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

Doenças e agravos à saúde humana não são ocorrências aleatórias, portanto são passíveis de prevenção ou mitigação. Das morbidades relacionadas a patógenos, pode-se inferir que, além de sua associação histórica com a humanidade, muitas ocasionam cada vez mais problemas para a saúde pública. Dentre estes patógenos, os arbovírus tem destaque, principalmente pela sua relação aos processos de urbanização e uso da terra, tendo os de maior preocupação médica, transmissão por vetores sinantrópicos, como nos casos dos vírus da dengue, Zika e chikungunya. No contexto do Brasil, duas espécies do gênero *Aedes* e uma do gênero *Culex* tem relevância pelo seu potencial em transmissão vetorial, denotando a necessidade se estudar esses vetores a as arboviroses no meio urbano. O presente estudo teve como objetivo realizar um monitoramento viral em culicídeos adultos na cidade de Sertanópolis, no norte do estado do Paraná, Brasil, principalmente devido ao crescente aumento de casos de arboviroses, com destaque para dengue, em todo o Paraná e território nacional, incluso o município de estudo. Para tanto, em um período de seis meses, foram realizadas capturas mensais de adultos em sete pontos amostrados onde, ao final, foi obtido o total de 455 adultos de *Culex* spp., *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. As fêmeas de *Ae. aegypti* foram testadas para presença de DENV (1-4), ZIKV e CHIKV, porém sem resultados positivos. Valores de abundância de indivíduos capturados foram relacionados entre as diferentes espécies e variáveis climáticas, observando uma forte correlação inversa entre número amostrado mensal e temperatura. Ao final do estudo, destaca-se a importância do monitoramento contínuo de Culicidae vetores como medida para preservar a saúde da população local, além de ser um importante pesquisa, provendo dados contínuos para diversos estudos sobre estes vetores e uma adicional ferramenta que contribui para as atividades do Plano Nacional de Combate à Dengue.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, arbovírus; influência climática, mosquito.

ABSTRACT

KAWABATA, Edson K. **Monitoring and analysis of virus circulation of adults Culicidae (Diptera) in Sertanópolis, Paraná, Brazil.** 2024. 48p. Course Conclusion Paper (Graduation in Biologic Science) – State University of Londrina, Londrina, 2024.

Diseases and health conditions are not random occurrences, consequently, they are susceptible to prevention or mitigation. Among the morbidities related to pathogens, is inferred the existence of an historical association with humanity, when their occurrence has increased in the time being, causing several population health problems. In addition, arbovirus are highlighted between those pathogens, due to their high relationship with urbanization and land use increase. Most of them, mostly those with medical concerns, are transmitted by synanthropic vectors, such as dengue, Zika, and chikungunya virus. In the Brazilian context, two species of the *Aedes* genus and one of the *Culex* genus are notorious due to their potential for vector transmission, highlighting the need for arbovirus and vector research in urban environments. This research aimed to carry out viral monitoring in adult Culicidae in Sertanópolis town, located in the north of Paraná State, Brazil, due to the increasing number of arboviruses cases, in particular dengue, throughout Paraná and Brazil nationwide, including Sertanópolis. In this pursuit, over a period of six months, adults have been monthly captured in seven places, resulting in a total of 455 *Culex* spp., *Aedes albopictus*, and *Aedes aegypti* adults captured at the end of this interval. Females of *Ae. aegypti* were tested for DENV (1-4), ZIKV, and CHIKV presence but none of them showed a positive result. The captured individual's abundance values were related to their specie's taxonomy value and climatic variables, resulting uniquely in a strong inverse correlation between the monthly sampled adult's abundance number and ambient temperature. At the end of the study, was reported the importance of continuous Culicidae vector monitoring as a measure to preserve the local population health and, in addition, this work could generate continuous vectors data for several studies of those mosquitos, and it is able to contribute to the National Plan of Dengue Combat activities.

Keywords: *Aedes aegypti*; arbovirus; climate influence, mosquito.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	FAMÍLIA CULICIDAE	13
2.1.1	Ovos	14
2.1.1	Larvas e pupas	14
2.1.2	Adulto	15
2.1.3	Culicídeos como vetores	17
2.1.3.1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	18
2.1.3.2	<i>Aedes</i> spp.	19
2.2	EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL	20
2.2.1	<i>Impactos econômicos</i>	21
2.3	METODOLOGIAS DE MONITORAMENTO DE VETORES	22
2.4	CONTROLE VETORIAL	23
3	MATERIAL E MÉTODO	25
3.1	ÁREA DE ESTUDO	25
3.2	COLETA DE ADULTOS E DEMAIS PROCEDIMENTOS	26
3.3	ANÁLISE VIRAL	30
3.4	ANÁLISE DE DADOS	31
3.4.1	<i>Análise de distribuição de dados</i>	31
3.4.2	<i>Análise das Variáveis Climáticas</i>	31
4	RESULTADO E DISCUSSÃO	33
4.1	CULICÍDEOS ADULTOS CAPTURADOS E PONTOS AMOSTRADOS	33
4.2	PRESENÇA DE DENV 1-4, ZIKV E CHIKV EM FÊMEAS DE <i>Ae. AEGYPTI.</i>	36
4.3	ANÁLISES DE DISTRIBUIÇÃO POPULACIONAL E CORRELAÇÕES CLIMÁTICAS	38
5	CONCLUSÃO	42
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

A epidemiologia é o ramo da ciência que estuda as distribuições de doenças e seus determinantes, tendo como uma de suas premissas a afirmação de que doenças e demais eventos de agravos à saúde não são ocorrências aleatórias do acaso. As interações do agente, do hospedeiro e do próprio ambiente são de extrema relevância para se entender como diferentes doenças são distribuídas e como os agentes etiológicos interagem dentro de uma população. No entanto, ao se estudar doenças como dengue, chikungunya e Zika, causadas por diferentes vírus de grande interesse médico, um quarto fator tem um importante papel nessas relações, o vetor (Chouin-Carneiro; Santos, 2017; WHO, 2024).

Os Patógenos transmitidas por vetores são responsáveis pela morte de mais de 700 mil pessoas anualmente, onde dessas, pelo menos 17% estão relacionadas ao vírus da Dengue, transmitida por um mosquito da família Culicidae. Esses vírus transmitidos por artrópodes, ou arbovírus, representam um enorme risco à saúde de toda a população. Só no Brasil, para dengue, chikungunya e Zika, as arboviroses de maior ocorrência no país, foram registradas mais de 4,2 milhões de só no primeiro trimestre de 2024, todas transmitidas principalmente por culicídeos (OPAS, 2024; WHO, 2024;)

Para compreensão da relação das arboviroses mencionadas anteriormente com a população de determinado local, é de extrema importância se estudar a biologia e ecologia das relações dos patógenos, dos vetores, dos hospedeiros e do ambiente. Sabe-se que nas espécies de culicídeos vetores, fêmeas realizam hematofagia (seja obrigatória – anautógena, ou facultativa) com o objetivo principal a obtenção de nutrientes para maturação dos ovos e, que durante esse processo, caso a fêmea venha a picar um hospedeiro infectado, há chances de ela contrair vírus, protozoários ou nematoides e, conseqüentemente, veiculá-los nos próximos repastos sanguíneos. Ao levar em consideração que algumas espécies têm preferência por sangue humano, a situação se torna mais agravante, evidenciando a necessita de constante monitoramento vetorial (Consoli; Oliveira, 1994; Rueda, 2008; Wilkerson, 2015; Guedes, 2017).

Diante deste problemática, o presente estudo teve o objetivo de realizar um monitoramento viral em adultos de Culicidae vetores capturados na área urbana de

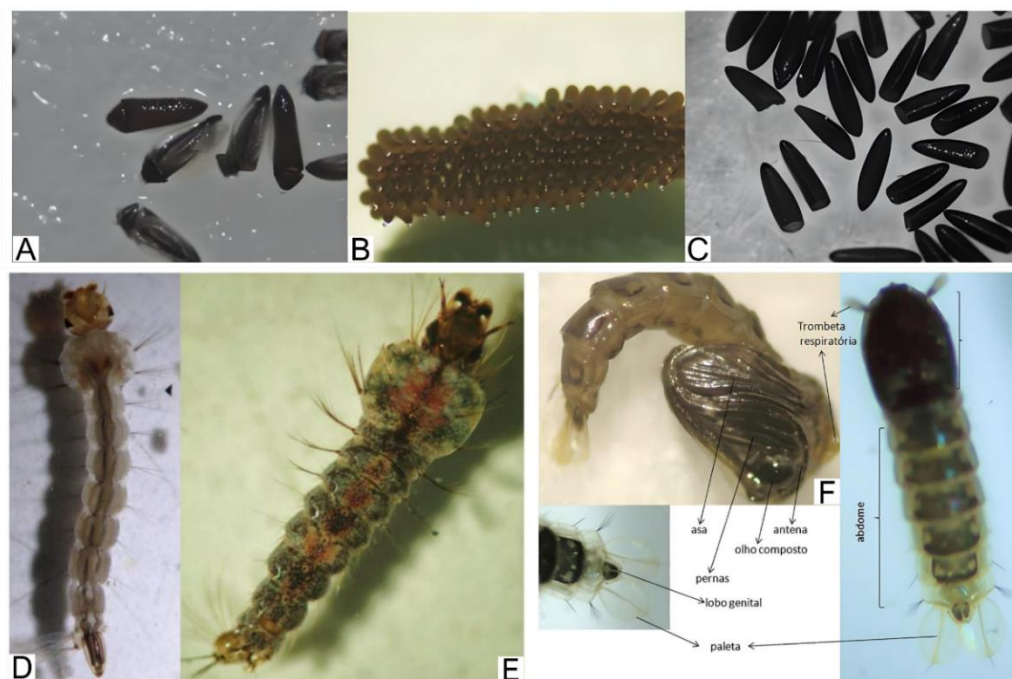
Sertanópolis, localizado na região Norte do Estado do Paraná, Brasil. Acrescenta-se ainda, identificar culicídeos vetores do gênero *Aedes* e *Culex*, obtendo suas taxas de presença e suas relações no ambiente urbano, somadas à verificação da influência de variáveis climáticas na abundância de culicídeos no município.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Família Culicidae

Os culicídeos pertencem ao Filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Culicomorpha e família Culicidae (Meigen, 1818); compreendendo um total de 3726 espécies reconhecidas (Harbach, 2024). Esses insetos são popularmente conhecidos como mosquitos, pernilongos e bicudos, constituindo uma família diversa, com presença marcante em muitos ecossistemas, incluindo ambientes antrópicos (área urbana, periurbana e rural) (Silva, 2002; Rueda, 2008). De acordo com Silva (2002), a presença de culicídeos em diferentes ecossistemas está relacionada à sua capacidade de transitar entre ambientes. O ciclo de vida desses animais é holometábolo, dividido em quatro estágios: ovo, larva (com quatro instares), pupa e adulto (Rueda, 2008) – (Figura 01).

Figura 1 - Imagens de diferentes estágios de desenvolvimento de Culicidae. (A) Ovos de *Anopheles* spp.; (B) Ovos de *Culex* spp.; (C) Ovos de *Aedes* spp.; (D) Larva de *Aedes* spp.; (E) Larva de *Anopheles darlingi*; (F) Pupa de Culicidae com as principais estruturas anatômicas.



Fonte: Zequi et al., 2021

2.1.1 Ovos

A postura dos ovos está intimamente relacionada à água, onde podem ser identificadas quatro estratégias: Deposição de ovos isoladamente, pairando sobre a água, como no exemplo do gênero *Anopheles* Meigen, 1818; deposição em grupos, na forma de “jangadas” de ovos na superfície da água, como em *Culex* Linnaeus, 1758; deposição na superfície de vegetação, muitas vezes abaixo do nível da água, em *Mansonia* Blanchard, 1901; e deposição em substratos sujeitos a inundações intermitentes, como visto em *Aedes* Meigen, 1818. Dadas as diferentes estratégias, ovos de culicídeos podem ser encontrados em diversos criadouros, tanto os naturais, como no interior de bambus e acúmulos de água em axilas de Bromeliaceae, quanto os artificiais a exemplo de potes de plástico e pneus com acúmulo de água (Service, 1995; Zequi et al., 2005; Silver, 2007).

Ovos dos mosquitos apresentam formato elíptico ou oval, com aspecto alongado. No ambiente, muitos podem ser encontrados com uma coloração escurecida, com exceção de ovos inférteis ou recém ovipositados. A casca desses ovos é uma estrutura de grande interesse biológico pois, nas espécies que depositam ovos fora da água, além de prover resistência mecânica, também garante uma resistência à dessecação. No caso da espécie *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, essa resistência os torna viáveis por períodos muito prolongados, podendo chegar a até mais de um ano. A casca também permite passagem de gases respiratório e é constituída por uma membrana vitelina interna e um córeo, formado por um endocório grosso e endurecido, e um envoltório externo, fino e transparente denominada exocório (Consoli; Oliveira, 1994).

2.1.1 Larvas e pupas

Com a eclosão dos ovos, considerada quando ocorre o rompimento do cório (Forattini, 1996), dá continuidade ao estágio larval e posterior de pupa, ambas aquáticas. As larvas têm um corpo vermiforme e segmentado, com cerdas dispostas

simetricamente. Larvas realizam respiração retirando oxigênio do ar, e para tal, possuem espiráculos abdominais nos quais, na subfamília Culicinae, estão localizados no final de estruturas tubulares denominadas de sifão ou tubo respiratório, e devido a esta característica morfológica, para respirarem, se posicionam verticalmente em relação a superfície da água, com a extremidade final do sifão na superfície. No caso da outra subfamília, a Anophelinae, por não possuírem o sifão, se posicionam horizontalmente em relação a superfície da água para respirarem. Outro comportamento também interessante a ser notado em relação as larvas dentro de criadouros, é que quando ameaçadas elas formam grupos larvais aglomerados (Forattini, 1962; Consoli; Oliveira, 1994; Service, 1995; Rueda, 2008).

Larvas possuem 4 instares de desenvolvimento, que ao ser completo, tornam-se pupas. As pupas têm um corpo no formato de vírgula, com coloração similar à de sua forma larval quando recém-formada, escurecendo ao se aproximar da conclusão da metamorfose. Nesta fase as pupas não mais se alimentam e têm o comportamento de ficarem próximas a superfície da água, paradas, para respirarem pelas trompas respiratórias, estruturas alongadas e afuniladas localizadas na região dorsal do cefalotórax. As larvas se tornam extremamente móveis quando perturbadas (Consoli; Oliveira, 1994; Service, 1995; Rueda, 2008).

A duração das fases de desenvolvimento que compreendem da larva e pupa até sua fase adulta variam entre gêneros, podendo ser de uma a três semanas nas larvas e de um a três dias para a fase de pupas. Condições como temperatura, espaço disponível e presença de alimento influenciam diretamente no seu desenvolvimento, podendo afetar não só o próprio tempo do seu ciclo, acelerando ou retardando, mas também a fertilidade dos adultos. O comportamento de aglomeração das larvas também foi discutido como fator que pode influenciar em sua taxa de sobrevivência e tempo de desenvolvimento (Bergo et al., 1990; Consoli; Oliveira, 1994; Service, 1995; Zequi; Lopes, 2012).

2.1.2 Adulto

O adulto é terrestre e alado, possui uma cabeça globosa, tórax comprimido lateralmente e um abdome cilíndrico revestidos, quase completamente, por escamas.

As escamas também cobrem veias e o contorno das asas e o seu padrão é uma característica que auxilia na identificação taxonômica (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 1996; Carvalho et al., 2012). A alimentação na fase adulta depende da ingestão de carboidratos oriundos principalmente de seiva, flores e frutos, mas, no caso de fêmeas, quando no processo de ovogênese, ou para ovipositar, elas podem adotar estratégias de alimentação autogêna ou anautogêna (O'Meara, 1985; Tsuji et al., 1990; Chambers; Klowlowden, 1994; Gerhardt et al., 2019).

Segundo Roubaud (1929), pode-se classificar como autógenos os mosquitos com o comportamento de não se alimentarem de sangue (não realizam repasto sanguíneo) para produção de ovos, como os do gênero *Toxorhynchites* Theobald 1901, que obtêm os nutrientes para oviposição ainda no estágio larval (Donald et al., 2020). Já os mosquitos anautógenos são aqueles com o comportamento de se alimentar de sangue para a produção de ovos. Algumas espécies também podem ser consideradas autógenos facultativas, podendo ou não realizar o repasto sanguíneo para produzir seus ovos, seja na primeira ovulação ou nas subseqüentes, dependendo das condições do ambiente. Diferente de hematofagia, autogenia refere-se a alimentação de sangue exclusivamente para postura de ovos, já hematofagia em si engloba o comportamento de alimentação de sangue, seja esse para qualquer função (Spielman, 1971; Tsuji et al., 1990; Gerhardt et al., 2019).

A realização do repasto sanguíneo, além de prover nutrição, geram uma estimulação hormonal na formação de ovócitos das fêmeas que ingerem sangue. A Alimentação anautógena também pode resultar em um aumento na produção de ovos, porém, se durante este processo, elas se alimentarem de hospedeiros infectados, tem grandes chances de se tornarem potenciais vetores de agentes patogênicos como vírus, protozoários e nematoides. Esta situação ressalta a importância das atuais pesquisas etiológicas com foco nesses culicídeos vetores (Chambers; Klowlowden, 1994; Consoli; Oliveira, 1994; Wilkerson, 2015; Guedes, 2017; Oliveira, 2017a; Foster; Walker, 2019; Dou et al., 2022).

2.1.3 Culicídeos como vetores

Os culicídeos, devido ao seu rápido ciclo reprodutivo, plasticidade genética e valência ecológica, apresentam grande capacidade adaptativa. A crescente urbanização e expansões geográficas com o aumento do uso da terra e intensificação da agricultura somadas aos distúrbios ambientais e desmatamento resultantes, juntamente com as mudanças climáticas associadas, está forçando muitas espécies a migrarem para ecossistemas antrópicos em busca de alimento e locais de reprodução. Ao se tornarem domiciliadas nesses ambientes, elas potencializam o surgimento de novos agentes patogênicos e a circulação dos já existentes. Nesta mesma situação, culicídeos menos sinantropizados perdem seus ambientes naturais, resultando no seu declínio populacional e até possível extinção local (Lopes, 1997; Forattini et al., 1997; Taylor et al., 2001; Lindenmayer; Fischer, 2006; Jones et al., 2008; Mayer et al., 2017).

Se tratando do cenário nas Américas, dentre os culicídeos da subfamília Culicinae, os gêneros *Aedes* e *Culex* se sobressaem por serem vetores de arbovírus, como os da família Togaviridae (presentes os vários vírus causadores da encefalite equina e vírus da chikungunya) e família Flaviviridae (dengue, febre amarela, encefalite de Saint Louis, febre do Nilo Ocidental e Zika) afetando seres vivos de diferentes ambientes. O termo “arbovírus” vem de “ARthropod BORne VIRUS”, que pode ser traduzido como “vírus carregado por artrópodes” (Foster; Walker, 2019; Gorris et al., 2024).

Com o estudo da ecologia desses culicídeos, observou-se a presença de diferentes espécies vetores no mesmo ambiente urbano, a exemplo de matrizes urbanas com presença de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* ocupando os mesmos nichos. Isso se deve ao fato de as duas espécies terem nítidas diferenças biológicas, onde uma tem hábito hematófago mais diurno e a outros um mais noturno, além de também se utilizarem de criadouros com características diferentes (Consoli; Oliveira, 1994).

Outra característica ecológica de notória relevância dentro desses vetores é o fato de muitas dessas espécies apresentam grande resiliência em resposta às mudanças climáticas. Projeções considerando os efeitos das mudanças climáticas sugerem que patógenos transmitidas por mosquitos se espalharão por áreas que

antes não eram encontradas por conta dessa característica. Iwamura e colaboradores (2020) preveem uma expansão de 2 a 6 km/ano na colonização de *Ae. aegypti* até 2050 na América do Norte e China. Modelos de Gorris e colaboradores (2024) preveem que, na América, *Culex* spp. tem grande chance de se espalhar pelo norte do Canadá e *Aedes* spp. continuará se expandindo rumo aos pólos (Iwamura et al., 2020; Gorris et al., 2024).

2.1.3.1 *Culex* spp.

Os culicídeos do gênero *Culex* são caracterizados por possuírem um corpo de porte médio, escamas de coloração marrom ou clara, sem brilho metálico visto em outros gêneros. São espécies essencialmente noturnas, atacando aves e mamíferos, incluindo humanos. Dentro do gênero, nas regiões tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil, uma das espécies de notável relevância médica é o *Cx. quinquefasciatus* Say 1823, que pode ser também encontrada como *Culex fatigans* na literatura (Consoli; Oliveira, 1994; Harbach, 2012).

Cx. quinquefasciatus, além das características de escamas com coloração marrom, também apresenta faixas claras distribuídas no abdômen. Essa espécie é vetor de patógenos como o nematódeo *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), o maior causador da filariose linfática no mundo. No Brasil, essa doença está em processo de erradicação, tendo como área endêmica a região metropolitana de Recife e o seu último caso registrado, segundo o ministério da saúde, tendo ocorrido em 2017. Porém, um estudo conduzido por Araújo e colaboradores (2023) verificou a presença do nematódeo em *Cx. quinquefasciatus* capturados no intervalo de 2016 a 2017, em São Luiz/MA, podendo indicar que o parasita não está restrito somente a cidade Recife, apontando ainda a presença de indivíduos reservatórios do parasita no território brasileiro (Consoli; Oliveira, 1994; Wilkerson, et al., 2021; Araújo et al., 2023; Gorris et al., 2024; Brasil, 2024).

Sobre *Cx. quinquefasciatus*, acrescenta-se ainda a capacidade de veiculação de arbovírus, como a que ocasionam a febre do Nilo Ocidental (WNV), registrada pela primeira vez no Brasil, em humanos, no ano de 2014, possui também um potencial de capacidade vetorial para o vírus da Zika, Encefalite de Saint Louis (SLEV), Vírus da

Encefalite Equina do Oeste (WEEV) e Vírus da Febre do Oropouche (OROV) (Guedes et al., 2017; Meireles, 2022; Gorris et al., 2024).

De hábito noturno, *Cx. quinquefasciatus* realiza a hematofagia no crepúsculo vespertino, com um pico próximo à meia-noite, dando preferência principalmente a sangue humano e, assim, sendo muito conhecida por perturbar o sono nas regiões de incidência. A realização de estudos aprofundados sobre este mosquito é de suma importância, considerando seu significativo potencial como vetor e sua prevalência no interior domiciliar e outros estabelecimentos urbanos. Essa espécie muitas vezes se encontra associada a grandes criadouros artificiais com contaminação orgânica, incluindo fossas sépticas, canaletas de drenagem e esgotos abertos. A presença desses criadouros pode ser indicativos de problemas na infraestrutura de redes de esgoto e falta de saneamento básico local, logo, a presença de *Cx. quinquefasciatus* pode ser indicativa desses problemas na região (Mattingly, 1963; Consoli; Oliveira, 1994; Lara et al., 2021).

2.1.3.2 *Aedes* spp.

Do gênero *Aedes*, duas espécies se destacam no Brasil, *Ae. albopictus* Skuse, 1894 e *Ae. aegypti*, ambas pela presença em ambientes antrópicos e capacidade vetorial, com hábito diurno. *Ae. albopictus* geralmente é associado a áreas com maior cobertura vegetal, zonas peridomiciliares, ou áreas de mata próximas a habitações, enquanto *Ae. aegypti* tem maior presença em ambientes intradomiciliares e mais urbanizados com concentração populacional (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Lima-Camara, 2006).

O *Ae. albopictus* é nativo do sudeste asiático caracterizado por possuir coloração escura com regiões de escamas brancas ou prateadas, e pela disposição de uma faixa de escamas brancas na região do tórax. Apresenta a capacidade de tolerar temperaturas baixas e está presente em quase todos os continentes, com exceção da Antártica. Devido a sua presença em ambientes rurais e suburbanos no Brasil, tem grande papel como potencial vetor em zonas rurais, mantendo a manutenção viral nessas áreas (Forattini, 2002; Lima-Camara, 2006; Caminade et al., 2012; Wilkerson et al., 2020; Swan et al., 2022).

O *Ae. aegypti* é nativa da África, pertencente a uma subespécie com hábitos de vida mais domésticos (*Ae. aegypti* subespécie *aegypti*) (Powell; Tabachnick, 2013; Crawford et al., 2017; Tchouassi et al., 2022). Caracterizado pela sua coloração escura com regiões brancas, muitas vezes reconhecido pelo seu padrão de escamas na região do tórax, formando um desenho branco em formato de lira. A espécie foi, e ainda continua sendo responsável por inúmeras epidemias no Brasil, representando risco à saúde da população. A título de curiosidade, estudos já estimaram que *Ae. aegypti* pode voar a até aproximadamente 2,4km de um ponto a outro, porém os mais recentes apontam que a distância média de voo se encontra entre 87m e 123m, ressaltando a sua capacidade como vetor em uma grande área, principalmente em matriz urbana com grande concentração de pessoas (Wilkerson et al., 2015; Wilkerson et al., 2020; Gonçalves; Lara, 2021; Moore; Brown, 2022).

Ambas as espécies, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são associadas a transmissão de arbovírus como os da dengue (DENV 1 - 4), chikungunya (CHIKV), Zika (ZIKV) e da febre amarela (YFV), estudos apontam também sua relação e potencial vetorial de outras arboviroses, como o vírus Mayaro (Wilkerson et al., 2015; Pereira et al., 2020; Gorris et al., 2024). A relação de transmissão viral desses vetores é complexa, uma infecção viral pode ocorrer por vetores carregando múltiplas arboviroses diferentes, a exemplo dos estudos que demonstraram a possibilidade de ocorrer coinfeção de DENV e CHIKV no mesmo indivíduo, ou múltiplos sorotipos de DENV. Em cenários semelhantes, uma única picada de *Ae. aegypti* pode transmitir simultaneamente ZIKV e CHIKV (Martins et al., 2014; Sardi et al., 2016; Zambrano, 2016; Näslund et al., 2021).

2.2 Epidemiologia no Brasil

No contexto epidemiológico brasileiro, os arbovírus com maior circulação são DENV, com os quatro sorotipos conhecidos, CHIKV e ZIKV. Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), até a semana epidemiológica 13, que compreende o primeiro trimestre de 2024, no Brasil, já foram registradas mais de 4 milhões de casos de dengue, onde desses, mais de um 40% foram confirmados por laboratório,

nos quais totalizaram 1365 óbitos relacionados (taxa de letalidade de 0,034% em cada caso). A título de comparação, durante todo o ano de 2023 foram registrados 3 milhões de casos, e em 2022, um total de 2,3 milhões (Donalisio, 2017; OPAS, 2024).

Para chikungunya, no Brasil, foram registrados mais de 260 mil casos em 2022, 265 mil em 2023 e mais de 170 mil casos até a 13ª semana epidemiológica de 2024, que compreende do início do ano até o final de março. Foi observado um aumento no número de casos, comparando os mesmos períodos de 2024 e 2023. Referente a Zika, foram registrados mais de 50 mil casos em 2022, já em 2024, até a 10ª semana, que compreende o primeiro bimestre, foram mais de 6 mil casos (OPAS, 2024).

2.2.1 Impactos econômicos

As arboviroses, além da problemática na saúde pública, também ocasionam impactos clínicos e econômicos para o País. Um estudo realizado por Teich e colaboradores (2017) estimou um custo de R\$2,3 bilhões em 2016, considerando gastos com controle do vetor (65%), custos médicos diretos (16%) e custos indiretos (19%), relacionados à perda de produtividade dos pacientes. Neste ano, segundo o mesmo autor, foram observadas aproximadamente 1,12 milhões de casos de dengue, 270 mil casos de chikungunya e 215 mil casos de Zika. Se utilizado os números de casos registrados em 2024, desconsiderando inflação e alteração de custos, no primeiro trimestre do ano, o País teria um gasto superior a R\$2,8 bilhões de custos médicos diretos e indiretos. Observa-se um custo elevado aos cofres públicos e à saúde humana causada pelos impactos vetoriais de *Aedes* spp., e pelas predições futuras, correlacionadas com as mudanças climáticas, há uma tendência de aumento, tanto de gastos públicos quanto de agravos à saúde (Teich et al, 2017; Adelino et al., 2020; Iwamura et al., 2020; Gorris et al., 2024; OPAS, 2024).

2.3 Metodologias de monitoramento de vetores

Diante desta problemática, e consequente aumento da circulação viral, metodologias e ferramentas que visam mensurar o nível de infestação, sua presença e ausência nas localidades analisadas, assim como circulação viral, vem sendo estudadas. A exemplo do LIRAA (Levantamento Rápido de Índice de *Aedes aegypti*), estratégia adotada no Plano Nacional de Controle de Dengue (PNCD), que utiliza como método a coleta de larvas nas residências da população para estimar um índice de infestação predial, além de durante sua execução, permitir que outros dados sejam também coletados, como por exemplo, os tipos mais comuns de criadouros artificiais encontrados nas residências, provendo informações para futuras aplicações de metodologia de controle (MS, 2002; MS, 2013).

Existem também métodos mais passivos de monitoramento, utilizados para mensurar a presença de vetores, como armadilhas de coleta de larva e, uma de maior destaque, armadilhas de oviposição (ovitrampa), consideradas mais econômicas. A ovitrampa foi desenvolvida por Fay e Eliasson (1966) e fornece dados sobre infestação precoce entre diferentes áreas, mesmo com a presença de outros criadouros nas proximidades. Estudos demonstram que a utilização da ovitrampa apresenta maior sensibilidade para a presença de *Aedes* spp., em comparação ao levantamento larval (LIRAA) (Marques et al., 1993; Valdés Miró, 2018; Who, 2018; Nascimento et al., 2020; Alves, 2023).

Metodologias que visam a captura de adultos também podem ser utilizadas, sendo ela passiva com uso de armadilhas ou ativa, a exemplo da utilização da metodologia descrita e adaptada por Nasci (1981), consistindo na utilização de um aspirador mecânico para captura de insetos adultos (Forattini, 2002; Who, 2018). A coleta de adultos pode ser utilizada para a realização de detecção e análise de circulação viral nos municípios, como demonstrado pelos estudos de Silva (2021), em Londrina/PR e Alves (2023), em Florestópolis/PR.

A análise de presença viral é uma ferramenta que auxilia na detecção de vírus em circulação, contribuindo para a prevenção e monitoramento de epidemias. Para tanto, utiliza-se técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), desenvolvida por Kary Mullis, em 1983, e aprimorada anos depois. Por meio dessa técnica é possível realizar análises e diagnósticos de amostras clínicas em tempo real. Nesse

cenário, para a realização de um teste de presença viral via PCR em tempo real, no caso de amostras conter o RNA viral de interesse, utilizando kits de detecção, processos e aparelhagem específicos. Um dos tipos de teste de presença converte o RNA viral em DNA complementar (por Transcrição Reversa), que é amplificado durante a PCR, permitindo que sondas fluorescentes (adicionadas antes do início da PCR) se liguem a essas moléculas e evidenciam sua presença por liberarem comprimentos de onda luminosos específicos, que são identificados pelos sensores dos aparelhos de análise. Neste caso, se a amostra não conter o RNA do vírus estudado, não ocorrerá a reação de detecção. Amostras de controle também são utilizadas para verificar se as análises foram feitas corretamente (Novais, 2004; Espy et al., 2006; Santos, 2015; Silva, 2021; Alves, 2023).

2.4 Controle vetorial

A partir dos dados do monitoramento do vetor, medidas de controle podem ser tomadas, sejam elas de controle populacional do vetor ou de diminuição da circulação vetorial. No Brasil, inseticidas químicos à base de piretróides (Praletrina) e neonicotinóides (Imidacloprida) são utilizados devido ao baixo custo e relativo fácil manuseio. Entretanto, o uso indevido e exacerbado de inseticidas ocasiona riscos à comunidade biológica devido a sua não seletividade, e ainda pode promover a seleção e proliferação de gerações de vetores mais resistentes a esses componentes, a exemplo da aparição da mutação alélica de resistência a piretróides - *kdr* (Knockdown resistance) - em culicídeos vetores em matriz urbana. A título de curiosidade, estudos realizados em Londrina/PR, pelo nosso grupo da Universidade Estadual de Londrina, evidenciaram uma frequência de 50%, nos indivíduos amostrados, para presença dos alelos de resistência *kdr* (MS, 2019; MS, 2020; Lopes, 2021; Silva, 2024 (no prelo)).

A fim de contornar essas problemáticas e ainda realizar o controle dos vetores de forma mais específica e sem selecionar indivíduos resistentes, metodologias originais e menos danosas mostram-se necessárias, como a utilização de agentes biológicos ou processos de edição gênica. Tais metodologias só são possíveis devido a pesquisas genéticas e ecológicas, a exemplo de estudos da microbiota presente dentro do organismo dos animais vetores, que possibilitou soluções como o uso da

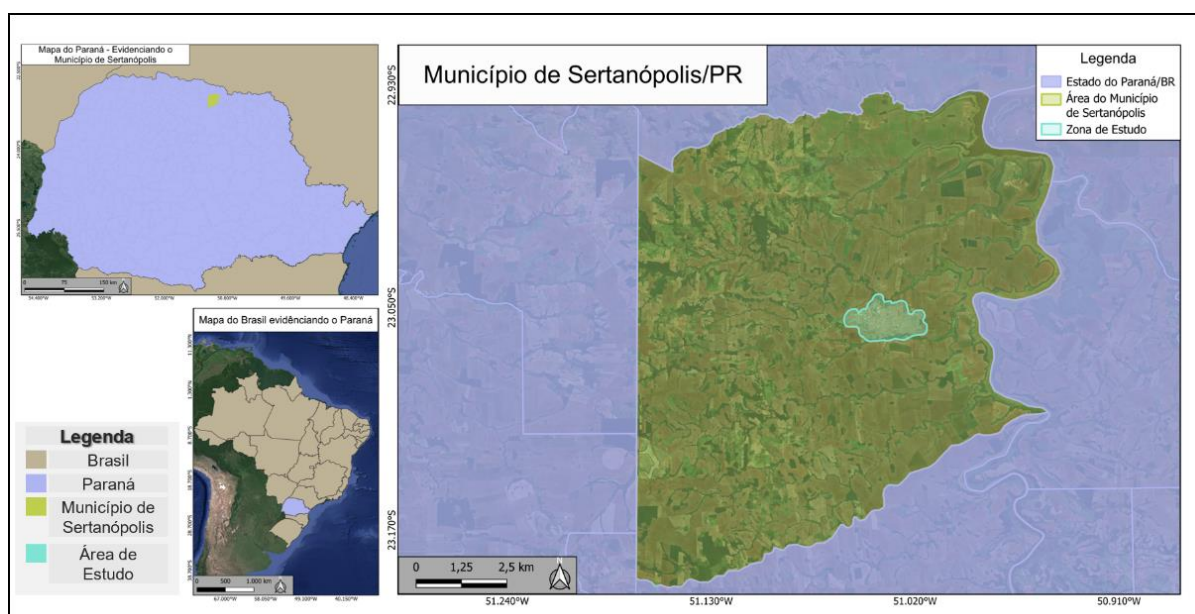
bactéria *Wolbachia* spp. Herting 1936, utilizada para inibir a transmissão de arbovírus, podendo também interferir na reprodução de *Ae. aegypti*, ou medidas utilizando técnicas de controle biológico, como o uso da bactéria *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Berliner 1911, utilizada no controle larval de Culicidae, Simuliidae e Chironomidae. (Lacey et al., 2015; Zequi et al., 2015; Saldaña et al., 2017; Oliveira et al., 2017b; Ant et al., 2022).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Área de Estudo

O presente estudo foi realizado no município de Sertanópolis, localizado no Norte do Estado do Paraná, no Sul do Brasil. O município compreende um território de 505,532 km² totais, sendo 8,23 km² de área urbana. Possui uma população de 15930 habitantes (IBGE, 2024). O clima, segundo Nitsche et al. (2019), na região de Sertanópolis/PR é classificado como subtropical úmido (Cfa) pela classificação de Köppen. A temperatura média no último ano se encontra próxima a 23°C, variando de 15°C de média mínima a 31°C de média máxima. A precipitação total nos últimos 12 meses foi de aproximadamente 1336mm, tendo precipitação média mensal de 111,32 mm, onde janeiro foi o mês com maior precipitação média e agosto o com a menor. A umidade relativa média observada girou em torno da faixa de 63% a 88% (Codeço, et al., 2018; Codeço et al., 2023; CLV, 2024; InfoDengue, 2024; INMET, 2024) (Figura 2).

Figura 2 - Mapa da localização do município de Sertanópolis - Paraná – Brasil, evidenciando a área de estudo dentro do município, no qual ocorreram as coletas de culicídeos adultos utilizando o aspirador de Nasci, no período de outubro/2023 a março/2024.



Fonte: IBGE, 2024. Elaboração: O próprio autor.

3.2 Coleta de adultos e demais procedimentos

Para a coleta de adultos foram designados sete pontos georreferenciados (Tabela 1), não sorteados, escolhidos com base na relevância médica e epidemiológica, no qual, como primeiro critério, foram selecionadas as UBSs devido a circulação de pessoas com situações de saúde agravantes e que buscam por diagnóstico, orientação e tratamento de diversas enfermidades, incluindo arboviroses. O segundo critério sendo a recomendação dos agentes de endemias do município, que por estarem envolvidos, principalmente, com a execução do LIRAA, tem grande conhecimento de campo. Ao total foram escolhidos sete pontos para amostragem: três Unidades Básicas de Saúde (UBS), três estabelecimentos comerciais (uma empresa de metalurgia, uma marcenaria artesanal e uma oficina) e uma residência, aos quais concederam autorização para a realização da pesquisa, sob os termos do município. As aspirações de adultos ocorreram de Outubro/2023 a Março/2024. A Figura 3 representa a distribuição espacial dos pontos de aspiração.

Tabela 1 – Pontos amostrados durante o projeto, no qual ocorreram as coletas de culicídeos adultos utilizando o aspirador de Nasci, no período de outubro/2023 a março/2024. Em evidência o nome dos pontos, a latitude e longitude das coordenadas geográficas e a abreviação utilizada durante a apresentação neste trabalho.

Pontos	Latitude	Longitude	Abreviação utilizada
(A02) Mecânica e Ferro Velho Dartora	-23,05728333	-51,05538333	(A02) Dart.
(A09) Metalurgica Torezan	-23,05608333	-51,04650000	(A09) Tore.
(A10) Nena (Residência)	-23,05791211	-51,04384082	(A10) Nena.
(A19) Marcenaria do Claudio	-23,06341667	-51,02895000	(A19) Clau.
(A20) Unidade Básica de Saúde - Romildo Rossato	-23,06061667	-51,02718333	UBS-3.
(A33) Unidade Básica de Saúde - Maria Casagrande Favoreto	-23,05316667	-51,03371667	UBS-2.

(SNA) Centro de Saúde Paulo Roberto Martins

-23,05852605

-51,03708273

UBS-1.

Fonte – o próprio autor.

Figura 3 - Mapa de área de estudo dentro do município de Sertanópolis, apresentando os pontos de amostragem realizadas durante o tempo de estudo, período de outubro/2023 a março/2024, no qual ocorreram as coletas de culicídeos adultos utilizando o aspirador de Nasci.



Fonte: IBGE, 2024; Google Inc., 2024. Elaboração: O próprio autor.

O georreferenciamento dos pontos de aspiração foi realizado com o software de sistemas Androide, “GPS Status & Toolbox” versão 11.2.313 – PRO, desenvolvido pela MobiWIA Kft. As coordenadas geográficas obtidas foram exportadas do dispositivo para o programa QGis (versão 3.34.5-Prizren) para a elaboração dos mapas, juntamente com o banco de dados do Google Maps, Datum SIRGAS 2000 e arquivos de imagens *shapefiles* disponibilizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2024).

Foram realizadas duas coletas mensais na cidade com intervalos de duas semanas entre cada visita. Cada coleta compreendia a amostragem de um grupo de locais, sendo organizado de forma que uma vez por mês, cada ponto era coletado ao menos uma vez, ao final totalizando 12 coletas por ponto amostral. Esse processo de

coleta biológica foi realizado sob licença permanente SISBIO/IBAMA (23093) e autorização do Serviço Municipal de Saúde (SERMUSA) de Sertãoópolis, vinculadas ao projeto de extensão intitulado: “Monitoramento e controle de Culicidae em áreas urbanas do norte do Paraná e ações integradas de educação ambiental” da Universidade Estadual de Londrina.

A coleta dos adultos foi realizada por meio do aspirador adaptado de Nasci (1981) (Figura 4). Este aspirador é constituído basicamente por um cilindro de alumínio acoplado a uma hélice e motor de 12 volts, alimentado por uma bateria estacionária. Um saco de tecido tule é amarrado na extremidade aberta do cilindro, ao qual os mosquitos serão capturados pela sucção da hélice e motor. Em cada ponto eram realizadas aspirações de 15 minutos, contando com auxílio de um cabo de bambu para promoção do deslocamento dos culicídeos escondidos e facilitando sua captura pelo aspirador. A metodologia de captura de adultos adotada é similar a utilizada nos estudos de Alves (2022) e Silva (2021). Ao final de cada coleta, o saco de tule era desacoplado do aspirador e amarrado, para depois ser armazenado em uma caixa de isopor acimatada com ajuda de algodão úmido e gelo gel artificial reutilizável, para transporte (Figura 4).

No laboratório de Entomologia Geral e Médica da Universidade Estadual de Londrina, os adultos eram expostos a uma temperatura de $-12\pm 6^{\circ}\text{C}$, dentro de um freezer de geladeira convencional, por um período aproximado de 10 minutos, com o intuito de diminuir seu metabolismo e cessar seu movimento para a triagem e identificação utilizando chaves de identificação disponíveis em WRBU (2024). Posteriormente, cada indivíduo foi armazenado em um microtubo de trava dupla com capacidade para 0,5mL, nos quais foram identificado e organizados por ponto de amostragem, espécie específico e sexo. Após a separação, os adultos foram armazenados em um freezer a -80°C , para preservação do material genético até a realização da extração (Figura 4).

Figura 4 Figura 4 - (A) Fotos dos materiais utilizados em campo para coleta dos adultos no município de Sertanópolis, durante o período de execução do projeto (outubro/2023 a março/2024), na foto constando: (A) aspirador de Nasci conectado a bateria estacionária de alimentação, bolsa de campo e bolsa de transporte da bateria, sacos de tule e caixa de isopor; (B) Foto do local de armazenamento do adultos – freezer a $-80\pm 2^{\circ}\text{C}$, na Universidade Estadual de Londrina, após sua devida identificação, com o intuito de preservar o material genético até a realização da extração.



Fonte: O próprio autor.

Todos os adultos capturados até a data de 03 de março de 2024 foram levados ao Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC), da Universidade Federal do Paraná (Setor de Ciências Biológicas – Departamento de Zoologia) para a realização de procedimentos de detecção de arbovírus. O transporte ocorreu por meio de caixas de isopor contendo gelo seco, para manutenção da temperatura baixa durante todo o processo. Em laboratório, utilizando-se de uma mesa refrigerada, os adultos foram conferidos e reorganizados, separando por grupos de acordo com o sexo, local de captura e dia de coleta, para serem armazenados para futuras análises. Os grupos foram armazenados em microtubos de 1,5mL, onde grupos contendo fêmeas ingurgitadas com sangue eram identificados para futuras comparações. Dentre os grupos, somente fêmeas de *Ae. aegypti* foram

selecionadas e organizadas para as análises virais, separando-as de acordo com o local de coleta e de acordo com as estações do ano – primavera e verão. Essa classificação foi utilizada para definir os *pools* das análises de RNA.

3.3 Análise viral

Para o processo de detecção viral por PCR em tempo real, iniciou-se o processo com a extração do conteúdo das amostras, utilizando o kit QIAamp Viral RNA (Qiagen®), seguindo o protocolo indicado pelo fabricante. Cada *pool* de fêmeas passou por um processo de maceração, com o acréscimo de 140 uL de uma solução tampão de fosfato-salino (PBS) para a extração segura de ácidos nucleicos. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 15 minutos, a 4°C com rotação de 13.000 rpm, com o objetivo de se obter um sobrenadante para, em seguida ser tratado e realizar o processo da PCR e análise viral.

Como medida de controle do processo, antes de se realizar as análises virais e PCR, verificou-se a quantidade e qualidade do RNA extraído utilizando um espectrofotômetro NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™). Com as amostras verificadas, prosseguiu-se com as análises de presença viral, com o Kit Multiplex XGEN MULT ZDC (XG-ZDC-MB), seguindo suas instruções de uso do fabricante. Para cada teste, utilizou-se 10 uL da amostra de RNA extraída somadas a 15 uL da solução para amplificação, que consiste em uma solução tampão, Primers-Sonda (PS) e enzimas. Para o teste para presença do DENV e CHIKV foi utilizado a mesma reação, onde os resultados da PCR em tempo real foram elucidados em dois comprimentos de onda diferentes, 520nm usando fluoróforo FAM para DENV positiva (representado pelo verde no resultado) e 550nm no fluoróforo JOE/VIC para CHIKV positiva (amarelo). Para o teste de presença de RNA do ZIKV, foi utilizada uma reação contendo outro Primer-Sonda, e o resultado é demonstrado no comprimento de onda 550 nm, no fluoróforo ROX/TEXAS RED (representado pela cor laranja). As análises de ZIKV e CHIKV foram feitas de forma separada pois a reação de Primers-Sonda aparecerem no mesmo comprimento de onda lido pelo aparelho. Todo o processo de PCR em tempo real foi realizado por meio do termociclador Rotor-Gene Q (Qiagen®), que também gerou os gráficos de visualização dos resultados.

3.4 Análise de dados

As análises estatísticas e exploratórias foram realizadas com o uso do programa Microsoft Excel (Microsoft 360, ano 2024) e RStudio (versão 2023.12.1), com auxílio dos pacotes “RVAideMemoire” - *Testing and Plotting Procedures for Biostatistics* (Herve, 2023), “car” - *Companion to Applied Regression* (Fox et al., 2019), “rstatix” - *Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests* (Kassambara, 2023), “ggplot2” - *Elegant Graphics for Data Analysis* (Wickham et al., 2016) e “corrplot” - *Visualization of a Correlation Matrix* (Wei; Simko, 2024), para análises e elaboração de gráficos. Para a análise dos resultados, adotou-se significância de p-valor de 0,05 por padrão nos testes estatísticos.

3.4.1 Análise de distribuição de dados

Os dados obtidos das coletas e demais variáveis testadas foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk (Shapiro; Wilk, 1965) para teste de normalidade, e em seguida, devido as variáveis calculadas não seguir uma normal, foi-se utilizado o teste de Kruskal-Wallis (Kruskal; Wallis, 1952) para averiguar diferenças entre as variáveis amostradas. Um teste de Dunn (Dunn, 1964) foi feito para comparação das variáveis e evidenciar suas diferenças.

3.4.2 Análise das Variáveis Climáticas

A abundância de culicídeos capturados durante os seis meses de coleta foi relacionada a valores de temperatura, umidade e precipitação mensal. Os dados meteorológicos foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia, sendo utilizadas os dados da estação automática A718, localizada em Rancharia/SP, devido a sua

maior proximidade com o município de Sertanópolis/PR (76 Km) e pela consistência dos dados medidos (INMET, 2024).

Os valores de correlação foram obtidos pelos coeficientes “cor” do teste de correlação de Pearson (Hair, 2014; Akoglu, 2018). A interpretação dos valores do coeficiente de correlação representa uma correlação inexistente se no intervalo de -0,3 a 0,3, fraca se no intervalo de 0,3 a 0,5 ou -0,3 a -0,5, moderada se no intervalo entre 0,5 a 0,7 ou -0,5 a -0,7, forte se no intervalo entre 0,7 a 1 ou -0,7 a -1, e perfeita caso 1 ou -1 (Chan, 2003; Akoglu, 2018; Alves, 2023).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Culicídeos adultos capturados e pontos amostrados

Foram capturados 455 culicídeos adultos, destes sendo 266 machos (aproximadamente 58%) e 189 fêmeas (aproximadamente 42%). Desse total, 319 pertenciam a gênero *Culex* spp. (45% fêmeas e 55% machos) – nível de espécie não foi identificado, 135 pertenciam a *Ae. aegypti* (35% fêmeas e 65% machos) e 1 indivíduo pertencia a *Ae. albopictus* (macho). A quantidade total de indivíduos coletados por pontos em cada local de coleta pode ser observada na Tabela 2, o ponto amostrado com presença de *Ae. albopictus* pode ser visto em destaque, com “*”.

Tabela 2 - Tabela com o total de adultos do gênero *Aedes* spp. e *Culex* spp. capturados com aspirador de Nasci nos sete pontos amostrados mensalmente no município de Sertanópolis/PR, de outubro/2023 a março/2024. “*” representando presença de 1 indivíduo de *Ae. albopictus* e “-” representando coleta não realizada.

Mês	Local	Espécie capturada				Mês	Local	Espécie capturada			
		<i>Culex</i> spp.		<i>Aedes</i> spp.				<i>Culex</i> spp.		<i>Aedes</i> spp.	
		Fe.	Ma.	Fe.	Ma.			Fe.	Ma.	Fe.	Ma.
Mês de Coleta 01 (out/23)	UBS-1	1	11	3	4	Mês de Coleta 04 (jan/24)	UBS-1	0	0	0	1
	UBS-2	24	60	0	4		UBS-2	0	0	2	4
	UBS-3	1	0	0	0		UBS-3	0	0	0	0
	(A19) Clau.	0	0	0	0		(A19) Clau.	0	0	0	0
	(A02) Dart.	5	1	3	8		(A02) Dart.	1	1	0	9
	(A09) Tore.	22	26	0	0		(A09) Tore.	1	3	3	0
	(A10) Nena.	6	5	0	0		(A10) Nena.	0	0	0	1
Mês de Coleta 02 (nov/23)	UBS-1	0	1	0	0	Mês de Coleta 05 (fev/24)	UBS-1	0	1	2	5
	UBS-2	9	19	0	0		UBS-2	6	0	0	0
	UBS-3	1	0	0	0		UBS-3	0	0	0	0
	(A19) Clau.	0	2	0	0		(A19) Clau.	0	0	1	0
	(A02) Dart.	0	2	7	4		(A02) Dart.	0	0	4	5
	(A09) Tore.	34	20	2	4		(A09) Tore.	4	2	4	7
	(A10) Nena.	4	0	0	0		(A10) Nena.	1	0	5	9
Mês de Coleta 03 (dez/23)	UBS-1	1	0	0	2	Mês de Coleta 06 (mar/24)	UBS-1	0	1	2	2
	UBS-2	1	0	1	5*		UBS-2	0	9	0	0
	UBS-3	0	0	0	0		UBS-3	1	0	0	0
	(A19) Clau.	0	0	0	0		(A19) Clau.	-	-	-	-
	(A02) Dart.	0	0	4	6		(A02) Dart.	12	6	0	2
	(A09) Tore.	1	3	0	1		(A09) Tore.	5	3	1	2
	(A10) Nena.	1	1	3	4		(A10) Nena.	-	-	-	-

*representa coleta com *Aedes albopictus* presente (n= 01), demais aparições representam *Aedes aegypti*; - representa que não foi realizada coleta no mês.

O último mês amostrado não apresentou coletas em dois pontos devido a situações específicas de cada um. No referido "(A19) Clau." o responsável pelo local não foi encontrado em todos os dias de visita ao município. Já em "(A10) Nena." o morador não estava disponível para a realização da coleta durante o mês de amostragem.

Referente aos dados obtidos, na localidade "(A09) Tore", foi registrada a maior quantidade absoluta de adultos coletados. Esse ponto está situado dentro das instalações de uma metalúrgica e se caracteriza por possuir uma ampla área aberta e coberta, além de uma pequena área fechada com sistema de aclimatização. Ambos os locais com grande circulação de pessoas.

No início das coletas na localidade, observou-se uma máquina de corte de chapas de metal que acumulava grande volume de água (devido às necessidades do equipamento). Nessa máquina, foram encontradas larvas (não identificadas) e adultos do gênero *Culex* no entorno. A presença dessa máquina possivelmente influenciou os grandes números de adultos capturados nas primeiras coletas (totalizando 102 indivíduos). A partir da terceira coleta, o criadouro passou a ser tratado com bioinseticida comercial (marca e tipo de produto não divulgados) pela empresa. O local também apresentou o 2º maior número de *Ae. aegypti* capturado.

Os pontos de coleta "UBS-2" e "UBS-3" referem-se a Unidades Básicas de Saúde. Possuindo condições arquitetônicas semelhantes, ambas são de ambiente fechado e aclimatado, com grande circulação de pessoas em busca de atendimentos básicos de saúde. A aspiração dentro do prédio em ambos os locais geralmente resultava em poucos adultos coletados, porém, a situação da "UBS-2" se diferia devido a um almoxarifado, localizado do lado de fora do prédio principal, onde foram capturadas a maior parte dos adultos coletados neste ponto. Esta situação surpreendeu-nos, já que foram capturados mais de 80 adultos na primeira coleta e 28 na coleta seguinte, todos oriundos do referido almoxarifado, sendo em grande maioria, *Culex* spp.

De todos os adultos obtidos, nota-se que *Culex* spp. esteve presente em todos os locais de coleta, aparecendo em maior abundância em "UBS-2" (128 indivíduos), seguida por "(A09) Tore." (124 indivíduos) e "(A02) Dart." (28 indivíduos). É importante ressaltar que dentro do gênero *Culex*, a espécie *Cx. quinquefasciatus* é a mais comum em ambientes urbanos na região e possui potencial de capacidade vetorial para vírus como os da encefalite (SLEV, WEEV) e outras arbovirose (WNV, OROV e ZIKV). A

presença desses culicídeos também é um indicativo da existência de grandes criadouros com contaminação orgânica nas proximidades, apontando, talvez, possíveis problemas de infraestrutura urbana na região. Mesmo o IDH do município sendo considerado alto (0,723), os dados de abundância apontam que problemas pontuais podem estar ocorrendo nas regiões próximas (Consoli; Oliveira, 1994; Lindoso; Lindoso, 2009; Lara et al., 2021; Gorris et al., 2024; IBGE, 2024).

Os adultos de *Ae. aegypti*, por sua vez, foram capturados em sua maioria (39%) na localidade “(A02) Dart.”, uma Mecânica e Ferro Velho, localizada às margens da região urbana de Sertanópolis. Como na localidade eram prestados serviços de ferro velho, foram identificadas, em todos os dias de coleta, carcaças e peças de veículos sobressalentes somadas a pneus usados, todos expostos a céu aberto, situação agravante pois proporciona criadouros artificiais para *Ae. aegypti*. O histórico da região fora relatado pelos agentes de endemias do município como sendo “problemática”, com níveis preocupantes do índice obtido pelo LIRAA, situação também demonstrada pelo número de adultos de *Ae. aegypti* capturados na localidade dentro do período amostrado. É importante ressaltar que na data de 06/fev e 04/mar foi realizada a aplicação de UBV (Ultra Baixo Volume) costal (inseticida a base de piretróides e neonicotinóides aplicado em ultrabaixo volume com uso de bomba costal) pela equipe de endemias, como manobra de bloqueio (MS, 2019), uma alteração da média de adultos capturados foi observada na coleta após 04/mar – sendo a média anterior ao dia 10,25 e média após o dia de 2,0.

Nos pontos de amostragem “(A09) Tore.”, “(A10) Nena” e “UBS-1” também foram observadas a presença de *Ae. aegypti*, totalizando 24, 22 e 21 adultos capturados respectivamente. Referente ao ponto “(A10) Nena”, ele se localiza dentro do terreno da casa de um dos habitantes da cidade, caracterizado por possuir uma vasta quantidade de plantas envasadas nas dependências da propriedade. A aspiração no local foi realizada somente no entorno da casa do morador. Salienta-se que durante o período de coleta, no mês de fevereiro, próxima a 4ª coleta realizada no local, um morador vizinho a residência foi diagnosticado com dengue. Somada a essa situação, o morador da residência também veio a ser diagnosticado com dengue, no mês de abril, depois da última coleta amostrada. Situação essa que implica na presença de criadouros constantes na região, já que em um período relativamente curto, dois meses de diferença, esses dois casos foram confirmados nas duas residências.

4.2 Detecção de DENV 1-4, ZIKV e CHIKV em fêmeas de *Ae. aegypti*.

Ao total, foram avaliadas 42 fêmeas de *Ae. aegypti*, correspondendo aos cinco primeiros meses de coleta. As amostras foram organizadas por local de captura e por estação do ano no dia de captura, sendo consideradas “primavera” do intervalo de 23/set a 21/dez e “verão” do intervalo de 22/dez a 21/mar. Foram organizadas ao total 8 pools para a realização do teste de detecção viral, conforme disposto no Quadro 1.

Quadro 1 - Demonstrativo da classificação e grupos para formação dos pools das amostras e os resultados de quantidade e qualidade do RNA (caracterização da extração) obtidas pelo espectrofotômetro NanoDrop™ 2000 após a extração nas dependências do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) – a legenda dos pontos da amostragem apresentados pode ser verificada na Tabela 1.

Classificação e organização das amostras				Caracterização da extração de RNA (NanoDrop™ 2000)		
<i>Pools</i>	Pontos da amostragem	Quantidade de Fêmeas (<i>Ae. aegypti</i>)	Estação do ano	Concentração de Ácidos nucleicos (ng μL^{-1})	260/280*	260/230**
1	UBS-1	3	Primavera	85,6	2,4	0,65
2	(A2) Dart.	10	Primavera	249,9	2,28	2,57
3	(A9) Tore.	2	Primavera	57,4	2,25	0,61
4	UBS-2	3	Verão	75,1	2,35	2,22
5	(A2) Dart.	8	Verão	161,7	2,3	4,01
6	(A9) Tore.	7	Verão	351,9	2,27	2,6
7	(A10) Nena	8	Verão	246,3	2,29	2,73
8	(A19) Clau.	1	Verão	79,9	2,36	10,06

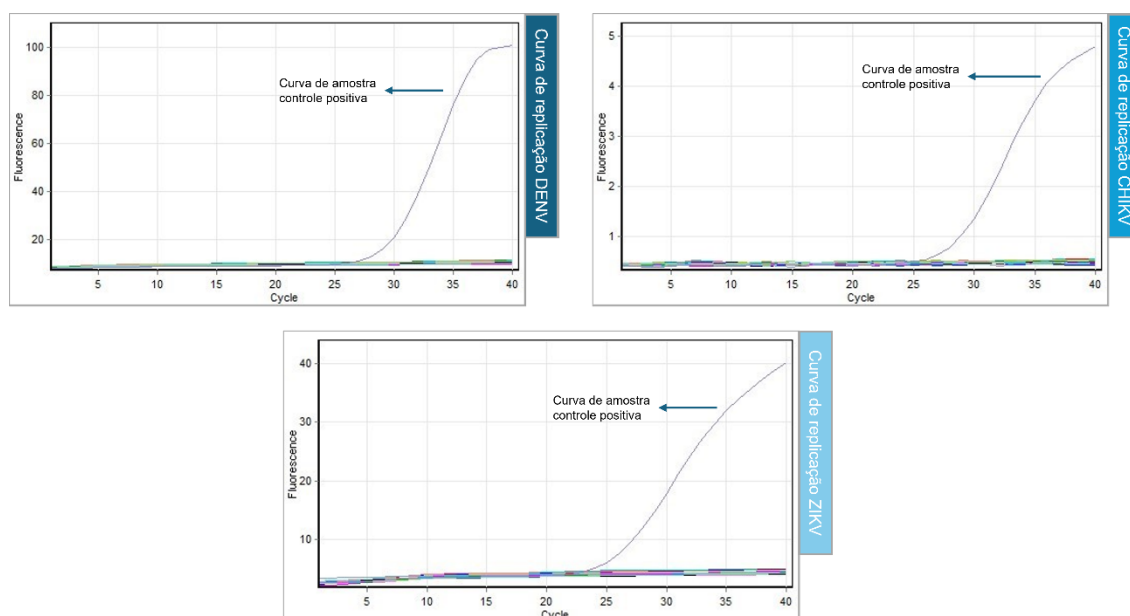
* valores gerados pelo NanoDrop 2000, correspondentes a pureza das amostras extraídas com relação aos ácidos nucleicos detectados, valores acima de 2,00 representam a presença de RNA.

** valores gerados pelo NanoDrop 2000, correspondentes a pureza das amostras extraídas em relação presença de contaminantes e proteínas na amostra, valores próximos a 2,00 representam pouca presença de contaminantes.

Segundo as medidas utilizadas para a caracterização de qualidade e quantidade do RNA extraído, seguindo protocolo do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC), as amostras foram classificadas como boa extração de RNA, porém as amostras dos *Pool* 1, 3, 4 e 8 tiveram presença significativa de contaminantes detectada (Quadro 1).

Dos testes de detecção viral realizados, nas amostras analisadas, não foram confirmadas a amplificação de RNA de DENV, CHIKV e ZIKV em nenhuma das amostras (Figura 5). É importante ressaltar que durante o período de coleta, dentro do território do município, foram reportados 1142 casos de Dengue, 0 casos de Chikungunya e Zika, o que, levado em consideração a população do município, seriam aproximadamente 68,4 casos para cada 1000 habitantes em todo o período (Codeço et al., 2023; Infodengue, 2024).

Figura 5 - Curva de amplificação em tempo real de RNA viral – gerado por software do Termociclador Rotor-Gene Q, extraído de fêmeas de *Ae. aegypti* para DENV (no canal FAM), CHIKV (no canal JOE/VIC) e ZIKV (no canal ROX) durante as análises em laboratório das fêmeas capturadas durante o projeto (outubro/2023 a março/2024) em Sertãoópolis/PR.



Fonte: O próprio autor.

A ausência de resultados positivos de detecção viral, segundo Gu e Novak (2004), é associada à baixa quantidade de amostras e taxas de infecção de arbovírus nos mosquitos. Levando em consideração somente o número amostral ideal, para taxas de 80% de detecção, modelos indicam que um mínimo de 1600 indivíduos deve ser coletado e para 50%, um mínimo de 700 indivíduos. Nesse cenário, a área de coleta e algumas variáveis climáticas também devem ser levadas em consideração para melhores taxas de detecção e infecção viral. Se a amostragem ocorrer em áreas com melhores taxas de infecção na população (*Hotspots*), as chances de detecção viral também serão maiores. Estudos também apontam que a própria ecologia viral

tem papel na alteração dessas taxas de encontro, influenciando na contaminação viral dos próprios vetores (Watts, 1987; Gu; Novak, 2004; Gu et al., 2008; Morin et al., 2013; Dos Reis et al., 2019).

Em pesquisas similares, com número amostral também considerado baixo, as taxas de detecção viral também foram pequenas e tiveram influência de diferentes condições. No estudo de Dos Reis e colaboradores (2019), 1068 adultos foram capturados, desses a taxa de detecção foi de 16,2%, o autor relata que durante o período das amostragens, 104 casos de dengue foram reportados próximos a um dos pontos de coleta, muitos a até 150m de distância. No estudo de Silva (2021), 110 culicídeos foram capturados na região urbana de Londrina/PR durante um período de elevados casos de arboviroses em humanos, sendo detectado a presença viral de dengue em um pool de 17 fêmeas capturadas dentro de uma UBS no município. No estudo de Câmara e colaboradores (2022), 827 mosquitos de duas espécies, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* capturados em região urbana e rural de Itaboraí/RJ e Macacu/RJ foram testados, destes nenhum apresentou presença viral para DENV, CHIKV, ZIKV e YFV.

Uma pesquisa realizada no município de Florestópolis/PR, com metodologias similares ao deste presente estudo, foi realizado entre 2021 e 2022, testando um total de 225 fêmeas, também não havendo detecção viral de DENV, CHIKV e ZIKV, ressaltando que, durante seu tempo de pesquisa, poucos foram os casos confirmados dentro do município. A situação de não detecção viral, portanto, não é necessariamente específica deste estudo, estando relacionada principalmente com o número amostral e transmissão viral próximas aos pontos de coleta no município.

4.3 Análises de distribuição populacional e correlações climáticas

Para verificar como a distribuição das espécies *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Culex*. spp ocorreu, levando em consideração suas taxas de captura no tempo amostrado, primeiramente foi realizado o teste de Shapiro Wilk, onde verificou-se que a distribuição dos adultos capturados não seguia uma normal. Realizando o teste de Kruskal-Wallis, verificou-se que as diferentes distribuições das espécies têm diferença significativa (p-valor = 0.001822) com número amostral de 455 adultos. Para verificar

a comparação entre pares, foi utilizado o teste Post-hoc de Dunn (Anexo 1). Observa-se que entre a distribuição de *Ae. aegypti* e *Culex* spp não foi encontrada diferença significativa, já entre essas duas espécies e *Ae. albopictus* foi verificada diferença significativa, o que pode ser interpretado como, dentro do número amostral analisado, *Ae. aegypti* e *Culex* spp são igualmente distribuídos, já *Ae. albopictus* não, podendo ter relação com a densidade das espécies e nicho ecológico, assim como apontado nos estudos de Lima-Camara (2006).

Também foram realizadas análises de correlação de Pearson associando o número de adultos coletados com variáveis climáticas observadas mensalmente. No estudo foram utilizadas Temperatura (°C), Umidade Relativa (%) e Pluviosidade (mm), atribuindo agrupamentos diferentes para cada variável, onde foram separadas por média mensal observada (TempM, UmiRel), médias mínimas mensais observadas (TempMMin, UmiRMin), valores observados com 15 dias de antecedência as coletas (TempM15, Pluvi15) e valores totais observados (PluviT).

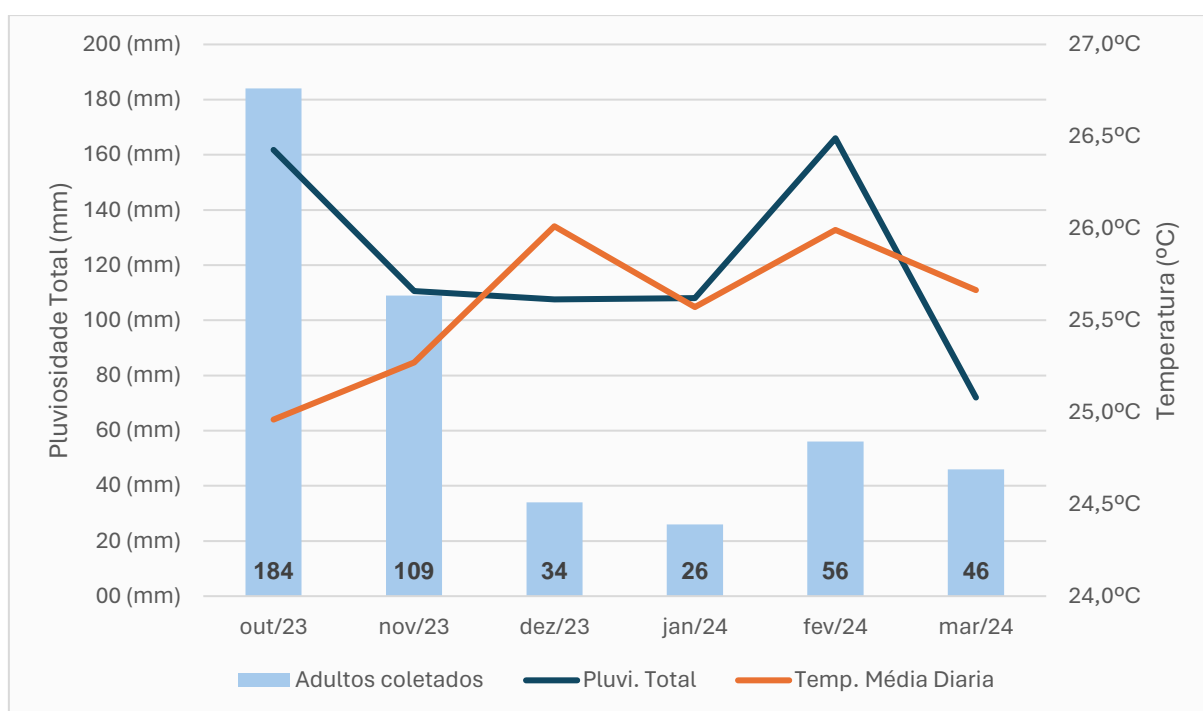
Para a realização das correlações, inicialmente o teste de Shapiro Wilk foi executado, o que resultou no teste demonstrando que todas as distribuições seguiram uma tendência normal. Verificou-se também que elas não apresentavam *outliers* (verificado por gráficos de caixa) e tinham homoscedasticidade (verificada com base nos resíduos das comparações). Dos resultados obtidos pelo Teste de Pearson (*cor*), somente Temperatura Média Mensal e Temperatura Mínima Mensal apresentaram correlação com *p*-valor significativo (menor que 0,05), apresentando *cor* de -0,8506 (com 95% de confiança para o intervalo de -0.9833455 a -0.1260839) e -0,8461 (-0.9828159 a -0.1105189) respectivamente. Ambos os valores de *cor* são compreendidos como sendo correlação inversa e forte (maior que 0.7), porém observou-se que ao estimar esse valor amostrados para a população, com 95% de confiabilidade, o intervalo entre a maior probabilidade de *cor* e a menor possibilidade para *cor* apresentado foram muito discrepantes, insinuando que o número de amostras utilizado para os testes foi muito pequeno.

Um teste de correlação associando os casos de dengue e os adultos de *Aedes* spp. capturados também foi feito, porém, não foi encontrado correlação significativa. É importante notar também a influência desses resultados com o fato de as amostragens não terem sido aleatorizadas, e sim escolhidas com base em sua importância epidemiológica para o município. O resultado pode não representar a real

situação total dentro da zona urbana do município, mas aponta as condições encontradas nas parcela amostrada.

Ao final, um gráfico apresentando os valores médios de Temperatura, Pluviosidade e número de adultos coletados em cada mês também foi construído para elucidar as curvaturas e relações observadas entre os valores (Figura 6).

Figura 6 – Gráfico apresentando o “número de adultos coletados”, “pluviosidade total” e “temperatura média diária” observados e obtidos mensalmente durante a execução do projeto no município de Sertanópolis/PR, durante o período de outubro/2023 a março/2024.



Fonte: O próprio autor.

Valores diretos de pluviosidade total podem não estar diretamente relacionados com o número total de adultos coletados em cada mês, devido a biologia e ciclo de vida dos vetores, que dependem de pelo menos 15 dias para o surgimento de novas gerações de adultos. Porém, deve-se levar em consideração que, durante as análises estatísticas, o número de adultos coletados não apresentou correlação com os valores de pluviosidade total com 15 dias antecedendo a aspiração, reforçando que, para o período amostrado, não houve correlação detectada entre os dados amostrados, podendo estar mais relacionada com a presença de criadouros artificiais que independem de pluviosidade, somadas a possíveis influências dos

próprios locais amostrados, ou outras variáveis, como os dias onde ocorreram as chuvas não serem distribuídas igualmente entre o tempo amostrado.

5 CONCLUSÃO

A realização de monitoramento de adultos é uma importante ferramenta para discutir e analisar fatores referentes a população dos Culicidae vetores, sua presença nas localidades e até sobre seu comportamento aunautógeno dentro da região urbana do município, podendo auxiliando na aplicação de metodologias de controle. A grande abundância de adultos apresentadas em alguns pontos amostrados no município, além de apontar a existência regiões de risco de infestação do vetor, que facilitam a veiculação de arboviroses, também elege as localidades que mais necessitam de atenção sanitária e controle vetorial.

Realizar o monitoramento também dentro de locais críticos para a saúde, como UBS ou em regiões com alta circulação de pessoas pode prover informações de importância epidemiológica. A presença de adultos vetores, mesmo que em pequena quantidade dentro desses estabelecimentos pode propiciar, assim como apresentado na pesquisa de Silva (2021), maiores chances para ocorrência de transmissão de arboviroses e outros patógenos veiculados por esses vetores, entre diferentes públicos, sejam aqueles que estão buscando atendimento de saúde, entre a própria equipe de trabalho e os moradores no entorno dessas regiões, devido à grande capacidade de veiculação desses vetores.

Referente a detecção de vírus, diferentes trabalhos apontam que maiores taxas de captura de adulto vetores são necessárias para maiores chances de encontrar amostras com material genético de vírus de interesse, portanto, para detectar a presença dos arbovírus DENV, ZIKV e CHIKV, é necessário ressaltar a necessidade de uma maior abrangência da área de coleta e uma extensão da duração da amostragem, tendo em vista que, durante o período amostrado deste trabalho, não foram detectadas presença desses arbovírus nas amostras coletadas.

O trabalho de monitoramento em Sertanópolis terá continuidade, com seus resultados sendo apresentados em trabalhos futuros. Assim como já exposto, as diversas atividades de monitoramento realizadas podem auxiliar as equipes de saúde e combate a endemias, além dessa ação podendo ser integradas ao PNCD como uma ferramenta de monitoramento de Culicidae adultos e circulação viral.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELINO, J. R. P. et al. The economic costs of biological invasions in Brazil: a first assessment. **NeoBiota**, v. 67, p. 349–374, 29 jul. 2021.

AKOGLU, H. User's Guide to Correlation Coefficients. **Turkish Journal of Emergency Medicine**, v. 18, n. 3, p. 91–93, set. 2018.

ALVES, A. C. F. **Integração De Ferramentas De Detecção Precoce E Monitoramento De Circulação De Arbovírus Em Culicídeos Vetores Em Área Urbana No Norte Do Paraná**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)—Universidade Federal Do Paraná - Setor de Ciências Biológicas - Departamento de Zoologia, Área de concentração: Entomologia - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2023.

ANT, T. H. et al. *Wolbachia*-Virus interactions and arbovirus control through population replacement in mosquitoes. **Pathogens and Global Health**, v. 117, p. 1–14, 7 out. 2022.

BERGO, E. S. et al. Avaliação do desenvolvimento larval de *Anopheles darlingi* criado em laboratório sob diferentes dietas. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 95–100, abr. 1990.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Filariose Linfática (Elefantíase)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/elefantiose>>. Acesso em: 19 abr. 2024.

CÂMARA, D. C. P. et al. Entomological Surveillance of *Aedes* Mosquitoes: Comparison of Different Collection Methods in an Endemic Area in RIO de Janeiro, Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 7, p. 114–114, 22 jun. 2022.

CAMINADE, C. et al. Suitability of European climate for the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*: recent trends and future scenarios. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 9, n. 75, p. 2708–2717, 25 abr. 2012.

CAMPANA, L. et al. Comparison Between Larval Survey Index and Positive Ovitrap Index in the Evaluation of Populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) North of Paraná, Brazil. **Environmental Health Insights**, v. 14, p. 1–8, 2020.

CARVALHO, C. J. B. DE et al. Diptera Linnaeus, 1758. In: RAFAEL, J. A. et al. (Eds.). **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. 2. ed. Ribeirão Preto, SP: INPA, 2024. p. 783–831.

CHAMBERS, G. M.; KLOWDEN, M. J. Nutritional Reserves of Autogenous and Anautogenous Selected Strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 31, n. 4, p. 554–560, 1 jul. 1994.

CHAN, Y. H. Biostatistics 104: Correlational Analysis. **Singapore Med J**, v. 44, n. 12, p. 614–619, 2003.

CHOUIN-CARNEIRO, T.; SANTOS, F. B. DOS. Transmission of Major Arboviruses in Brazil: The Role of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Vectors. **Biological Control of Pest and Vector Insects**, 5 abr. 2017.

CLV - CEDAR LAKE VENTURES, INC. **Clima, condições meteorológicas e temperatura média por mês de Sertãoópolis (Brasil) - Weather Spark**. Disponível em: <<https://pt.weatherspark.com/y/29731/Clima-caracter>>. Acesso em: 24 abr. 2024.

CODEÇO, C. et al. Infodengue: A nowcasting system for the surveillance of arboviruses in Brazil. **Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique**, v. 66, n. 0398-7620, p. S386, jul. 2018.

CODEÇO, C. T. et al. **Relatório 02/23 do Grupo Infodengue**. [s.l.] PROCC/Fiocruz e EMap/FGV, 26 out. 2023.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994.

CRAWFORD, J. E. et al. Population genomics reveals that an anthropophilic population of *Aedes aegypti* mosquitoes in West Africa recently gave rise to American and Asian populations of this major disease vector. **BMC Biology**, v. 15, n. 1, 28 fev. 2017.

DONALD, C. L.; SIRIYASATIEN, P.; KOHL, A. *Toxorhynchites* Species: A Review of Current Knowledge. **Insects**, v. 11, n. 11, 30 out. 2020.

DOS REIS, I. C. et al. Entomo-virological surveillance strategy for dengue, Zika and chikungunya arboviruses in field-caught *Aedes* mosquitoes in an endemic urban area of the Northeast of Brazil. **Acta Tropica**, v. 197, p. 105061, 1 set. 2019.

DOU, X. et al. Multiple endocrine factors regulate nutrient mobilization and storage in *Aedes aegypti* during a gonadotrophic cycle. **Insect science**, v. 30, n. 2, p. 425–442, 19 set. 2022.

ESPY, M. J. et al. Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 165–256, 1 jan. 2006.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Identificação, Biologia e Epidemiologia**. São Paulo: Edusp, 2002. v. 2

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Princípios gerais, Morfologia, Glossário Taxonômico**. São Paulo: Edusp, 1996. v. 1

FORATTINI, O. P. **Entomologia Medica**. Universidade de São Paulo, 1962. v. 1

FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; SALLUM, M. A. Breeding places of *Aedes*

scapularis (Diptera: Culicidae) in artificial containers. **Revista De Saude Publica**, v. 31, n. 5, p. 519–522, 1 out. 1997.

FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Chapter 15 Mosquitoes (Culicidae). In: MULLEN, G. R.; DURDEN, L. A. (Eds.). **Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)**. [s.l.] Academic Press, 2019. p. 261–325.

FOX, J. et al. **car: An R Companion to Applied Regression**. Sage, Thousand Oaks CA, 3ª edição, 2019. Pacote R versão 3.1.2. Disponível em: <<https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>>. Acesso em 03 mar. 2024.

GERHARDT, R. R. et al. Chapter 11 Flies (Diptera). In: MULLEN, G. R.; DURDEN, L. A. (Eds.). **Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)**. Academic Press, 2019. p. 171–190.

GONÇALVES, H. S.; LARA, J. T. DE. Entre doentes e mosquitos: a dengue ronda o paraná em 1986. **Contraponto**, v. 10, p. 500, 2021.

GOOGLE INC. **Sertanópolis - State of Paraná, 86170-000, Brazil**. Disponível em: <<https://maps.app.goo.gl/M2SBtbvP5ApgYM266>>. Acesso em: 2024.

GORRIS, M. E. et al. Projections of *Aedes* and *Culex* mosquitoes across North and South America in response to climate change. **The Journal of Climate Change and Health**, n. 2667-2782, p. 100317–100317, 1 abr. 2024.

GU, W. et al. Fundamental issues in mosquito surveillance for arboviral transmission. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 8, p. 817–822, 1 ago. 2008.

GU, W.; NOVAK, R. J. **Short report: Detection Probability of Arbovirus Infection in Mosquito Populations**. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, nov. 2004.

GUEDES, D. R. et al. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerging Microbes & Infections**, v. 6, n. 1, p. 1–11, jan. 2017.

HAIR, J. F. **Multivariate data analysis**. Edinburg: Pearson, 2014.

HARBACH, R. E. *Culex pipiens*: Species Versus Species Complex – Taxonomic History and Perspective. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 28, n. 4s, p. 10–23, dez. 2012.

HARBACH, R. **Valid Species | Mosquito Taxonomic Inventory**. Disponível em: <<https://mosquito-taxonomic-inventory.myspecies.info//valid-species-list>>. Acesso em: 15 abr. 2024.

HERVE M. **RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics**. 2023. Pacote R versão 0.9-83-7. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=RVAideMemoire>>. Acesso em 03 mar. 2024.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Sertanópolis: Panorama**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/sertanopolis/panorama>>. Acesso em: 24 abr. 2024.

INFODENGUE. **Dengue Situation - Sertanópolis at April 20, 2024** . Disponível em: <<https://info.dengue.mat.br/alerta/4126504/dengue>>. Acesso em: 24 abr. 2024.

INMET (INSITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA). **INMET : Banco de Dados Meteorológicos do INMET**. Disponível em: <<https://bdmep.inmet.gov.br/>>. Acesso em: abr. 2024.

IWAMURA, T.; GUZMAN-HOLST, A.; MURRAY, K. A. Accelerating invasion potential of disease vector *Aedes aegypti* under climate change. **Nature Communications**, v. 11, 1 mai. 2020.

JONES, K. E. et al. Global Trends in Emerging Infectious Diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, fev. 2008.

KASSAMBARA A. **rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests**. 2023. Pacote R versão 0.7.2. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=rstatix>>. Acesso em 03 mar. 2024.

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1–41, nov. 2015.

LARA, L. M. et al. Adaptations to haematophagy: Investigations on how male and female *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) deal with human complement activation after a blood meal. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 139, p. 103650, dez. 2021.

LIMA-CAMARA, T. N. DE; HONÓRIO, N. A.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Freqüência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 10, p. 2079–2084, out. 2006.

LINDENMAYER, D.; FISCHER, J. **Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis**. Washington: Island Press, 2006.

LINDOSO, J. A. L.; LINDOSO, A. A. B. P. Neglected tropical diseases in Brazil. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 51, n. 5, p. 247–253, 1 set. 2009.

LOPES, J. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do norte do estado do Paraná, Brasil: VI. Coletas de larvas no peridomicílio. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 14, n. 3, p. 571–578, set. 1997.

LOPES, T. B. F. et al. Genetic study in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) from Londrina (Paraná State, Brazil): an approach to population

structure and pyrethroid resistance. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 65, 1 mar. 2021.

MARTINS, V. DO C. A. et al. Clinical and Virological Descriptive Study in the 2011 Outbreak of Dengue in the Amazonas, Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 30 jun. 2014.

MATTINGLY, P. F. The Urban Mosquito Hazard Today. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 29, p. 135–139, 1963.

MAYER, S. V.; TESH, R. B.; VASILAKIS, N. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. **Acta Tropica**, v. 166, p. 155–163, fev. 2017.

MEIRELES, A. R. et al. PRIMEIRO DIAGNÓSTICO DE FEBRE DO NILO OCIDENTAL EM HUMANO EM MINAS GERAIS: RELATO DE CASO. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, n. 1413-8670, p. 102294, jan. 2022.

MOORE, T. C.; BROWN, H. E. Estimating *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Flight Distance: Meta-Data Analysis. **Journal of Medical Entomology**, v. 59, n. 4, p. 1164–1170, 1 jul. 2022.

MORIN, C. W.; COMRIE, A. C.; ERNST, K. Climate and Dengue Transmission: Evidence and Implications. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 11-12, p. 1264–1272, 1 jan. 2013.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) - FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Brasília, DF: Ministério Da Saúde - FUNASA, 24 jul. 2002.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE IMUNIZAÇÃO E DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. COORDENAÇÃO-GERAL DE VIGILÂNCIA DE ARBOVIROSES. **NOTA INFORMATIVA Nº 103/2019-CGAR/DEIDT/SVS/MS**.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE IMUNIZAÇÃO E DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. COORDENAÇÃO-GERAL DE VIGILÂNCIA DE ARBOVIROSES. **Nota Técnica No 1/2020-CGAR/DEIDT/SVS/MS**.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Levantamento Rápido De Índices Para *Aedes aegypti* – LIRAA – Para Vigilância Entomológica Do *Aedes aegypti* No Brasil: Metodologia Para Avaliação Dos Índices De Breteau E Predial E Tipo De Recipientes**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2013.

NASCI, R. S. A Lightweight Battery-powered Aspirator for Collecting Resting Mosquitoes in the field. **Mosquito News**, v. 41, n. 4, 1981.

NASCIMENTO, K. L. C. et al. Comparison Between Larval Survey Index and Positive Ovitrap Index in the Evaluation of Populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti*

(Linnaeus, 1762) North of Paraná, Brazil. **Environmental Health Insights**, v. 14, p. 1–8, 2020.

NÄSLUND, J. et al. Emerging Mosquito-Borne Viruses Linked to *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Global Status and Preventive Strategies. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 21, n. 10, 23 ago. 2021.

NITSCHKE, P. R. et al. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina (PR): Instituto Agrônômico do Paraná, 2019. p. 210

NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M.; SILVA, F. F. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 33, p. 11, 2004.

O'MEARA, G. F. **Ecology of autogeny in mosquitoes**. (L. P. Lounibos, J. R. Rey, J. H. Frankeditors, Eds.) Ecology of mosquitoes: proceedings of a workshop. **Anais**. Vero Beach, Florida: Florida Medical Entomology Laboratory, jan. 1984.

OLIVEIRA, J. H. M. et al. Catalase protects *Aedes aegypti* from oxidative stress and increases midgut infection prevalence of Dengue but not Zika. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. 1–13, 5 abr. 2017a.

OLIVEIRA, S. P. DE et al. Wolbachia infection in *Aedes aegypti* mosquitoes alters blood meal excretion and delays oviposition without affecting trypsin activity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 87, p. 65–74, ago. 2017b.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE). **PAHO/WHO Data - Chikungunya Cases**. Disponível em: <<https://www3.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/chikv-en/550-chikv-weekly-en.html>>. Acesso em: 22 abr. 2024.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE). **PAHO/WHO Data - Dengue cases**. Disponível em: <<https://www3.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/indicadores-dengue-en/dengue-nacional-en/252-dengue-pais-ano-en.html>>. Acesso em: 22 abr. 2024.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE). **PAHO/WHO Data - ZIKA**. Disponível em: <<https://www3.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/zika-weekly-en/>>. Acesso em: 22 abr. 2024.

PEREIRA, T. N. et al. Vector competence of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes for Mayaro virus. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 4, p. e0007518, 14 abr. 2020.

POWELL, J. R.; TABACHNICK, W. J. History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. suppl 1, p. 11–17, 2013.

ROUBAUD, E. Autogenous Cycle of Winter Generations of *Culex pipiens* L.. **Compte Rendu de l'Academie des Sciences**, v. 188, n. 10, p. 735–738 pp., 4 mar. 1929.

RUEDA, L. M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in

freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 477–487, 18 dez. 2007.

SALDAÑA, M. A.; HEGDE, S.; HUGHES, G. L. Microbial control of arthropod-borne disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 2, p. 81–93, fev. 2017.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 1308

SARDI, S. I. et al. Coinfections of Zika and Chikungunya Viruses in Bahia, Brazil, Identified by Metagenomic Next-Generation Sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 9, p. 2348–2353, set. 2016.

SERVICE, M. W. **Mosquito ecology: field sampling methods**. 2. ed. London: New York: Chapman & Hall, 1995.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3-4, p. 591–611, 1 dez. 1965.

SILVA, A. M. Imaturos de mosquito (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural no norte do Estado do Paraná, Brasil. **Iheringia. Série zoologia/Iheringia. Série Zoologia**, v. 92, n. 4, p. 31–36, 30 dez. 2002.

SILVA, K. R. DA. **Diversidade de Culicidae (Diptera) e análise da circulação viral em estabelecimento públicos e fragmentos de vegetação ripária urbana no Norte do Paraná, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)—Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: 2021.

SILVA, L. B. DA. **Impacto Da Dieta Artificial Em *Aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) E Danos Causados Por *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Detectados Por Microtomografia Computadorizada De Raio X**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)—*no prelo*: [s.n.].

SILVER, J. B. **Mosquito Ecology**. 3. ed. USA: Springer Science & Business Media, 2007. p. 1477

SPIELMAN, A. Bionomics of Autogenous Mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, v. 16, n. 1, p. 231–248, jan. 1971.

SWAN, T. et al. A literature review of dispersal pathways of *Aedes albopictus* across different spatial scales: implications for vector surveillance. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, 27 ago. 2022.

TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. J. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1411, p. 983–989, 29 jul. 2001.

TCHOUASSI, D. P. et al. The distinctive bionomics of *Aedes aegypti* populations in Africa. **Current Opinion in Insect Science**, v. 54, p. 100986, dez. 2022.

TEICH, V.; ARINELLI, R.; FAHHAM, L. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arboviroses no Brasil. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. 3, p. 267–276, dez. 2017.

TSUJI, N.; OKAZAWA, T.; YAMAMURA, N. Autogenous and Anautogenous Mosquitoes: a Mathematical Analysis of Reproductive Strategies. **Journal of medical entomology**, v. 27, n. 4, p. 446–453, 1 jul. 1990.

VALDÉS MIRÓ, V. et al. Evaluación de las larvitrapas como método de vigilancia de *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) y otros culícidos. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 70, p. 10–17, 2018.

WALTER REED BIOSYSTEMATICS UNIT (WRBU). Identification keys. 2024. Disponível em: <<https://wrbu.si.edu/vectorspecies/keys>>. Acesso em: 5 Jun. 2024.

WATTS, D. M. et al. Effect of Temperature on the Vector Efficiency of *Aedes aegypti* for Dengue 2 Virus. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 36, n. 1, p. 143–152, 1 jan. 1987.

Wei, T.; Simko, V. **corrplot: Visualization of a Correlation Matrix**. 2021. Pacote R versão 0.92. Disponível em: <<https://github.com/taiyun/corrplot>>. Acesso em 03 mar. 2024.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Efficacy-testing of traps for control of *Aedes* spp. Mosquito vectors Vector Control Advisory Group (VCAG)**. [s.l.] World Health Organization, 2018. p. 52

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Vector-borne diseases**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>>. Acesso em: 30 abr. 2024.

Wickham, H. et al. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016. Pacote R. Disponível em: <<https://ggplot2.tidyverse.org>>. Acesso em 03 mar. 2024.

WILKERSON, R. C. et al. Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0133602, 30 jul. 2015.

WILKERSON, R. C.; LINTON, Y.-M.; STRICKMAN, D. **Mosquitoes of the World**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 2021. v. 1 e 2

ZAMBRANO, H. et al. Zika Virus and Chikungunya Virus CoInfections: A Series of Three Cases from a Single Center in Ecuador. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 4, p. 894–896, 5 out. 2016.

ZEQUI, A. C.; LOPES, J. Development of the immature stages of *Culex* (*Culex*) *saltanensis* Dyar (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions. **Revista brasileira de entomologia**, v. 56, n. 1, p. 106–110, 1 mar. 2012.

ZEQUI, J. A. C. et al. Efficacy and persistence of two *Bacillus thuringiensis*

israelensis formulations for the control of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) under simulated field conditions. **International Journal of Mosquito Research**, v. 2, n. 3, p. 05–09, 1 set. 2015.

ZEQUI, J. A. C.; LOPES, J.; MEDRI, Í. M. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira De Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 656–661, 1 set. 2005.

ZEQUI, J. A. C.; ORSI, M. L.; SHIBATTA, L. S. **Fauna e flora do parque estadual Mata São Francisco, Norte do Paraná**. EDUEL, 2021.

7 ANÁLISE DE ESTATÍSTICAS – ANEXO 1

Edson Kawabata

2024-05-03

Anexo com os comandos e análises realizadas no RStudio

Dados e testes realizados de acordo com os resultados obtidos durante as coletas na cidade de Sertanópolis/PR, durante o período outubro/2023 a março/2024

Pacotes utilizados no script:

```
library(dplyr)
library(RVAideMemoire)
library(car)
library(readxl)
library(knitr)
library(rstatix)
library(DescTools)
library(lmtest)
library(ggplot2)
```

7.1.1 Teste de correlação de presença entre espécies e local amostrado

Carregamento dos dados

```
dadoSpp=read_excel("Dados_R.xlsx", sheet = "PlanSpp")
kable(dadoSpp)
```

Local	Spp	Quant
UBS-1	CulexSpp	15
UBS-1	AegySpp	17
UBS-1	AlboSpp	0
UBS-2	CulexSpp	142
UBS-2	AegySpp	15
UBS-2	AlboSpp	1
UBS-3	CulexSpp	4
UBS-3	AegySpp	1
UBS-3	AlboSpp	1
A19_Clau	CulexSpp	2
A19_Clau	AegySpp	1
A19_Clau	AlboSpp	0

Local	Spp	Quant
A02_Dart	CulexSpp	10
A02_Dart	AegySpp	50
A02_Dart	AlboSpp	0
A09_Tore	CulexSpp	116
A09_Tore	AegySpp	21
A09_Tore	AlboSpp	0
A10_Nena	CulexSpp	18
A10_Nena	AegySpp	22
A10_Nena	AlboSpp	0

Teste de Shapiro, para verificar normalidade dos dados

```
byf.shapiro(Quant ~ Spp, dadoSpp)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality tests
##
## data: Quant by Spp
##
##           W    p-value
## AegySpp  0.8703 0.1865980
## AlboSpp  0.6004 0.0002752 ***
## CulexSpp 0.7183 0.0058477 **
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

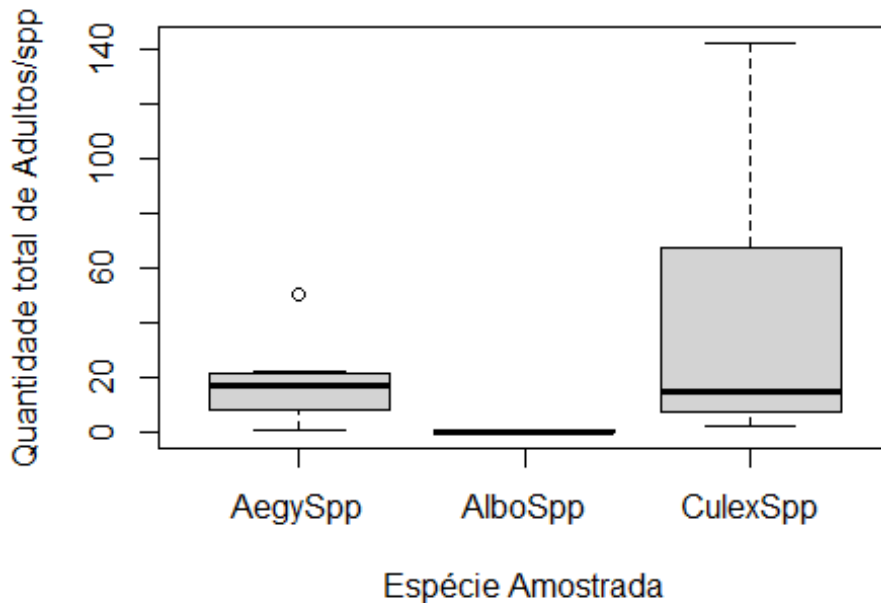
Interpretação: Distribuição da quantidade de adultos por espécie/local não segue uma normal com exceção pra Ae. aegypti* Teste de Levene para verificar homogeneidade das variâncias

```
leveneTest(Quant ~ Spp, dadoSpp, center=mean)
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
##      Df F value    Pr(>F)
## group 2  16.062 9.932e-05 ***
##      18
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Interpretação: não há homogeneidade das variâncias Ver presença de outlier via BoxPlot

```
boxplot(Quant ~ Spp, data= dadoSpp,
        ylab= "Quantidade total de Adultos/spp",
        xlab= "Espécie Amostrada")
```



Interpretação: tem outlier em Aedes, com relação a quantidade de adulto capturado Testar correlação entre variáveis *Quantidade de adultos capturados* e *espécie específico*

```
kruskal.test(Quant ~ Spp, dadoSpp)
```

```
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Quant by Spp
## Kruskal-Wallis chi-squared = 12.616, df = 2, p-value = 0.001822
```

Interpretação: tem diferença significativa Teste Post-Hoc de dunn para verificar onde está a diferença

```
dunn_test(Quant ~ Spp, data=dadoSpp, p.adjust.method = "bonferroni")
```

```
## # A tibble: 3 × 9
##   .y. group1 group2      n1      n2 statistic      p  p.adj p.adj.si
##   <chr> <chr> <chr> <int> <int> <dbl> <dbl> <dbl> <chr>
## 1 Quant AegySpp AlboSpp     7     7  -2.94 0.00331 0.00994 **
## 2 Quant AegySpp CulexSpp     7     7   0.261 0.794 1      ns
## 3 Quant AlboSpp CulexSpp     7     7   3.20 0.00138 0.00415 **
```

Existe diferença no número de indivíduos nas espécies coletadas, diferença significativa (por bonferroni) se encontra na comparação entre Aedes aegypti x Aedes albopictus & Aedes albopictus x Culex spp.

7.1.2 Teste de correlação da amostragem por local

Carregamento dos dados

```

dadoTot= read_excel("Dados_R.xlsx", sheet = "PlanSppLoc")
dadoAe= read_excel("Dados_R.xlsx", sheet = "PlanAeLoc")

```

Tabela de dados

`kable(dadoTot)`

Coleta	Local	Total	Culex	aegypti	albopictus	aegypti_F	Culex_F	AedesSpp
1	ubs1	19	12	7	0	3	1	7
1	ubs2	88	84	4	0	0	24	4
1	ubs3	1	1	0	0	0	1	0
1	A19-clau	0	0	0	0	0	0	0
1	A02-dart	17	6	11	0	3	5	11
1	A09-tore	48	48	0	0	0	22	0
1	A10-nena	11	11	0	0	0	6	0
2	ubs1	1	1	0	0	0	0	0
2	ubs2	28	28	0	0	0	9	0
2	ubs3	1	1	0	0	0	1	0
2	A19-clau	2	2	0	0	0	0	0
2	A02-dart	13	2	11	0	7	0	11
2	A09-tore	60	54	6	0	2	34	6
2	A10-nena	4	4	0	0	0	4	0
3	ubs1	3	1	2	0	0	1	2
3	ubs2	7	1	5	1	1	1	6
3	ubs3	0	0	0	0	0	0	0
3	A19-clau	0	0	0	0	0	0	0
3	A02-dart	10	0	10	0	4	0	10
3	A09-tore	5	4	1	0	0	1	1
3	A10-nena	9	2	7	0	3	1	7
4	ubs1	1	0	1	0	0	0	1
4	ubs2	6	0	6	0	2	0	6
4	ubs3	0	0	0	0	0	0	0
4	A19-clau	0	0	0	0	0	0	0
4	A02-dart	11	2	9	0	0	1	9
4	A09-tore	7	4	3	0	3	1	3
4	A10-nena	1	0	1	0	0	0	1
5	ubs1	8	1	7	0	2	0	7
5	ubs2	6	6	0	0	0	6	0

Coleta	Local	Total	Culex	aegypti	albopictus	aegypti_F	Culex_F	AedesSpp
5	ubs3	0	0	0	0	0	0	0
5	A19-clau	1	0	1	0	1	0	1
5	A02-dart	9	0	9	0	4	0	9
5	A09-tore	17	6	11	0	4	4	11
5	A10-nena	15	1	14	0	5	1	14
6	ubs1	5	1	4	0	2	0	4
6	ubs2	9	9	0	0	0	0	0
6	ubs3	1	1	0	0	0	1	0
6	A02-dart	20	18	2	0	0	12	2
6	A09-tore	11	8	3	0	1	5	3

Teste de normalidade das variáveis

```
byf.shapiro(Total ~ Local, dadoTot)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality tests
##
## data: Total by Local
##
##           W p-value
## A02-dart 0.9097 0.434124
## A09-tore 0.8209 0.089774 .
## A10-nena 0.9748 0.905223
## A19-clau 0.7709 0.045954 *
## ubs1     0.8079 0.069108 .
## ubs2     0.6617 0.002381 **
## ubs3     0.6827 0.004039 **
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Dartória, Nena, Torezan e UBS-1 não seguem uma distribuição normal, Claudio, UBS-2 e UBS-3 seguem uma distribuição normal

```
byf.shapiro(Total ~ Coleta, dadoTot)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality tests
##
## data: Total by Coleta
##
##           W p-value
## 1 0.8237 0.06972 .
## 2 0.7513 0.01309 *
## 3 0.9173 0.44882
## 4 0.8411 0.10170
## 5 0.9388 0.62790
## 6 0.9675 0.85893
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

somente a 2^o coleta teve distribuição normal de adultos coletados dentro dos pontos amostrados

```
byf.shapiro(Culex ~ Local, dadoTot)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality tests
##
## data: Culex by Local
##
##           W    p-value
## A02-dart 0.7406 0.0160911 *
## A09-tore 0.7156 0.0089834 **
## A10-nena 0.8363 0.1549741
## A19-clau 0.5522 0.0001310 ***
## ubs1     0.5652 0.0001703 ***
## ubs2     0.7319 0.0131712 *
## ubs3     0.6827 0.0040393 **
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

não segue uma normal, com excessão de nena.

Teste de Levene para verificar homogeniedade das variâncias

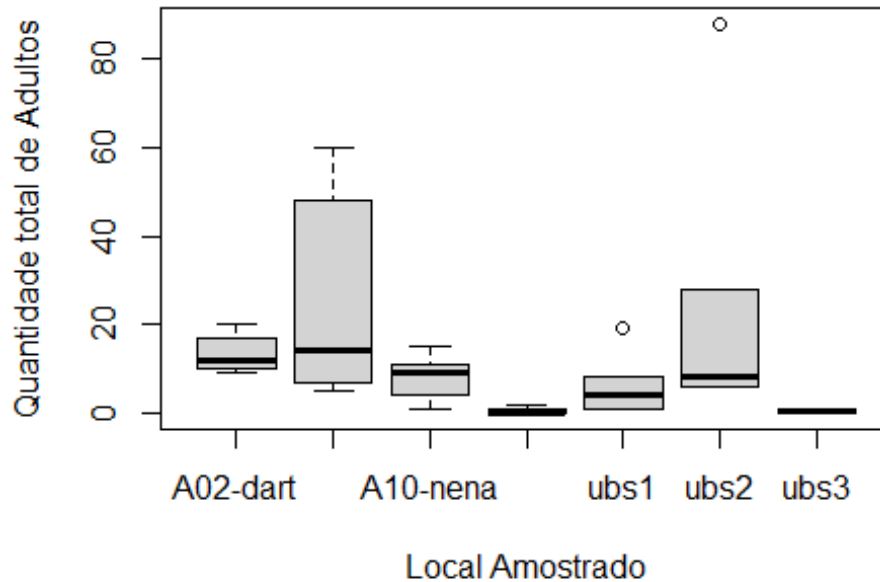
```
leveneTest(Total ~ Local, dadoTot, center=mean)
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
##      Df F value    Pr(>F)
## group 6  5.8265 0.0003176 ***
##      33
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Levene test demonstrou que os dados não seguem uma distribuição homogênea.

Boxplot para verificar outlier

```
boxplot(Total ~ Local, data= dadoTot,
        ylab= "Quantidade total de Adultos",
        xlab= "Local Amostrado")
```



tem outlier, com relação a quantidade de adulto capturado nos pontos amostrados #UBS-1 e UBS-2 demonstram presença de outlier

```
kruskal.test(Total ~ Local, dadoTot)
```

```
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Total by Local
## Kruskal-Wallis chi-squared = 25.468, df = 6, p-value = 0.0002796
```

Tem diferença significativa, segundo kruska

```
kruskal.test(Total ~ Coleta, dadoTot)
```

```
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Total by Coleta
## Kruskal-Wallis chi-squared = 5.9836, df = 5, p-value = 0.3078
```

Não tem diferença significativa na distribuição de adultos coletadas por dias de coleta

```
kruskal.test(Culex ~ Local, data= dadoTot)
```

```
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Culex by Local
## Kruskal-Wallis chi-squared = 16.377, df = 6, p-value = 0.01187
```

Tem diferença significativa

```
dunn_test(Total ~ Local, data=dadoTot, p.adjust.method = "bonferroni")
```

```
## # A tibble: 21 × 9
##   .y.  group1  group2    n1    n2 statistic      p  p.adj p.adj
##   .signif
## * <chr> <chr>   <chr>   <int> <int>   <dbl>   <dbl>   <dbl> <chr>
## 1 Total A02-dart A09-tore     6     6  -0.0744 0.941     1     ns
## 2 Total A02-dart A10-nena     6     5  -1.11    0.265     1     ns
## 3 Total A02-dart A19-clau     6     5  -3.31    0.000918 0.0193  *
## 4 Total A02-dart abs1     6     6  -1.76    0.0781     1     ns
## 5 Total A02-dart abs2     6     6  -0.471   0.637     1     ns
## 6 Total A02-dart abs3     6     6  -3.50    0.000468 0.00982 **
## 7 Total A09-tore A10-nena     6     5  -1.04    0.297     1     ns
## 8 Total A09-tore A19-clau     6     5  -3.24    0.00118 0.0248  *
## 9 Total A09-tore abs1     6     6  -1.69    0.0915     1     ns
## 10 Total A09-tore abs2     6     6  -0.397   0.691     1     ns
## # i 11 more rows
```

três Locais apresentaram diferenças significativas, pelo teste de Dunn

Dartoria x Claudio

Dartoria x UBS-3

Claudio x Torezan

#

#

#

```
dunn_test(Culex ~ Local, data=dadoTot, p.adjust.method = "bonferroni")
```

```
## # A tibble: 21 × 9
##   .y.  group1  group2    n1    n2 statistic      p  p.adj p.adj.s
##   .signif
## * <chr> <chr>   <chr>   <int> <int>   <dbl>   <dbl>   <dbl> <chr>
## 1 Culex A02-dart A09-tore     6     6   1.69    0.0913     1     ns
## 2 Culex A02-dart A10-nena     6     5   0.0865 0.931     1     ns
## 3 Culex A02-dart A19-clau     6     5  -1.60    0.110     1     ns
## 4 Culex A02-dart abs1     6     6  -0.416 0.678     1     ns
## 5 Culex A02-dart abs2     6     6   0.945 0.345     1     ns
## 6 Culex A02-dart abs3     6     6  -1.40    0.162     1     ns
## 7 Culex A09-tore A10-nena     6     5  -1.52    0.128     1     ns
## 8 Culex A09-tore A19-clau     6     5  -3.21    0.00133 0.0279  *
## 9 Culex A09-tore abs1     6     6  -2.10    0.0354 0.743   ns
## 10 Culex A09-tore abs2     6     6  -0.743 0.457     1     ns
## # i 11 more rows
```

#só Torezan x Claudio demonstraram diferença significativa

```
dunn_test(aegypti ~ Local, data=dadoTot, p.adjust.method = "bonferroni")
```

```
## # A tibble: 21 × 9
##   .y.  group1  group2    n1    n2 statistic      p  p.adj p.a
##   .signif
## * <chr> <chr>   <chr>   <int> <int>   <dbl>   <dbl>   <dbl> <ch
##   r>
```

```
## 1 aegypti A02-dart A09-tore      6      6  -1.50  0.132  1      ns
## 2 aegypti A02-dart A10-nena      6      5  -1.77  0.0770  1      ns
## 3 aegypti A02-dart A19-clau      6      5  -3.36  0.000785 0.0165  *
## 4 aegypti A02-dart ubs1          6      6  -1.60  0.111  1      ns
## 5 aegypti A02-dart ubs2          6      6  -2.38  0.0173  0.364  ns
## 6 aegypti A02-dart ubs3          6      6  -3.85  0.000120 0.00252 **
## 7 aegypti A09-tore A10-nena      6      5  -0.334 0.739  1      ns
## 8 aegypti A09-tore A19-clau      6      5  -1.92  0.0545  1      ns
## 9 aegypti A09-tore ubs1          6      6  -0.0900 0.928  1      ns
## 10 aegypti A09-tore ubs2         6      6  -0.875 0.382  1      ns
## # i 11 more rows
```

#Dartória x Claudio

#Dartória x Ubs3 (sendo que UBS3 não apresentou dados de aedes coletados)

7.1.3 Testes de correlação com variáveis climáticas

Carregar dados

```
dadosC= read_excel("Dados_R.xlsx", sheet= "Correlac")
```

```
kable(dadosC)
```

Ano	Mês	PluviT	Pluvi15	TempM	TempM15	TempMMin	UmiRel	UmiRMin	Adultos	AedesT	AedesF	CasosDENV
2023	out	161.8	130.4	24.96022	25.04906	24.24368	73.04032	69.84005	184	22	6	26
2023	nov	110.6	104.8	25.27056	25.79233	24.47264	71.73056	68.03472	109	17	9	41
2023	dez	107.6	99.8	26.01129	26.22162	25.14610	72.25269	68.40457	34	25	8	19
2024	jan	108.0	108.0	25.57231	25.57231	24.81465	73.02554	69.14651	26	20	5	44
2024	fev	166.0	166.0	25.99066	25.99066	25.25086	75.80460	72.13218	56	42	16	449
2024	mar	72.0	72.0	25.66398	25.66398	24.97608	77.16532	73.86290	46	9	3	563

Análises para verificar normalidade

```
shapiro.test(dadosC$Adultos)###segue uma normal (p-value = 0.114)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
```

```
## data: dadosC$Adultos
## W = 0.83303, p-value = 0.114
#
shapiro.test(dadosC$UmiRel)###segue uma normal (p-value = 0.2279)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$UmiRel
## W = 0.87044, p-value = 0.2279
#
shapiro.test(dadosC$UmiRMin)###segue uma normal (p-value = 0.3533)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$UmiRMin
## W = 0.89644, p-value = 0.3533
#
shapiro.test(dadosC$TempM)###segue uma normal (p-value = 0.6019)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$TempM
## W = 0.9328, p-value = 0.6019
#
shapiro.test(dadosC$TempM15)###segue uma normal (p-value = 0.8772)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$TempM15
## W = 0.96778, p-value = 0.8772
#
shapiro.test(dadosC$TempMMin)###segue uma normal (p-value = 0.6699)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$TempMMin
## W = 0.94132, p-value = 0.6699
#
shapiro.test(dadosC$PluviT)###segue uma normal (p-value = 0.2667)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$PluviT
## W = 0.87948, p-value = 0.2667
```

```

#
shapiro.test(dadosC$Pluvi15)###segue uma normal (p-value = 0.7391)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$Pluvi15
## W = 0.94985, p-value = 0.7391

#
shapiro.test(dadosC$CasosDENV)###não segue uma distribuição normal (p-value = 0.009623)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$CasosDENV
## W = 0.71848, p-value = 0.009623

#
shapiro.test(dadosC$AedesT)###segue uma normal (p-value = 0.527)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$AedesT
## W = 0.92298, p-value = 0.527

#
shapiro.test(dadosC$AedesF)###segue uma norma (p-value = 0.4174)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: dadosC$AedesF
## W = 0.90707, p-value = 0.4174

```

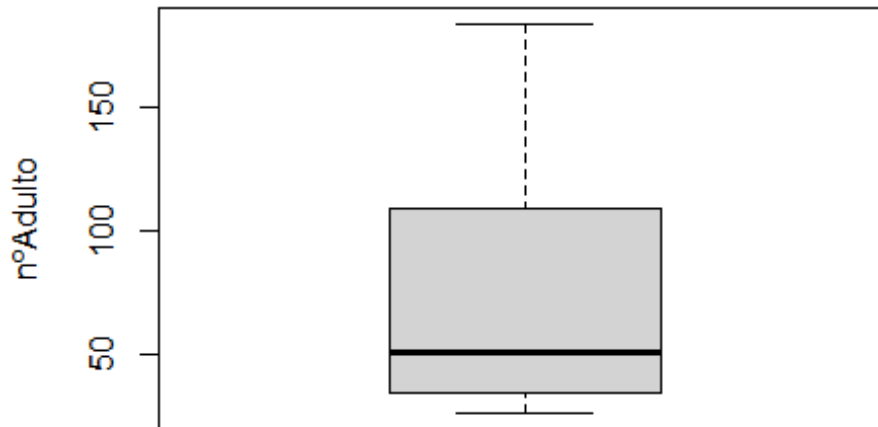
Verificar presença de outliers

```

par(mfrow= c(1,1))
boxplot(dadosC$Adultos, ylab= "nºAdulto", main= "BoxPlot Adultos Coletados /mês" )

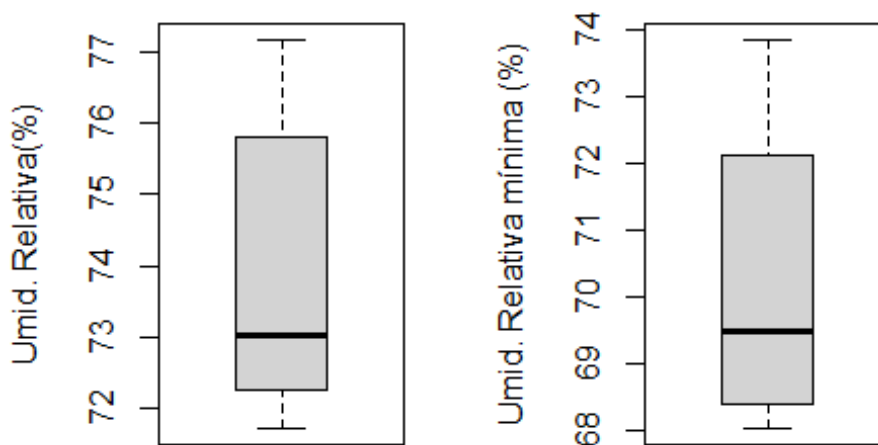
```

BoxPlot Adultos Coletados/mês



```
par(mfrow= c(1,2))
boxplot(dadosC$UmiRel, ylab= "Umid. Relativa(%)", main= "BoxPlot Umidade R
elativa/mês")
boxplot(dadosC$UmiRMin, ylab= "Umid. Relativa mínima (%)", main= "BoxPlot
Umidade Relativa/mês")
```

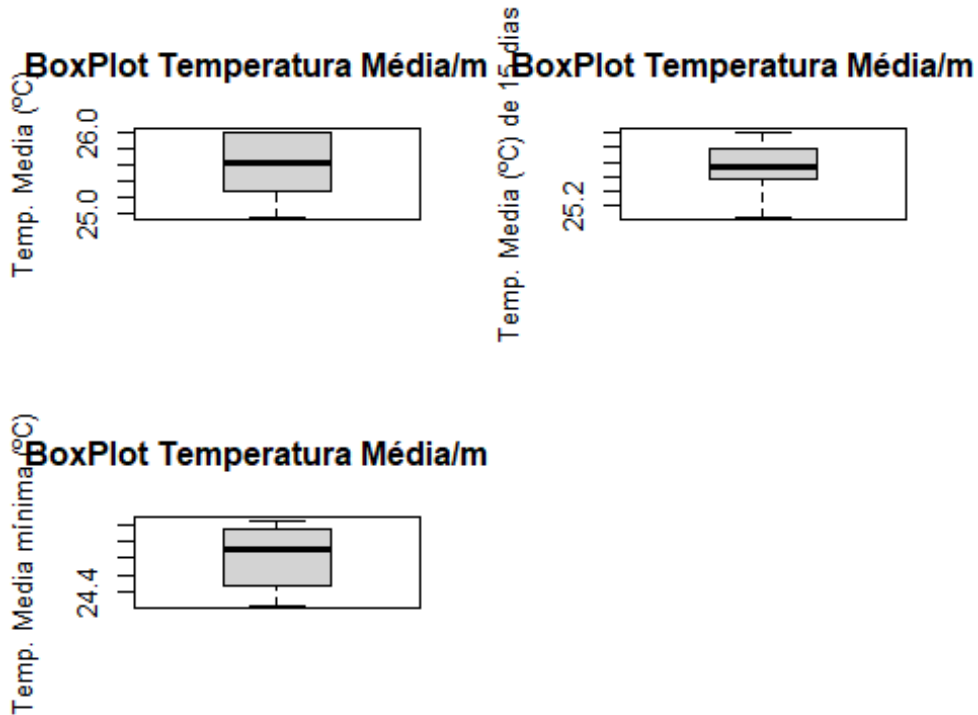
BoxPlot Umidade Relativa/BoxPlot Umidade Relativa/



```

par(mfrow= c(2,2))
boxplot(dadosC$TempM, ylab= "Temp. Media (°C)", main= "BoxPlot Temperatura Média/mês")
boxplot(dadosC$TempM15, ylab= "Temp. Media (°C) de 15 dias", main= "BoxPlot Temperatura Média/mês")
boxplot(dadosC$TempMMin, ylab= "Temp. Media mínima (°C)", main= "BoxPlot Temperatura Média/mês")

```

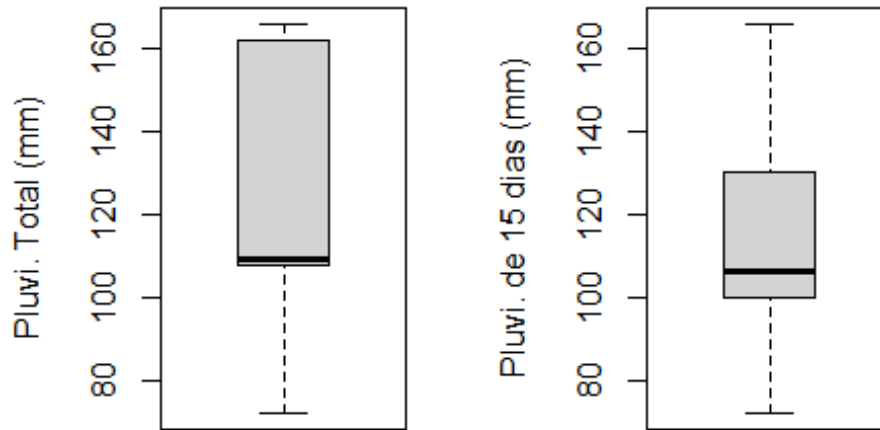


```

par(mfrow= c(1,2))
boxplot(dadosC$PluviT, ylab= "Pluvi. Total (mm)", main= "BoxPlot PluviT/mês")
boxplot(dadosC$Pluvi15, ylab= "Pluvi. de 15 dias (mm)", main= "BoxPlot PluviT/de 15 dias da coleta")

```

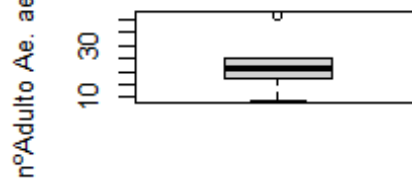
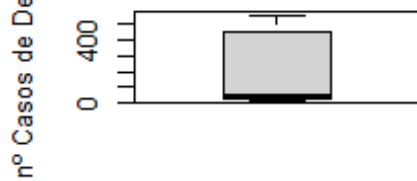
BoxPlot PluviT/mês xPlot PluviT/de 15 dias da



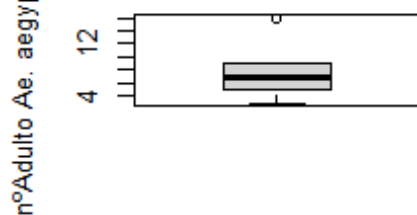
Análise de casos de DENV

```
par(mfrow= c(2,2))
boxplot(dadosC$CasosDENV, ylab= "nº Casos de Dengue", main= "BoxPlot Casos
de Dengue/mês")
boxplot(dadosC$AedesT, ylab= "nºAdulto Ae. aegypti", main= "BoxPlot Ae. ae
gypti capturado/mês")
boxplot(dadosC$AedesF, ylab= "nºAdulto Ae. aegypti Fem.", main= "BoxPlot A
e. aegypti Fêm. capturado/mês")
```

BoxPlot Casos de Dengue/mé **BoxPlot Ae. aegypti capturado/i**



BoxPlot Ae. aegypti Fêm. capturac



```
cor.test(dadosC$UmiRel, dadosC$Adultos, method="pearson") #p-valor ajustado não significativo
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$UmiRel and dadosC$Adultos
## t = -0.60128, df = 4, p-value = 0.5801
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.8912299 0.6833108
## sample estimates:
## cor
## -0.2879113
```

```
cor.test(dadosC$UmiRMin, dadosC$Adultos, method="pearson") #p-valor ajustado não significativo
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$UmiRMin and dadosC$Adultos
## t = -0.38365, df = 4, p-value = 0.7208
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.8673431 0.7356439
## sample estimates:
## cor
## -0.18839
```

```
cor.test(dadosC$TempM, dadosC$Adultos, method="pearson")#p-valor significativo, mas intervalo para 95% de confiança muito abrangente
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$TempM and dadosC$Adultos
## t = -3.2355, df = 4, p-value = 0.03181
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.9833455 -0.1260839
## sample estimates:
##      cor
## -0.850607
```

```
cor.test(dadosC$TempM15, dadosC$Adultos, method="pearson")#p-valor ajustado não significativo
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$TempM15 and dadosC$Adultos
## t = -2.0781, df = 4, p-value = 0.1063
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.9667672 0.2192484
## sample estimates:
##      cor
## -0.720517
```

```
cor.test(dadosC$TempMMin, dadosC$Adultos, method="pearson")#p-valor significativo, mas intervalo para 95% de confiança muito abrangente
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$TempMMin and dadosC$Adultos
## t = -3.1758, df = 4, p-value = 0.03367
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.9828159 -0.1105189
## sample estimates:
##      cor
## -0.8461836
```

```
cor.test(dadosC$PluviT, dadosC$Adultos, method="pearson")#p-valor ajustado não significativo
```

```
##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$PluviT and dadosC$Adultos
## t = 1.2626, df = 4, p-value = 0.2753
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
```

```

## -0.4900329 0.9387085
## sample estimates:
##      cor
## 0.533827

cor.test(dadosC$Pluvi15, dadosC$Adultos, method="pearson")#p-valor ajustad
o não significativo

##
## Pearson's product-moment correlation
##
## data: dadosC$Pluvi15 and dadosC$Adultos
## t = 0.55728, df = 4, p-value = 0.607
## alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.6944147 0.8867998
## sample estimates:
##      cor
## 0.2684139

cor.test(dadosC$CasosDENV, dadosC$AedesT, method= "spearman")#p-valor ajus
tado não significativo, spearman devido a não ser normal

##
## Spearman's rank correlation rho
##
## data: dadosC$CasosDENV and dadosC$AedesT
## S = 48, p-value = 0.4972
## alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
## sample estimates:
##      rho
## -0.3714286

cor.test(dadosC$CasosDENV, dadosC$AedesF, method= "spearman")#p-valor ajus
tado não significativo, spearman devido a não ser normal

##
## Spearman's rank correlation rho
##
## data: dadosC$CasosDENV and dadosC$AedesF
## S = 44, p-value = 0.6583
## alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
## sample estimates:
##      rho
## -0.2571429

```