



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

KARINA ROSSI DA SILVA

**DIVERSIDADE DE CULICIDAE (DIPTERA) E ANÁLISE DA
CIRCULAÇÃO VIRAL EM ESTABELECIMENTOS PÚBLICOS
E FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO RIPÁRIA URBANA NO
NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

Londrina
2021

KARINA ROSSI DA SILVA

**DIVERSIDADE DE CULICIDAE (DIPTERA) E ANÁLISE DA
CIRCULAÇÃO VIRAL EM ESTABELECIMENTOS PÚBLICOS
E FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO RIPÁRIA URBANA NO
NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi
Coorientador: Prof. Dr. Laurival Antonio Vilas-Boas

Londrina
2021

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

- R831 Silva, Karina Rossi da.
Diversidade de Culicidae (Diptera) e análise da circulação viral em estabelecimentos públicos e fragmentos de vegetação ripária urbana no Norte do Paraná, Brasil / Karina Rossi da Silva. - Londrina, 2021.
129 f. : il.
- Orientador: João Antonio Cyrino Zequi.
Coorientador: Laurival Antonio Vilas-Boas.
Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2021.
Inclui bibliografia.
1. Ecologia - Tese. 2. Mosquitos - Tese. 3. Espaços Urbanos - Tese. 4. Arbovírus - Tese. I. Cyrino Zequi, João Antonio. II. Vilas-Boas, Laurival Antonio . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU 574

KARINA ROSSI DA SILVA

**DIVERSIDADE DE CULICIDAE (DIPTERA) E ANÁLISE DA
CIRCULAÇÃO VIRAL EM ESTABELECIMENTOS PÚBLICOS
E FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO RIPÁRIA URBANA NO
NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Gislayne Fernandes Leme Trindade
Vilas-Bôas
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Londrina, 24 de agosto de 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por abençoar a minha vida com saúde, sabedoria e determinação, tornando possível a conquista de muitos objetivos e a realização de sonhos.

À minha família, em especial à minha mãe, Suely Aparecida Rossi da Silva pelos valores, ensinamentos, conselhos e apoio que me auxiliaram em muitas conquistas ao longo da minha vida.

Ao meu companheiro de todas as horas, Rafael Molari, que me apoiou e me auxiliou durante toda a minha formação, sempre com amor, carinho e compreensão, fazendo parte do meu crescimento pessoal e profissional e me encorajando a crescer cada vez mais.

Ao Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi, meu orientador, que não mediu esforços para me auxiliar durante todas as fases deste trabalho, compartilhando comigo experiências e conhecimentos valiosos desde a graduação. Seu incentivo, entusiasmo e otimismo também fizeram enorme diferença.

Ao Prof. Dr. Laurival Antonio Vilas-Boas, meu coorientador, que me deu auxílio e conselhos importantes e me instruiu para trabalhar com a área de biologia molecular, contribuindo com a parte mais delicada deste estudo.

Ao Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva, por ter aceitado o convite para contribuir na banca de qualificação e defesa, e por ter me acolhido no Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – campus Curitiba, além de fornecer os subsídios necessários à realização deste trabalho, dando também apoio, motivação e conselhos.

À Dra. Angela Maria Palacio Cortés, do LAMFIC, por ter me apoiado e auxiliado imensamente na realização da pesquisa viral do presente trabalho, de forma atenciosa e paciente, e por ter aceitado o convite para contribuir na banca de qualificação, além de contribuir com a defesa.

À Prof^a Dra. Gislayne F. L. Trindade Vilas-Bôas, por ter aceitado o convite para compor a banca da defesa, de forma a trazer importantes contribuições à dissertação.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Alvarenga Júlio, por ter aceitado o convite para ser professor suplente na qualificação e defesa, e aos demais professores da UEL que contribuíram com a construção de conhecimentos importantes ao longo do mestrado, por meio das disciplinas por mim realizadas, possibilitando meu crescimento e aquisição de experiência na área científica e acadêmica.

À Dra. Priscilla de Freitas Cardoso, do Laboratório de Genética e Taxonomia de Bactérias - Bioinseticida (LGTB) - UEL, por ter sido uma ótima instrutora particular, ao ensinar-me sobre biologia molecular e técnicas de laboratório, fornecendo assim a base para a realização da pesquisa viral do meu trabalho.

À Dra. Kátia Brumatti Gonçalves, por ter permitido que eu acompanhasse um pouco da sua pesquisa de doutorado junto ao LGTB, a fim de que eu adquirisse a experiência necessária para a realização da pesquisa viral.

Aos demais integrantes do LGTB que me ajudaram no aprendizado em biologia molecular, sem esquecer também das festinhas com comilanças que proporcionaram momentos alegres e extrovertidos.

Aos integrantes do Laboratório de Entomologia Médica que me auxiliaram na realização da minha pesquisa, e me deram apoio, conselhos, companheirismo e momentos de risadas e descontração.

Aos meus amigos da graduação que me incentivaram e estiveram presentes em momentos difíceis do curso, sendo essenciais para que eu chegasse até aqui.

Aos técnicos Aparecido Souza, Edson Santana e José Goanais, pelo apoio e conselhos, e por terem me auxiliado grandemente nas coletas deste estudo. Sem esse auxílio não seria possível a realização desta pesquisa.

Ao Entomólogo Nicholas Thrun, do LAMFIC – UFPR, pelo compartilhamento de conhecimentos acerca de taxonomia de mosquitos, auxiliando na identificação das espécies de mosquitos coletados na presente pesquisa.

A todos os professores que contribuíram com minha formação, desde o ensino fundamental até o ensino superior, pois foram essenciais para a realização do meu sonho de ser bióloga.

À Secretaria Municipal de Saúde de Londrina e às coordenadoras das Unidades básicas de Saúde de Londrina que permitiram a realização de coletas necessárias à presente pesquisa.

À direção da Escola Estadual Professora Vani Ruiz Viessi, Londrina-PR, por permitir a realização de coletas nas dependências do local.

Ao Laboratório de Materiais e Moléculas e ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da UEL, por cederem um espaço no freezer -80 °C para armazenamento das amostras coletadas.

À Universidade Estadual de Londrina, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, por todo o suporte fornecido durante minha formação acadêmica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que por meio do projeto “Biologia, Ecologia e Controle de Culicidae (Diptera) - Financiamento: Processo: 440385/2016-4 – Chamada Nº 14/2016”, me concedeu auxílio financeiro durante o mestrado, sendo imprescindível para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que contribuíram de alguma forma, meus mais sinceros agradecimentos.

“Se a educação sozinha não transforma a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda.”

Paulo Freire

SILVA, Karina Rossi da. **Diversidade de Culicidae (Diptera) e análise da circulação viral em estabelecimentos públicos e fragmentos de vegetação ripária urbana no Norte do Paraná, Brasil.** 2021. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

O Brasil vem sofrendo epidemia de dengue desde 2019, registrando também casos de Zika e chikungunya. O município de Londrina, Paraná, se destaca em número de casos e óbitos por dengue, requerendo ações de vigilância entomológica mais abrangentes. Portanto, objetivou-se verificar a densidade e diversidade de mosquitos da família Culicidae presentes nos estabelecimentos públicos e vegetações ripárias urbanas de Londrina, bem como analisar suas relações ecológicas, e investigar a presença dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV em ovos e adultos coletados. O estudo foi dividido em duas etapas, descritas em dois capítulos. Na primeira etapa, foram selecionados dois estabelecimentos públicos urbanos em cada região de Londrina (Norte, Sul, Centro, Oeste e Leste), onde foram instaladas, nos ambientes externos, armadilhas ovitrampas para coleta de ovos, enquanto no interior foram capturados culicídeos adultos, com aspirador de Nasci. Foram obtidos 5077 ovos em 77 ovitrampas. A região Sul apresentou a maior infestação enquanto a região Leste a menor (Índice de Positividade de Ovitrampas: 38% e 25%; Índice de Densidade de Ovos: 67,83 e 19,03, respectivamente). A partir dos ovos, obteve-se 704 *Aedes aegypti* e 71 *Aedes albopictus* fêmeas, enquanto na aspiração capturou-se 99 *A. aegypti* e 11 *Culex quinquefasciatus*, sendo a maior quantidade na região Oeste e a menor no Norte. Detectou-se o vírus DENV-II em um *pool* de 17 fêmeas de *A. aegypti* aspiradas em uma Unidade Básica de Saúde na região Oeste. Os resultados demonstram alta densidade de espécies vetoras de patógenos, principalmente *A. aegypti*, alertando para a necessidade de vigilância constante, a fim de prevenir a circulação viral. A coleta de ovos de *A. albopictus* também alerta para a urbanização dessa espécie e potencial participação na circulação viral, demonstrando a necessidade de monitoramento do vetor e vírus. Na segunda etapa, foram coletados mosquitos adultos com aspiradores de Nasci, bem como amostras de água para verificação de imaturos de Culicidae, em seis áreas de vegetação ripária. A partir da aspiração, foram coletados 131 culicídeos, pertencentes a cinco espécies identificadas, sendo *C. quinquefasciatus* a mais dominante. A maior abundância e dominância ocorreu em áreas com maior fluxo de pessoas, enquanto os menores valores ocorreram em área menos povoada. Diversidade e riqueza foram maiores em área mais afastada de estabelecimentos urbanos. Cinco criadouros naturais e quatro artificiais foram encontrados em três áreas, obtendo-se 369 culicídeos adultos: 225 nos criadouros naturais (12 *A. aegypti*, 195 *A. albopictus* e 18 *Limatus durhamii*), e 144 nos criadouros artificiais (127 *A. aegypti* e 117 *A. albopictus*). Os resultados demonstram que áreas de vegetação ripária urbanas abrigam espécies sinantrópicas e silvestres com importância para a saúde pública, sendo influenciadas por atividades antrópicas. Portanto, são necessárias ações de vigilância constante para o vetor e vírus, assim como nos estabelecimentos públicos.

Palavras-chave: ecologia; mosquitos; espaços urbanos; Arbovírus.

SILVA, Karina Rossi da. **Diversity of Culicidae (Diptera) and analysis of viral circulation, in public establishments and urban riparian vegetation in northern Paraná, Brazil.** 2021. 129 p. Dissertation (Master's degree in Biological Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, 2021.

ABSTRACT

Brazil has been suffering a dengue epidemic since 2019, also registering cases of Zika and chikungunya. The Londrina city, Paraná, stands out in number of cases and deaths from dengue, requiring more embracing entomological surveillance actions. Therefore, the objective was to verify the density and diversity of mosquitoes of the Culicidae family present in public establishments and urban riparian vegetation in Londrina, as well as to analyze their ecological relationships, and to investigate the presence of DENV, ZIKV and CHIKV viruses in eggs and adults collected. The study was divided into two stages, described in two chapters. In the first stage, two urban public establishments were chosen in each region of the Londrina (North, South, Center, West and East), where ovitrap traps were installed in the external environments to capture eggs, while in the interior, culicids adults were captured with a Nasco aspirator. A total of 5077 eggs were obtained in 77 ovitraps. The South region had the highest infestation while the East region had the lowest (Ovitrap Positivity Index: 38% and 25%; Egg Density Index: 67.83 and 19.03, respectively). From the eggs, 704 *Aedes aegypti* and 71 females *Aedes albopictus* were obtained, while 99 *A. aegypti* and 11 *Culex quinquefasciatus* adults was captured from aspiration, the largest amount in the West region and the smallest in the North. DENV-II virus was detected in a pool of 17 *A. aegypti* females aspirated in a Basic Health Unit in the West region. The results demonstrate high density of pathogen vector species, mainly *A. aegypti*, warning of the need for constant surveillance to prevent viral circulation. The collection of *A. albopictus* eggs also alerts to the urbanization of the species and potential participation in the viral circulation, demonstrating the need for vector and virus monitoring. In the second stage, adult mosquitoes were collected with Nasco aspirators, and water samples to verify Culicidae immatures, in six areas of riparian vegetation. From the aspiration, 131 Culicidae were collected, belonging to five identified species, being *C. quinquefasciatus* the most dominant. The greatest abundance and dominance occurred in areas with high flow of people, while the lowest values occurred in areas with low flow of people. Diversity and richness were greater in an area further away from urban establishments. Five natural and four artificial breeding sites were found in three areas, resulting in 369 adult Culicidae: 225 in natural breeding sites (12 *A. aegypti*, 195 *A. albopictus* and 18 *Limatus durhamii*), and 144 in artificial breeding sites (127 *A. aegypti* and 117 *A. albopictus*). The results demonstrate that urban riparian vegetation areas harbor both species of public health importance synanthropic and wild, being influenced by anthropic activities. Therefore, constant surveillance actions are needed for the vector and virus, as well as in public establishments.

Key-words: ecology; mosquitoes; urban spaces; Arboviruses.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1** – Ciclo de vida dos mosquitos culicídeos19
- Figura 2** – Tipos de oviposição de alguns gêneros da família Culicidae19
- Figura 3** – Vista lateral da cabeça de adultos da subfamília Culicinae: a) fêmea de Culicinae; b) macho de Culicinae. ANT: antena; PMx: palpo maxilar; Pr: probóscide; Lb: labela.20
- Figura 4** – Formas adultas das espécies *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*21
- Figura 5** – Armadilha do tipo ovitrampa para captura de ovos de *Aedes*29
- Figura 6** – Aspirador de Nasci otimizado para captura de mosquitos adultos30

CAPÍTULO 1

- Figura 1** – Fig. 1. Localização geográfica da área de estudo, demonstrando os pontos de coletas, realizadas entre janeiro e setembro de 2019, na área urbana do município de Londrina, Paraná, Brasil.48
- Figura 2** – Fig. 2. Porcentagem de ovos de *Aedes* spp. coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 201954
- Figura 3** – Porcentagem de fêmeas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* obtidas dos ovos coletados nas ovitrampas, em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 201956

CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Áreas amostrais localizadas no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil: 1) Ribeirão Cambé Nascente (RCN); 2) Ribeirão Cambé Daher (RCD); 3) Ribeirão Cambé Tóquio (RCT); 4) Aterro do Lago Igapó (ALI); 5) Córrego Capivara (CC) e 6) Assentamento indígena (AI).....87
- Figura 2** – Localização geográfica da área de estudo, demonstrando os pontos de coletas realizadas entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021, distribuídos ao longo do Ribeirão Cambé, no perímetro

urbano de Londrina, Paraná, Brasil.....	88
Figura 3 – Modelos otimizados do aspirador de Nasci, utilizados para aspiração de mosquitos adultos entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021: A) Aspirador de cabo pequeno para coleta em arbustos; B) aspirador de cabo grande para coleta em copas de árvores	92
Figura 4 – Potes de eclosão (A) e bacia coberta com microtule (B), em B.O.D. à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, contendo amostras de água recolhidas de potenciais criadouros de mosquitos, encontrados nas áreas amostrais entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021	94

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** – Valores médios de IPO e IDO, obtidos em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019, e estimativa do nível de infestação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* por meio de valores do IDO55
- Tabela 2** – Total e proporção de adultos de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* capturados com aspirador de Nasci nas cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019, média e Desvio Padrão da Média para *A. aegypti*, com as devidas diferenças para o teste de Dunn57
- Tabela 3** – Total de adultos fêmeas e proporção de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* obtidas dos ovos coletados em ovitrampas nas cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 201958
- Tabela 4** – Correlação de Spearman entre a média de ovos coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina e valores de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, referentes ao período de janeiro a setembro de 2019.....60
- Tabela 5** – Correlação de Spearman entre a quantidade adultos coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina e valores de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, referentes ao período de janeiro a setembro de 2019.....60

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** – Abundância, diversidade, riqueza, dominância, equitabilidade, e proporção de culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci, em cada área amostral, no período de novembro de 2020 a março de 202197
- Tabela 2** – Total de criadouros e espécies de Culicidae obtidas nas amostras de água coletadas em depósitos naturais e artificiais encontrados no assentamento indígena, Aterro do Lago Igapó e Córrego Capivara, no período de novembro de 2020 a março de 2021100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.	<i>Aedes</i>
AI	Assentamento indígena
ALI	Aterro do Lago Igapó
An.	<i>Anopheles</i>
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
C.	<i>Culex</i>
CC	Córrego Capivara
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico complementar
CHIKV	Vírus chikungunya
CVBD	<i>Companion Vector-Borne Diseases</i>
DENV	Vírus dengue
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPM	Desvio Padrão da Média
GPS	Sistema de Posicionamento Global
IB	Índice de Breteau
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IDO	Índice de Densidade de Ovos
IEC	Instituto Evandro Chagas
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
IP	Índice Predial
IPO	Índice de Positividade de Ovitampas
L.	<i>Limatus</i>
LAMFIC	Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae
LEM	Laboratório de Entomologia Médica
LIRAA	Levantamento Rápido de Índices de Infestação para <i>Aedes aegypti</i>

MS	Ministério da Saúde
<i>Nys.</i>	<i>Nyssorhynchus</i>
PNH	Primatas Não-Humanos
<i>P.</i>	<i>Psorophora</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PNCDD	Programa Nacional de Controle da Dengue
RCD	Ribeirão Cambé Daher
RCN	Ribeirão Cambé Nascente
RCT	Ribeirão Cambé Tóquio
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia da Polimerase
SESA	Secretaria de Estado da Saúde
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
T	Temperatura
UBS	Unidade Básica de Saúde
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UR	Umidade Relativa do ar
USP	Universidade de São Paulo
WHO	<i>World Health Organization</i>
WRBU	<i>The Walter Reed Biosystematics Unit</i>
YFV	<i>Yellow Fever Virus</i>
ZIKV	<i>Zika Virus</i>

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
OBJETIVOS.....	31
HIPÓTESES.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
CAPÍTULO 1. Densidade e diversidade de Culicidae (Diptera), com análise da circulação viral, em estabelecimentos públicos urbanos no Norte do Paraná, Brasil.....	40
Resumo	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos	47
Resultados	53
Discussão	61
Referências.....	69
CAPÍTULO 2. Diversidade e abundância de Culicidae (Diptera), com análise da circulação viral, em vegetações ripárias urbanas no Norte do Paraná, Brasil	80
Resumo	81
Abstract.....	82
Introdução.....	83
Material e Métodos	86
Resultados	96
Discussão	102
Conclusão	111
Referências.....	112
CONCLUSÃO GERAL.....	120

APÊNDICES	122
APÊNDICE A – Dados de temperatura (T) média, máxima e mínima, e umidade relativa do ar (UR) média, obtidos em cada período amostral realizado nos estabelecimentos públicos urbanos de Londrina Paraná.....	123
APÊNDICE B – Dados de precipitação pluviométrica registrada 14 dias antes de cada período amostral realizado nos estabelecimentos públicos urbanos das cinco regiões de Londrina, Paraná.....	126
APÊNDICE C – Quantidade de ovos de <i>Aedes</i> spp. coletados por meio de ovitrampas, em cada réplica realizada na região Sul de Londrina, Paraná.....	127
APÊNDICE D – Quantidade de ovos de <i>Aedes</i> spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica de coleta na região Norte de Londrina, Paraná	127
APÊNDICE E – Quantidade de ovos de <i>Aedes</i> spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região central de Londrina, Paraná	128
APÊNDICE F – Quantidade de ovos de <i>Aedes</i> spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região Oeste de Londrina, Paraná	128
APÊNDICE G – Quantidade de ovos de <i>Aedes</i> spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região Leste de Londrina, Paraná	128
APÊNDICE H – Dados de temperatura (T) média, máxima e mínima, e umidade relativa do ar (UR) média registrados durante o período amostral, e precipitação acumulada 14 dias antes de cada coleta realizada nas vegetações ripárias urbanas de Londrina, Paraná	129

INTRODUÇÃO GERAL

Aspectos gerais da família Culicidae

A família Culicidae Meigen, 1818 está inserida na subordem Nematocera, ordem Diptera, classe Insecta e filo Arthropoda. É representada por insetos conhecidos popularmente como mosquitos, pernilongos, muriçocas, carapanãs, sovelas, entre outros nomes, e também designados como culicídeos. Essa família é dividida em duas subfamílias: Anophelinae, possuindo três gêneros, e Culicinae, com 110 gêneros distribuídos em 11 tribos, englobando 3585 espécies válidas (Forattini, 2002; Harbach, 2021; WRBU, 2021).

Os culicídeos apresentam grande plasticidade genética e valência ecológica, o que garante excelente adaptação a diversas condições ambientais. Isso explica a ampla dispersão desses insetos por todo o planeta, embora haja maior abundância e riqueza de espécies na região Neotropical, onde o clima e ambiente são mais propícios ao desenvolvimento e reprodução dos mosquitos (Lopes, 1997; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Kraemer et al., 2015; Eiras, 2016; Harbach, 2021; WRBU, 2021).

O desenvolvimento dos culicídeos é holometábolo, isto é, apresenta metamorfose completa, cujas fases imaturas (ovo, larva e pupa) são aquáticas, enquanto o adulto é alado e terrestre (Fig. 1) (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Eiras, 2016). No entanto, o tempo de desenvolvimento varia entre os gêneros, podendo durar de sete a vinte dias, de acordo com a faixa de temperatura adequada para cada um, dentre outras condições do meio, como umidade e disponibilidade de alimento. A oviposição também ocorre de forma diferente para cada gênero (Fig. 2) podendo variar a maneira como os ovos são depositados, bem como o número de ovos em cada postura, além do local para a oviposição, a qual pode ser feita diretamente na água, no solo ou em recipientes, sendo fixos ou temporários, e ainda, naturais ou artificiais (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Eiras, 2016).

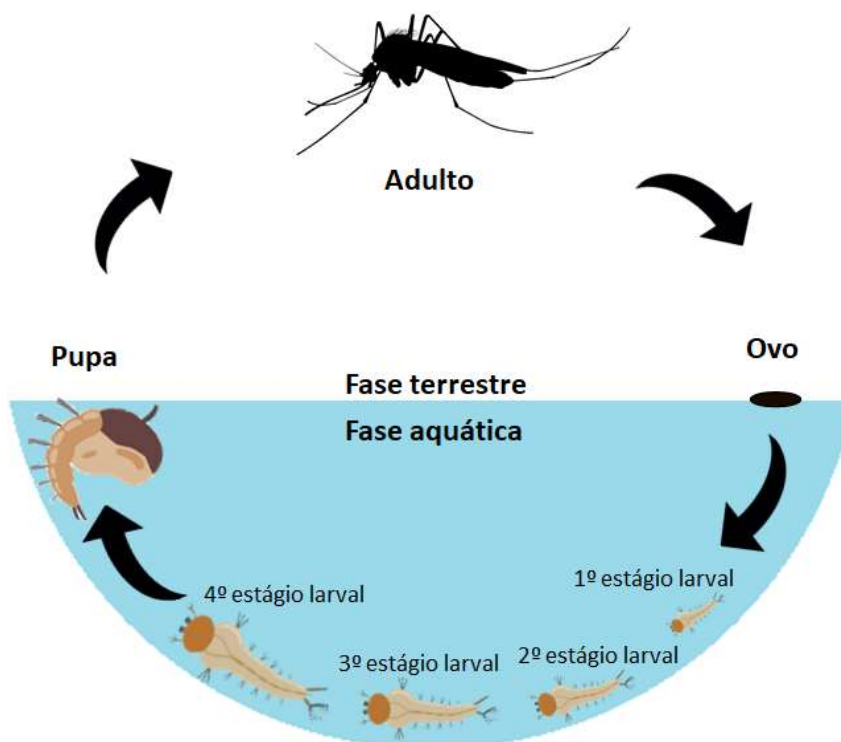


Fig. 1. Ciclo de vida dos mosquitos culicídeos. **Fonte:** adaptado de Vectorstock (2021).



Fig. 2. Tipos de oviposição de alguns gêneros da família Culicidae. **Fonte:** LABEIN – UNIR.

Os indivíduos adultos da família Culicidae são caracterizados por possuírem escamas revestindo a maior parte do corpo, inclusive as veias das asas, além de apresentarem uma probóscide fina e longa, que se estende além do clipeo, com apêndices bucais em forma de estiletos perfurantes (aparelho sugador labial hexaqueta). A coloração do corpo varia de preto a marrom, podendo também possuir escamas coloridas, manchas e listras brancas. Os machos e fêmeas de qualquer espécie dessa família podem ser diferenciados principalmente pela

genitália, palpos maxilares e antenas, sendo estas do tipo plumosa em machos, e do tipo pilosa nas fêmeas (Fig. 3) (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Carvalho et al., 2012; Eiras, 2016).

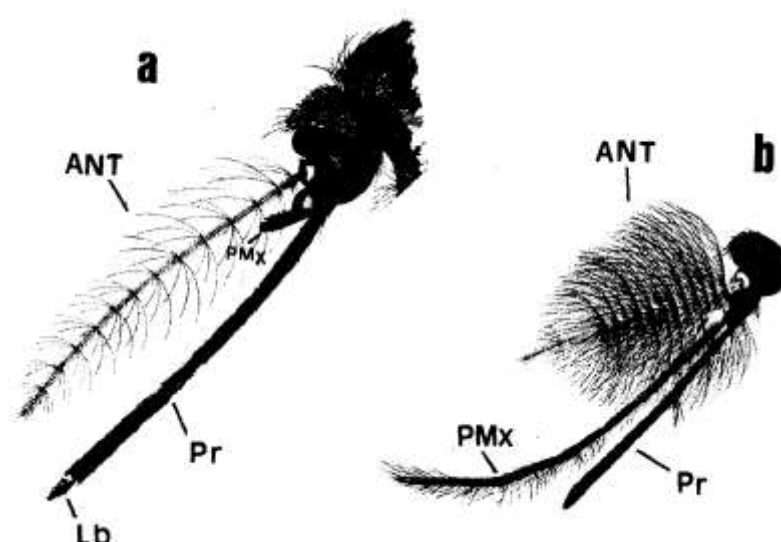


Fig. 3. Vista lateral da cabeça de adultos da subfamília Culicinae: a) fêmea de Culicinae; b) macho de Culicinae. ANT: antena; PMx: palpo maxilar; Pr: probóscide; Lb: labela. **Fonte:** Consoli e Oliveira (1994).

Fêmeas e machos de Culicidae se alimentam de líquidos vegetais, como seiva, néctar e exsudatos. Contudo, as fêmeas de muitas espécies necessitam de sangue de animais vivos para a maturação de seus ovos. Em razão disso, algumas espécies possuem destaque na entomologia médica, pois, através da hematofagia, podem transmitir diversos patógenos nocivos ao ser humano e aos animais domésticos e selvagens. Isso torna os culicídeos os organismos que, indiretamente, mais causam morbidades e mortalidade humana no mundo (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Ioc, 2009; Eiras, 2016; Harbach, 2021).

No Brasil, as espécies vetoras mais conhecidas e mais comuns no ambiente urbano são: *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Fig. 4) (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; IOC, 2009; Eiras, 2016; Zara et al., 2016). *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti* são frequentes no interior de domicílios e estabelecimentos urbanos, enquanto *Aedes albopictus* prefere áreas

peridomiciliares e com maior cobertura vegetal, ou áreas de mata próximas à população (Forattini, 2002; Lima-Camara et al., 2006; Ayllon et al., 2018; Heinisch et al., 2019). Entretanto, o *C. quinquefasciatus* possui hábito noturno para hematofagia, ao passo que *A. aegypti* e *A. albopictus* possuem hábito preferencialmente diurno (Forattini, 2002; Natal, 2002; Lima-Camara et al., 2006; IOC, 2009).

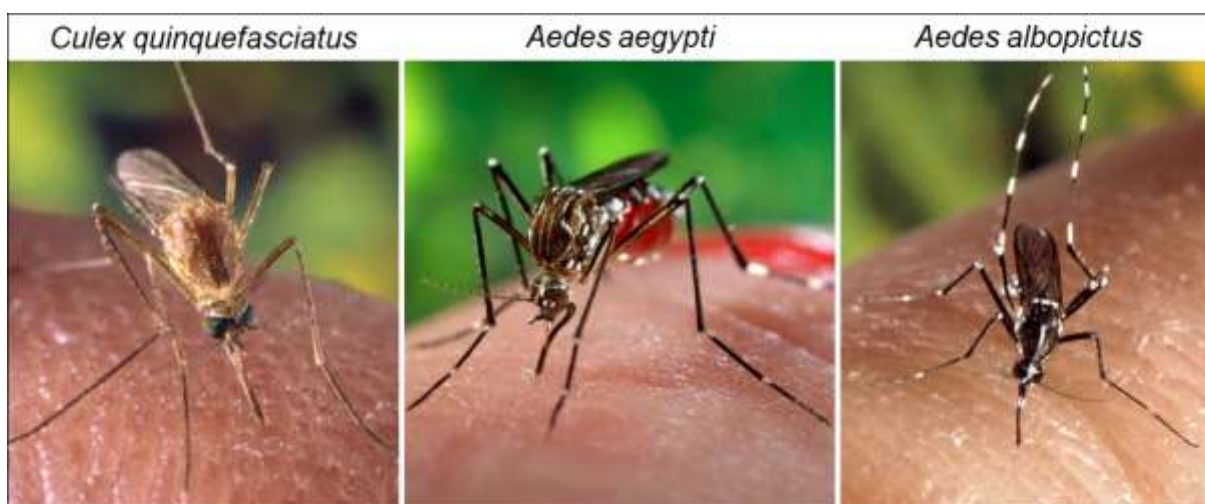


Fig. 4. Formas adultas das espécies *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Fonte:** James Gathany / Centers for Disease Control and Prevention.

Impactos da urbanização e da fragmentação florestal em mosquitos

O processo de urbanização, bem como o crescimento do agronegócio ao longo de décadas, visando principalmente a produção de *commodities* para exportação, tem gerado intensa fragmentação florestal, onde áreas amplas de vegetação nativa são suprimidas e divididas em fragmentos menores e isolados entre si (MS, 2003; Lindenmayer e Fischer, 2013). Em razão disso, o hábitat de muitas espécies, tanto animais como vegetais, é reduzido, levando ao declínio ou extinção de algumas espécies, enquanto a permanência de outras é favorecida, podendo manter-se estável ou aumentar sua abundância (MS, 2003; Laurance, 2008; Haddad et al., 2015).

Os mosquitos estão entre os organismos que podem sofrer drasticamente com o processo de urbanização e fragmentação florestal. Ao perder seu habitat, muitas espécies acabam

migrando para o ambiente urbano, em busca de alimento e local para reprodução. Dessa forma, espécies com alta capacidade de adaptação a diferentes ambientes, tornam-se domiciliadas. (Lopes, 1997; Taipe-Lagos e Natal, 2003; Leisnham et al., 2004; Zahouli et al., 2017; Montagner et al., 2018).

Áreas verdes periurbanas ou presentes no meio urbano servem como refúgio para diversas espécies de mosquitos, adaptadas ou não ao ambiente antrópico, incluindo espécies vetoras de patógenos (Zequi et al., 2005; Espinoza, 2018; Ceretti-Junior et al., 2020). Nesses locais, estão disponíveis criadouros naturais para as formas imaturas dos mosquitos, como ocos em árvores, buracos em bambus e em rochas, axilas de plantas e brácteas de palmeiras, além de serem descartados diversos tipos de lixos artificiais, como recipientes e embalagens de plástico, pneus e materiais de construção, os quais também acabam sendo utilizados como criadouros para espécies oportunistas (Lopes, 1997; Leisnham et al., 2004; Zequi et al., 2005; Zahouli et al., 2017).

Algumas espécies com maior plasticidade genética podem se estabelecer nas residências urbanas e se reproduzir em ambientes domésticos, como caixas d'água, piscinas, ralos e calhas. Com a aproximação dessas espécies ao homem, fêmeas hematófagas com capacidade vetorial passam a disseminar patógenos à população humana e aos animais domésticos (Lopes, 1997; Taipe-Lagos e Natal, 2003; Barros e Honório, 2015; Montagner et al., 2018).

Principais arbovírus transmitidos por mosquitos urbanos

Dengue (DENV)

O vírus DENV é um arbovírus (vírus transmitido por artrópodes) pertencente à família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*. É caracterizado por possuir genoma constituído por RNA positivo de fita simples, é envelopado e possui capsídeo icosaédrico, medindo entre 40 e 60 nm de diâmetro (Santos et al., 2015).

O vírus DENV apresenta quatro sorotipos circulantes no meio urbano: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, sendo que todos eles podem causar tanto a dengue clássica quanto manifestações mais graves da doença (Santos et al., 2015; WHO, 2020a). Estudos demonstram que os sorotipos 2 e 3 são os mais virulentos, ou seja, são capazes de causar sintomas mais graves (Vaughn et al., 2000; Nisalak et al., 2003; Balmaseda et al., 2006; BVS, 2015; Soo et al., 2016; Lovera et al., 2019). Além disso, os quatro sorotipos da dengue podem circular ao mesmo tempo em uma região, como já foi relatado na cidade de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul (Souza et al., 2018), e na cidade de Manaus, Amazonas (Bastos et al., 2012), no Brasil, o que aumenta os riscos para o desenvolvimento de dengue grave, uma vez que podem ocorrer infecções secundárias por mais de um sorotipo (Martins et al., 2014; WHO, 2020a).

Nas últimas décadas, a incidência global de dengue cresceu rapidamente no mundo, ocorrendo principalmente em regiões tropicais e subtropicais, sobretudo em áreas urbanas e semiurbanas, sendo veiculada principalmente pelo *A. aegypti*, e secundariamente pelo *A. albopictus* em regiões da Ásia e Europa (WHO, 2020a; ECDC, 2021). Estima-se que haja de 100 a 400 milhões de infecções por ano, em mais de 100 países endêmicos, deixando cerca de metade da população mundial em risco de infecção (WHO, 2020a).

Após a ocorrência de um grande surto de dengue mundialmente em 2016, seguido de uma diminuição no número de casos em 2017, ocorreu novamente um aumento acentuado em 2019 nas regiões da África, Américas e Pacífico Ocidental, sendo o ano onde foi relatado o maior número de casos globalmente (WHO, 2020a). Em 2020, continuaram as ocorrências de dengue em vários países, com registros de aumento de casos, inclusive no Brasil (WHO, 2020a; MS, 2021).

Segundo o Ministério da Saúde, o Brasil registrou 1.544.987 casos prováveis de dengue em 2019, representando um aumento de 488% em relação ao ano anterior. Desse total, foram

confirmados 1.419 casos de dengue grave e 782 óbitos (MS, 2020a). Em 2020 o total de casos prováveis foi de 987.173, sendo que 89,8% desses casos ocorreu somente no período de janeiro a junho, onde o Paraná foi um dos estados que mais se destacou em número de casos, com mais de 250 mil registros. Também foram registrados 554 óbitos, com a maior concentração no Paraná (187) (MS, 2021a).

O ano de 2021 também iniciou com elevados casos de dengue, porém com redução de 51,8 % em relação ao mesmo período do ano anterior (janeiro a julho), sendo registrados 440.012 casos prováveis e 154 óbitos nesse período em 2021. No entanto, ressalta-se que, desde fevereiro de 2020, o Brasil enfrenta uma pandemia da COVID-19 e isso pode estar ocasionando uma possível subnotificação, devido à menor procura da população por atendimento em unidades de saúde, além de atraso nas notificações das arboviroses (MS, 2021b).

Já existe uma vacina disponível para os quatro sorotipos da dengue, porém sua eficácia é moderada, situando-se em torno de 60% para uma faixa de 2 a 16 anos de idade, embora seja indicada para a faixa de 9 a 45 anos (Godói et al., 2017; Fongwen et al., 2021). Dessa forma, o maior foco deve ser voltado ao monitoramento e controle dos vetores, uma vez que estes também podem veicular e transmitir outros patógenos para os quais ainda não existe vacina, como os vírus causadores da Zika e chikungunya.

Zika (ZIKV)

Assim como o vírus DENV, o vírus ZIKV pertence à família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*, apresentando as mesmas características estruturais. No entanto, apresenta apenas um sorotipo conhecido (Haddow, 2012; Santos et al., 2015).

O primeiro surto de infecção por ZIKV foi registrado em 2007, na Ilha de Yap (Estados Federados da Micronésia). Posteriormente, ocorreram surtos na Polinésia Francesa e em outros países e territórios no Pacífico, em 2013, enquanto no Brasil ocorreu em março de 2015. A partir de então, o vírus se espalhou para outras regiões do mundo, atingindo cerca de 86 países

e territórios da África, Ásia, Américas e Pacífico, onde foram relatadas evidências de ocorrência de infecção por ZIKV, por meio da veiculação do vírus por mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente da espécie *A. aegypti* (WHO, 2018).

Após o surto de Zika no Brasil em 2015, continuaram ocorrendo infecções, embora em menor escala, até os dias atuais. Em 2019 foram relatados 10.768 casos prováveis de Zika no país, com ocorrência de três óbitos no estado da Paraíba, região Nordeste (MS, 2020a), enquanto em 2020 foram registrados 7.387 casos prováveis e nenhum óbito (MS, 2021a).

Em 2021, até julho foram notificados 3.458 casos prováveis, apresentando diminuição de 35,6 % no número de casos, em relação ao mesmo período no ano anterior, possivelmente devido a subnotificações e atraso nas notificações, em virtude da pandemia da COVID-19, enquanto óbitos não foram registrados para Zika (MS, 2021b). É importante mencionar também que a partir do surgimento desse vírus no Brasil, muitos casos de microcefalia e/ou alterações do Sistema Nervoso Central em recém-nascidos foram registrados no país, onde foram confirmados mais de 3 mil casos entre 2015 e 2020, causando surtos principalmente na região Nordeste (MS, 2020b).

A Síndrome de Guillain-Barré é outra doença associada ao ZIKV que vem causando preocupação desde a introdução do vírus no país. Sua incidência anual é de 1-4 casos por 100.000 habitantes, ocorrendo principalmente em pessoas de 20 a 40 anos de idade, sobretudo do sexo masculino (Malta e Ramalho, 2020; MS, 2021c).

Chikungunya (CHIKV)

Diferentemente dos vírus DENV e ZIKV, o vírus CHIKV pertence à família Togaviridae, gênero *Alphavirus*, apresentando tamanho um pouco maior (cerca de 70 nm de diâmetro). Ademais, apenas um sorotipo é conhecido para esse vírus (Santos et al., 2015).

O primeiro surto de chikungunya ocorreu em 1952 no sul da Tanzânia. Surtos

posteriores foram registrados a partir de 1999 na África e, em seguida, em ilhas do oceano Índico e na Ásia. Em 2007, ocorreu um surto da doença na Europa, com casos autóctones pela primeira vez, enquanto nas Américas o surto com transmissão autóctone ocorreu pela primeira vez em 2013, e em 2014 nas Ilhas do Pacífico (WHO, 2020b). Em 2015 e 2016, houve um declínio nos casos de chikungunya mundialmente, porém, o Brasil estava entre os países que notificaram a maioria dos casos, e atualmente é o país que mais sustenta casos nas Américas (WHO, 2020b). O CHIKV pode ser veiculado tanto pelo *A. aegypti* como pelo *A. albopictus*, dependendo da região (WHO, 2020b).

No Brasil, foram notificados 132.205 casos prováveis de chikungunya em 2019, havendo 92 óbitos (MS, 2020a), enquanto em 2020 foram notificados 82.419 casos prováveis e 30 óbitos (MS, 2021a). Entre janeiro e julho de 2021, foram notificados 63.713 casos prováveis, correspondendo a uma diminuição de 3,6% dos casos em relação ao número registrado no mesmo período no ano anterior, assim como relatado para dengue e Zika, em razão de subnotificações devido à pandemia da COVID-19. Também foram registrados sete óbitos nesse período (MS, 2021b).

Febre amarela (YFV)

O vírus da febre amarela (YFV) pertence à mesma família e gênero dos vírus DENV e ZIKV, possuindo as mesmas características estruturais e genômicas. Assim como os vírus ZIKV e CHIKV, possui apenas um sorotipo conhecido (Santos et al., 2015). Entretanto, existe na natureza dois ciclos para a transmissão do YFV, um ciclo silvestre e um ciclo urbano (ICMBio, 2018; MS, 2020c).

No ciclo silvestre, os mosquitos vetores podem transmitir o vírus, por meio da hematofagia, a um hospedeiro silvestre, bem como se infectar a partir desse hospedeiro que, no caso, são primatas não-humanos (PNH), neotropicais, dos gêneros *Alouatta* (bugios,

guaribas), *Callithrix* (saguís, micos) e *Sapajus* (macacos-prego). Nesse ciclo, os humanos participam como hospedeiro acidental, ao frequentar áreas de mata. Estes, por sua vez, ao frequentar o ambiente urbano, podem infectar mosquitos urbanos hematófagos, os quais podem transmitir o vírus a outras pessoas, gerando um ciclo urbano de transmissão (ICMBio, 2018; MS, 2020c).

Os principais vetores envolvidos no ciclo silvestre da febre amarela, na América Latina, são mosquitos de hábitos silvestres, do gênero *Haemagogus* e *Sabethes*, sendo que os vetores primários no Brasil são o *Haemagogus janthinomys* e *H. leucocelaenus*, responsáveis pelo surto no país ocorrido entre 2016 e 2018 (Abreu et al., 2019). Por outro lado, no ciclo urbano, a principal espécie envolvida na transmissão do YFV é o *A. aegypti* (ICMBio, 2018; MS, 2020c). No entanto, o último surto de febre amarela urbana no Brasil ocorreu em 1942 no Acre (Franco, 1969; Consoli e Oliveira, 1994). Portanto, casos posteriores de febre amarela registrados no Brasil, até atualmente, são apenas silvestres, sem relação com o *A. aegypti* (MS, 2020c).

Uma metodologia desenvolvida pela Fiocruz (Sistema de Informação em Saúde Silvestre – SISS-Geo) tem funcionado como um importante aliado no monitoramento da febre amarela silvestre. Esse sistema permite gerar modelos de alerta da doença na fauna silvestre a partir de observações georreferenciadas de animais, onde primatas não-humanos são importantes sentinelas (CISS/FIOCRUZ, 2021). No Brasil, entre julho de 2020 e janeiro de 2021, foram notificadas 574 epizootias de febre amarela em PNH, com 37 confirmações nos seguintes estados: Distrito Federal (1), Goiás (16), São Paulo (1), Paraná (11) e Santa Catarina (8). Nesse mesmo período foram notificados 125 casos humanos suspeitos de febre amarela, mas nenhum foi confirmado (MS, 2021d). Vale mencionar que existe vacina eficaz e segura para a febre amarela, sendo recomendada em 4.469 municípios brasileiros (MS, 2019).

Pesquisa e monitoramento de vetores com uso de armadilhas e aspiradores entomológicos

Diante da preocupação com elevada infestação de mosquitos vetores de arboviroses em áreas urbanas e periurbanas, e conseqüente aumento da circulação de arboviroses, diversas metodologias e ferramentas foram desenvolvidas com o intuito de mensurar o nível de infestação vetorial, bem como investigar e monitorar a presença dos mosquitos vetores. Esses objetivos podem ser alcançados por meio da captura de formas imaturas e/ou captura da forma adulta dos mosquitos (MS, 2013; CEVS, 2009).

O ministério da Saúde promoveu em 2002, por meio do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), o Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA). Essa metodologia permite verificar a infestação vetorial, a partir de coletas de larvas de *Aedes* e cálculos de índices larvários: Índice Predial (IP) e Índice de Breteau (IB), possibilitando levantar o percentual de edifícios com presença de larvas, e de recipientes com larvas para cada 100 imóveis inspecionados, além de obter informações acerca dos tipos de recipientes usados como criadouros para as larvas (MS, 2013).

Contudo, muitos estudos de monitoramento vetorial vêm demonstrando a eficiência e sensibilidade de uma armadilha para captura de ovos de *A. aegypti* e *A. albopictus* na determinação de índices de infestação dos vetores, sendo superior à pesquisa larval (Regis et al., 2008; Nota técnica n.º 3/2014/IOC-FIOCRUZ/Diretoria, 2014; Depoli et al., 2016; Nascimento et al., 2020; Rossi Da Silva et al., 2021). Essa ferramenta foi desenvolvida em 1965, por Fay e Perry, sendo denominada de ovitrampa.

As ovitrapas consistem em potes de plástico de coloração preta, contendo uma palheta de madeira (*Duratree*) com um lado áspero. No interior podem ser adicionadas soluções atrativas para as fêmeas de *Aedes*, ou apenas água (Fig. 5). A partir da quantidade de ovos depositados pelas fêmeas nas ovitrapas, é possível gerar índices de abundância indireta de mosquitos e possibilita verificar a distribuição local e temporal dos mosquitos. No entanto, não

permite presumir o número de fêmeas que visitou a armadilha (Fay e Perry, 1965; Facchinelly et al., 2007; Regis, et al. 2008).



Fig. 5. Armadilha do tipo ovitrampa para captura de ovos de *Aedes*. **Fonte:** o próprio autor.

Para a coleta de mosquitos adultos, podem ser utilizadas armadilhas otimizadas para a captura tanto de ovos como das fêmeas que depositam seus ovos no local, tornando possível também a utilização dos adultos capturados para investigação viral (Facchinelly et al., 2007; Rossi da Silva et al., 2021). Existem também armadilhas específicas para a captura de formas adultas, como armadilhas luminosas e aspiradores elétricos e manuais. Enquanto as armadilhas luminosas são funcionais apenas para coletas noturnas, os aspiradores podem ser utilizados em qualquer período (CEVS, 2009).

O aspirador de Nasci, desenvolvido em 1981, é um exemplo de aspirador elétrico que demonstra ser uma ferramenta eficiente na captura ativa de mosquitos adultos, podendo capturar esses insetos em pleno vôo ou escondidos em abrigos naturais e artificiais. Além disso, os mantém vivos, permitindo a utilização desses mosquitos para pesquisa viral de forma eficiente (Nasci, 1981; Costa et al., 2009; CEVS, 2009). Essa ferramenta consiste em um

cilindro de alumínio com um tecido de tule, e uma hélice, devendo ser conectada a uma bateria de 12 volts para funcionamento (Fig. 6) (Nasci, 1981; CEVS, 2009).



Fig. 6. Aspirador de Nasci otimizado para captura de mosquitos adultos. **Fonte:** o próprio autor.

Pesquisa viral em mosquitos por meio da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em Tempo Real

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi desenvolvida por Kary Mullis em 1983, com o intuito de realizar análises de expressão gênica e diagnósticos virológicos em amostras clínicas. No final de 1990, essa técnica foi aprimorada com uma metodologia em tempo real, que permite acompanhar a reação e visualização dos resultados (qualitativos e quantitativos) de maneira mais rápida e precisa, dispensando a realização de eletroforese (Mullis et al., 1986; Novais et al., 2004; Santos et al., 2015).

A PCR consiste na amplificação, por ação da enzima DNA-polimerase, de sequências específicas de DNA *in vitro*, extraído de tecidos, fluidos ou culturas de células, ou seja, bilhões de cópias de moléculas de DNA são geradas a partir de quantidades mínimas da molécula molde (Mullis et al., 1986; Novais et al., 2004; Santos et al., 2015).

Se o ácido nucleico a ser analisado for o RNA, deve-se utilizar a técnica de RT-PCR (Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia da Polimerase), onde o ácido nucleico em questão é primeiramente convertido em DNA complementar (cDNA), por meio da etapa de transcrição reversa, para posterior realização da amplificação por PCR, uma vez que a molécula de RNA é menos estável que a de DNA (Santos et al., 2015).

Diante da necessidade crescente de vigilância epidemiológica e avaliação de arboviroses em humanos, em virtude de elevados casos de infecções globalmente, a PCR começou a ser utilizada para detecção de arbovírus nocivos ao ser humano, em diversos tipos de amostras, como soro, plasma e urina humana, e até mesmo em mosquitos vetores, possibilitando maior facilidade e agilidade em diagnósticos de doenças virais, e contribuindo também com a prevenção e monitoramento de epidemias (Chow et al., 1998; Eisen et al., 2009; Barbosa et al., 2016).

A investigação de vírus em mosquitos vetores por meio da técnica de PCR em tempo real vem sendo realizada por diversos pesquisadores, como Yang et al. (2010), Ferreira-de-Brito et al. (2016), Balingit et al. (2020) e Rezende et al. (2020). Essa tecnologia utiliza sondas fluorescentes para detectar sequências de cDNA amplificadas à medida que são produzidas durante os diferentes ciclos. Dessa forma, fornece os resultados em tempo real, e não apenas ao final do processo. Portanto, a metodologia em tempo real apresenta maior desempenho e velocidade, além de possuir alta sensibilidade e especificidade, e baixo risco de contaminação, sendo então mais vantajosa que os métodos convencionais utilizados para diagnóstico de agentes patogênicos. (Novais et al., 2004; Espy et al., 2006; Santos et al., 2015).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Verificar a densidade populacional e as relações ecológicas de Culicidae, em estabelecimentos públicos e vegetações ripárias na zona urbana do município de Londrina, Paraná, Brasil.

Objetivos Específicos

- Analisar a diversidade de mosquitos culicídeos presentes em estabelecimentos públicos e vegetações ripárias na zona urbana de Londrina.
- Identificar o índice de infestação de *Aedes* em estabelecimentos públicos urbanos de Londrina.
- Verificar a presença dos vírus DENV (e seus sorotipos), ZIKV e CHIKV em adultos e ovos da família Culicidae, a fim de verificar a ocorrência de transmissão viral horizontal e vertical.

HIPÓTESES

- Na área urbana de Londrina, as espécies de Culicidae presentes são principalmente o *A. aegypti*, *A. albopictus* e *C. quinquefasciatus*.
- A densidade populacional de adultos de *A. aegypti* prevalece sobre as demais espécies de Culicidae encontradas nos estabelecimentos públicos urbanos.
- Nas armadilhas instaladas ao redor dos estabelecimentos urbanos, espera-se capturar apenas ovos de *A. aegypti* e de *A. albopictus*.
- Nas áreas de vegetações ripárias urbanas, o *A. albopictus* é mais comum que outras espécies urbanas, e encontram-se espécies de hábitos mais silvestre.

- Áreas de vegetação ripária mais preservadas possuem menor densidade de mosquitos da espécie *C. quinquefasciatus* e *A. aegypti*, ao passo que possuem maior densidade de mosquitos da espécie *A. albopictus* entre outros culicídeos silvestres.
- Nas áreas de vegetações ripárias urbanas encontra-se maior riqueza de culicídeos do que em estabelecimentos urbanos.
- A densidade populacional das espécies de Culicidae capturadas é maior em períodos com temperaturas mais elevadas e após dias de maior precipitação pluviométrica.
- O vírus dengue pode ser encontrado principalmente em populações de *A. aegypti* nos espaços urbanos.

REFERÊNCIAS

- Abreu, F.V.S.D., Ribeiro, I.P., Ferreira-de-Brito, A., Santos, A.A.C.D., Miranda, R.M.D., Bonelly, I.D.S., ... Lourenço-de-Oliveira, R. 2019. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. *Emerging microbes & infections*, 8(1), 218–231. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1568180>
- Ayllón, T., Câmara, D.C.P., Morone, F.C., da Silva Gonçalves, L., de Barros, F.S.M., Brasil, P., Carvalho, M.S., Honório, N.A., 2018. Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: Initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. *PLoS One* 13(4), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195014>
- Balingit, J.C., Carvajal, T.M., Saito-Obata, M., Gamboa, M., Nicolasora, A.D., Sy, A.K., Oshitani, H., Watanabe, K., 2020. Surveillance of dengue virus in individual *Aedes aegypti* mosquitoes collected concurrently with suspected human cases in Tarlac City, Philippines. *Parasites and Vectors* 13, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04470-y>
- Balmaseda, A., Hammond, S.N., Pérez, L., Tellez, Y., Saborío, S.I., Mercado, J.C., Cuadra, R., Rocha, J., Pérez, M.A., Silva, S., Rocha, C., Harris, E., 2006. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74(3), 449–456. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.74.449>
- Barbosa, P.P., Guedes, D.R.D., Melo-Santos, M.A.V., Cordeiro, M.T., Acioli, R. V., Batista, C.A.V., Gonçalves, L.S.M., Souza, M.F.M., Araújo, Y. V., Magalhães, F.J.R., Regis, L., Ayres, C.F.J., 2016. Vector surveillance for dengue virus detection in the archipelago of Fernando de Noronha, Brazil. *J. Med. Entomol.* 53, 613–619. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw034>

- Barros, F.S.M., Honório, N.A., 2015. Deforestation and malaria on the amazon frontier: Larval clustering of anopheles darlingi (Diptera: Culicidae) determines focal distribution of malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 93, 939–953. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0042>
- Bastos, M.D.S., Figueiredo, R.M.P.D., Ramasawmy, R., Itapirema, E., Gimaque, J.B.L., Santos, L.O., Figueiredo, L.T.M, Mourão, M.P.G. 2012. Simultaneous circulation of all four dengue serotypes in Manaus, State of Amazonas, Brazil in 2011. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45, 393-394.
- Carvalho, C.J.B. 2012. Diptera Linnaeus, 1758. In: Rafael et al. *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Holos, Ribeirão Preto, pp. 702–744.
- Ceretti-Junior, W., Oliveira-Christe, R., Wilk-da-Silva, R., Mucci, L.F., Duarte, A.M.R. de C., Fernandes, A., Barrio-Nuevo, K.M., Carvalho, M.P., Marrelli, M.T., Medeiros-Sousa, A.R., 2020. Diversity analysis and an updated list of mosquitoes (Diptera: Culicidae) found in Cantareira State Park, São Paulo, Brazil. *Acta Trop.* 212. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105669>
- CEVS. Secretaria Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. 2009. *Vigilância entomológica de mosquitos (Diptera, Culicidae)*. Porto Alegre.
- Chow, V.T.K., Chan, Y.C., Yong, R., Lee, K.M., Lim, L.K., Chung, Y.K., Lam-Phua, S.G., Tan, B.T., 1998. Monitoring of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58(5), 578–586. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.58.578>
- CISS/FIOCRUZ. 2021. ISS-Geo Sistema de Informação. <https://www.biodiversidade.ciss.fiocruz.br/apresenta%C3%A7%C3%A3o-0> (accessed 03 august 2021).
- Consoli, R.A.G.B., Oliveira, R.L. de, 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Costa, C.A. da, Santos, I.G.C. Dos, Barbosa, M. da G., 2009. Detection and typing of dengue viruses in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the City of Manaus, State of Amazonas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42, 677–81. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000600013>
- Depoli, P.A.C., Zequi, J.A.C., Nascimento, K.L.C., Lopes, J., 2016. Eficácia de Ovitrapas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *EntomoBrasilis* 9(1), 51–55. <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v9i1.509>
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2021. Factsheet about dengue. <https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-fever/facts> (accessed 02 august 2021).
- Eiras, A. E. Culicidae. In: Neves, D. P. et al., 2016. *Parasitologia Humana*. 13 ed. Atheneu, São Paulo, pp. 411-424.

- Eisen, L., Beaty, B.J., Morrison, A.C., Scott, T.W., 2009. Proactive vector control strategies and improved monitoring and evaluation practices for dengue prevention. *J. Med. Entomol.* 46(6), 1245–1255. <https://doi.org/10.1603/033.046.0601>
- Espinoza, A.A. 2018. Integridade Biótica e culicideofauna terrestre no Norte do Paraná. 114p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- Espy, M.J., Uhl, J.R., Sloan, L.M., Buckwalter, S.P., Jones, M.F., Vetter, E.A., Yao, J.D.C., Wengenack, N.L., Rosenblatt, J.E., Cockerill, F.R., Smith, T.F., 2006. Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin. Microbiol. Rev.* 19(1), 595. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-06>
- Facchinelli, L., Valerio, L., Pombi, M., Reiter, P., Costantini, C., Della Torre, A., 2007. Development of a novel sticky trap for container-breeding mosquitoes and evaluation of its sampling properties to monitor urban populations of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* 21(2), 183–195. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2007.00680.x>
- Fay, R.W., Eliason, D.A., 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq news*, 26(4), 531–5.
- Fay, R.W., Perry, A.S., 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, 25(3), 276–281.
- Ferreira-de-Brito, A. *et al.* 2016. First detection of natural infection of *Aedes aegypti* with Zika virus in Brazil and throughout South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(10), 655–658.
- Fongwen, N., Delrieu, I., Ham, L.H., Gubler, D.J., Durbin, A., Ooi, E.E., Peeling, R.W., Flascheg, S., Hartigan-Goh, K., Clifford, S., Martinez, C.T., Lamballerie, X., Barnighausen, T., Wilder-Smith, A. 2021. Implementation strategies for the first licensed dengue vaccine: A meeting report. *Vaccine*. 39(34), 4759–4765. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.06.083>
- Forattini, O.P., 2002. *Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia* Vol. 2. EDUSP, São Paulo, 860.
- Franco, O. 1969. *História da Febre-amarela no Brasil*. Ministério da Saúde. Departamento Nacional de Endemias Rurais. Rio de Janeiro.
- Godói, I.P., Lemos, L.L.P., De Araújo, V.E., Bonoto, B.C., Godman, B., Guerra Junior, A.A., 2017. CYD-TDV dengue vaccine: systematic review and meta-analysis of efficacy, immunogenicity and safety. *Journal of comparative effectiveness research*, 6(2), 165–180.
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C.N., King, A.J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B.A., Nicholls, A.O., Orrock, J.L., Song, D.X., Townshend, J.R., 2015.

Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sci. Adv.* 1(2), 1–10.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>

Haddow, A.D., Schuh, A.J., Yasuda, C.Y., Kasper, M.R., Heang, V., Huy, R., Guzman, H., Tesh, R.B., Weaver, S.C., 2012. Genetic characterization of zika virus strains: Geographic expansion of the asian lineage. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6(2).
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001477>

Harbach, R. 2021. Mosquito Taxonomic Inventory. <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045> (accessed: 26 june 2021).

Heinisch, M.R.S., Diaz-Quijano, F.A., Chiaravalloti-Neto, F., Menezes Pancetti, F.G., Rocha Coelho, R., dos Santos Andrade, P., Urbinatti, P.R., de Almeida, R.M.M.S., Lima-Camara, T.N., 2019. Seasonal and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a municipal urban park in São Paulo, SP, Brazil. *Acta Trop.* 189, 104–113.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.011>

ICMBio. Ministério do Meio Ambiente. 2018. Febre amarela: macacos não transmitem a doença. <https://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/9416-febre-amarela-macacos-nao-transmitem-a-doenca> (accessed 04 january 2021).

IOC (Instituto Oswaldo Cruz). 2009. Pesquisador aponta diferenças entre *A. aegypti* e pernilongo doméstico.
<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=599&sid=32> (accessed 6 june 2020).

Kraemer, M.U.G., Sinka, M.E., Duda, K.A., Mylne, A.Q.N., Shearer, F.M., Barker, C.M., Moore, C.G., Carvalho, R.G., Coelho, G.E., Van Bortel, W., Hendrickx, G., Schaffner, F., Elyazar, I.R., Teng, H.J., Brady, O.J., Messina, J.P., Pigott, D.M., Scott, T.W., Smith, D.L., William Wint, G.R., Golding, N., Hay, S.I., 2015. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *Elife.* 4, p. e08347
<https://doi.org/10.7554/eLife.08347>

Laurance, W.F., 2008. Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. *Biol. Conserv.* 141(7), 1731–1744.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.05.011>

Leishnam, P., Lester, P., Slaney, D., Weinstein, P., 2004. Anthropogenic Landscape Change and Vectors in New Zealand: Effects of Shade and Nutrient Levels on Mosquito Productivity. *Ecohealth* 1(3), 306–316. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0026-5>

Lima-Camara, T.N.D., Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de saude publica* 22, 2079-2084.

Lindenmayer, D.B., Fischer, J. 2013. Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis. Island Press, 352.

- Lopes, J., 1997. Ecology of mosquitoes (Diptera, Culicidae) in natural and artificial rural breeding places in Northern Paraná state, Brazil: VI. Larvae collections in their home surroundings. *Revista Brasileira De Zoologia* 14(3), 571-578.
- Lovera, D., Martínez-Cuellar, C., Galeano, F., Amarilla, S., Vazquez, C., Arbo, A., 2019. Clinical manifestations of primary and secondary dengue in Paraguay and its relation to virus serotype. *J. Infect. Dev. Ctries.* 13(12), 1127–1134. <https://doi.org/10.3855/jidc.11584>
- Malta, J.M.A.S., Ramalho, W.M. 2020. Aumento das internações por síndrome de Guillain-Barré no Brasil: estudo ecológico. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 29.
- Martins, V.D.C.A., De Bastos, M.S., Ramasawmy, R., De Figueiredo, R.P., Gimaque, J.B.L., Braga, W.S.M., Nogueira, M.L., Nozawa, S., Naveca, F.G., Figueiredo, L.T.M., Mourão, M.P.G., 2014. Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. *PLoS One* 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100535>
- Montagner, F.R.G., Silva, O.S., Jahnke, S.M., 2018. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. *Brazilian J. Biol.* 78(2), 233–239. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04416>
- MS (Ministério da Saúde). 2013. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 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. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2015. Secretaria de Vigilância em Saúde. Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. Dicas em Saúde. Dengue. <http://bvsmms.saude.gov.br/dicas-em-saude/1938-dengue> (accessed 17 august. 2020).
- MS (Ministério da Saúde). 2019. Monitoramento do Período Sazonal da Febre Amarela Brasil – 2018/2019. Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2020a. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2020b. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Situação epidemiológica da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika em 2020, até a SE 45. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2020c. Febre amarela. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/f/febre-amarela> (accessed 04 january 2021).
- MS (Ministério da Saúde). 2021a. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus

transmitidos por *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, DF.

- MS (Ministério da Saúde). 2021b. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 29, 2021. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2021c. Síndrome de Guillain Barré. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/g/sindrome-de-guillain-barre> (accessed 02 august 2021).
- MS (Ministério da Saúde). 2021d. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Informe quinzenal sarampo – Brasil, semanas epidemiológicas 43 de 2020 a 1 de 2021. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, DF.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., Erlich, H., 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. 51, 263–273
- Nasci, R. S. A. lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. Mosquito News 41(4), 808–811, 1981.
- Nascimento, K.L.C., da Silva, J.F.M., Zequi, J.A.C., Lopes, J., 2020. Comparison Between Larval Survey Index and Positive Ovitrap Index in the Evaluation of Populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) North of Paraná, Brazil. Environ. Health Insights 14, 1–18. <https://doi.org/10.1177/1178630219886570>
- Natal, D., 2002. Bioecologia do *Aedes aegypti*. Biológico, São Paulo 64(2), 205–207.
- Nisalak, A., Endy, T.P., Nimmannitya, S., Kalayanaroj, S., Thisyakorn, U., Scott, R.M., Burke, D.S., Hoke, C.H., Innis, B.L., Vaughn, D.W., 2003. Serotype-specific dengue virus circulation and dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999. Am. J. Trop. Med. Hyg. 68(2), 191–202. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2003.68.191>
- Nota Técnica n.º 3/2014/IOC-FIOCRUZ/Diretoria. Avaliação de armadilhas para a vigilância entomológica de *Aedes aegypti* com vistas à elaboração de novos índices de infestação. 2014. Disponível em: http://www.fiocruz.br/ioc/media/nota_tecnica_ioc_3.pdf. (accessed 28 may 2020).
- Novais, C.M., Pires-Alves, M., Silva, F.F. 2004. PCR em tempo real. Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 33, 10–13.
- Regis, L., Monteiro, A.M., De Melo-Santos, M.A.V., Silveira, J.C., Furtado, A.F., Acioli, R.V., Santos, G.M., Nakazawa, M., Carvalho, M.S., Ribeiro, P.J., De Souza, W.V., 2008. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: Basis for surveillance, alert and control system. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 103(1), 50–59. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000100008>

- Rezende, H.R., Romano, C.M., Claro, I.M., Caleiro, G.S., Sabino, E.C., Felix, A.C., Bissoli, J., Hill, S., Faria, N.R., Cardoso da Silva, T.C., Brioschi Santos, A.P., Junior, C.C., Rachel Vicente, C., 2020. First report of *Aedes albopictus* infected by Dengue and Zika virus in a rural outbreak in Brazil. *PLoS One* 15(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229847>
- Rossi da Silva, K., Ribeiro da Silva, W., Silva, B.P., Arcos, A.N., da Silva Ferreira, F.A., Soares-da-Silva, J., Pontes, G.O., Roque, R.A., Tadei, W.O., Navarro-Silva, M.A., Zequi, J.A.C., 2021. New traps for the capture of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) eggs and adults. *PLoS Negl Trop Dis* 15(4): e0008813. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008813>
- Rueda, L.M., 2008. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 477–487. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9037-x>
- Santos, N.S.O., Romanos, M.T.V., Wigg, M.D. 2015. *Virologia humana*. 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Soo, K.M., Khalid, B., Ching, S.M., Chee, H.Y., 2016. Meta-analysis of dengue severity during infection by different dengue virus serotypes in primary and secondary infections. *PLoS One* 11(5), 4–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154760>
- Souza, R.F., Machado, A.R.S.R., Machado, A.M. 2018. Geoprocessamento e detecção dos 4 sorotipos de dengue em vetores e larvas capturadas em regiões de alto índice de casos humanos em Três Lagoas–MS, Brasil. *Archives of Health Investigation*, 7. <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v7i0.3915>
- Taípe-Lagos, C.B., Natal, D., 2003. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. *Rev. Saude Publica* 37(3), 275–279. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102003000300002>
- Vaughn, D.W., Green, S., Kalayanaroj, S., Innis, B.L., Nimmannitya, S., Suntayakorn, S., Endy, T.P., Raengsakulrach, B., Rothman, A.L., Ennis, F.A., Nisalak, A., 2000. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J. Infect. Dis.* 181(1), 2–9. <https://doi.org/10.1086/315215>
- Vectorstock. 2021. <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vectors/mosquito-life-cycle-vectors> (accessed 17 april 2021).
- WHO (World Health Organization). 2018. Zika virus. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus> (accessed 17 april 2021).
- WHO (World Health Organization). 2020a. Dengue and severe dengue. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (accessed 17 april 2021).
- WHO (World Health Organization). 2020b. Chikungunya. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya> (accessed 17 april 2021).

- WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). 2021. Systematic Catalog of Culicidae. http://www.mosquitocatalog.org/taxon_table.aspx. (accessed 26 June 2021).
- Yang, C.F., Chen, C.F., Su, C.L., Teng, H.J., Lu, L.C., Lin, C., Wang, C.Y., Shu, P.Y., Huang, J.H., Wu, H.S., 2010. Screening of mosquitoes using SYBR Green I-based real-time RT-PCR with group-specific primers for detection of Flaviviruses and Alphaviruses in Taiwan. *J. Virol. Methods* 168, 147–151. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.05.006>
- Zahouli, J.B.Z., Koudou, B.G., Müller, P., Malone, D., Tano, Y., Utzinger, J., 2017. Urbanization is a main driver for the larval ecology of *Aedes* mosquitoes in arbovirus-endemic settings in south-eastern Côte d’Ivoire. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11(7), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005751>
- Zara, A.L. de S.A., Santos, S.M. Dos, Fernandes-Oliveira, E.S., Carvalho, R.G., Coelho, G.E., 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol. e Serv. saude Rev. do Sist. Unico Saude do Bras.* 25, 391–404. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>
- Zequi, J.A.C., Lopes, J., Medri, Í.M., 2005. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 22(3), 656–661. <https://doi.org/10.1590/s0101-81752005000300021>

CAPÍTULO 1

Densidade e diversidade de Culicidae (Diptera), com análise da circulação viral, em estabelecimentos públicos urbanos no Norte do Paraná, Brasil

Artigo a ser submetido ao periódico Acta Tropica

Link para consulta das normas do periódico: <https://www.elsevier.com/journals/acta-tropica/0001-706x/guide-for-authors>

RESUMO

O Brasil vem sofrendo epidemia de dengue desde 2019, registrando também casos de Zika e chikungunya. O município de Londrina, Paraná, se destaca em número de casos e óbitos por dengue. Diante disso, este estudo objetivou verificar a densidade e diversidade de mosquitos da família Culicidae presentes em estabelecimentos públicos urbanos de Londrina, bem como analisar suas relações ecológicas, e investigar a presença dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV nos ovos e adultos de culicídeos coletados. Foram selecionados dois estabelecimentos urbanos em cada região de Londrina (Norte, Sul, Centro, Oeste e Leste), onde foram instaladas, nos ambientes externos, armadilhas ovitrampas para coleta de ovos, enquanto no interior foram capturados culicídeos adultos, com aspirador de Nasci. Obteve-se 5077 ovos em 77 ovitrampas. A região Sul apresentou a maior infestação enquanto a Leste a menor (Índice de Positividade de Ovitrapas: 38% e 25%; Índice de Densidade de Ovos: 67,83 e 19,03, respectivamente). A partir dos ovos, obteve-se 704 *Aedes aegypti* e 71 *Aedes albopictus* fêmeas, enquanto na aspiração de adultos capturou-se 99 *A. aegypti* e 11 *Culex quinquefasciatus*, sendo a maior quantidade na região Oeste e a menor na Norte. Detectou-se o vírus DENV-II em um *pool* de 17 fêmeas de *A. aegypti* aspiradas em uma Unidade Básica de Saúde na região Oeste. Os resultados demonstram alta densidade de espécies vetoras de patógenos, principalmente *A. aegypti*, dentro e ao redor dos estabelecimentos, alertando para a necessidade de vigilância entomológica constante nesses locais, a fim de prevenir a circulação viral. A presença do *A. albopictus* ao redor dos estabelecimentos também alerta para a urbanização dessa espécie e potencial participação na circulação viral, demonstrando a necessidade de monitoramento do vetor e vírus de forma constante.

Palavras-chave: Mosquitos. Urbanização. Ecologia. Arbovírus. Investigação viral.

ABSTRACT

Brazil has been suffering a dengue epidemic since 2019, also registering cases of Zika and chikungunya. Londrina city, Paraná, stands out in number of cases and deaths from dengue. Therefore, this study aimed to verify the density and diversity of mosquitoes of the Culicidae family present in urban public establishments of Londrina, as well as to analyze their ecological relationships, and to investigate the presence of the DENV, ZIKV and CHIKV viruses in culicids eggs and adults collected. Two public establishments were chosen in each region of the Londrina (North, South, Center, West and East), where ovitraps traps for egg capture were installed outdoors, while in the interiors were caught adult culicids, with a Nasci aspirator. 5077 eggs were obtained in 77 ovitraps. The South region had the highest infestation while the East had the lowest (Ovitraps Positivity Index: 38% and 25%; Egg Density Index: 67.83 and 19.03, respectively). From eggs, 704 *Aedes aegypti* females and 71 *Aedes albopictus* females were obtained, while in the aspiration of adults, 99 *A. aegypti* and 11 *Culex quinquefasciatus* were captured, the highest amount in the West and the lowest in the North. The DENV-II virus was detected in a pool of 17 *A. aegypti* females aspirated in a Basic Health Unit in the West region. The results demonstrate a high density of pathogen vector species, mainly *A. aegypti*, in and around establishments, alerting to the need for constant local entomological surveillance in order to prevent viral circulation. The presence of *A. albopictus* around the establishments also warns of the urbanization of the species and potential participation in the viral circulation, demonstrating the need for monitoring the vector and virus constantly.

Key-words: Mosquitoes. Urbanization. Ecology. Arbovirus. Viral investigation.

1. Introdução

A família Culicidae Meigen, 1818, subordem Nematocera, ordem Diptera, engloba mais de 3500 espécies de insetos conhecidos popularmente como mosquitos, pernilongos, muriçocas, carapanãs, sovelas, e designados como culicídeos. Estão distribuídos em todas as regiões temperadas e tropicais do planeta, e além do círculo polar ártico (Forattini, 2002; Harbach, 2021; WRBU, 2021). Essa família é dividida em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae, onde encontram-se espécies hematófagas relevantes para a saúde pública, em virtude da capacidade vetorial para diversos patógenos ao ser humano e aos animais domésticos e selvagens (Forattini, 2002, Harbach, 2021; WRBU, 2021).

Os culicídeos possuem desenvolvimento holometábolo e podem ter hábitos selvagem, rural e/ou urbano. As espécies urbanizadas apresentam ciclo de vida dependente do ser humano, se beneficiando das ações antrópicas para reprodução, desenvolvimento e sobrevivência (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Dibo et al., 2011; Eiras, 2016).

O *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 e o *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) são culicídeos extremamente urbanos e sinantrópicos (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Taípe-Lagos e Natal, 2003; IOC, 2009; Piovezan, 2009; MS, 2011). Ambas as espécies são cosmopolitas, mas distribuem-se principalmente em regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo comumente encontradas em todo o território brasileiro (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Taípe-Lagos e Natal, 2003; IOC, 2009; MS, 2011; Kraemer et al., 2015).

O *C. quinquefasciatus* é considerado vetor secundário do vírus causador da Febre Oropouche em algumas localidades do Brasil, como no estado do Pará (Vasconcelos et al., 1989; Consoli e Oliveira, 1994; Cardoso et al., 2015). Na região Nordeste do Brasil, como nas cidades de Recife e Maceió, é o principal vetor da filariose bancroftiana, causada por um verme nematoide (*Wuchereria bancrofti*) (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; MS, 2011). Essa espécie também já foi encontrada portando o vírus ZIKV em áreas urbanas de Recife, Brasil,

em 2016 (Guedes et al., 2017), além de apresentar possível capacidade vetorial para esse vírus, evidenciada por estudos que detectaram a presença de cepas asiáticas e americanas do vírus ZIKV nas glândulas salivares de mosquitos dessa espécie, após infecção em laboratório (Viveiros-Rosa et al., 2020).

Contudo, a maior preocupação para a saúde pública no Brasil é o *Aedes aegypti*, o qual tem origem africana, mas vem causando problemas à população brasileira desde o final do século XIX, quando chegou ao Brasil por meio dos navios de tráfico de escravos, no período colonial (Forattini, 2002). Até 1942, a febre amarela urbana era amplamente veiculada pelo *A. aegypti* (Franco, 1969), mas atualmente, apenas casos de febre amarela silvestre são registrados no Brasil, sem relação comprovada com essa espécie (MS, 2020a).

O *A. aegypti* é o principal transmissor dos quatro sorotipos virais da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), uma arbovirose que vem apresentando caráter preocupante de epidemia no Brasil, desde 2019 até atualmente (WHO, 2020; MS, 2020b; MS, 2021). Também transmite os vírus causadores da chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV), os quais causam preocupação à saúde pública no país desde 2014 (Nunes et al., 2015; Zanluca et al., 2015; MS, 2019a; WHO, 2020).

Junto ao *A. aegypti*, se destaca o *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894). Sua origem é asiática, onde é vetor comprovado da dengue, e seu primeiro registro no Brasil é de 1986, no estado do Rio de Janeiro (Forattini, 1986; WHO, 2020). Desde então, se espalhou rapidamente por quase todos os estados brasileiros, se tornando comum no Brasil e cada vez mais frequente no ambiente urbano (Silva et al., 2006; Alencar, 2008; Martins et al., 2010; Carvalho et al., 2014; Oliveira e Maleck, 2014; Pancetti et al., 2015; Ayllón et al., 2018; Silva et al., 2018a; Custódio et al., 2019; Rossi da Silva et al., 2021). No entanto, prefere locais com maior cobertura vegetal e próximos à população, como bosques e parques (Gomes et al., 2005; Oliveira e Maleck, 2014; Montagner et al., 2018; Silva et al., 2018c; Heinisch et al., 2019;

Lutinski et al., 2020).

Nas Américas, o *A. albopictus* é um potencial vetor das mesmas arboviroses veiculadas pelo *A. aegypti*, possuindo capacidade para se infectar com mais de 20 arbovírus em laboratório (Moore e Mitchell, 1997; Vega-Rúa et al., 2014; Azevedo et al., 2015; Chouin-Carneiro et al., 2016). Adultos de *A. albopictus* no Brasil já foram encontrados portando naturalmente os vírus DENV (Martins et al., 2012; Medeiros, 2018; Rezende et al., 2020), Zikv (Rezende et al., 2020) e da febre amarela (YFV) (IEC, 2018). Tais descobertas demonstram que essa espécie também possui importância epidemiológica, necessitando, portanto, mais atenção de órgãos públicos relacionados à saúde.

A maioria dos casos de transmissão de arbovírus ocorre de forma horizontal, onde um mosquito fêmea se infecta ao ingerir sangue de uma pessoa contaminada com o arbovírus, e o transmite a uma pessoa não infectada. No entanto, a transmissão vertical, onde uma fêmea de mosquito infectada transmite o arbovírus para sua prole, também pode ocorrer, sendo sugerida como mecanismo para persistência do vírus em situações que levam à redução da ocorrência da transmissão horizontal, como em estações secas, onde a reprodução de mosquitos é desfavorecida. (Lipsitch et al., 1996; Ebert, 2013; Grunnill e Boots, 2016; Lequime et al., 2016; Taghikhani e Gumel, 2018; Chen et al., 2021).

Diante do exposto, a detecção do vírus DENV e seus sorotipos em mosquitos pode ser utilizada como estratégia de vigilância virológica, servindo como ferramenta de advertência de surtos de dengue, contribuindo com a prevenção de epidemias, uma vez que possibilita verificar os sorotipos circulantes em determinadas localidades, antes que a doença comece a ser transmitida em maiores níveis, (Chow et al., 1998; Eisen et al., 2009; Bona et al., 2011; Barbosa et al., 2016). Posteriormente, diante do aumento da circulação de Zika e chikungunya mundialmente, foram desenvolvidos testes multiplex para detecção dos vírus ZIKV e CHIKV, além de DENV simultaneamente, a exemplo de Pabbaraju et al. (2016), complementando assim

os estudos epidemiológicos que visam analisar a distribuição viral por meio dos vetores.

O Brasil vem sofrendo com epidemia de dengue desde 2019, onde o Paraná se destaca entre os estados com maior número de casos por dengue, além de Zika e chikungunya (MS, 2020b). Londrina é um dos municípios do Paraná com maior índice de infestação, onde foram confirmados 3600 casos de dengue, com sete mortes, em 2019, e foram identificados dois sorotipos em circulação nesse período (DENV-1 e DENV-2), segundo a Secretaria da Saúde do Paraná (SESA, 2020). Em 2020, os casos de dengue aumentaram exorbitantemente no município, caracterizando surto epidêmico, sendo confirmados mais de 24 mil casos da doença e 32 mortes, classificando Londrina como o município que apresentou mais mortes por dengue no Brasil em 2020 (SESA, 2020).

Não existem muitos estudos que indiquem a densidade e diversidade de mosquitos culicídeos na área urbana de Londrina. Nesse contexto, é importante conhecer a diversidade e distribuição desses insetos na área urbana do município, bem como as relações entre as espécies e a associação destas com os seres humanos e o ambiente urbano. A partir disso, é necessário analisar o índice de infestação de *A. aegypti* e *A. albopictus*, principalmente em locais de maior fluxo de pessoas de diferentes idades, como estabelecimentos públicos urbanos.

Aliado a isso, também é relevante verificar a presença de vírus e seus sorotipos nesses locais, tanto nos mosquitos adultos, como também nos seus ovos, possibilitando assim identificar as áreas de ocorrência de transmissão viral, assim como os mecanismos de transmissão que ocorrem em Londrina. Estes dados poderão auxiliar no direcionamento de ações de controle vetorial, contribuindo com a redução da circulação de arbovírus. Tais medidas também podem ser adotadas para outras regiões do país, visando um controle mais eficiente em escala nacional.

Nessa perspectiva, este estudo objetivou verificar a densidade e diversidade de culicídeos presentes nos estabelecimentos públicos urbanos de Londrina, Paraná, Brasil, bem

como analisar suas relações ecológicas, além de investigar a presença dos vírus DENV (e seus sorotipos), ZIKV e CHIKV em ovos e adultos da família Culicidae, possibilitando verificar a ocorrência de transmissão viral vertical e horizontal.

2. Material e Métodos

2.1 Área de estudo

O município de Londrina localiza-se na região Norte do estado do Paraná, no Sul do Brasil, entre 23°08'47" e 23°55'46" S e entre 50°52'23" e 51°19'11" O. Possui 1.652,569 km² de área territorial, e sua população estimada é de 575.377 habitantes (IBGE, 2020).

Segundo a classificação climática de Köppen, Londrina apresenta clima subtropical úmido (Cfa), com verão quente e ocorrência de chuvas em todas as estações do ano, com maior abundância no verão (Nitsche et al., 2019; INMET, 2021). A temperatura média anual é de aproximadamente 21,6 °C, com mínima anual em torno de 16,6 °C e máxima anual em torno de 27,6 °C, enquanto a umidade relativa do ar (UR) encontra-se na faixa de 69 a 76% e a precipitação pluviométrica média anual varia entre 1400 e 1800 mm (Nitsche et al., 2019; INMET, 2021).

As coletas foram realizadas em Unidades Básicas de Saúde (UBS) localizadas no perímetro urbano, nas cinco regiões de Londrina (Norte, Sul, Leste, Oeste e Centro), bem como em uma escola estadual em uma das regiões. Foram escolhidas duas localidades por região, havendo trocas de locais durante o período de coletas, devido a mudanças temporárias de endereço dos estabelecimentos. Os pontos de coleta de cada região foram: região Sul – Escola Estadual Prof. Vani Ruiz Viessi, UBS Itapoã e UBS Eldorado; região Leste – UBS Armindo Guazzi, UBS Ideal e UBS Marabá; região Norte – Jardim Paulista (UBS CSU em endereço temporário), UBS Chefe Newton e UBS Vivi Xavier; região central – UBS Vila Brasil e UBS Vila Nova; região Oeste – UBS Sol e UBS Tóquio (Fig. 1).

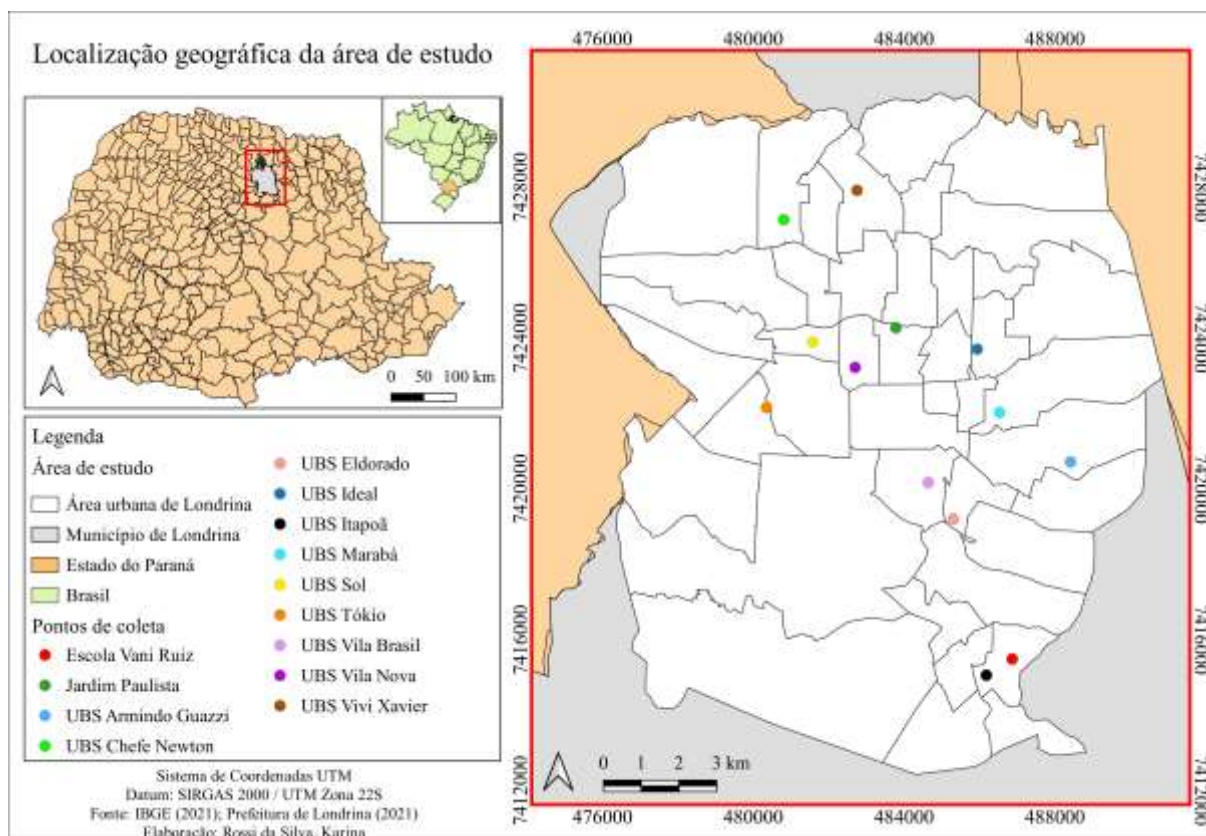


Fig. 1. Localização geográfica da área de estudo, demonstrando os pontos de coletas, realizadas entre janeiro e setembro de 2019, na área urbana do município de Londrina, Paraná, Brasil.

2.2 Obtenção de dados geográficos e meteorológicos

As coordenadas geográficas de cada local de coleta foram obtidas por meio de um aparelho GPS Garmin eTrex® 30. Posteriormente, foram submetidas ao programa QGIS 3.10.11 ‘A Coruña’, para elaboração dos mapas de localização geográfica da área de estudo, com os pontos de cada local de coleta. Foram utilizados arquivos *shapefiles* disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2021) e pela Prefeitura de Londrina (2021).

Também foram levantados valores de temperatura e umidade relativa do ar registrados em Londrina, de cada período de coleta, bem como valores de precipitação pluviométrica registrados nos 14 dias anteriores a cada período de coleta, uma vez que o ciclo de vida dos mosquitos culicídeos dura em média 14 dias (sete a 20 dias) (Forattini, 2002; Eiras, 2016). Esses dados foram fornecidos pelo Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-

EMATER, cuja estação meteorológica de Londrina (código 23365116) localiza-se na região Sul (-23.35454 S e -51.16420 O).

2.3 Coleta de ovos e adultos da família Culicidae

As coletas foram realizadas entre janeiro e setembro de 2019. Utilizou-se licença permanente SISBIO/IBAMA (23093) e autorização da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Londrina para coleta nas UBS. Foram realizadas cinco réplicas em dois locais de cada região de Londrina, de forma alternada entre as regiões, havendo intervalo de aproximadamente um mês entre cada réplica.

Para a coleta de ovos, foram utilizadas armadilhas ovitrampas (Fay e Perry, 1965; Fay e Eliason, 1966), que consistem em vasos plásticos pretos com boca larga (12 cm de comprimento x 11 cm de diâmetro), com capacidade para 750 mL. Em cada armadilha foram adicionados 200 mL de uma solução de água deionizada e levedo de cerveja na concentração de 0,04% (0,4 g/L), servindo como atrativo para as fêmeas de Culicidae, a fim de aumentar a chance de escolha das armadilhas pelas fêmeas, considerando a competição com outros criadouros já existentes no ambiente. Também foram introduzidas palhetas *Duratree* (14 cm de comprimento x 3 cm de largura, e espessura de 3 mm), contendo um lado áspero para facilitar a aderência dos ovos, o qual permanecia voltado para o lado superior da armadilha.

Foram instaladas cinco armadilhas nas áreas externas de cada local, com distância mínima de 10 m para cada uma, abrigadas de chuva e sol e ao nível do solo. Dessa forma, cada região recebeu 10 armadilhas em cada uma das cinco réplicas, totalizando 50 armadilhas em cada região em todo o período amostral, perfazendo um total de 250 armadilhas. As armadilhas eram recolhidas após quatro dias em campo, para evitar a possibilidade de eclosão dos ovos, e encaminhadas ao Laboratório de Entomologia Médica (LEM), Universidade Estadual de Londrina, Paraná.

No interior de cada local, as coletas de adultos foram realizadas utilizando-se um aspirador de Nasci otimizado (Nasci, 1981). O aspirador usado neste estudo consiste em um instrumento cilíndrico de alumínio com hélice, conectado a uma bateria de 12 Volts, contendo um saco de tecido microtule amarrado na extremidade inferior aberta, onde os mosquitos capturados ficam presos. As coletas tinham duração de dois minutos para cada 10 m² e foram realizadas apenas no período matutino, entre 9:00 e 11:00 h, aproximadamente.

2.4 Quantificação, identificação e armazenamento de ovos e mosquitos coletados

Os ovos coletados foram quantificados em laboratório com auxílio de microscópio estereoscópico para, após sete a dez dias (período para maturação do embrião), serem submetidos à eclosão em bacias de plástico (8 cm de altura x 25 cm de diâmetro), com as bordas internas lixadas para facilitar a aderência dos mosquitos emergidos, contendo água (desclorada) até metade das bacias, sendo cobertas com tecido microtule. Essas bacias eram mantidas em uma câmara incubadora do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) à temperatura de 25±2 °C. Após a eclosão, larvas eram alimentadas com uma mistura de gérmen de trigo e levedo de cerveja (1:1) com água, autoclavada, visando o desenvolvimento das larvas até a forma adulta.

As fêmeas emergidas foram coletadas com capturador de Castro e essas foram armazenadas em frascos de acrílico (7 cm de altura x 4 cm de diâmetro) contendo uma abertura maleável na tampa e um microtule na base. Os frascos permaneciam em B.O.D. à temperatura de 25±2 °C, com algodão encharcado com uma solução de água e açúcar 12% para alimentação das fêmeas, a fim de mantê-las vivas por até sete dias, até que acumulasse uma quantidade suficiente de fêmeas a serem congeladas para pesquisa viral, como explicado a seguir.

Esses frascos eram colocados em freezer a -20 °C, por 10 min, para reduzir a atividade dos mosquitos, a fim de realizar a identificação e contabilização, com auxílio de microscópio estereoscópico e chaves de identificação propostas por Forattini (2002) e WRBU (2020), além

de realizar a separação por espécie, local e data de coleta, em microtubos de 1,5 mL devidamente identificados, contendo de um a 50 mosquitos. Esses tubos eram armazenados em um freezer à temperatura média de -80 °C, com a finalidade de preservar o material genético, sobretudo viral, para pesquisa de vírus nas amostras.

Os mosquitos capturados com o aspirador de Nasci também foram armazenados por 10 minutos em freezer a -20 °C para posterior contagem, identificação, separação e armazenamento em microtubos no freezer à temperatura média de -80 °C, da mesma forma que as fêmeas obtidas dos ovos, com a única diferença de que os machos coletados também foram armazenados, porém separadamente das fêmeas, para pesquisa viral.

2.5 Análise viral

Tanto os mosquitos coletados com aspirador de Nasci, como os mosquitos obtidos dos ovos coletados nas ovitrampas, foram submetidos à pesquisa viral, no Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – *Campus* Curitiba. Essa pesquisa foi realizada por meio da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em Tempo Real, utilizando o kit XGEN MULTI ZDC® (registro ANVISA nº 80502070063), para detecção simultânea dos vírus ZIKV, DENV e CHIKV, de acordo com as instruções do fabricante.

Para isso, o RNA das amostras de mosquitos foi extraído usando o kit QIAamp Viral RNA®, de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, cada amostra foi macerada em microtubos de 1,5 mL contendo 140 µL de tampão fosfato salino. Em seguida, foram centrifugados a 13000 rpm durante 15 minutos à temperatura de 4 °C, a fim de obter 140 µL do sobrenadante que, por sua vez, foram tratados conforme os procedimentos do kit. Posteriormente, foi verificada a qualidade e quantificação do RNA extraído utilizando o espectrofotômetro NanoDrop® 2000.

Para analisar a presença de cada arbovírus utilizou-se 15 µL de RNA viral extraído. A presença do vírus DENV é verificada a 520 nm usando o fluoróforo FAM, enquanto os vírus ZIKV e CHIKV são visualizados em 550 nm e os fluoróforos utilizados foram JOE e VIC, respectivamente. Foi utilizado um controle interno para validar o processo de extração do RNA, além de controles positivos dos três arbovírus e um controle negativo para garantir o sucesso das análises todos fornecidos pelo próprio kit. Os resultados foram visualizados por meio do termociclador Rotor-Gene Q (Qiagen)[®].

2.6 Análise estatística

A partir do número de ovos coletados nas ovitrampas, foram calculados, para cada região de amostragem, o IPO - Índice de Positividade de Ovitrapas (N° de armadilhas positivas/ N° de armadilhas examinadas) x 100, correspondendo à porcentagem de armadilhas positivas, ou seja, que capturaram ovos (Gomes, 1998), e o IDO - Índice de Densidade de Ovos (N° de ovos/ N° de armadilhas positivas), correspondendo ao número médio de ovos por armadilha positiva (Gomes, 1998), a fim de verificar o índice de infestação de *A. aegypti* e *A. albopictus* em cada local de coleta. Valores de IDO de 0 a 20 indicam nível de infestação satisfatório; enquanto 21 a 35 indicam situação de alerta, e acima de 35 representa situação de risco de infestação. Esses valores se baseiam em dados obtidos por Nascimento et al. (2020), onde comparou-se em campo a técnica do LIRAA com as ovitrampas na mesma área de estudo.

Também foi calculada distribuição de frequências para ovos coletados em cada região de Londrina, com o intuito de analisar a distribuição de ovos por região, sendo possível verificar os intervalos de número de ovos mais frequentes.

Tanto a média de ovos como o número de mosquitos coletados com aspirador de Nasce foram relacionados com valores de temperatura, precipitação pluviométrica e UR, registrados durante o período amostral, por meio do Coeficiente de correlação de postos de Spearman, uma

vez que a relação entre os dados obtidos não é linear. Para a realização dessas análises foi utilizado o programa BioEstat, versão 5.3 (Ayres et al., 2007).

O número de ovos coletados e do IPO e IDO, bem como o número de adultos de *A. aegypti* capturados com aspirador de Nasci em cada região, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente à Análise de Variância, sendo ANOVA - 1 fator para dados normais ou Kruskal-Wallis para dados sem normalidade, com o intuito de verificar diferença estatística entre as amostras ($p < 0,05$), para então serem submetidos ao teste de Tukey ($p < 0,05$) ou Dunn ($p < 0,05$) respectivamente, a fim de verificar quais amostras diferem estatisticamente entre si. O programa PAST (Paleontological Statistics) versão 4.03 foi utilizado para a realização dessas análises.

3. Resultados

3.1 Quantidade de ovos coletados e nível de infestação de Aedes aegypti e Aedes albopictus

Durante todo o período amostral, nas cinco regiões de Londrina, foi coletado um total de 5077 ovos de *Aedes* spp. em 77 ovitrampas positivas (30,92%), de 249 ovitrampas analisadas. Desse total, 1768 ovos foram coletados na região Sul (34,82%), 1386 na região Norte (27,30%), 844 na região central (16,62%), 560 na região Oeste (11,03%) e 519 na região Leste (10,22%) (Fig. 2). No entanto, ao comparar a quantidade de ovos coletados em cada uma das cinco regiões, pelo teste de Kruskal-Wallis, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% de significância ($p = 0,2959$; $H = 3,296$).

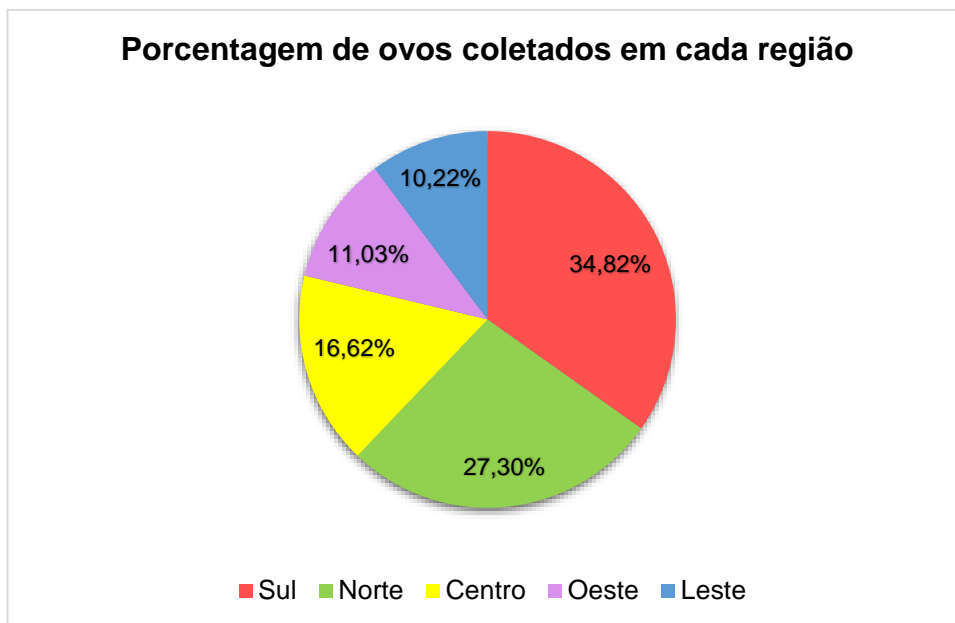


Fig. 2. Porcentagem de ovos de *Aedes* spp. coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019.

A partir da distribuição de frequências para ovos obtidos em cada região, verificou-se que na região Sul houve maior frequência de armadilhas (82%) contendo de zero a 50 ovos, na região Norte houve maior frequência de armadilhas (88%) contendo de zero a 63 ovos, na região central 70% das armadilhas continha de zero a 17 ovos, na região Oeste 88% das armadilhas continha de 0 a 19 ovos, e na região Leste 84% das armadilhas obtiveram de zero a 19 ovos.

Analisando a quantidade de ovos coletados em cada réplica de cada região, observa-se que na região Sul a maior quantidade de ovos foi obtida no mês de janeiro, enquanto a menor quantidade foi obtida no mês de julho (apêndice C) coincidindo com a maior e menor temperatura média registradas nesses períodos. Na região Norte, obteve-se maior quantidade de ovos no mês de março, enquanto no mês de setembro não houve captura de ovos (apêndice D). Na região central, o mês de maio apresentou a maior quantidade de ovos, enquanto no mês de agosto nenhum ovo foi coletado (apêndice E). Na região Oeste, a maior quantidade de ovos também foi obtida no mês de maio, ao passo que nenhum ovo foi coletado no mês de setembro (apêndice F). Já na região Leste, obteve-se a maior quantidade de ovos no mês de março, enquanto no mês de julho não houve captura de ovos (apêndice G).

Portanto, em geral, a maior quantidade de ovos foi obtida no verão e outono, enquanto a menor quantidade de ovos ocorreu no inverno. Observou-se também que em todos os meses obteve-se ovos nas ovitrampas.

Ao analisar os valores médios de IPO e IDO obtidos em cada região de amostragem também se observa padrão semelhante ao número de ovos, onde o maior valor médio de IPO foi obtido na região Sul e no Centro, enquanto o menor valor foi observado na região Leste. Do mesmo modo, o maior valor médio de IDO também foi obtido na região Sul, ao passo que os menores valores foram obtidos nas regiões Oeste e Leste, respectivamente (tabela 1). Contudo, comparando os valores de IPO e IDO obtidas em cada uma das cinco regiões, constatou-se que, estatisticamente não há significância na diferença entre os valores IPO de cada região e entre os valores de IDO de cada região, ao nível de 5% de significância ($p = 0,9332$; $F = 0,2045$ e $p = 0,3876$; $F = 1,084$, respectivamente) a partir da ANOVA.

Tabela 1

Valores médios de IPO e IDO, obtidos em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019, e estimativa do nível de infestação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* por meio de valores do IDO.

Região	IPO (%)	IDO	Situação
Sul	38	67,83	Risco
Norte	30	57,31	Risco
Centro	38	39,86	Risco
Oeste	28	19,03	Satisfatório
Leste	25	28,54	Alerta

As médias de IDO obtidas em cada região demonstram que as regiões Sul, Norte e Centro apresentavam situação de risco de infestação de *A. aegypti* e *A. albopictus*, enquanto a região Oeste estava em situação satisfatória, e a região Leste em situação de alerta (tabela 1).

3.2 Fêmeas adultas geradas a partir dos ovos coletados nas ovitrampas

Foram obtidas 775 fêmeas, todas pertencentes ao gênero *Aedes*, sendo 704 da espécie *A. aegypti* (90,84%) e 71 da espécie *A. albopictus* (9,16%). Esse total de mosquitos distribuiu-se entre as regiões de coleta da seguinte forma: 382 na região Norte (49,29%), 157 na região central (20,25%), 96 na região Sul (12,39%), 74 na região Leste (9,55%) e 66 na região Oeste (8,52%) (Fig. 3).

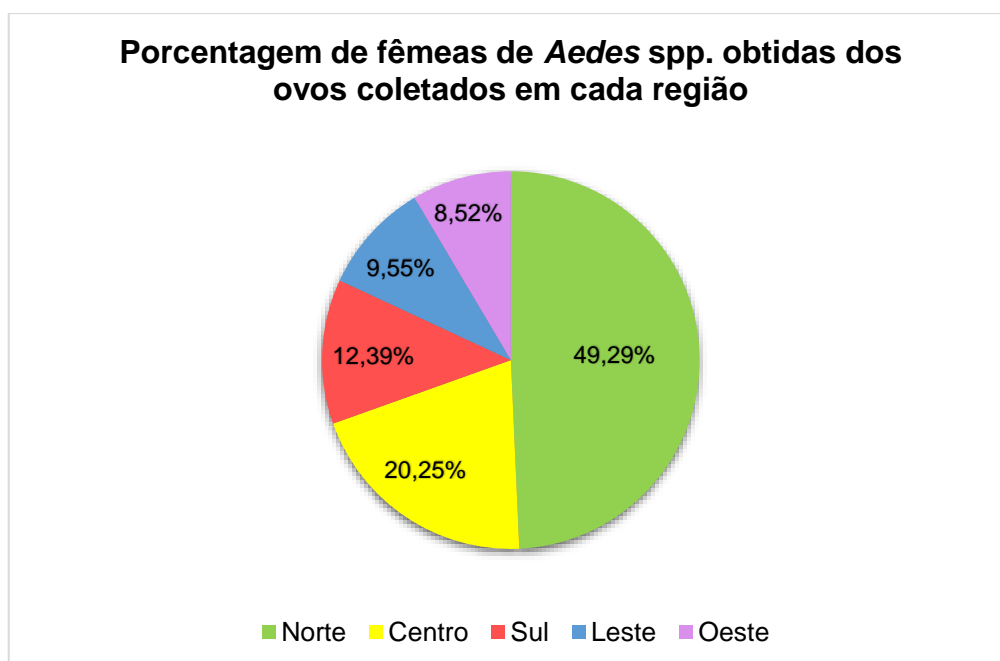


Fig. 3. Porcentagem de fêmeas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* obtidas dos ovos coletados nas ovitrampas, em cada uma das cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019.

O total de fêmeas pode ser observado na tabela 2, divididos entre *A. aegypti* e *A. albopictus*, com a porcentagem de cada espécie obtida em cada região de amostragem. Da mesma forma que a captura de adultos da espécie *A. aegypti* foi predominante, nas ovitrampas instaladas nas regiões Sul, Norte, Centro e Oeste as fêmeas de *A. aegypti* também prevaleceram, sendo minoria apenas na região Leste, com diferença de dois indivíduos para *A. albopictus* (tabela 2).

Tabela 2

Total de adultos fêmeas e proporção de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* obtidas dos ovos coletados em ovitrampas nas cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019.

Região	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>	
	Total de adultos	%	Total de adultos	%
Sul	75	78,13	21	21,87
Norte	379	99,21	3	0,79
Centro	154	98,09	3	1,91
Oeste	60	90,91	6	9,09
Leste	36	48,65	38	51,35
Total	704	90,84	71	9,16

Foram obtidos mosquitos da espécie *A. aegypti* a partir dos ovos coletados em todos os meses de amostragem. A maior quantidade de fêmeas foi obtida a partir de ovos coletados no mês de março, enquanto a menor quantidade foi obtida de ovos coletados no mês de agosto. Em relação ao *A. albopictus*, não foram obtidos mosquitos dessa espécie a partir de ovos coletados nos meses de maio, junho, agosto e setembro. Por outro lado, assim como para *A. aegypti*, a maior quantidade de fêmeas foi obtida a partir de ovos coletados no mês de março.

3.3 Culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci

Foram capturados 110 culicídeos adultos, sendo 73 machos (66,36%) e 37 fêmeas (33,64%). Desse total, 99 eram da espécie *A. aegypti* (90%), sendo 63 machos (63,64%) e 36 fêmeas (36,36%), e 11 eram da espécie *C. quinquefasciatus* (10%), sendo 10 machos (90,90%) e uma fêmea (9,10%) (tabela 3). O total de mosquitos coletados com aspirador de Nasci, assim como a porcentagem em cada região, estão representados na tabela 3.

Tabela 3

Total e proporção de adultos de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* capturados com aspirador de Nasci nas cinco regiões de Londrina, Paraná, no período de janeiro a setembro de 2019, média e Desvio Padrão da Média para *A. aegypti*, com as devidas diferenças para o teste de Dunn.

Região	<i>Aedes aegypti</i> (n)	%	Média ± DPM	<i>Culex quinquefasciatus</i> (n)	%
Sul	5	5,05	0,5±0,40 ^{b, c*}	1	9,09
Norte	2	2,02	0,2±0,13 ^b	0	0
Centro	33	33,33	3,3±1,41 ^a	3	27,27
Oeste	55	55,56	5,5±3,61 ^{a, c, d}	7	63,64
Leste	4	4,04	0,4±0,27 ^{b, d}	0	0

Legenda: DPM = Desvio Padrão da Média.

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Dunn.

Nota-se que apenas o *A. aegypti* foi coletado em todas as cinco regiões de Londrina, predominando em relação ao *C. quinquefasciatus*. Analisando o número de adultos de *A. aegypti* aspirados em cada uma das cinco regiões de Londrina, é possível perceber que o maior número de mosquitos foi obtido na região Oeste, enquanto o menor número foi obtido na região Norte. Os valores médios de *A. aegypti* obtidos em cada uma das cinco regiões, juntamente com os respectivos valores de desvio padrão também estão demonstrados na tabela 3.

Pelo teste de Kruskal-Wallis, verificou-se que há diferença estatisticamente significativa entre as médias de *A. aegypti* adultos aspirados, ao nível de 5% de significância, ($p = 0,0221$; $H = 8,658$). Ao realizar o teste de Dunn, observa-se que a região central difere das regiões Sul, Norte e Leste, quanto às médias de mosquitos aspirados, além de haver diferença entre as médias obtidas nas regiões Oeste e Norte (tabela 3).

Com relação à quantidade de *A. aegypti* capturados com aspirador de Nasci em cada mês do período amostral, abril foi o único mês onde não houve captura de *A. aegypti*. Por outro lado, a maior quantidade de adultos dessa espécie (tanto machos como fêmeas) foi capturada no mês de maio.

3.4 Dados meteorológicos registrados e correlação com dados de ovos e mosquitos

A temperatura média registrada nos períodos de coleta foi de 21,3 °C, enquanto a

temperatura mínima foi de 1,6 °C e a máxima foi de 36,7 °C. Já a umidade relativa do ar média foi de 73,2% (26,2 – 98,4%) (apêndice A). Quanto à precipitação pluviométrica ocorrida nos 14 dias antes do primeiro período de coleta até 14 dias anteriores ao último período de coleta, foi registrado um total de 778,1 mm, sendo que a precipitação total diária mínima registrada nesse período foi de 0 mm, enquanto a máxima foi de 62,8 mm (apêndice B).

Em relação às variações de temperatura ocorridas nos meses em que as coletas foram realizadas, a temperatura média mais baixa ocorreu no mês de julho (17,3 °C), enquanto a média mais alta ocorreu no mês de janeiro (25,8 °C). Quanto às variações pluviométricas ocorridas durante os meses em que foram realizadas as coletas, o menor índice de chuvas foi registrado no mês de agosto (0,2 mm), e o maior foi observado no mês de fevereiro (219,3 mm). Por outro lado, a menor e a maior porcentagem média da umidade relativa do ar foram registradas no mês de outubro (56,5%) e maio (84,8%), respectivamente.

Ao relacionar a média de ovos coletados nas cinco regiões de Londrina com valores de temperatura, precipitação pluviométrica e UR, observou-se que só há correlação significativa com a UR ($p = 0,0048$) no período de coletas realizadas na região Oeste, sendo positiva, com coeficiente de correlação de Spearman (r_s) de 97,47%. Quanto às demais regiões, observa-se que as correlações variam entre muito fraca a forte, para as três variáveis meteorológicas, havendo também correlação negativa com a temperatura na região Oeste, bem como com a precipitação e com a UR na região Norte, porém sem significância estatística ($p > 0,05$) (tabela 4).

Tabela 4

Correlação de Spearman entre a média de ovos coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina e valores de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, referentes ao período de janeiro a setembro de 2019.

Região	T média		T mínima		T máxima		Precipitação		UR	
	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor
Sul	0,7000	0,1881	0,7000	0,1881	0,7000	0,1881	0,7000	0,1881	0,0000	n.s.
Norte	0,3189	0,5379	0,0580	0,9131	0,7537	0,0835	-0,0580	0,9131	-0,4928	0,3206
Centro	0,4000	0,5046	0,8000	0,1040	0,4000	0,5046	0,5000	0,3910	0,8000	0,1040
Oeste	-0,2000	0,7471	-0,2000	0,7471	-0,2000	0,7471	0,2000	0,7471	0,9747	0,0048
Leste	0,6377	0,1730	0,1479	0,7841	0,4058	0,4246	0,0580	0,9131	0,0290	0,9565

Legenda: T = temperatura; UR = umidade relativa do ar; rs = coeficiente de correlação de Spearman; n.s. = não significativo.

Por outro lado, em relação ao número de mosquitos aspirados nas cinco regiões de Londrina, apenas há correlação significativa com a precipitação registrada nos períodos de coletas nas regiões Norte ($p = 0,0418$ e $rs = 82,81\%$) e Centro ($p = 0,0374$ e $rs = 90\%$), e com a UR registrada nos períodos de coleta na região Leste ($p = 0,0418$ e $rs = 82,81\%$), sendo positivas. As demais correlações variam de muito fraca a forte, havendo ainda correlações negativas com a temperatura nas regiões Norte e Centro, além de correlação negativa com a UR nas regiões Sul e Centro, mas sem significância estatística ($p > 0,05$) (tabela 5).

Tabela 5

Correlação de Spearman entre a quantidade adultos coletados em cada uma das cinco regiões de Londrina e valores de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, referentes ao período de janeiro a setembro de 2019.

Região	T média		T mínima		T máxima		Precipitação		UR	
	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor	rs	<i>p</i> -valor	Rs	<i>p</i> -valor	Rs	<i>p</i> -valor
Sul	0,4472	0,4502	0,4472	0,4502	0,4472	0,4502	0,4472	0,4502	-0,1118	0,8579
Norte	-0,2070	0,6939	0,0000	n.s.	-0,2070	0,6939	0,8281	0,0418	0,4140	0,4144
Centro	-0,5000	0,3910	-0,7000	0,1881	-0,5000	0,3919	0,9000	0,0374	-0,3000	0,6238
Oeste	0,6000	0,2847	0,6000	0,2847	0,6000	0,2847	0,1000	0,8729	0,3591	0,5528
Leste	0,000	n.s.	0,4140	0,4144	-0,2070	0,6939	0,6211	0,1881	0,8281	0,0418

Legenda: T = temperatura; UR = umidade relativa do ar; rs = coeficiente de correlação de Spearman; n.s. = não significativo.

3.5 Análise viral

Ao analisar as amostras de adultos capturados com aspirador de Nasci, foi detectada a

presença do vírus DENV-2 em apenas um *pool* de 17 fêmeas de *A. aegypti*, entre 24 *pools* de machos e fêmeas da espécie (36 fêmeas e 63 machos) e dois *pools* de *C. quinquefasciatus* (1 fêmea e 10 machos) analisados. A amostra de fêmeas contendo vírus foi coletada no interior da UBS Tóquio - região Oeste de Londrina, no dia 10 de maio de 2019. Quanto às amostras de fêmeas obtidas a partir dos ovos, não foi detectado nenhum dos três arbovírus analisados, nos 30 *pools* de *A. aegypti*, e sete *pools* de *A. albopictus* obtidos, que totalizaram 704 e 71 fêmeas respectivamente.

O sorotipo da amostra contaminada com vírus DENV foi determinado por meio do kit comercial Biomol ZDC (registro ANVISA n° 39984.998-8), de acordo com as instruções do fabricante.

4. Discussão

A maior quantidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, assim como os maiores valores do IPO e IDO registrados na região Sul no presente estudo, estão de acordo com os dados de 2019 relatados pela Secretaria Municipal de Saúde de Londrina (SMS), que apontou a região Sul como a mais infestada nos três primeiros LIRAa realizados, correspondendo ao período de janeiro a agosto, abrangendo, portanto, o período das coletas. Ainda em concordância, era justamente na região Sul onde estava concentrada a maioria dos casos de dengue notificados no município de Londrina em 2019 (SESA, 2020).

Em contrapartida, a região apontada pela SMS com menor nível de infestação no primeiro LIRAa foi a região Leste, corroborando com o presente estudo, que também registrou a menor quantidade de ovos nesta região. Por outro lado, no segundo, terceiro e quarto LIRAa, o local que apresentou menor infestação foi a região Oeste, condizendo com o menor valor médio de IDO obtido nessa região, no presente estudo, apesar de a região Oeste ter sido o segundo local a apresentar menor quantidade de ovos capturados, porém com pouca diferença

em relação à região Leste.

Ainda em relação aos valores médios de IDO, além do maior valor médio obtido na região Sul, o segundo, terceiro, quarto e quinto valor médio obtido (do maior para o menor) nas regiões Norte, Centro, Leste e Oeste, respectivamente, está de acordo com os dados relatados pela SMS, ao realizar o terceiro LIRAA, onde apontou a mesma sequência decrescente de regiões em relação ao nível de infestação (SESA, 2020).

Quanto à densidade e diversidade de culicídeos obtidos a partir dos dois métodos de coleta, a maior quantidade pertencente à espécie *A. aegypti* em todas as regiões (exceto na a região Leste, onde obteve-se duas fêmeas de *A. albopictus* a mais a partir dos ovos) demonstra que o *A. aegypti* predomina no ambiente urbano de Londrina. Esse resultado corrobora com outros trabalhos que observaram elevada frequência de *A. aegypti* no ambiente urbano em diversas localidades do Brasil, prevalecendo em relação à outras espécies (Lima-Camara et al., 2006; Fantinatti et al., 2007; Silva, 2009; Serpa, 2014; Silva, 2016; Medeiros, 2018; Barbosa et al., 2019; Fonseca Junior, 2019; Silva, 2019).

Essas observações condizem com as características já atribuídas ao *A. aegypti*, o qual possui hábito diurno e é considerado estritamente sinantrópico e antropófilo, ou seja, apresenta extrema dependência pelo homem, se beneficiando de suas atividades, as quais propiciam condições favoráveis para a reprodução e sobrevivência da espécie (Forattini, 2002; Natal, 2002; Lima-Camara et al., 2006; Zara et al., 2016; Wilk et al., 2019).

Embora não tenha sido observada correlação significativa entre o número de ovos e adultos de *A. aegypti* e a temperatura, é válido considerar que o clima de Londrina é favorável a essa espécie, uma vez que, de acordo com a literatura, a faixa de temperatura média, assim como o alto índice de precipitação pluviométrica do município e conseqüente umidade relativa do ar elevada, como evidenciado pelos dados meteorológicos obtidos no estudo, são ideais para a proliferação do *A. aegypti*.

De acordo com um estudo recente em laboratório, a faixa ótima de temperatura para sobrevivência do *A. aegypti* encontra-se entre 15 e 30 °C (Galavíz-Parada et al., 2019). Estudos anteriores de Beserra et al. (2006) e Beserra et al. (2009), também em laboratório, concluíram que a faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento de *A. aegypti* encontra-se entre 21 e 29 °C e entre 22 e 32 °C, respectivamente, enquanto para Marinho (2016) a temperatura ideal para o desenvolvimento dessa espécie, constatada em laboratório, situa-se em uma faixa de 22 a 36 °C, estando de acordo com os valores médios registrados no período amostral.

A pluviosidade também contribui para a proliferação do *A. aegypti*, pois influencia no aumento da quantidade de criadouros disponíveis para o desenvolvimento das formas imaturas do mosquito (Barrera et al., 2011; Silva et al., 2018b; Custódio et al., 2019). O consequente aumento da umidade relativa do ar também tem demonstrado considerável influência na abundância e sobrevivência do *A. aegypti*, devendo estar acima de 70% (Canyon et al., 1999; Fouque et al., 2006; Lega et al., 2017). Essas observações corroboram com as correlações positivas estatisticamente significativas obtidas neste estudo, com o considerável volume de chuvas registrado no presente estudo, e com a UR média acima de 70%.

Em relação ao *A. albopictus*, a obtenção de ovos dessa espécie em ovitrampas instaladas nas áreas externas dos estabelecimentos, ao passo que não encontrou-se adultos no interior, sugere que este culicídeo é mais frequente em áreas peridomiciliares, podendo usar como abrigo arbustos, parques, bosques ou fragmentos de mata na área urbana, ou lugares mais afastados, como plantações adjacentes aos domicílios e matas próximas à área urbana, conforme verificado em diversos estudos (Gomes et al., 2005; Lima-Camara et al., 2006; Silva et al., 2006; Martins et al., 2010; Pedrosa, 2013; Medeiros-Souza et al., 2015; Heinisch et al., 2019; Silva, 2019; Rossi da Silva et al., 2021). Gomes et al. (2005) também observaram maior hematofagia de *A. albopictus* no peridomicílio em comparação ao intradomicílio.

Todavia, a captura de ovos de *A. albopictus* nas ovitrampas evidencia que populações

dessa espécie em Londrina possuem hábito urbanizado e utilizam os mesmos criadouros artificiais que o *A. aegypti*, apesar de também ovipositar frequentemente em locais naturais, como oco de árvores, bambus e axilas de plantas (Lima-Camara et al., 2006; Alencar, 2008; Rossi e Silva, 2009; Rodríguez et al., 2013). Em estudos de Silva (2009), Pedrosa (2013), Oliveira e Maleck (2014), Serpa (2014), Silva (2016), Custódio (2019), Silva et al. (2018c), Heinisch et al. (2019), Silva (2019), Dixson et al. (2020) e Rossi da Silva et al. (2021) também obteve-se ovos tanto de *A. aegypti* quanto de *A. albopictus* em ovitrampas, enquanto Honório e Lourenço-De-Oliveira (2001), Silva et al. (2006), Maciel-De-Freitas et al. (2007), Rossi e Silva (2009), Martins et al. (2010) e Ayllon et al., (2018) observaram ambas as espécies compartilhando diversos criadouros artificiais.

Com relação ao *C. quinquefasciatus*, a captura dessa espécie no interior das UBSs, mesmo que em pequena quantidade, indica que, embora tenha hábito noturno para realização da hematofagia, também pode ser encontrada em meio à população humana no período diurno, juntamente com o *A. aegypti* e *A. albopictus*, possivelmente utilizando o interior de estabelecimentos urbanos como abrigo (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Ramos et al., 2019).

Contudo, a ausência de ovos de *C. quinquefasciatus* nas ovitrampas se deve ao tipo de criadouro, que não é ideal para essa espécie, pois nem sempre utiliza os mesmos criadouros que o *A. aegypti* e *A. albopictus*, além de demonstrar a especificidade das ovitrampas e do atrativo utilizado para a captura de *Aedes* spp. Esse resultado corrobora com os estudos de Silva (2009), Oliveira e Maleck (2014), Silva (2016), Nascimento (2017), Silva (2019) e Rossi da Silva et al. (2021), onde encontraram somente ovos de *A. aegypti* e *A. albopictus* em ovitrampas instaladas em ambientes urbanos.

De acordo com estudos de Codeço et al. (2015), Silva et al. (2018c), Nascimento et al. (2020) e Rossi da Silva et al. (2021) as ovitrampas possuem alta especificidade e sensibilidade

para captura de ovos de *A. aegypti* e geração de índices de infestação, apresentando melhor desempenho em comparação à pesquisa larval.

O *C. quinquefasciatus* prefere ovipositar em recipientes artificiais contendo água rica em matéria orgânica, ou em coleções de água poluída no solo, além de ovipositar frequentemente em lugares amplos com água em baixa ou nenhuma movimentação, que tenha abundante matéria orgânica em decomposição e detritos, como lagoas de tratamento de efluentes, esgotos a céu aberto, fossas, córregos, margens de rios e lagos poluídos, e similares (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Morais et al., 2007; Chaves et al., 2009; Borges, 2014).

Esses locais propiciam condições ideais para o desenvolvimento das larvas, pois caracterizam-se como ótimas fontes de alimento, garantindo o sucesso reprodutivo da espécie. Sendo assim, o *C. quinquefasciatus* está associado a condições urbanas onde há despejo inadequado de águas provenientes de esgoto doméstico ou comercial e outros poluentes a céu aberto (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; MS, 2011; Wilke et al., 2017).

Quanto à investigação viral, embora tenha ocorrido elevado número de infecções em Londrina durante todo o período de coleta (mais de três mil casos registrados e 7 mortes no ano de 2019) conforme relatado pela SMS de Londrina e pela SESA (2020), a baixa detecção de vírus nos mosquitos aspirados pode ser justificada pelo reduzido número de amostras obtidas no período amostral. Por outro lado, apesar do menor número de casos de dengue confirmados na região Oeste, segundo a SMS de Londrina, supõe-se que a possibilidade de encontrar vírus nessa região tenha sido maior em virtude da grande quantidade de mosquitos capturados em uma única coleta, onde foi detectada a presença do vírus DENV-2.

A ausência de vírus nas fêmeas de *C. quinquefasciatus* aspiradas também pode ser justificada pelo reduzido número amostral, mas principalmente pela baixa competência e capacidade vetorial dessa espécie para os vírus investigados (Viveiros-Rosa et al., 2020). Até o

momento, apenas um estudo identificou a presença natural do vírus ZIKV em adultos de *C. quinquefasciatus* coletados em abundância na cidade de Recife, onde havia alto índice de infestação da espécie, devido às condições ambientais da região (Guedes et al., 2017).

A baixa frequência de detecção viral em mosquitos, mesmo em locais contendo infestação de vetores e elevado número de casos de arboviroses em humanos, já foi relatada em alguns estudos no Brasil. Lourenço-de-Oliveira et al. (2002) capturaram mais de dois mil adultos em Nova Iguaçu (Rio de Janeiro), mas só encontraram DENV-3 em três *pools* de nove fêmeas de *A. aegypti*, enquanto Degallier et al. (2003) detectaram a presença do vírus DENV-1 em somente uma amostra com duas fêmeas de *A. aegypti*, a partir de 23 *pools* dessa espécie, capturadas no estado do Espírito Santo, ao passo que não encontraram vírus em nenhum dos 38 *pools* de *A. albopictus* obtidos.

A ausência de vírus nos mosquitos obtidos dos ovos coletados no presente estudo sugere que a alta incidência de dengue em Londrina esteja ocorrendo principalmente por transmissão horizontal. Grunnill e Boost (2016) demonstram, a partir da revisão de vários estudos, que a transmissão vertical é um evento raro, exercendo pouca relevância na persistência do vírus DENV no ambiente. Vale destacar também que foi analisado um número amostral reduzido, obtido em um baixo número de réplicas e em poucos pontos do município.

Em análises de ocorrência de transmissão vertical no Brasil, foram obtidas poucas amostras positivas em um estudo de Serufo et al. (1993), onde isolaram apenas dois lotes de larvas positivas para DENV-1 entre 743 larvas de *A. albopictus* coletadas no estado de Minas Gerais, enquanto Zeidler et al. (2008) não obtiveram nenhum *pool* de larvas de *A. aegypti* positivo para DENV, em amostras coletadas em um bairro que apresentava elevada incidência de dengue, na cidade de Boa Vista, Roraima.

De acordo com a Secretaria da Saúde do Paraná (SESA) (2020), os sorotipos circulantes no município, em 2019, eram o DENV-1 e DENV-2. A circulação simultânea desses dois

sorotipos, aliado ao aumento populacional dos vetores, é de grande risco para a população, pois existe a possibilidade de pessoas que já foram infectadas por um sorotipo, contrair infecção secundária por outro sorotipo, e em um curto período de tempo, ou até mesmo pode ocorrer infecção simultânea por dois sorotipos (Martins et al., 2014). Com isso, aumenta-se a probabilidade de ocorrência de novos surtos de dengue e agravamento da doença, podendo ocasionar hemorragias, síndrome de choque, disfunções dos órgãos e possível óbito (Halstead et al., 2003; BVS, 2015; Barbosa et al., 2016).

Estudos demonstram singularidades para cada sorotipo da dengue, quanto aos sintomas provocados. Sintomas mais graves foram predominantes em infecções causadas pelos sorotipos 2 e 3, indicando, portanto, que são os mais virulentos (Vaughn et al., 2000; Nisalak et al., 2003; Balmaseda et al., 2006; BVS, 2015; Soo et al., 2016; Lovera et al., 2019). Sendo assim, evidencia-se que em Londrina circula um dos sorotipos de maior virulência, isto é, capaz de causar sintomas mais graves.

Segundo a SESA (2020), casos de febre Zika e chikungunya não foram detectados em Londrina, em 2019, o que justifica a ausência de detecção desses vírus nas amostras coletadas. Entretanto, a detecção do vírus DENV-2 em fêmeas de *A. aegypti* presentes em uma das UBSs, indica que há circulação de mosquitos contaminados com vírus, inclusive de um sorotipo associado a sintomas mais graves, dentro de locais frequentados por pessoas que buscam diagnóstico, orientação e tratamento para arboviroses e outras enfermidades. Contudo, é importante mencionar que a pesquisa viral do presente estudo foi realizada nos mosquitos inteiros. Sendo assim, não foi possível concluir se o vírus estava presente apenas no intestino (hematofagia recente), na hemolinfa (sangue em processo de digestão) ou na glândula salivar, o que caracterizaria as fêmeas infectadas como vetores efetivos, podendo transmitir o vírus.

Os resultados obtidos alertam para a urgente necessidade de intensificar as medidas preventivas e de controle vetorial dentro e ao redor desses estabelecimentos, a fim de evitar a

existência de criadouros do *Aedes* spp., reduzindo assim a infestação local dos mosquitos vetores e, conseqüentemente, a circulação viral. Ressalta-se também a necessidade de vigilância constante do *Aedes* spp. e dos vírus veiculados na natureza, não só em *Aedes* spp., mas também em outras espécies com capacidade vetorial, como o *C. quinquefasciatus*, sendo importante também uma análise viral mais específica nesses mosquitos, para identificar a presença de vírus nas glândulas salivares, a fim de verificar se o mosquito pode transmitir o vírus. Essas medidas possibilitam direcionar as ações de prevenção e redução dos vetores, evitando assim a ocorrência de novas epidemias e sobrecarga do sistema de saúde.

Em consonância com a vigilância nos estabelecimentos públicos urbanos, é relevante também explorar a diversidade de Culicidae e a presença de vírus em outras localidades da zona urbana de Londrina, como em fragmentos florestais, pois podem ser locais de refúgio para muitas espécies de mosquitos, inclusive vetoras de patógenos, necessitando de vigilância constante, tanto quanto nos estabelecimentos urbanos. Sendo assim, mais estudos são necessários para complementar as ações de vigilância vetorial e virológica no município de Londrina.

Este trabalho apresenta um modelo de metodologia com baixo custo para obtenção de mosquitos vetores em diferentes localidades, demonstrando ser eficaz no monitoramento vetorial e viral. É importante que o monitoramento seja realizado de forma constante, aliado à intensificação da investigação viral nos vetores, a fim de tornar a detecção viral mais eficiente, pois assim permite a tomada de ações rápidas caso seja detectada circulação viral em pontos estratégicos, a exemplo das UBSs. Esta metodologia pode ser adotada por todos os municípios do Brasil como forma de prevenção e atenção primária à saúde.

Referências

- Alencar, C.H.M., 2008. Infestação pelo *Aedes albopictus* (Skuse), em criadouros naturais e artificiais encontrados em áreas verdes na cidade de Fortaleza-Ceará. Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Departamento de Saúde Comunitária. Mestrado em Saúde Pública.
- Ayllón, T., Câmara, D.C.P., Morone, F.C., da Silva Gonçalves, L., de Barros, F.S.M., Brasil, P., Carvalho, M.S., Honório, N.A., 2018. Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: Initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. PLoS One 13(4), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195014>
- Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, L.D., Santos, A.A.S., 2007. BioEstat 5.3: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Inst. Mamirauá, Belém, PA.
- Azevedo, R. do S. da S., Oliveira, C.S., Vasconcelos, P.F. da C., 2015. Chikungunya risk for Brazil. Rev. Saude Publica 49, 58. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2015049006219>
- Balmaseda, A., Hammond, S.N., Pérez, L., Tellez, Y., Saborío, S.I., Mercado, J.C., Cuadra, R., Rocha, J., Pérez, M.A., Silva, S., Rocha, C., Harris, E., 2006. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. Am. J. Trop. Med. Hyg. 74(3), 449–456. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.74.449>
- Barbosa, G.L., Bergo, E.S., Pereira, M., Botti, M.V., Sampaio, S.M.P., 2019. Presença de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em ambientes urbanos adjacentes às áreas silvestres que apresentam potencial para a circulação do vírus da febre amarela no estado de São Paulo. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 16, 25–30.
- Barbosa, P.P., Guedes, D.R.D., Melo-Santos, M.A.V., Cordeiro, M.T., Acioli, R. V., Batista, C.A.V., Gonçalves, L.S.M., Souza, M.F.M., Araújo, Y. V., Magalhães, F.J.R., Regis, L., Ayres, C.F.J., 2016. Vector surveillance for dengue virus detection in the archipelago of Fernando de Noronha, Brazil. J. Med. Entomol. 53, 613–619. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw034>
- Barrera, R., Amador, M., MacKay, A.J., 2011. Population dynamics of *Aedes aegypti* and dengue as influenced by weather and human behavior in san juan, puerto rico. PLoS Negl. Trop. Dis. 5(12), e1378. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001378>
- Beserra, E.B. et al., 2006. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. Neotropical Entomology, 35(6), 853-860.
- Beserra, E.B. et al., 2009. Efeitos da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Iheringia. Série Zoologia, 99(2), 142-148.
- Bona, A.C.D., Twerdochlib, A.L., Navarro-Silva, M.A., 2011. Detecção do vírus da dengue em populações naturais de mosquitos. Bol. Malariol. y Salud Ambient. 51(2), 107–116.

- Borges, V.A.R., 2014. Avaliação da infestação do mosquito *Culex quinquefasciatus* no entorno do rio Palmeiras, no município de Pratápolis (MG). *Ciência Prax.* 7(14), 31–34.
- BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). 2015. Ministério da Saúde. Dicas em Saúde. Dengue. <http://bvsm.sau.gov.br/dicas-em-sau/1938-dengue> (accessed 02 July 2020).
- Canyon, D.V. et al., 1999. Adaptation of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) oviposition behavior in response to humidity and diet. *Journal of insect physiology*, 45(10), 959-964.
- Cardoso, B.F., Serra, O.P., da Silva Heinen, L.B., Zuchi, N., De Souza, V.C., Naveca, F.G., dos Santos, M.A.M., Silhessarenko, R.D., 2015. Detection of oropouche virus segment s in patients and in *Culex quinquefasciatus* in the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110(6), 745–754. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150123>
- Cardoso, J.C., de Paula, M.B., Fernandes, A., dos Santos, E., de Almeida, M.A.B., da Fonseca, D.F., Sallum, M.A.M., 2011. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic forest area on the north coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. *J. Vector Ecol.* 36(1), 175–186. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00155.x>
- Carvalho, R.G., Lourenço-De-Oliveira, R., Braga, I.A., 2014. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 109(6), 787–796. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140304>
- Chaves, L.F., Keogh, C.L., Vazquez-Prokopec, G.M., Kitron, U.D., 2009. Combined sewage overflow enhances oviposition of *Culex quinquefasciatus* (diptera: culicidae) in urban areas. *J. Med. Entomol.* 46(2), 220–226. <https://doi.org/10.1603/033.046.0206>
- Chen, Y., Chen, R., Gao, J., Li, C., Liu, J., Zhou, Z., Ren, R., 2021. Effects of overwintering on the survival and vector competence of *Aedes albopictus* in the urban life cycle of dengue virus in Guangzhou, China. *Virologica Sinica*, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s12250-021-00356-0>
- Chouin-Carneiro, T., Vega-Rua, A., Vazeille, M., Yebakima, A., Girod, R., Goindin, D., Dupont-Rouzeyrol, M., Lourenço-de-Oliveira, R., Failloux, A.B., 2016. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004543>
- Chow, V.T.K., Chan, Y.C., Yong, R., Lee, K.M., Lim, L.K., Chung, Y.K., Lam-Phua, S.G., Tan, B.T., 1998. Monitoring of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58(5), 578–586. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.58.578>
- Codeço, C.T., Lima, A.W., Araújo, S.C., Lima, J.B.P., Maciel-de-Freitas, R., Honório, N.A., Galardo, A.K.R., Braga, I.A., Coelho, G.E., Valle, D., 2015. Surveillance of *Aedes aegypti*: comparison of house index with four alternative traps. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(2), e0003475.

- Consoli, R.A.G.B., Oliveira, R.L., 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 228p.
- Custódio, J. M. O., Nogueira, L.M.S., Souza, D.A., Fernandes, M.F., Oshiro, E.T., Oliveira, E.F.D., ..., Oliveira, A.G.D., 2019. Abiotic factors and population dynamic of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in an endemic area of dengue in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 61, e18.
- Degallier, N., Teixeira, J.M.S., Soares, S.D.S., Pereira, R.D., Pinto, S.C., Chaib, A.D.J.M., ..., Oliveira, E., 2003. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 37(3), 386–387.
- Dibo, M.R., de Menezes, R.M.T., Ghirardelli, C.P., Mendonça, A.L., Neto, F.C., 2011. Presença de culicídeos em município de porte médio do estado de São Paulo e risco de ocorrência de febre do Nilo Ocidental e outras arboviroses. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44(4), 496–503.
- Dixson, A., Jackson, R.N., Rowe, R.D., Nease, R., Fryxell, R.T.T., 2020. *Aedes albopictus* oviposits with other *Aedes* species in artificial oviposition cups: a case study in Knox County, Tennessee, U.S.A. *J. Vector Ecol.* 45(1), 2–15.
<https://doi.org/10.1111/jvec.12368>
- Ebert, D., 2013. The epidemiology and evolution of symbionts with mixed-mode transmission. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 44, 623–643.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-032513-100555>
- Eiras, A. E. Culicidae. In: Neves, D. P. et al., 2016. *Parasitologia Humana*. 13 ed. São Paulo: Atheneu, p. 411–424.
- Eisen, L., Beaty, B.J., Morrison, A.C., Scott, T.W., 2009. Proactive vector control strategies and improved monitoring and evaluation practices for dengue prevention. *J. Med. Entomol.* 46(6), 1245–1255. <https://doi.org/10.1603/033.046.0601>
- Fantinatti, E.C.S., Duque, J.E.L., Silva, A.M., Navarro-Silva, M.A., 2007. Abundância e agregação de ovos de *Aedes aegypti* L. e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) no norte e noroeste do Paraná. *Neotrop. Entomol.* 36(6), 960–965.
<https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000600020>
- Fay, R.W., Eliason, D.A., 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq news*, 26(4), 531-5.
- Fay, R.W., Perry, A.S., 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, 25(3), 276-281.
- Fonseca Júnior, D.P., 2019. Vetores de arboviroses no estado de São Paulo: 30 anos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *Revista de saúde pública*, 53, 84.
- Forattini, O.P., 2002. *Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia* Vol. 2. EDUSP, São Paulo, 860p.

- Fouque, F., Carinci, R., Gaborit, P., Issaly, J., Bicout, D.J., Sabatier, P., 2006. *Aedes aegypti* survival and dengue transmission patterns in French Guiana. *Journal of Vector Ecology*, 31(2), 390–399.
- Franco, O., 1969. História da Febre-amarela no Brasil. Ministério da Saúde. Departamento Nacional de Endemias Rurais. Rio de Janeiro.
- Galavíz-Parada, J., Vega-Villasante, F., Marquetti, M.D.C., Guerrero-Galván, S., Chong-Carrillo, O., Navarrete Heredia, J.L., Cupul-Magaña, F.G., 2019. Efecto de la temperatura y salinidad en la eclosión y supervivencia de *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) procedentes del occidente de México. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 71(2).
- Gomes, A.C., 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. *Inf. Epidemiológico do Sus* 7(3), 49–57. <https://doi.org/10.5123/s0104-16731998000300006>
- Gomes, A. de C., Souza, J.M.P. de, Bergamaschi, D.P., Santos, J.L.F. dos, Andrade, V.R., Leite, O.F., Rangel, O., Souza, S.S.L. de, Guimarães, N.S.N., Lima, V.L.C. de, 2005. Atividade antropofílica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área sob controle e vigilância. *Rev. Saude Publica* 39(2), 206–210. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102005000200010>
- Grunnill, M., Boots, M., 2016. How important is vertical transmission of dengue viruses by mosquitoes (Diptera: Culicidae)? *Journal of medical entomology*, 53(1), 1–19. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv168>
- Guedes, D.R.D., Cordeiro, M.T., Melo-Santos, M.A.V., Magalhaes, T., Marques, E., Regis, L., Furtado, A.F., Ayres, C.F.J., 2010. Patient-based dengue virus surveillance in *Aedes aegypti* from Recife, Brazil. *J. Vector Borne Dis.* 47(2), 67–75.
- Guedes, D.R.D., Paiva, M.H.S., Donato, M.M.A., Barbosa, P.P., Krovovsky, L., Rocha, S.W.S., Saraiva, K.L.A., Crespo, M.M., Rezende, T.M.T., Wallau, G.L., ... Ayres, C.F.J., 2017. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg. Microbes Infect.* 6(1). <https://doi.org/10.1038/emi.2017.59>
- Halstead, S.B. 2003. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. *Adv virus res*, 60, 421-467.
- Harbach, R. 2021. Mosquito Taxonomic Inventory. <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045> (accessed 26 June 2021).
- Heinisch, M.R.S., Diaz-Quijano, F.A., Chiaravalloti-Neto, F., Menezes Pancetti, F.G., Rocha Coelho, R., dos Santos Andrade, P., Urbinatti, P.R., de Almeida, R.M.M.S., Lima-Camara, T.N., 2019. Seasonal and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a municipal urban park in São Paulo, SP, Brazil. *Acta Trop.* 189, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.011>

- Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2001. Frequency of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae and pupae in traps, Brazil. *Rev. Saude Publica* 35, 385–391. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102001000400009>
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2020. Londrina: Panorama. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/londrina/panorama> (accessed 29 august 2020).
- IEC (Instituto Evandro Chagas). 2018. Instituto Evandro Chagas detecta vírus da Febre Amarela em mosquito *Aedes albopictus* no Brasil. [https://www.iec.gov.br/descoberta/#:~:text=O%20Instituto%20Evandro%20Chagas%20\(IEC,em%20ambientes%20silvestre%20ou%20rural](https://www.iec.gov.br/descoberta/#:~:text=O%20Instituto%20Evandro%20Chagas%20(IEC,em%20ambientes%20silvestre%20ou%20rural) (accessed 29 june 2020).
- INMET. 2021. Clima. <https://clima.inmet.gov.br/progt> (accessed 29 august 2020).
- IOC (Instituto Oswaldo Cruz). 2009. Pesquisador aponta diferenças entre *A. aegypti* e pernilongo doméstico. <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=599&sid=32> (accessed 6 june 2020).
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2021. Malha Municipal. <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/malhas-territoriais/15774-malhas.html?=&t=acesso-ao-produto> (accessed 27 february 2021).
- Kraemer, M.U.G., Sinka, M.E., Duda, K.A., Mylne, A.Q.N., Shearer, F.M., Barker, C.M., Moore, C.G., Carvalho, R.G., Coelho, G.E., Van Bortel, W., Hendrickx, G., Schaffner, F., Elyazar, I.R., Teng, H.J., Brady, O.J., Messina, J.P., Pigott, D.M., Scott, T.W., Smith, D.L., William Wint, G.R., Golding, N., Hay, S.I., 2015. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *Elife*. 4, p. e08347 <https://doi.org/10.7554/eLife.08347>
- Lega, J., Brown, H.E., Barrera, R., 2017. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) abundance model improved with relative humidity and precipitation-driven egg hatching. *Journal of medical entomology*, 54(5), 1375-1384.
- Leisnham, P., Lester, P., Slaney, D., Weinstein, P., 2004. Anthropogenic Landscape Change and Vectors in New Zealand: Effects of Shade and Nutrient Levels on Mosquito Productivity. *Ecohealth* 1(3), 306–316. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0026-5>
- Lequime, S., Paul, R.E., Lambrechts, L., 2016. Determinants of Arbovirus Vertical Transmission in Mosquitoes. *PLoS Pathog.* 12(5), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005548>
- Lima-Camara, T.N.D., Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de saude publica* 22, 2079-2084.
- Lipsitch, M., Siller, S., Nowak, M.A., 1996. The evolution of virulence in pathogens with vertical and horizontal transmission. *Evolution* 50(5), 1729-1741. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1996.tb03560.x>

- Lopes, J., 1997. Ecology of mosquitoes (Diptera, Culicidae) in natural and artificial rural breeding places in Northern Paraná state, Brazil: VI. Larvae collections in their home surroundings. *Revista Brasileira De Zoologia* 14(3), 571-578.
- Lourenço-de-Oliveira, R., Honório, N.A., Castro, M.G., Schatzmayr, H.G., Miagostovich, M.P., Alves, J.C., Nogueira, R.M., 2002. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, State of Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(6), 799-800.
- Lovera, D., Martínez-Cuellar, C., Galeano, F., Amarilla, S., Vazquez, C., Arbo, A., 2019. Clinical manifestations of primary and secondary dengue in Paraguay and its relation to virus serotype. *J. Infect. Dev. Ctries.* 13(12), 1127–1134. <https://doi.org/10.3855/jidc.11584>
- Maciel-de-Freitas, R., Marques, W.A., Peres, R.C., Cunha, S.P., De Oliveira, R.L., 2007. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102(4), 489–496. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000056>
- Marinho, R.A., Beserra, E.B., Bezerra-Gusmão, M.A., Porto, V. de S., Olinda, R.A., dos Santos, C.A.C., 2016. Effects of temperature on the life cycle, expansion, and dispersion of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in three cities in Paraíba, Brazil. *J. Vector Ecol.* 41, 1–10. <https://doi.org/10.1111/jvec.12187>
- Martins, V.D.C.A., De Bastos, M.S., Ramasawmy, R., De Figueiredo, R.P., Gimaque, J.B.L., Braga, W.S.M., Nogueira, M.L., Nozawa, S., Naveca, F.G., Figueiredo, L.T.M., Mourão, M.P.G., 2014. Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. *PLoS One* 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100535>
- Martins, V.E.P., Alencar, C.H., Kamimura, M.T., de Carvalho Araújo, F.M., de Simone, S.G., Dutra, R.F., Guedes, M.I.F., 2012. Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLoS One* 7(7), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041386>
- Martins, V.E.P., Alencar, C.H.M. de, Facó, P.E.G., Dutra, R.F., Alves, C.R., Pontes, R.J.S., Guedes, M.I.F., 2010. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 43(1), 73–77. <https://doi.org/10.1590/s0037-86822010000100016>
- Medeiros, A.S. 2018. Vírus dengue em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em áreas urbanas de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. 68 p. Doutorado em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Medeiros-Sousa, A.R., Ceretti-Júnior, W., de Carvalho, G.C., Nardi, M.S., Araujo, A.B., Vendrami, D.P., Marrelli, M.T., 2015. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: Larval habitats and temporal variation. *Acta Trop.* 150(50), 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.08.002>

- Montagner, F.R.G., Silva, O.S., Jahnke, S.M., 2018. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. *Brazilian J. Biol.* 78(2), 233–239. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04416>
- Moore, C.G., Mitchell, C.J., 1997. *Aedes albopictus* in the United States: Ten-Year Presence and Public Health Implications 3(3), 329–334.
- Morais, S.A., Natal, D., Paganelli, C.H., 2007. O mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) em município cortado por rio com elevada carga poluidora. *Brazilian Journal of Environmental Sciences* 06, 21-26.
- MS (Ministério da Saúde). 2011. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância do *Culex quinquefasciatus*. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2019a. Combate ao *Aedes Aegypti*: prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e Zika. <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/aedes-aegypti> (accessed 17 June 2020).
- MS (Ministério da Saúde). 2020a. Ministério da Saúde alerta Sul e Sudeste sobre febre amarela. <https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/46198-ministerio-da-saude-alerta-sul-e-sudeste-sobre-febre-amarela> (accessed 17 June 2020).
- MS (Ministério da Saúde). 2020b. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2021. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 8, 2021. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, DF.
- Nasci, R.S.A., 1981. lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. *Mosquito News* 41(4), 808–811.
- Nascimento, F.A.M., 2017. Padronização e implementação do uso de armadilhas de oviposição nas ações de monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) no município de Natal, RN. 58 p. Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Nascimento, K.L.C., da Silva, J.F.M., Zequi, J.A.C., Lopes, J., 2020. Comparison Between Larval Survey Index and Positive Ovitrap Index in the Evaluation of Populations of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) North of Paraná, Brazil. *Environ. Health Insights* 14, 1–8. <https://doi.org/10.1177/1178630219886570>
- Natal, D., 2002. Bioecologia do *Aedes aegypti*. *Biológico*, São Paulo 64(2), 205–207.

- Nisalak, A., Endy, T.P., Nimmannitya, S., Kalayanaroj, S., Thisyakorn, U., Scott, R.M., Burke, D.S., Hoke, C.H., Innis, B.L., Vaughn, D.W., 2003. Serotype-specific dengue virus circulation and dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68(2), 191–202. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2003.68.191>
- Nitsche, P.R., Caramori, P.H., Ricce, W.D.S., Pinto, L.F.D., 2019. Atlas climático do estado do Paraná. Londrina, PR: IAPAR.
- Nunes, M.R.T., Faria, N.R., de Vasconcelos, J.M., Golding, N., Kraemer, M.U.G., de Oliveira, L.F., da Silva Azevedo, R. do S., da Silva, D.E.A., da Silva, E.V.P., da Silva, S.P., Carvalho, V.L., Coelho, G.E., Cruz, A.C.R., Rodrigues, S.G., da Silva Gonçalves Vianez, J.L., Nunes, B.T.D., Cardoso, J.F., Tesh, R.B., Hay, S.I., Pybus, O.G., da Costa Vasconcelos, P.F., 2015. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med.* 13(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0348-x>
- Oliveira, A. de A., Maleck, M., 2014. Ovitrapas para Avaliação da Presença de *Aedes aegypti* (Linnaeus) e *Aedes albopictus* (Skuse) no Município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro. *EntomoBrasilis* 7(1), 52–57. <https://doi.org/10.12741/ebrazilis.v7i1.369>
- Pabbaraju, K., Wong, S., Gill, K., Fonseca, K., Tipples, G.A., Tellier, R., 2016. Simultaneous detection of Zika, Chikungunya and Dengue viruses by a multiplex real-time RT-PCR assay. *J. Clin. Virol.* 83, 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.09.001>
- Pancetti, F.G.M., Honório, N.A., Urbinatti, P.R., Lima-Camara, T.N., 2015. Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: A rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48(1), 87–89. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0155-2014>
- Pedrosa, M.C., 2013. Aspectos ecológicos da ocorrência de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1984) (Diptera: Culicidae) em áreas verdes urbanas e residenciais 85f. Universidade federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais.
- Piovezan, R. 2009. Levantamento de larvas de Culicidae (Diptera) em diferentes criadouros no município de Santa Bárbara d'Oeste. 123pp. Mestrado em Zoologia. Instituto de Biociências da UNESP, Rio Claro.
- Prefeitura de Londrina. 2021. Downloads. <http://www.londrina.pr.gov.br/downloads-siglon> (accessed 27 february 2021).
- Ramos, C.J.R., Bellato, V., Souza, A.P.D., Sartor, A.A., Moura, A.B.D., Centenaro, F., Miletto, L.C., 2019. Fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) em ambientes intra e peridomiciliar na cidade de Lages, SC. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* 13(3), 387-400.
- Rezende, H.R., Romano, C.M., Claro, I.M., Caleiro, G.S., Sabino, E.C., Felix, A.C., Bissoli, J., Hill, S., Faria, N.R., Cardoso da Silva, T.C., Brioschi Santos, A.P., Junior, C.C., Rachel Vicente, C., 2020. First report of *Aedes albopictus* infected by Dengue and Zika virus in a rural outbreak in Brazil. *PLoS One* 15(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229847>

- Rodríguez, M.R., Ríos, D.M., Gutiérrez, A.Y., 2013. *Aedes albopictus* y sus sitios de cría en la provincia de Limón, Costa Rica. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 65(3), 320-328.
- Rossi da Silva, K., Ribeiro da Silva, W., Silva, B.P, Arcos, A.N, da Silva Ferreira, F.A., Soares-da-Silva, J., Pontes, G.O., Roque, R.A., Tadei, W.O., Navarro-Silva, M.A., Zequi J.A.C., 2021. New traps for the capture of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) eggs and adults. *PLoS Negl Trop Dis* 15(4): e0008813. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008813>
- Rossi, J.C.N., Silva, A.M. 2009. Diversidade de criadouros frequentados por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no estado de Santa Catarina, período de 1998-2007. 61ª Reunião Anual da SBPC.
- Rueda, L.M., 2008. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 477–487. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9037-x>
- Serpa, L.L.N., 2014. Oviposição de *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em município com transmissão de dengue, Estado de São Paulo, Brasil. 152f. Doutorado em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo.
- Serufo, J.C., de Oca, H.M., Tavares, V.A., Souza, A.M., Rosa, R.V., Jamal, M.C., ... Schatzmayr, H.G. 1993. Isolation of dengue virus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88(3), 503-504.
- SESA. Secretaria de Estado da Saúde. Situação da dengue, chikungunya e zika vírus no Paraná, 2019/2020. 2020. Disponível em: http://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos_restritos/files/documento/2020-11/boletimdengue43_2020.pdf. (accessed 25 april 2021).
- Silva, C.J., Pereira, S.V., Apolinário, E.J., dos Santos, G.L., Melo-Santos, M.A.V., da Silva, A.F., Wallau, G.L., de Oliveira, C.M.F., 2018a. Culicidae fauna (Diptera: Culicidae) survey in urban, ecotonal and forested areas, from the Moreno municipality - Pernambuco State, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 51(4), 523–527. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0249-2017>
- Silva, É.V.G., 2009. Uso de ovitrampas como instrumento para o monitoramento populacional de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em áreas urbanas de Olinda. 66f. Mestrado em Biologia Animal. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.
- Silva, G.S., 2016. *Aedes aegypti* (Linnaeus) e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) no município de Codó, Maranhão, Brasil. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Ciências Naturais/Biologia. Universidade Federal do Maranhão, São Luís.
- Silva, L.D.S.B., Cardoso, R.T.N., Fernandes, J.L.A., Silva, C.A., Eiras, A.E. 2018b. Modelo Entomológico Determinístico sob Efeito da Pluviosidade para o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*. *TEMA (São Carlos)*, 19(2), 289–303. doi:10.5540/tema.2018.019.02.0289

- Silva, V.C. da, Scherer, P.O., Falcão, S.S., Alencar, J., Cunha, S.P., Rodrigues, I.M., Pinheiro, N.L., 2006. Diversidade de criadouros e tipos de imóveis freqüentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. Rev. Saude Publica 40(6), 1106–1111. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102006000700021>
- Silva, W.B., 2019. Diversidade do mosquito *Aedes* spp. (DIPTERA: CULICIDAE) em área urbana e de mata circunvizinha em Cuiabá, MT, 59f. Mestrado em Ciências Ambientais, Universidade de Cuiabá, Campus Barão, Cuiabá.
- Silva, W.R., Soares-da-Silva, J., Ferreira, F.A.S., Rodrigues, I.B., Tadei, W.P., Zequi, J.A.C., 2018c. Oviposition of *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 and *Aedes albopictus* Skuse, 1894 (Diptera: Culicidae) under laboratory and field conditions using ovitraps associated to different control agents, Manaus, Amazonas, Brazil. Rev. Bras. Entomol. 62(4), 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.08.001>
- Soo, K.M., Khalid, B., Ching, S.M., Chee, H.Y., 2016. Meta-analysis of dengue severity during infection by different dengue virus serotypes in primary and secondary infections. PLoS One 11(5), 4–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154760>
- Taghikhani, R., Gumel, A.B., 2018. Mathematics of dengue transmission dynamics: Roles of vector vertical transmission and temperature fluctuations. Infectious Disease Modelling, 3, 266–292. <https://doi.org/10.1016/j.idm.2018.09.003>
- Taipe-Lagos, C.B., Natal, D., 2003. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. Rev. Saude Publica 37(3), 275–279. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102003000300002>
- Vasconcelos, P.F.D.C., Travassos da Rosa, J.F.S., Guerreiro, S.C., Dégallier, N., Travassos da Rosa, E.S., Travassos da Rosa, A.P.D.A., 1989. Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche nos estados do Maranhão e Goiás, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 31(4), 271-278.
- Vaughn, D.W., Green, S., Kalayanarooj, S., Innis, B.L., Nimmannitya, S., Suntayakorn, S., Endy, T.P., Raengsakulrach, B., Rothman, A.L., Ennis, F.A., Nisalak, A., 2000. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. J. Infect. Dis. 181(1), 2–9. <https://doi.org/10.1086/315215>
- Vega-Rua, A., Zouache, K., Girod, R., Failloux, A.-B., Lourenco-de-Oliveira, R., 2014. High Level of Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya Virus. J. Virol. 88(11), 6294–6306. <https://doi.org/10.1128/jvi.00370-14>
- Viveiros-Rosa, S.G., Regis, E.G., Santos, W.C., 2020. Vector competence of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Zika virus transmission: an integrative review. Revista Panamericana de Salud Pública, 44, e7. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.7>
- WHO (World Health Organization). 2020. Dengue and severe dengue. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (accessed 22 april 2021).

- Wilke, A.B.B., Chase, C., Vasquez, C., Carvajal, A., Medina, J., Petrie, W.D., Beier, J.C., 2019. Urbanization creates diverse aquatic habitats for immature mosquitoes in urban areas. *Sci. Rep.* 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51787-5>
- Wilke, A.B.B., de Carvalho, G.C., Marrelli, M.T., 2017. Microgeographic Population Structuring of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) From São Paulo, Brazil. *J. Med. Entomol.* 54(6), 1582–1588. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx149>
- WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). 2021. Systematic Catalog of Culicidae. http://www.mosquitocatalog.org/taxon_table.aspx (accessed 26 June 2021).
- Zahouli, J.B.Z., Koudou, B.G., Müller, P., Malone, D., Tano, Y., Utzinger, J., 2017. Urbanization is a main driver for the larval ecology of *Aedes* mosquitoes in arbovirus-endemic settings in south-eastern Côte d’Ivoire. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11(7), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005751>
- Zanluca, C., De Melo, V.C.A., Mosimann, A.L.P., Dos Santos, G.I.V., dos Santos, C.N.D., Luz, K., 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110(4), 569–572. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150192>
- Zara, A.L. de S.A., Santos, S.M. Dos, Fernandes-Oliveira, E.S., Carvalho, R.G., Coelho, G.E., 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol. e Serv. saude Rev. do Sist. Unico Saude do Bras.* 25, 391–404. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>
- Zeidler, J.D., Acosta, P.O.A., Barrêto, P.P., Cordeiro, J.D.S., 2008. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 42(6), 986–991.
- Zequi, J.A.C., Lopes, J., Medri, Í.M., 2005. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 22(3), 656–661. <https://doi.org/10.1590/s0101-81752005000300021>

CAPÍTULO 2

Diversidade e abundância de Culicidae (Diptera), com análise da circulação viral, em vegetações ripárias urbanas no Norte do Paraná, Brasil

Artigo a ser submetido ao periódico Revista Brasileira de Entomologia

Link para consulta das normas do periódico:

http://cdn.elsevier.com/promis_misc/RBE_Instructionstoauthors.pdf

RESUMO

A vigilância vetorial e virológica geralmente é restrita a estabelecimentos e residências urbanas, porém, fragmentos florestais também podem abrigar muitas espécies de mosquitos, inclusive vetoras de patógenos. O objetivo deste estudo foi verificar a diversidade e abundância de culicídeos presentes em vegetações ripárias urbanas de Londrina, Paraná e compreender suas relações ecológicas, bem como investigar a presença dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV nesses mosquitos. Foram coletados mosquitos adultos com aspiradores de Nasci, além de amostras de água para verificação de culicídeos imaturos, em seis áreas de vegetação ripária. A partir da aspiração, foram capturados 131 culicídeos nas seis áreas amostrais, com destaque para *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A maior abundância e dominância ocorreu em áreas com maior fluxo de pessoas, havendo principalmente espécies sinantrópicas enquanto os menores valores ocorreram em área menos povoada. Diversidade e riqueza foram maiores em área mais afastada de estabelecimentos urbanos, embora com residências próximas. Cinco criadouros naturais e quatro artificiais foram encontrados em três áreas amostrais, obtendo-se 369 culicídeos adultos: 225 nos criadouros naturais (12 *A. aegypti*, 195 *A. albopictus*, 18 *Limatus durhamii*), e 144 nos criadouros artificiais (127 *A. aegypti*, 117 *A. albopictus*). Apesar da ausência de vírus nos mosquitos, os resultados demonstram a necessidade de monitoramento constante nas áreas de vegetação ripária urbanas, pois abrigam espécies silvestres e sinantrópicas de interesse em saúde pública, sendo uma importante interface entre vetores e humanos que pode possibilitar a circulação de novos patógenos no ambiente urbano.

Palavras-chave: Ecologia. Impactos antrópicos. Investigação viral. Vigilância entomológica.

ABSTRACT

Vector and virological surveillance is generally restricted to urban establishments and homes, but forest fragments can also harbor many species of mosquitoes, including pathogen vectors. The aim of this study was to verify the diversity and abundance of Culicidae present in urban riparian vegetation in Londrina, Paraná, and to understand their ecological relationships, as well as to investigate the presence of DENV, ZIKV and CHIKV viruses in these mosquitoes. Adult mosquitoes were collected with Nasci aspirators, in addition to water samples to verify immature Culicidae, in six areas of riparian vegetation. From aspiration, 131 Culicidae were captured in the six sample areas, with emphasis on *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. The greatest abundance and dominance occurred in areas with a high flow of people, with mainly synanthropic species, while the lowest values occurred in less populated areas. Diversity and wealth were greater in an area farther from urban establishments, although with close homes. Five natural and four artificial breeding sites were found in three sample areas, resulting in 369 adults Culicidae: 225 in natural breeding sites (12 *A. aegypti*, 195 *A. albopictus*, 18 *Limatus durhamii*), and 144 in artificial breeding sites (127 *A. aegypti*, 117 *A. albopictus*). Despite the absence of viruses in mosquitoes, the results demonstrate the need for constant monitoring in urban riparian vegetation areas, as they harbor wild and synanthropic species of public health interest, being an important interface between vectors and humans that can enable the circulation of new pathogens in the urban environment.

Keywords: Anthropic impacts. Ecology. Viral investigation. Virological surveillance

Introdução

Culicidae é uma família numerosa de insetos conhecidos vulgarmente como mosquitos, muriçocas, carapanãs, sovelas, entre outros, pertencente à subordem Nematocera, ordem Diptera. Estão distribuídos em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae, contendo mais de 3500 espécies (Harbach, 2021a, WRBU, 2021a). Ambas possuem importância para a saúde pública, uma vez que apresentam espécies com competência e capacidade para veicular e transmitir agentes causadores de doenças que acometem os seres humanos e outros animais em todo o planeta (Forattini, 2002; Rueda, 2008; CVBD, 2021; Harbach, 2021a, WRBU, 2021a).

Os culicídeos são predominantemente tropicais, mas estão amplamente distribuídos em todos os biomas, devido à sua grande capacidade de adaptação a diversos ambientes. Dessa forma, podem habitar até mesmo regiões árticas, bem como ambientes de elevada altitude ou muito abaixo do nível do mar (Rueda, 2008; CVBD, 2021; Harbach, 2021a; WRBU, 2021a).

Enquanto algumas espécies são estritamente selvagens e sensíveis a mudanças ambientais, outras podem viver em áreas rurais e urbanas, habitando ambientes aquáticos e terrestres com elevado grau antrópico (Lopes, 1997; Forattini, 2002; Rueda, 2008; Medeiros-Souza et al., 2017; Montagner et al., 2018). Ambientes antrópicos acabam favorecendo espécies de mosquitos oportunistas e de maior plasticidade genética, que passam a utilizar recipientes artificiais descartados pelo homem, para reprodução e desenvolvimento, acarretando em alta densidade populacional de mosquitos (Lopes, 1997; Zequi et al., 2005; Medeiros-Souza et al., 2017; Montagner et al., 2018).

Grandes centros urbanos geralmente possuem fragmentos florestais isolados, resultantes de ações antrópicas visando o desenvolvimento agropecuário, industrial e urbano (MMA, 2003; Dantas et al., 2017; Alves et al., 2020). Muitos desses fragmentos circundam mananciais que abastecem a região, podendo ser denominados como formação ribeirinha, vegetação ripária ou mata/floresta ripária, entre outros diversos termos, dependendo da sua fisionomia e região

(Rodrigues, 2000; Kobiyama, 2003; ICMBio, 2021).

Esses locais possuem elevada diversidade de espécies vegetais que contribuem com a estabilização da temperatura ambiente e com a qualidade do ar, do solo e da água, impedindo a ocorrência de erosão e assoreamento nas margens dos cursos hídricos, além de filtrar agentes poluidores (Sonoda, 2010). Também servem como refúgio para diversas espécies animais, incluindo mosquitos sinantrópicos vetores de patógenos, como o *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) e *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Bartalini, 1986; Ceretti-Júnior et al., 2015; Medeiros-Souza et al., 2013; 2015; 2017; Vieira et al., 2020).

O *A. aegypti* é o principal vetor dos vírus causadores da dengue, Zika e chikungunya no Brasil, além da febre amarela urbana, apesar de esta não estar vinculada ao *A. aegypti* com transmissão urbana no país desde 1942 (Franco, 1969; WHO, 2020). O *A. albopictus* também tem capacidade para veicular mais de 20 arbovírus em laboratório (Moore e Mitchell, 1997; Vega-Rúa et al., 2014; Azevedo et al., 2015; Chouin-Carneiro et al., 2016), além de populações dessa espécie já terem sido encontradas portando naturalmente o vírus da dengue (DENV), (Martins et al., 2012; Medeiros, 2018; Rezende et al., 2020), da Zika (ZIKV) (Rezende et al., 2020) e da febre amarela (YFV) (IEC, 2018) no Brasil. No entanto, essa espécie ainda não foi associada à transmissão de arbovírus no Brasil, mas é considerada vetor do DENV em regiões da Ásia e Europa (WHO, 2020; ECDC, 2021). Em adultos da espécie *C. quinquefasciatus*, coletados na cidade de Recife em 2016, também foi identificada a presença natural do vírus ZIKV (Guedes et al., 2017). Entretanto, a capacidade para transmitir o ZIKV foi verificada apenas em laboratório (Viveiros-Rosa et al., 2020).

Algumas áreas verdes, como bosques, praças e parques, são projetadas para fins estéticos e sociais, ou seja, para embelezamento da região, bem como para promover lazer e recreação à população, além de atividades educativas (Bartalini, 1986; Medeiros-Souza et al.,

2015). O município de Londrina, Paraná, Brasil, possui 17 parques e áreas verdes, sendo a maioria localizada no perímetro urbano, com residências próximas, e muitos desses espaços são utilizadas para lazer e recreação (Prefeitura de Londrina, 2020). Diante disso, justifica-se a necessidade de investigar as espécies de mosquitos presentes nesses ecossistemas, a fim de conhecer a riqueza e abundância desses insetos, bem como suas relações interespecíficas e com o ambiente.

Diante da elevada infestação de mosquitos vetores e do crescimento alarmante de casos de dengue em Londrina desde 2019, segundo a Secretaria da Saúde do Paraná (SESA, 2020), é relevante investigar também a presença de vírus e seus sorotipos, tanto em fêmeas como em machos de mosquitos culicídeos presentes em vegetações ripárias do município, principalmente das espécies *A. aegypti*, *A. albopictus* e *C. quinquefasciatus*, visto que são espécies de alta competência e capacidade vetorial para determinados patógenos (Forattini, 2002; MS, 2011; Fonseca Junior et al., 2019). Dessa forma, complementa as ações de monitoramento e controle de mosquitos vetores urbanos, uma vez que a realização dessas ações é geralmente restrita às residências e estabelecimentos urbanos, embora esses ecossistemas também apresentem culicídeos de importância em saúde pública, como já observado por Lopes et al., (2002), Zequi et al. (2005) e Espinosa (2018) em pesquisas realizadas em algumas áreas de vegetação ripária, na zona urbana de Londrina, Paraná.

Nessa perspectiva, este estudo objetivou analisar a diversidade e abundância de mosquitos culicídeos presentes em vegetações ripárias urbanas do município de Londrina, Paraná, Brasil, e compreender suas relações ecológicas, bem como investigar a presença dos vírus DENV (e seus sorotipos), ZIKV e CHIKV em mosquitos culicídeos, a fim de identificar áreas de ocorrência de vetores, assim como os mecanismos de transmissão viral.

Material e Métodos

Área de estudo

O município de Londrina está situado no Norte do estado do Paraná, no Sul do Brasil. O clima de Londrina é classificado como subtropical úmido (Cfa), possuindo verão quente e chuvas em todas as estações do ano, sendo mais abundante no verão, segundo a classificação climática de Köppen (Nitsche et al., 2019; Prefeitura de Londrina, 2020). A temperatura média anual encontra-se em torno de 21,6 °C, enquanto a umidade relativa do ar (UR) média anual varia entre 69 e 76% e a precipitação pluviométrica média anual situa-se em uma faixa de 1400 a 1800 mm (Nitsche et al., 2019; Prefeitura de Londrina, 2020).

A vegetação presente na região de Londrina é do tipo Floresta Estacional Semidecidual, pertencente ao Bioma Mata Atlântica (Wrege et al., 2017; SEMA, 2018). O município possui um total de sete microbacias hidrográficas urbanas (Prefeitura de Londrina, 2020). Dentre elas, a microbacia do Ribeirão Cambé, pertencente à bacia do Rio Tibagi, é a que possui maior extensão, com uma área de aproximadamente 77 km² e delimitação de 48 km, cujo principal curso d'água possui cerca de 25 km de extensão (Araujo, 2004; Neves, 2012). O Ribeirão Cambé forma seis lagos e 26 córregos, cercados por vegetação, e sua distribuição ocorre no sentido noroeste-sudeste de Londrina, sendo que a maior parte está localizada no perímetro urbano (Medri et al., 2002; Araujo, 2004; Neves, 2012; Prefeitura De Londrina, 2020).

As amostragens do presente estudo foram realizadas em seis áreas de vegetação ripária (figura 1), distribuídas ao longo do Ribeirão Cambé e seus afluentes, no perímetro urbano de Londrina, cuja localização geográfica pode ser observada na figura 2.



Figura 1 Áreas amostrais localizadas no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil: 1) Ribeirão Cambé Nascente (RCN); 2) Ribeirão Cambé Daher (RCD); 3) Ribeirão Cambé Tóquio (RCT); 4) Aterro do Lago Igapó (ALI); 5) Córrego Capivara (CC) e 6) Assentamento indígena (AI). **Fonte:** o próprio autor.

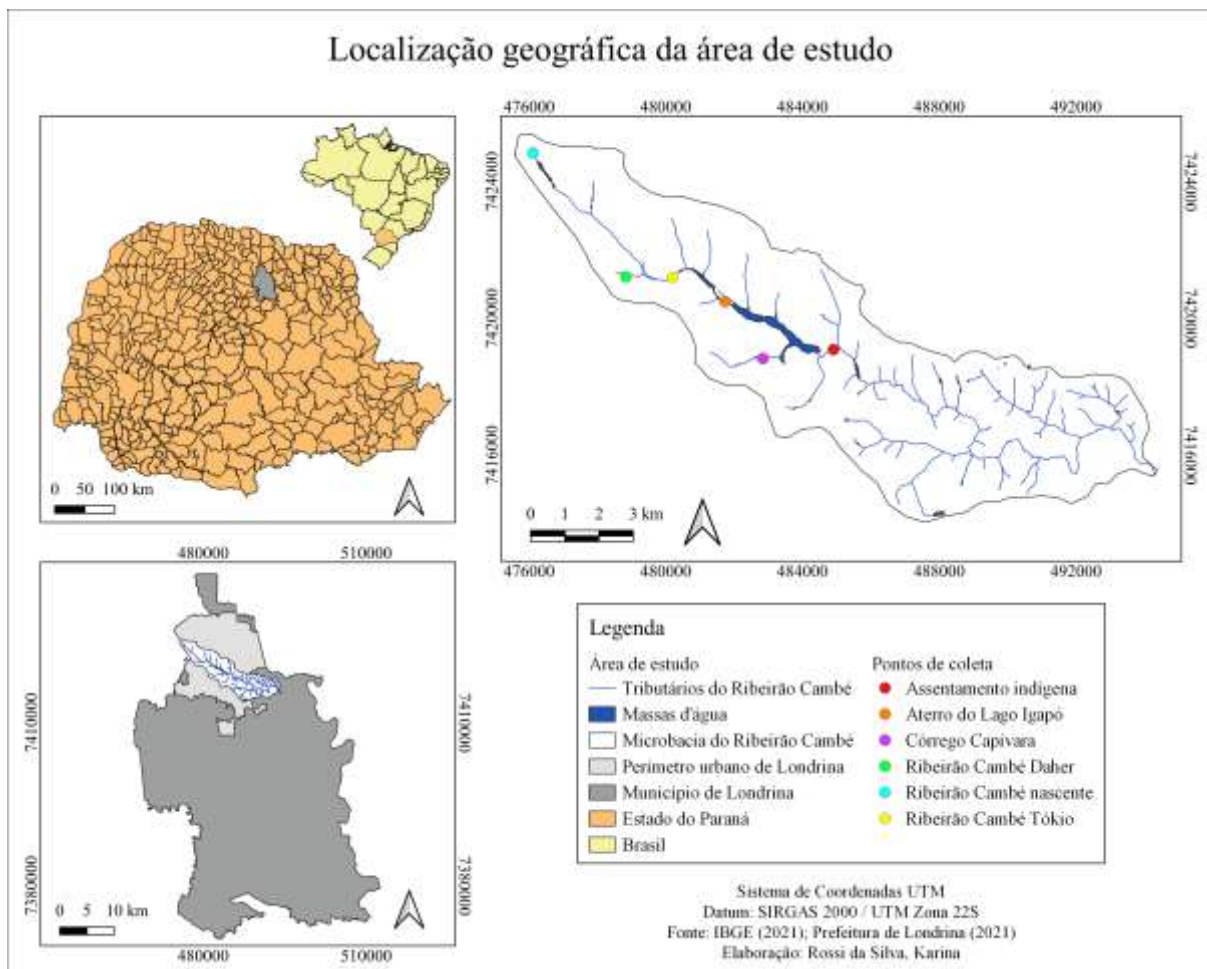


Figura 2 Localização geográfica da área de estudo, demonstrando os pontos de coletas realizadas entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021, distribuídos ao longo do Ribeirão Cambé, no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil.

A denominação e coordenadas geográficas de cada área com as respectivas caracterizações dos ambientes, incluindo PAR (Protocolo de Avaliação Rápida de Rios), podem ser consultadas no quadro 1. As informações são baseadas no estudo de Espinoza (2018), que utilizou como referência Callisto et al. (2002). O PAR é uma ferramenta que avalia a qualidade dos cursos d'água de acordo com características físicas da água e integridade da vegetação presente ao redor (Callisto et al., 2002).

Quadro 1

Caracterização, Protocolo de Avaliação Rápida de Rios e coordenadas geográficas das seis áreas de estudo amostradas entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021, no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil.

Área	Caracterização da área	PAR	Coordenadas
Ribeirão Cambé Nascente (RCN)	Nascente localizada em área próxima ao entroncamento da BR-369 com a PR-445, com poucas residências próximas, presença de indústrias e constante circulação de veículos; é canalizada, com áreas do canal concretadas; possui vegetação marginal comprometida, despejo de esgoto e lixo sólido.	Trecho impactado	23°17'8.34"S e 51°14'0.78"W
Ribeirão Cambé Daher (RCD)	Localização próxima a residências, com circulação de pessoas; presença de mata residual com vegetação alterada, embora haja árvores nativas de grande porte; há despejo de lixo sólido.	Trecho alterado	23°19'6.42"S e 51°12'25.26"W
Ribeirão Cambé Tóquio (RCT)	Localização próxima a residências, com constante circulação de pessoas; apresenta vegetação marginal reduzida e alterada; possui grande quantidade de lixo sólido e despejo de esgoto.	Trecho impactado	23°19'6.96"S e 51°11'37.32"W
Aterro do Lago Igapó (ALI)	Espaço de lazer localizado em área mais povoada, próxima a residências e edifícios comerciais, havendo constante circulação de pessoas; margens com vegetação arbustiva e pouca vegetação arbórea ao redor; descarte de lixo sólido e evidência de despejo de esgoto.	Trecho impactado	23°19'30.00"S e 51°10'42.96"W
Córrego Capivara (CC)	Localização em área mais povoada, com muitas residências ao redor e circulação de pessoas; mata residual com vegetação alterada e reduzida; presença	Trecho alterado	23°20'24.18"S e 51°10'4.20"W

	de lixo sólido.		
Assentamento indígena (AI)	Área de moradia dos povos Kaingang, havendo outras residências ao redor, mas localizada em região mais periférica e menos povoada; circulação constante de pessoas e animais domésticos; vegetação marginal arbustiva comprometida; grande quantidade de lixo sólido.	Trecho alterado	23°20'15.78"S e 51° 8'51.54"W

Fonte: adaptado de Espinoza (2018).

Para a escolha da área de estudo, levou-se em consideração a grande abrangência do Ribeirão Cambé no perímetro urbano do município de Londrina, uma vez que esta é a maior microbacia hidrográfica do município. Portanto, tem influência em uma grande área populacional, o que torna importante conhecer a riqueza e abundância de mosquitos culicídeos que ocorrem nas vegetações que margeiam essa microbacia, bem como as condições que esses ambientes propiciam a esses insetos.

Obtenção de dados geográficos e meteorológicos

As coordenadas geográficas de cada local de amostragem foram obtidas a partir do aplicativo GPS Status versão pro. Esses dados foram submetidos ao programa QGIS 3.10.11 'A Coruña', para elaboração do mapa de localização geográfica da área de estudo, contendo os pontos de cada local escolhido para a realização das coletas. Arquivos *shapefiles* utilizados para a elaboração do mapa foram disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE e pela Prefeitura de Londrina.

Valores de temperatura e umidade relativa do ar, registrados em Londrina durante o período amostral, bem como valores de precipitação pluviométrica registrados 14 dias antes de cada dia de coleta, tendo em vista o tempo do ciclo de vida dos mosquitos, o qual varia de sete

a 20 dias (Forattini, 2002; Eiras, 2016), também foram obtidos. Esses dados foram disponibilizados pelo Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-EMATER, cuja estação meteorológica de Londrina (código 23365116) localiza-se na latitude -23.35454 e longitude -51.16420, na região Sul.

Coleta de adultos da família Culicidae

As coletas foram realizadas entre novembro de 2020 e março de 2021 (primavera e verão), com autorização (SISBIO/IBAMA, número 23093). Foram efetuadas seis réplicas em cada área amostral, totalizando 36 amostragens, ocorrendo uma vez por semana, no período da manhã, sendo que em cada semana eram escolhidas três áreas, de modo que houvesse um intervalo de duas semanas entre as coletas em cada local.

Os indivíduos adultos foram coletados com o auxílio de dois modelos otimizados do aspirador de Nasci (Nasci, 1981). Os aspiradores utilizados consistem em um instrumento cilíndrico de alumínio, movido a uma bateria de 12 Volts, contendo uma hélice para permitir a aspiração dos mosquitos, os quais ficam presos em um saco de tecido microtule amarrado na extremidade inferior aberta do equipamento. Enquanto um dos modelos utilizados possui um pegador de 50 cm de comprimento (Fig 3A), o outro modelo possui um pegador que se ajusta até 3,5 m de comprimento (Fig 3B).

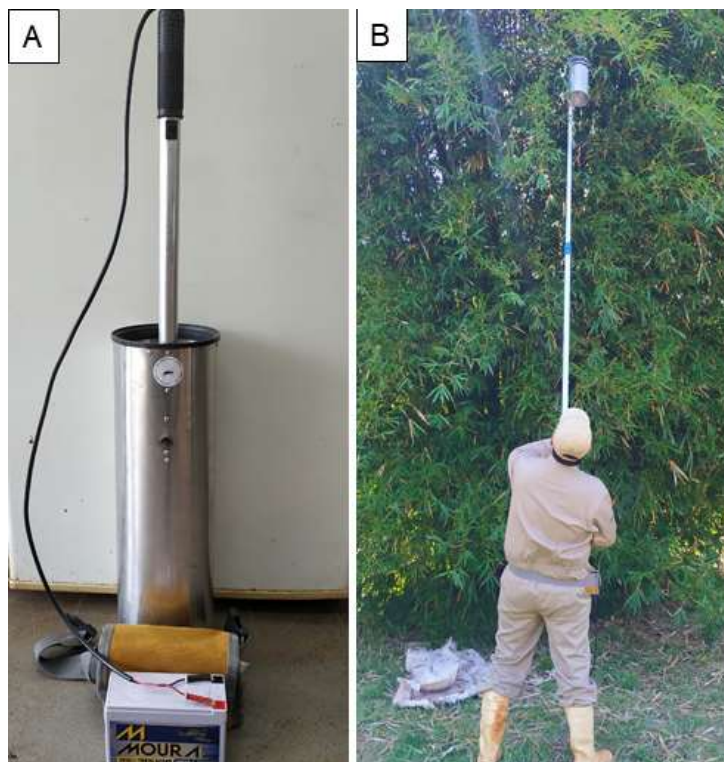


Figura 3 Modelos otimizados do aspirador de Nasci, utilizados para aspiração de mosquitos adultos entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021: A) Aspirador de cabo pequeno para coleta em arbustos; B) aspirador de cabo grande para coleta em copas de árvores. **Fonte:** o próprio autor.

Em cada local, foram determinados transectos de cerca de 150 m, nas margens dos cursos d'água. Nesses transectos, as aspirações foram realizadas horizontalmente (com o aspirador de pegador menor) e verticalmente (com o aspirador de pegador maior), a fim de abranger tanto arbustos como copas de árvores, tendo duração de aproximadamente 15 minutos.

Caracterização de potenciais criadouros de mosquitos e coleta de água parada

Potenciais criadouros artificiais e naturais, encontrados nas áreas amostrais, foram classificados de acordo com o Ministério da Saúde (MS) (MS, 2013). A classificação do MS consiste em cinco grupos, detalhados no quadro 2.

Quadro 2

Classificação de depósitos considerados potenciais criadouros de mosquitos.

Grupo	Tipos de depósito
A	Depósitos de armazenamento de água, elevado ou ao nível do solo: caixa d'água, poços, cacimba, cisterna, tambor, tonel, tina, barril, depósitos de alvenaria e de barro (filtros, moringas, potes).
B	Depósitos móveis: vasos/frascos com água, pratos, garrafas, retornáveis, pingadeira, recipientes de degelo em geladeiras, bebedouros em geral, pequenas fontes ornamentais, materiais em depósitos de construção (sanitários estocados, canos, etc.), objetos religiosos/rituais.
C	Depósitos fixos: Tanques em obras de construção civil, borracharias e hortas, calhas, lajes e toldos em desnível, ralos, sanitários em desuso, piscinas não tratadas, fontes ornamentais; cacos de vidro em muros, outras obras e adornos arquitetônicas (caixas de inspeção/passagens).
D	Depósitos passíveis de remoção: pneus e outros materiais rodantes (câmaras de ar, manchões), resíduos sólidos (recipientes plásticos, garrafas PET, latas), sucatas, entulhos de construção.
E	Depósitos naturais: axilas de folhas (bromélias, etc.), buracos em árvores e em rochas, restos de animais (cascas, carapaças, etc.).

Fonte: MS (2013)

A água retida nos depósitos encontrados era coletada com auxílio de seringa, mangueira, pipeta de Pasteur e pisseta, sendo armazenada em potes de plástico devidamente identificados. Posteriormente, as amostras de água eram transferidas para potes entomológicos de eclosão (figura 4A), quando em volume de até 300 mL, ou para bacias de plástico (8 cm de altura x 25 cm de diâmetro) quando em volume superior a 300 mL, cobertas com microtule e com as bordas internas lixadas para facilitar a fixação dos mosquitos emergidos (figura 4B). Esses recipientes eram mantidos em B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) à temperatura de 25 ± 2 °C, para verificar a presença de culicídeos.



Figura 4 Potes de eclosão (A) e bacia coberta com microtule (B), em B.O.D. à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, contendo amostras de água recolhidas de potenciais criadouros de mosquitos, encontrados nas áreas amostrais entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021. **Fonte:** o próprio autor.

Quantificação, identificação e armazenamento dos mosquitos coletados

Todos os mosquitos coletados com aspirador de Nasci foram submetidos a um resfriamento em freezer a -20°C , por aproximadamente 10 minutos, a fim de diminuir a atividade desses insetos, possibilitando a identificação, contagem e separação por espécie, sexo, local e data de coleta. Para esses procedimentos, foi utilizado um microscópio estereoscópio e chaves de identificação de Forattini (2002) e WRBU (2021).

Tantos os machos como as fêmeas de culicídeos coletados e identificados, foram acondicionados separadamente em microtubos de 1,5 mL, formando *pools* de no máximo 50 indivíduos. Em seguida, essas amostras eram mergulhadas em nitrogênio líquido por cerca de cinco minutos e, logo após, armazenadas em um freezer à temperatura média de -80°C , a fim de preservar o material genético contido nas amostras. Por outro lado, os culicídeos não identificados à nível de espécie foram armazenados a seco em potes de papelão com tampa (2,5 cm de comprimento x 4 cm de diâmetro) e, posteriormente, eram contabilizados e identificados à nível de espécie. Os indivíduos que não puderam ser identificados com o auxílio das chaves de identificação utilizadas, foram montados em caixa entomológica para identificação no Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) da

Universidade Federal do Paraná (UFPR), *Campus* Curitiba.

Tanto os machos como as fêmeas emergidos nas amostras de água coletadas, armazenadas nos potes de eclosão e nas bacias, eram capturados com um capturador de Castro e transferidos para frascos de acrílico (7 cm de altura x 4 cm de diâmetro), contendo um microtule na base e uma abertura maleável na tampa, para serem submetidos a um resfriamento em freezer à -20 °C, por cerca de 10 minutos, assim como os mosquitos aspirados. Posteriormente, foram realizados os mesmos procedimentos adotados para a identificação, quantificação, separação e congelamento dos mosquitos aspirados.

Análise viral

O RNA viral de todas as amostras armazenadas foi extraído utilizando-se o kit QIAamp Viral RNA[®], de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, os mosquitos foram macerados em microtubos de 1,5 mL contendo 140 µL de tampão fosfato salino. Posteriormente, foram centrifugados a 13000 rpm durante 15 minutos à temperatura de 4 °C, obtendo-se 140 µL do sobrenadante para então serem submetidos aos procedimentos do kit de extração. Em seguida a quantidade e qualidade do RNA foram verificadas por meio do espectrofotômetro NanoDrop[®] 2000 para posterior detecção dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV, utilizando o kit XGEN MULTI ZDC[®], seguindo as instruções do fabricante, por meio da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em Tempo Real.

Foram utilizados 15 µL de RNA viral para avaliar a presença de cada arbovírus. As amostras positivas para DENV são visualizadas a 520 nm usando o fluoróforo FAM, enquanto os vírus ZIKV e CHIKV são observados em 550 nm e os fluoróforos utilizados foram JOE e VIC, respectivamente. As leituras incluem um controle interno que valida o processo de extração do RNA, controles positivos dos três arbovírus e um controle negativo. Para as visualizações foi utilizado um termociclador Rotor-Gene Q (Qiagen)[®]. Todos os procedimentos

para a detecção viral foram realizados no LAMFIC – UFPR, *campus* Curitiba.

Análise estatística

O número de culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci e obtidos das amostras de água coletadas foi relacionado com valores de temperatura, precipitação pluviométrica e UR, por meio do Coeficiente de Correlação de Spearman, com auxílio do programa BioEstat, versão 5.3 (Ayres et al., 2007).

Os valores de culicídeos aspirados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente à Análise de Variância, sendo ANOVA - 1 fator para dados normais ou Kruskal-Wallis para dados sem normalidade, com a finalidade de verificar diferença estatística entre as amostras ($p < 0,05$), para posterior realização do teste de Tukey ($p < 0,05$) ou Dunn ($p < 0,05$) respectivamente, a fim de verificar quais amostras diferem estatisticamente entre si. Essas análises foram realizadas por meio do programa Past (Paleontological Statistics) versão 4.03.

Com auxílio do mesmo programa, foram estimadas a diversidade e riqueza de espécies, por meio dos índices de Shannon-Wiener (H') e de Margalef (S), a dominância por meio do índice de Berger-Parker (d), e a equitabilidade, utilizando-se o índice de Pielou (J').

Resultados

Abundância e diversidade de culicídeos adultos coletados com aspirador de Nasci

Foram capturados 131 espécimes adultos da família Culicidae, nas seis áreas amostrais. Entre os espécimes coletados, foram identificadas cinco espécies: 93 *C. quinquefasciatus* (87 fêmeas e seis machos), 21 *A. aegypti* (14 fêmeas e sete machos), seis *A. albopictus* (quatro fêmeas e dois machos), um *Limatus durhamii* Theobald, 1907 (fêmea) e um *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (von Humboldt, 1819) (fêmea). Outros nove espécimes não foram

identificados a nível de espécie, pois foram muito danificados no processo de identificação e manuseio. Dessa forma, um espécime foi identificado como gênero *Aedes*, um como gênero e subgênero *Anopheles (Nyssorhynchus)* Meigen, 1818 (fêmea), um pertencente à tribo Sabethini e seis pertencentes à subfamília Culicinae (tabela 1).

Tabela I – Abundância, diversidade, riqueza, dominância, equitabilidade, e proporção de culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci, em cada área amostral, no período de novembro de 2020 a março de 2021.

Táxons	RCN	RCD	RCT	ALI	CC	AI	Total	%
<i>Aedes aegypti</i>	0	2	8	6	1	4	21	16,03
<i>Aedes albopictus</i>	1	1	2	0	2	0	6	4,58
<i>Aedes</i> sp.1	1	0	0	0	0	0	1	0,76
<i>Anopheles (Nyssorhynchus)</i> sp.1	0	1	0	0	0	0	1	0,76
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0	10	4	39	37	3	93	70,99
Culicinae sp.1	1	1	3	0	1	0	6	4,58
<i>Limatus durhamii</i>	0	0	0	0	1	0	1	0,76
<i>Psorophora ferox</i>	0	1	0	0	0	0	1	0,76
Sabethini sp.1	0	0	0	0	1	0	1	0,76
Total de espécimes	3	16	17	45	43	7	131	
Proporção (%)	2,29	12,21	12,98	34,35	32,82	5,35		
Diversidade de Shannon-Wiener	0,693	1,081	0,956	0,393	0,421	0,683		
Riqueza de Margalef	1,443	1,477	0,758	0,263	0,808	0,514		
Dominância de Berger-Parker	0,500	0,667	0,571	0,867	0,902	0,571		
Equitabilidade de Pielou	1,000	0,671	0,869	0,567	0,304	0,985		

Legenda: RCN = Ribeirão Cambé Nascente; RCD = Ribeirão Cambé Daher; RCT = Ribeirão Cambé Tóquio; ALI = Aterro do Lago Igapó; CC = Córrego Capivara; AI = Assentamento indígena.

Culex quinquefasciatus foi a espécie mais abundante, representando 70,99% dos táxons coletados. Por outro lado, *L. durhamii* e *P. ferox* foram as espécies identificadas menos coletadas, representando 0,76% cada uma (tabela 1).

A maior quantidade de culicídeos (34,35%), foi obtida no Aterro do Lago Igapó (ALI) ao passo que a menor quantidade (2,29%) foi coletada no Ribeirão Cambé nascente (RCN) (tabela 1). No entanto, analisando o número de adultos obtidos em cada área amostral, a partir do teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância, não foi observada diferença

estatística significativa entre as amostras ($p = 0,3913$; $H = 4,917$).

Ao analisar os índices de diversidade, considerando apenas os espécimes identificados a nível de espécie e gênero, observou-se que as áreas Ribeirão Cambé Daher (RCD) e Ribeirão Cambé Tóquio (RCT) apresentaram os maiores valores de diversidade ($H'_{RCD} = 1,081$ e $H'_{RCT} = 0,956$ respectivamente), enquanto a área ALI apresentou a menor diversidade ($H'_{ALI} = 0,393$). A riqueza também foi maior para a área RCD ($S_{RCD} = 1,477$) seguida da área RCN ($S_{RCN} = 1,443$), enquanto ALI possui a menor riqueza ($S_{ALI} = 0,263$). Por outro lado, a dominância foi maior na área Córrego Capivara (CC) ($d_{CC} = 0,902$), seguida de ALI ($d_{ALI} = 0,867$), ao passo que a menor dominância é observada em RCN ($d_{RCN} = 0,500$), porém, também é onde se observa a maior equitabilidade ($J'_{RCN} = 1,000$), seguida da área assentamento indígena (AI) ($J'_{AI} = 0,985$), enquanto o menor valor de equitabilidade é observado para CC ($J'_{CC} = 0,304$) (tabela 1).

Classificação de potenciais criadouros de mosquitos e espécies de culicídeos obtidos a partir das amostras de água coletadas

Foram encontrados potenciais criadouros de mosquitos nas seis áreas amostrais, pertencentes aos grupos B (depósitos móveis), D (depósitos passíveis de remoção) e E (depósitos naturais), de acordo com a classificação apresentada por MS (2013). O assentamento indígena é o local onde observou-se a maior quantidade e variedade de potenciais criadouros artificiais. Por outro lado, o maior número e a maior variedade de potenciais criadouros naturais foram encontrados no Córrego Capivara e no Aterro do Lago Igapó, onde neste também foi encontrada grande variedade de depósitos do grupo B (quadro 3).

Quadro 3

Potenciais criadouros de mosquitos, naturais e artificiais, encontrados nas áreas amostrais, no período de novembro de 2020 a março de 2021.

Áreas amostrais	Potenciais criadouros
Ribeirão Cambé nascente	Grupo B (saco plástico); Grupo D (resíduos sólidos, sucatas); Grupo E (folhas, bambu).
Ribeirão Cambé Daher	Grupo B (saco plástico); Grupo D (pneus, entulhos de construção); Grupo E (folhas).
Ribeirão Cambé Tóquio	Grupo B (saco plástico, copo descartável, garrafa de vidro); Grupo D (resíduos sólidos, garrafa PET); Grupo E (folhas, buracos em árvores).
Aterro do Lago Igapó	Grupo B (caixa Tetra Pack, copos descartáveis, saco plástico, garrafas de vidro, objetos religiosos); Grupo D (garrafa PET); Grupo E (bambu, folhas, brácteas de palmeira, buracos em árvores).
Córrego Capivara	Grupo B (saco plástico); Grupo D (garrafa PET); Grupo E (folhas, brácteas de palmeira, bambu, buracos em árvores).
Assentamento indígena	Grupo B (lona, saco plástico, copo plástico, embalagem de isopor); Grupo D (resíduos sólidos, sucatas, entulhos de construção); Grupo E (buracos em rochas).

Fonte: o próprio autor

Foram obtidos 369 culicídeos adultos (171 machos e 198 fêmeas) a partir de imaturos coletados em nove criadouros, sendo cinco naturais e quatro artificiais, encontrados em três áreas amostrais. O total de culicídeos de cada espécie obtido em cada área pode ser observado na tabela 2.

Tabela II - Total de criadouros e espécies de Culicidae obtidas nas amostras de água coletadas em depósitos naturais e artificiais encontrados no assentamento indígena, Aterro do Lago Igapó e Córrego Capivara, no período de novembro de 2020 a março de 2021.

Local	Criadouros (n)		Espécies (n)			Total de culicídeos
	Natural	Artificial	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Limatus durhamii</i>	
Assentamento indígena	0	3	119	17	0	136
Aterro do Lago Igapó	1	1	11	1	0	12
Córrego Capivara	4	0	9	194	18	221
Total	5	4	139	212	18	369

Nos criadouros naturais, foram obtidos 225 culicídeos em quatro réplicas. Dentre os indivíduos, 195 eram da espécie *A. albopictus* (99 fêmeas e 96 machos), 12 da espécie *A. aegypti* (8 fêmeas e 4 machos) e 18 da espécie *L. durhamii* (fêmeas). A maioria dos indivíduos (221) foi obtida a partir de amostras de água contendo diferentes instares larvais, além de larvas de outros insetos, em brácteas de palmeira no chão, presentes na borda da mata do Córrego Capivara, sendo observada coexistência das três espécies obtidas em um mesmo criadouro. Outros quatro indivíduos foram obtidos a partir de uma amostra de água retida em um buraco de árvore em baixa altura, no Aterro do Lago Igapó, onde coexistiam *A. aegypti* e *A. albopictus*.

A partir de amostras de água obtidas de recipientes artificiais, foram obtidos 144 culicídeos em duas réplicas. Desse total, 127 eram da espécie *A. aegypti* (65 fêmeas e 62 machos), e 17 da espécie *A. albopictus* (oito fêmeas e nove machos). No assentamento indígena, a maioria dos indivíduos (129) foi encontrada em uma lona com água acumulada, havendo coexistência das duas espécies obtidas, juntamente com larvas de mosquitos da família Chironomidae, enquanto sete culicídeos (*A. aegypti*) foram obtidos a partir um pote de plástico e uma bandeja de isopor. Outros oito indivíduos, também *A. aegypti*, foram obtidos em um copo descartável no Aterro do Lago Igapó.

Dados meteorológicos registrados e correlação com a abundância de mosquitos coletados com aspirador de Nasci e obtidos a partir das amostras de água coletadas

A temperatura média registrada durante o período amostral foi de 24,3 °C, enquanto a mínima foi de 16 °C e a máxima de 35 °C. A umidade relativa do ar média registrada foi de 72,7% (54,6 – 87,7%). Quanto à precipitação pluviométrica acumulada desde 14 dias antes da primeira coleta até 14 dias antes da última coleta, observou-se um total de 544,4 mm. Os dados completos referentes às três variáveis meteorológicas registradas em cada dia de coleta estão apresentados no apêndice H.

Ao analisar a correlação entre os mosquitos aspirados e a precipitação pluviométrica, observou-se correlação positiva forte com significância estatística ($p = 0,0073$), cujo coeficiente de correlação de Spearman (r_s) foi de 0,7275. Por outro lado, em relação à temperatura mínima foi observada correlação negativa muito fraca ($r_s = -0,0141$) sem significância estatística ($p = 0,9652$), enquanto para a temperatura máxima e média foram observadas correlações negativas fracas ($r_s = -0,3398$ e $-0,2156$, respectivamente), mas ambas sem significância estatística ($p = 0,2797$ e $0,5010$, respectivamente). Também não houve correlação significativa com a UR ($p = 0,0694$), sendo esta positiva moderada ($r_s = 0,5407$).

Quanto à correlação entre os culicídeos obtidos a partir das amostras de água coletadas e as variáveis meteorológicas, não foi observada significância estatística. Tanto para a precipitação pluviométrica como para a temperatura média e mínima, a correlação foi negativa moderada ($r_s = -0,4000$; $p = 0,6000$). Por outro lado, foi obtida correlação positiva moderada para a temperatura máxima ($r_s = 0,4000$; $p = 0,6000$), enquanto para a UR a correlação foi positiva forte ($r_s = 0,8000$; $p = 1,999$).

Análise viral

Foram analisados 58 *pools* de culicídeos coletados nas vegetações ripárias, sendo 36

pools formados por culicídeos obtidos por aspiração, totalizando 120 espécimes, e 22 *pools* formados por culicídeos advindos de águas em criadouros naturais e artificiais, totalizando 318 espécimes. Entre os indivíduos obtidos por aspiração, foram analisados 93 *C. quinquefasciatus* (87 fêmeas e seis machos), 21 *A. aegypti* (14 fêmeas e sete machos) e seis *A. albopictus* (quatro fêmeas e dois machos). Entre os culicídeos advindo das águas de criadouros, foram analisados 187 *A. albopictus* (94 fêmeas e 93 machos), 125 *A. aegypti* (68 fêmeas e 57 machos) e seis *L. durhamii* fêmeas.

Não foi observada amplificação para os três vírus analisados nos 58 *pools* avaliados (438 culicídeos).

Discussão

Culicídeos adultos coletados com aspirador de Nasci

Os dados referentes aos culicídeos adultos aspirados em cada área amostral demonstram que a abundância foi maior em áreas de vegetação ripária localizadas em regiões mais povoadas de Londrina (ALI e CC), em meio a residências e estabelecimentos comerciais, onde há constante fluxo de pessoas diariamente, principalmente em ALI, espaço amplamente utilizado para lazer e recreação. Por outro lado, a abundância foi menor em áreas menos povoadas e mais periféricas em relação centro da cidade (RCN e AI). Esses dados corroboram com resultados obtidos no estudo de Espinoza (2018) que também constatou menor abundância de culicídeos em RCN e maior abundância em vegetações em torno das quatro divisões do Lago Igapó, ao coletar mosquitos com aspirador de Nasci e armadilhas do tipo CDC em 13 áreas de vegetação ripária localizadas em ambientes urbanos, periurbanos e naturais de Londrina.

A abundância obtida nas seis áreas amostrais em cada réplica não apresentou dependência pela temperatura durante o período amostral, mas é importante considerar que não houve grande variação de temperatura entre as réplicas. Por outro lado, a abundância de

mosquitos obtida em cada réplica foi influenciada pelos índices pluviométricos registrados 14 dias antes de cada coleta, de acordo com a relação positiva observada entre essas variáveis. Ademais, ressalta-se que a precipitação acumulada 14 dias antes da primeira coleta até 14 dias antes da última coleta foi abundante.

Essa relação positiva é comumente observada em diversos estudos, pois as chuvas contribuem para a existência de criadouros de mosquitos, uma vez que a eclosão dos ovos e desenvolvimento das formas imaturas depende da água (Barrera et al., 2011; Medeiros-Souza et al., 2015; Silva et al., 2018; Custódio et al., 2019). As chuvas também contribuem para a elevação da umidade relativa do ar, a qual também pode influenciar na abundância de mosquitos (Fouque et al., 2006; Lega et al., 2017), apesar de não ter sido observada relação positiva significativa neste estudo.

A localização e caracterização ambiental de ALI e CC, justificam a maior dominância de espécies sinantrópicas obtida nesses locais, evidenciada pela alta abundância de *C. quinquefasciatus* coletados, espécie esta que possui alto grau de sinantropia e antropofilia (Forattini, 2002; Taípe-Lagos e Natal, 2003; IOC, 2009, Piovezan, 2009; MS, 2011; Wilke et al., 2019a). Segundo Zequi et al. (2005), o descarte inadequado de recipientes artificiais que acumulam água torna o local propício à procriação de culicídeos oportunistas, pois estes acabam utilizando tais recipientes como criadouro. O *C. quinquefasciatus*, além de depositar seus ovos em recipientes artificiais contendo água rica em matéria orgânica, costuma escolher locais amplos, como rios e lagos poluídos, de baixa ou ausente movimentação, para oviposição, como é o caso do Lago Igapó (Morais et al., 2007; Chaves et al., 2009; MS, 2011; Borges, 2014; Wilke et al., 2017).

Salienta-se também a coleta de seis espécimes de *A. aegypti* em ALI, a qual também é altamente sinantrópica (Forattini, 2002; Lima-Camara et al., 2006; Zara et al., 2016; Carvalho e Moreira, 2017; Wilke et al., 2019a, b) e abundante na área urbana de Londrina, conforme

demonstrado pelo LIRAa e pela alta incidência de dengue no município (SESA, 2021). A dominância de espécies observada em ALI corrobora com a menor diversidade e riqueza obtidas nessa área.

É importante considerar também que ALI e CC possuem cobertura vegetal reduzida. Enquanto a primeira caracteriza-se como uma área aberta, contendo pouca vegetação arbórea, a segunda possui vegetação arbórea mais densa, mas que, no entanto, sofreu drástica alteração e redução com processos de urbanização em Londrina, de acordo com o estudo de caso realizado por Costa (1992) e como demonstrado pelo PAR.

Segundo Medeiros-Souza et al., 2017, a redução do tamanho do habitat, isto é, remoção da cobertura vegetal, provoca perda progressiva e seletiva de espécies, gerando um espaço pobre em espécies, composto em grande parte por aquelas que exibem preferência pelo ambiente modificado pela ação humana, como o *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* e *A. albopictus*, pois nessas condições o número de predadores e competidores também é reduzido, não afetando as espécies oportunistas, uma vez que são menos dependentes da preservação desses ambientes em comparação a outras espécies, já que podem se adaptar a diversas condições criadas pela ação antrópica, utilizando diversos locais para reprodução. A presença de cursos de água poluída e de baixa movimentação nesses locais também favorece a presença do *C. quinquefasciatus*, pois proporciona condições ideais para o desenvolvimento dessa espécie.

Ao contrário dos resultados obtidos em ALI, a menor dominância encontrada na área RCN evidencia-se pela coleta de apenas um espécime de cada táxon identificado, o que corrobora com a uniformidade máxima representada pela equitabilidade de Pielou obtida nessa área. Esse espaço não é comumente utilizado para lazer e recreação e não foi projetado para esse fim, uma vez que possui difícil acesso, pois localiza-se às margens do entroncamento da BR-369 com a PR-445, havendo poucas residências próximas, presença de indústrias ao redor e constante circulação de veículos. Essas condições, aliadas às características ambientais citadas

para a área, torna o espaço pouco atrativo para a permanência de culicídeos no local, pois possivelmente dispõe de pouco alimento para as formas adultas, sobretudo para as fêmeas que necessitam de sangue para maturar seus ovos.

Na área AI também obteve-se um alto valor de equitabilidade, evidenciado pela proporção semelhante de mosquitos *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus* coletados nessa área. A coleta desses culicídeos condiz com a condição ambiental do local apresentada pelo PAR, onde há cobertura arbórea reduzida e comprometida, além de alta concentração de lixo sólido, situação que carece de atenção de órgãos governamentais para sua correta destinação e conscientização da população.

É importante mencionar que, desde 1999, essa área é destinada à moradia da comunidade indígena Kaingang, composta atualmente por seis famílias, além de oferecer um espaço para divulgação e comercialização da cultura material Kaingang, visando sua subsistência na área urbana de Londrina, uma vez que tiveram seus territórios expropriados por colonizadores (Prefeitura de Londrina, 2021). No entanto, a comunidade encontra-se em condições precárias, pois recebem poucos recursos para sua sobrevivência, advindos da venda de seu artesanato, enquanto alguns membros se tornaram empregados assalariados, já que não podiam mais obter recursos de suas terras expropriadas, sendo obrigados a se adequar aos novos padrões impostos pela sociedade dominante, mas carecendo de subsídios do governo.

Nessa área também há criação de animais domésticos, como galinhas, cães e gatos, além da presença de outras residências ao redor. Portanto, caracteriza-se como um local propício à presença de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, uma vez que são espécies oportunistas que se beneficiam do descarte de lixo a céu aberto, utilizando-os como criadouros, e as principais fontes de sangue para as fêmeas são o ser humano, animais domésticos e aves em geral (Forattini, 2002; Borges, 2014; Carvalho e Moreira, 2017; Wilke et al., 2017, 2019a, b).

Na área RCT também foi observada a presença de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*,

condizendo com a localização e características ambientais da área, onde há muitas residências próximas, despejo de grande quantidade de lixo artificial com capacidade para reter água, e constante fluxo de pessoas que inclusive utilizam a borda dessa área para caminhada. Sendo assim, também apresenta condições propícias à proliferação e permanência de culicídeos sinantrópicos. Nessa área também foi coletado o *A. albopictus*, condizendo com a presença de cobertura arbórea, sendo uma preferência da espécie, de acordo com observações de vários estudos (Gomes et al., 2005; Oliveira e Maleck, 2014; Montagner et al., 2018; Silva et al., 2018c; Heinisch et al., 2019; Lutinski et al., 2020; Rossi da Silva et al., 2021).

Em relação à diversidade e riqueza, os maiores valores obtidos na área RCD podem ser justificados pela caracterização ambiental do local. Essa área localiza-se próxima à rodovia Celso Garcia Cid – PR-445, havendo residências ao redor e descarte de lixo sólido. Apesar de ser uma mata residual alterada pela ação humana, ainda possui árvores nativas de grande porte, ocupando uma área de 3,3 hectares (Zequi et al., 2005). Assim como RCN, seu espaço não foi projetado para lazer e recreação, sendo, portanto, mais isolado da presença de pessoas.

As características locais e ambientais de RCD parecem ser suficientes para tornar essa área um abrigo de maior diversidade e riqueza de espécies de Culicidae, incluindo as que possuem hábito silvestre, como *P. ferox* e *Anopheles (Nys.)* sp. coletadas neste estudo, além de abrigar espécies sinantrópicas e antropófilas, como *C. quinquefasciatus* e *A. aegypti*, bem como *A. albopictus*, o qual vem se tornando cada vez mais frequente no meio urbano (Pancetti et al., 2015; Espinoza, 2018; Silva et al., 2018; Custódio et al., 2019; Rossi da Silva et al., 2021).

Os resultados obtidos no presente estudo em RCD corroboram com dados observados por Zequi et al. (2005), Grossi (2018) e Espinoza (2018), pois também coletaram tanto espécies silvestres como sinantrópicas nessa área. Grossi (2018) e Espinoza (2018) também obtiveram maior diversidade em RCD comparado a outros fragmentos de mata situados tanto na região urbana como periurbana de Londrina. Além disso, Espinoza (2018) obteve maior riqueza nessa

área, assim como no presente estudo. As espécies *A. aegypti* e *A. albopictus* foram coletadas em RCD nos três estudos supracitados, o que indica que esse local é utilizado como refúgio e repouso para ambas, além de poder ser utilizado para reprodução, tendo em vista a grande quantidade de lixo descartado nesse local (potenciais criadouros artificiais), fornecendo também criadouros naturais, áreas sombreadas e alimento, o que contribui para maior diversidade e riqueza nessa área.

A respeito dos culicídeos silvestres coletados em RCD, a espécie *P. ferox* é típica de ambientes florestais que possuem áreas alagas por chuvas e enchentes (Holderman e Connelly, 2015; WRBU, 2021b), uma condição observada em RCD, cuja área em volta da mata apresenta solo encharcado de água após períodos de chuva, sendo coberto por capim. As fêmeas dessa espécie são relatadas como hematófagas ferozes, como sugere o nome científico, tendo preferência por sangue de mamíferos, inclusive humanos, além de aves. Sua maior atividade é observada em dias nublados, em áreas abertas de florestas, principalmente no período diurno. (Magnarelli 1980; Holderman e Connelly, 2015; WRBU, 2021b).

Diversos vírus já foram identificados em populações de *P. ferox* na América Central e do Sul, como o vírus da encefalomielite equina venezuelana (VEE), vírus Rocio, vírus do Nilo Ocidental, vírus Ilheus e vírus Una, conforme mencionado por Holderman e Connelly (2015). No entanto, presume-se que o hábito silvestre desse culicídeo o impede de se tornar um vetor importante de patógenos para os humanos (Holderman e Connelly, 2015).

O gênero *Anopheles*, também identificado em RCD, inclui diversas espécies que também apresentam importância em saúde pública, uma vez que transmitem principalmente plasmódios causadores da malária no Brasil. O subgênero *Nyssorhynchus* (encontrado no presente estudo) concentra o maior número de vetores da malária humana e sua oviposição ocorre em uma variedade de habitats iluminados pelo sol ou parcialmente sombreados, incluindo lagoas, lagos, pântanos, margens de riachos e rios, canais, valas,

inundações, poços subterrâneos e trilhas de animais, por exemplo. As fêmeas adultas são mais ativas durante períodos noturnos ou crepusculares (Forattini, 2002; Harbach, 2021b, c; WRBU, 2021c), o que dificulta a coleta desses culicídeos no período diurno.

A área CC também apresentou alta riqueza, com destaque para dois espécimes pertencentes à tribo Sabethini: *L. durhamii* e outro não identificado. Essa tribo é composta por espécies silvestres, de comportamento diurno e pouco agressivo. Muitas espécies são acrodendrófilas e zoofílicas, mas algumas fêmeas podem se alimentar de sangue de humanos que visitam seu habitat ou passam ao redor. As formas imaturas se desenvolvem em recipientes preferencialmente naturais, quase exclusivamente em plantas (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Harbach 2021d).

Acredita-se que, entre os sabetíneos, *L. durhamii* talvez seja a espécie mais adaptada às alterações antrópicas em ambientes florestais, podendo ser encontrada próxima ao solo, utilizando recipientes artificiais para reprodução em peridomicílio e utilizando o ser humano como fonte de sangue, o que indica possível capacidade de domiciliação (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002). Esses hábitos justificam a coleta de indivíduos dessa espécie na borda da mata, a poucos metros de algumas residências. Ao contrário dos anofelinos, poucos sabetíneos são relatados como principais vetores de patógenos ao homem, estando mais restritos ao ciclo silvestre das arboviroses (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Harbach 2021d).

Estudos realizados em áreas de vegetação pertencente ao bioma Mata Atlântica, situadas em zona urbana na cidade São Paulo e cidades metropolitanas do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil, também obtiveram tanto espécies silvestres como sinantrópicas, com destaque para *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* e *A. albopictus*, assim como no presente estudo, ressaltando as consequências negativas dos impactos antrópicos nesses espaços, o risco de maior contato entre humanos e patógenos com o processo de urbanização, e a necessidade de incluir essas áreas em programas de vigilância entomológica (Medeiros-Souza et al., 2013; 2015; 2017; Câmara et al.,

2020).

Em relação à análise viral, a ausência dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV nas amostras de culicídeos aspirados pode ser justificada pela baixa amostragem obtida nesses locais, pois quanto menor o tamanho e quantidade de amostras, menor é a chance de obter mosquitos contaminados, mesmo em locais com número elevado de casos de arboviroses, como demonstrado por outros autores que também realizaram análise viral em culicídeos adultos coletados, mas não identificaram vírus, ou foi detectado em poucas amostras (Degallier et al., 2003; Martins et al., 2006; Bona, 2012). Ressalta-se também que as áreas amostradas não se localizam em regiões com maior incidência de dengue, apontadas pela Secretaria Municipal de Saúde de Londrina no período de realização das coletas.

Potenciais criadouros encontrados nas áreas amostrais e espécies obtidas nas amostras de água coletadas

Áreas de vegetação localizadas no ambiente urbano costumam ser locais de frequente despejo de diversos tipos de lixo, como por exemplo recipientes plásticos, materiais de construção, garrafas e pneus, servindo como criadouros para mosquitos oportunistas. Nesses locais também estão presentes potenciais criadouros naturais, como axilas de plantas, buracos em bambus e rochas, ocos de árvores, brácteas de palmeiras, folhas, entre outros (Barbosa et al., 2003; Zequi et al., 2005; Medeiros-Souza et al., 2015; Espinoza, 2018).

Nas seis áreas amostrais do presente estudo foi encontrada grande variedade de potenciais criadouros artificiais e naturais. A maior quantidade e variedade de depósitos do grupo B e D observada em AI reflete a predominância de espécies antropófilas nesse local, não só considerando as espécies aspiradas (*A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*), mas também as espécies obtidas nas amostras de água coletadas em depósitos artificiais encontrados no local, onde observou-se coexistência de *A. aegypti* e *A. albopictus* em um mesmo criadouro, além de

mosquitos da família Chironomidae.

A grande variedade de depósitos do grupo B em ALI também reflete a alta abundância de *C. quinquefasciatus* e *A. aegypti* aspirados, assim como a obtenção de *A. aegypti* em criadouro artificial e natural, e de *A. albopictus* em criadouro natural, considerando que esse local também possui grande variedade de depósitos naturais (grupo E). Wilke et al. (2019b) constataram em seu estudo que depósitos aquáticos criados pelos processos de urbanização são positivamente correlacionados com a abundância do *A. aegypti*, o qual é capaz de se desenvolver em qualquer tipo de objeto que acumule água.

A abundante quantidade e variedade de depósitos do grupo E também encontrada na área CC contribuiu com a obtenção de maior número de amostras de água contendo imaturos de Culicidae nesse local. Nessa área costumam ser descartadas brácteas de palmeiras não pertencentes ao local, e essas acabam se tornando criadouros naturais de mosquitos, como observado no presente estudo, uma vez que as amostras de água contendo culicídeos imaturos foram obtidas apenas em brácteas de palmeiras, encontradas na borda interior da área.

Foi observado que essas estruturas foram frequentemente escolhidas por mais de uma espécie de Culicidae, além de outros dípteros, para reprodução e desenvolvimento. Imaturos de *L. durhamii* podem ser encontrados em depósitos artificiais, mas possuem preferência por plantas mortas e vivas (Consoli e Oliveira, 2014; Forattini, 2002). No presente estudo, essa espécie foi encontrada em coexistência com o *A. aegypti* nas brácteas de palmeira, embora este último prefira depósitos artificiais. No entanto, observou-se baixa quantidade e variedade de lixo artificial nessa área, apresentando, portanto, poucas opções de criadouros. A maior abundância de *A. albopictus* obtidos ressalta o histórico silvestre dessa espécie, a qual foi encontrada nas quatro amostras de água coletadas em brácteas de palmeiras, sendo que duas amostras continham presença exclusiva dessa espécie, o que pode sugerir que esta possui dominância sobre outras no local.

Medeiros-Souza et al. (2015) também analisaram imaturos em depósitos naturais e artificiais em uma área verde urbana, encontrando principalmente a espécie *A. albopictus* em bambus quebrados, e espécies do gênero *Culex*, em especial o *C. quinquefasciatus*, em depósitos artificiais, enquanto no presente estudo observou-se predominância do *A. aegypti* em depósitos artificiais. Esses dados demonstram que áreas verdes urbanas são locais não só de repouso para mosquitos sinantrópicos, pois são utilizadas também para procriação, devido ao uso inadequado dessas áreas pela população humana.

Com relação à ausência dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV nas amostras de culicídeos obtidos nas coleções de água coletadas, presume-se que a transmissão viral vertical ocorra em baixo número, sendo um evento raro e, portanto, de difícil identificação em um reduzido número amostral, assim como observado por Pinheiro et al., (2005) e Bona (2012). Zeidler et al. (2008), também não identificaram transmissão vertical em amostras de *Ae aegypti* analisadas, embora tenham sido coletadas em um bairro com alta incidência de dengue, na cidade de Boa Vista, Roraima.

Ao analisar diversos estudos sobre transmissão vertical, Grunill e Boost (2016) concluíram que é pouco provável que esse mecanismo seja relevante para a persistência do vírus DENV no ambiente, sendo essa persistência determinada principalmente por uma combinação de infecções assintomáticas e circulação de pessoas.

Conclusão

Apesar da ausência dos arbovírus investigados nas amostras, ressalta-se a necessidade de inclusão das áreas de vegetação ripária localizadas no perímetro urbano de Londrina em programas de vigilância entomológica e virológica, pois os dados de abundância e diversidade demonstram que esses locais abrigam mosquitos com importância em saúde pública, principalmente onde há maior impacto antrópico e maior fluxo de pessoas. É relevante destacar

também que as amostras de água parada contendo culicídeos imaturos foram obtidas justamente nos três locais onde foram identificadas as maiores quantidades e variedades de depósitos artificiais e ou naturais, evidenciando a grande influência das ações antrópicas na proliferação de mosquitos vetores e alertando para a necessidade de maior atenção dos órgãos governamentais, bem como conscientização da população quanto à importância de se descartar corretamente os diversos tipos de resíduos produzidos.

Em contrapartida, áreas que possuem menores impactos antrópicos e menor fluxo de pessoas, abrigam maior diversidade e riqueza de culicídeos, onde foram identificadas espécies silvestres e sinantrópicas. É importante que esses locais sejam preservados, evitando o desmatamento e descarte de lixo e poluentes nos cursos d'água, pois essas ações comprometem o habitat natural de espécies silvestres, ao passo que favorecem espécies oportunistas com maior plasticidade genética e capacidade adaptativa, as quais podem se beneficiar das ações antrópicas, além de colonizar facilmente os espaços urbanos.

Nessas condições, as espécies oportunistas passam a ter maior proximidade com o ser humano, podendo transmitir patógenos que até então circulavam apenas entre animais silvestres. Portanto, recomenda-se a realização de monitoramento ambiental nas áreas de vegetação ripária urbanas, de modo a evitar maiores impactos antrópicos nesses locais, em consonância com monitoramento entomológico e investigação não só dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV, mas também de outros patógenos em culicídeos presentes nessas áreas, a fim de evitar a ocorrência de novas epidemias e verificar a possibilidade de circulação de novos patógenos entre os humanos.

Referências

- Alves, A.C., Freitas, I.S.D., Santos, M.Q.D. 2020. Análise multitemporal da expansão urbana da cidade de Manaus, Amazonas, utilizando imagens de satélite. *Geosaberes* 11, 305–317.
- Araujo, R.S. 2004. Micro bacia do Ribeirão Cambé em Londrina (PR): Levantamento

- ambiental utilizando técnicas de geoprocessamento e sensoriamento remoto. 140pp. Monografia (Bacharelado em Geografia). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, L.D., Santos, A.A.S., 2007. BioEstat 5.3: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Inst. Mamirauá, Belém, PA.
- Azevedo, R.S.S., Oliveira, C.S., Vasconcelos, P.F.C., 2015. Chikungunya risk for Brazil. Rev. Saude Publica. 49, 58. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2015049006219>
- Barbosa, A.A., Navarro-Silva, M.A., Calado, D., 2003. Atividade de Culicidae em remanescente florestal na região urbana de Curitiba (Paraná, Brasil). Rev. Bras. Zool. 20, 59–63. <https://doi.org/10.1590/s0101-81752003000100007>
- Barrera, R., Amador, M., MacKay, A.J., 2011. Population dynamics of *Aedes aegypti* and dengue as influenced by weather and human behavior in san juan, puerto rico. PLoS Negl. Trop. Dis. 5(12), e1378. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001378>
- Bartalini, V., 1986. Áreas Verdes E Espaço Livres Urbanos. Paisag. e Ambient. 49–56. <https://doi.org/10.11606/issn.2359-5361.v0i1-2p49-56>
- Bona, A.C.D. 2012. Aplicação de ferramentas moleculares e genéticas para monitoramento do vetor e do vírus dengue. Tese de Doutorado em Entomologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- Callisto, M., Ferreira, W.R., Moreno, P., Goulart, M., Petrucio, M., 2002. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). Acta Limnol. Bras.
- Câmara, D.C.P., Pinel, C.S., Rocha, G.P., Codeço, C.T., Honório, N.A., 2020. Diversity of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors in a heterogeneous landscape endemic for arboviruses. Acta Trop. 212, 105715. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105715>
- Ceretti-Júnior, W., Medeiros-Sousa, A.R., Bruno Wilke, A.B., Strobel, R.C., Dias Orico, L., Souza Teixeira, R., Marques, S., Marrelli, M.T., 2015. Mosquito faunal survey in a Central Park of the City of São Paulo, Brazil. J. Am. Mosq. Control Assoc. 31, 172–176. <https://doi.org/10.2987/14-6457R>
- Chouin-Carneiro, T., Vega-Rua, A., Vazeille, M., Yebakima, A., Girod, R., Goindin, D., Dupont-Rouzeyrol, M., Lourenço-de-Oliveira, R., Failloux, A.B., 2016. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. PLoS Negl. Trop. Dis. 10, 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004543>
- Consoli, R.A.G.B., Oliveira, R.L. de, 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Custódio, J. M. O., Nogueira, L.M.S., Souza, D.A., Fernandes, M.F., Oshiro, E.T., Oliveira, E.F.D., ... & Oliveira, A.G.D., 2019. Abiotic factors and population dynamic of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in an endemic area of dengue in Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 61, e18.

- CVBD (Companion Vector-Borne Diseases). 2021. Mosquitoes. Available at: <https://cvbd.bayer.com/vectors/mosquitoes>. (accessed 25 apr 2021).
- Dantas, M.S., Almeida, N.V., dos Santos Medeiros, I., da Silva, M.D. 2017. Diagnóstico da vegetação remanescente de Mata Atlântica e ecossistemas associados em espaços urbanos. *Journal of Environmental Analysis and Progress* 87–97.
- Degallier, N., Teixeira, J.M.S., Soares, S.D.S., Pereira, R.D., Pinto, S.C., Chaib, A.D.J.M., ... & Oliveira, E., 2003. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 37(3), 386–387.
- Ebert, D., 2013. The epidemiology and evolution of symbionts with mixed-mode transmission. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 44, 623–643. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-032513-100555>
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2021. Factsheet about dengue. <https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-fever/facts> (accessed 02 august 2021).
- Eiras, A.E., 2016. Culicidae, in: Neves, D.P., Melo, A.L., Linardi, P.M., Vitor, R.W.A., *Parasitologia Humana*, thirteenth ed. Atheneu, São Paulo, pp.411–424.
- Espinoza, A.A., 2018. Integridade Biótica e culicideofauna terrestre no Norte do Paraná. 114pp. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- Fonseca Júnior, D.P., 2019. Vetores de arboviroses no estado de São Paulo: 30 anos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *Revista de saúde pública*, 53, 84.
- Forattini, O.P., 2002. *Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia*. Edusp, São Paulo.
- Fouque, F., Carinci, R., Gaborit, P., Issaly, J., Bicout, D.J., Sabatier, P., 2006. *Aedes aegypti* survival and dengue transmission patterns in French Guiana. *Journal of Vector Ecology*, 31(2), 390–399.
- Franco, O., 1969. *História da Febre-amarela no Brasil*. Ministério da Saúde. Departamento Nacional de Endemias Rurais. Rio de Janeiro.
- Grossi, L.E., 2018. Culicídeos (Diptera) sinantrópicos em três fragmentos florestais no norte do Paraná, Brasil. 66pp. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- Grunnill, M., Boots, M., 2016. How important is vertical transmission of dengue viruses by mosquitoes (Diptera: Culicidae)? *Journal of medical entomology*, 53(1), 1–19. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv168>
- Guedes, D.R.D., Paiva, M.H.S., Donato, M.M.A., Barbosa, P.P., Krovovsky, L., Rocha, S.W.S., Saraiva, K.L.A., Crespo, M.M., Rezende, T.M.T., Wallau, G.L., Barbosa, R.M.R., Oliveira, C.M.F., Melo-Santos, M.A.V., Pena, L., Cordeiro, M.T., Franca, R.F.D.O., De Oliveira, A.L.S., Peixoto, C.A., Leal, W.S., Ayres, C.F.J., 2017. Zika virus

replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg. Microbes Infect.* 6. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.59>

Harbach, R. 2021a. Culicidae. Available at: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045>. (accessed 25 apr 2021).

Harbach, R. 2021b. *Anopheles*. Available at: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6047>. (accessed 19 jul 2021).

Harbach, R. 2021c. *Nyssorhynchus*. Available at: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6053>. (accessed 19 jul 2021).

Harbach, R. 2021d. Sabethini. Available at: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6223>. (accessed 19 jul 2021).

Holderman, C., Connelly, C.R., 2015. A Mosquito *Psorophora ferox* (Humboldt 1819) (Insecta: Diptera: Culicidae). Available at: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN110000.pdf>. (accessed 19 jul 2021).

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2021. Malha Municipal. Available at: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/malhas-territoriais/15774-malhas.html?=&t=acesso-ao-produto>. (accessed 27 feb 2021).

ICMBio (Instituto Chico Mendes de Biodiversidade). 2021. Ministério do Meio Ambiente. Mata ripária. Available at: <https://www.icmbio.gov.br/projetojalapao/pt/biodiversidade-3/fitofisionomias.html?showall=&start=6>. (accessed 16 jan 2021).

IEC (Instituto Evandro Chagas). 2018. Instituto Evandro Chagas detecta vírus da Febre Amarela em mosquito *Aedes albopictus* no Brasil. Available at: [https://www.iec.gov.br/descoberta/#:~:text=O%20Instituto%20Evandro%20Chagas%20\(IEC,em%20ambientes%20silvestre%20ou%20rural](https://www.iec.gov.br/descoberta/#:~:text=O%20Instituto%20Evandro%20Chagas%20(IEC,em%20ambientes%20silvestre%20ou%20rural). (accessed 29 june 2020).

IOC (Instituto Oswaldo Cruz). 2009. Pesquisador aponta diferenças entre *A. aegypti* e pernilongo doméstico. Available at: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=599&sid=32> (accessed 6 june 2020).

Kobiyama, M. 2003. Conceitos de zona ripária e seus aspectos geobiohidrológicos. *Anais do I Seminário de Hidrologia Florestal: Zonas Ripárias*, Alfredo Wagner, 1–13.

Lega, J., Brown, H.E., Barrera, R., 2017. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) abundance model improved with relative humidity and precipitation-driven egg hatching. *Journal of medical entomology*, 54(5), 1375–1384.

Lequime, S., Paul, R.E., Lambrechts, L., 2016. Determinants of Arbovirus Vertical Transmission in Mosquitoes. *PLoS Pathog.* 12(5), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005548>

- Lima-Camara, T.N.D., Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de saúde pública* 22, 2079-2084.
- Lopes, J., 1997. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. *Rev. Saude Publica* 31, 370-377. <https://doi.org/10.1590/s0034-89101997000400006>
- Lopes, J., Zequi, J.A., Nunes, V., Oliveira, O.D., Neto, B.P.D., Rodrigues, W. (2002). Immature Culicidae (Diptera) collected from the Igapó lake located in the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45, 465-471.
- Magnarelli, L.A., 1980. Bionomics of *Psorophora ferox* (Diptera: Culicidae): Seasonal occurrence and acquisition of sugars. *Journal of Medical Entomology* 17, 328-332.
- Martins, V.E.P., Alencar, C.H., Kamimura, M.T., de Carvalho Araújo, F.M., de Simone, S.G., Dutra, R.F., Guedes, M.I.F., 2012. Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLoS One* 7, 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041386>
- Martins, V.E.P., Martins, M.G., Araújo, J.M.P.D., Silva, L.O.R., Monteiro, H.A.D.O., Castro, F.C., ... & Guedes, M.I.F., 2006. Primeiro registro de *Aedes (Stegomyia) albopictus* no Estado do Ceará, Brasil. *Rev Saude Publica*, 40, 737-739.
- Medeiros, A.S. 2018. Vírus dengue em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em áreas urbanas de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. 68pp. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Medeiros-Sousa, A.R., Ceretti-Júnior, W., de Carvalho, G.C., Nardi, M.S., Araujo, A.B., Vendrami, D.P., Marrelli, M.T., 2015. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: Larval habitats and temporal variation. *Acta Trop.* 150, 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.08.002>
- Medeiros-Sousa, A.R., Ceretti-Junior, W., Urbinatti, P.R., Natal, D., de Carvalho, G.C., de Paula, M.B., Fernandes, A., Homem de Mello, M.H.S., de Oliveira, R.C., Orico, L.D., Gonçalves, E.F.B.G., Marrelli, M.T., 2013. Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) nos parques da cidade de São Paulo I. *Biota Neotrop.* 13, 317-321. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032013000100030>
- Medeiros-Sousa, A.R., Fernandes, A., Ceretti-Junior, W., Wilke, A.B.B., Marrelli, M.T., 2017. Mosquitoes in urban green spaces: Using an island biogeographic approach to identify drivers of species richness and composition. *Sci. Rep.* 7, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18208-x>
- Medri, M.E., Bianchini, E., Shibatta, O.A., Pimenta, J.A., 2002. A bacia do Rio Tibagi. Londrina.
- MMA (Ministério do Meio ambiente). 2003. Fragmentação de Ecossistemas: Causas, Efeito sobre a Biodiversidade e Recomendações de Políticas Públicas. Brasília, 510 pp.

- Montagner, F.R.G., Silva, O.S., Jahnke, S.M., 2018. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. *Brazilian J. Biol.* 78, 233–239. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04416>
- Moore, C.G., Mitchell, C.J., 1997. *Aedes albopictus* in the United States : Ten-Year Presence and Public Health Implications. *Emerging infectious diseases.* 3, 329–334.
- MS (Ministério da Saúde). 2011. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância do *Culex quinquefasciatus*. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF.
- MS (Ministério da Saúde). 2013. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 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, 84pp.
- Nasci, R.S.A., 1981. lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. *Mosquito News* 41(4), 808–811.
- Neves, C.E., 2012. Análise Geossistêmica: as geofácies e geótopos da bacia hidrográfica do ribeirão Cambé com enfoque no córrego Água Fresca e afluente superior do córrego dos Periquitos – Londrina (PR). 85pp Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Geografia). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- Nitsche, P.R., Caramori, P.H., Ricce, W.D.S., Pinto, L.F.D., 2019. Atlas climático do estado do Paraná. Londrina, PR: IAPAR.
- Pinheiro, V.C.S., Tadei, W.P., Barros, P.M.S.S., Vasconcelos, P.F.C., Cruz, A.C.R., 2005. Detection of dengue virus serotype 3 by reverse transcription-polymerase chain reaction in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) captured in Manaus, Amazonas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100, 833–839. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800003>
- Piovezan, R., 2009. Levantamento de larvas de Culicidae (Diptera) em diferentes criadouros no município de Santa Bárbara d'Oeste. 123pp. Mestrado em Zoologia. Instituto de Biociências da UNESP, Rio Claro.
- Prefeitura de Londrina. 2020. Secretaria Municipal de Planejamento, Orçamento e Tecnologia. Perfil de Londrina 2020. Available at: <http://www.londrina.pr.gov.br/downloads-siglon>. (accessed 27 feb. 2021).
- Prefeitura de Londrina. 2021. Centro de Referência, Memória e Cultura Indígena – Kaingang. Available at: <https://portal.londrina.pr.gov.br/unidades-de-protecao-social-basica/atendimento-aos-kaingangs>. (accessed 06 sep 2021).
- Rezende, H.R., Romano, C.M., Claro, I.M., Caleiro, G.S., Sabino, E.C., Felix, A.C., Bissoli, J., Hill, S., Faria, N.R., Cardoso da Silva, T.C., Brioschi Santos, A.P., Junior, C.C., Rachel Vicente, C., 2020. First report of *Aedes albopictus* infected by Dengue and Zika

- virus in a rural outbreak in Brazil. PLoS One 15, 1–11.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229847>
- Rodrigues, R.R., 2000. Uma discussão nomenclatural das formações ciliares. Matas ciliares: Conserv. e Recup. 91–99.
- Rueda, L.M., 2008. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. Hydrobiologia 595, 477–487. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9037-x>
- SEMA (Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos). 2018. Conhecendo o Bioma Mata Atlântica no Paraná. Revista Atlântica, 1(1), 20.
- SESA (Secretaria de Estado da Saúde). 2020. Situação da dengue, chikungunya e zika vírus no Paraná, 2019/2020. Available at:
http://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos_restritos/files/documento/2020-11/boletimdengue43_2020.pdf. (accessed 25 apr 2021).
- SESA (Secretaria de Estado da Saúde). 2021. Informe epidemiológico: Panorama dos casos de dengue no Paraná, 2020/2021. Available at:
http://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos_restritos/files/documento/2021-08/informe_arboviroses_43_-_2021_se_31_a_30.pdf. (accessed 04 aug 2021).
- Silva, L.D.S.B., Cardoso, R.T.N., Fernandes, J.L.A., Silva, C.A., Eiras, A.E. 2018. Modelo Entomológico Determinístico sob Efeito da Pluviosidade para o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*. TEMA (São Carlos), 19(2), 289–303. doi:10.5540/tema.2018.019.02.0289
- Sonoda, K.C., 2010. Efeito da vegetação ripária na qualidade do recurso hídrico no Distrito Federal. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 1–3.
- Taipe-Lagos, C.B., Natal, D., 2003. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. Rev. Saude Publica 37(3), 275–279. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102003000300002>
- Vega-Rua, A., Zouache, K., Girod, R., Failloux, A.B., Lourenco-de-Oliveira, R., 2014. High Level of Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya Virus. J. Virol. 88, 6294–6306. <https://doi.org/10.1128/jvi.00370-14>
- Vieira, C.J. da S.P., Thies, S.F., da Silva, D.J.F., Kubiszeski, J.R., Barreto, E.S., Monteiro, H.A. de O., Mondini, A., São Bernardo, C.S., Bronzoni, R.V. de M., 2020. Ecological aspects of potential arbovirus vectors (Diptera: Culicidae) in an urban landscape of Southern Amazon, Brazil. Acta Trop. 202, 105276.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105276>
- Viveiros-Rosa, S.G., Regis, E.G., Santos, W.C., 2020. Vector competence of *Culex mosquitoes* (Diptera: Culicidae) in Zika virus transmission: An integrative review. Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am. J. Public Heal. 44, 1–9.
<https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.7>

- WHO (World Health Organization). 2020a. Dengue and severe dengue. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. (accessed 17 apr 2021).
- Wilke, A.B., Vasquez, C., Medina, J., Carvajal, A., Petrie, W., Beier, J.C., 2019a. Community composition and year-round abundance of vector species of mosquitoes make Miami-Dade County, Florida a receptive gateway for arbovirus entry to the United States. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Wilke, A.B.B., Chase, C., Vasquez, C., Carvajal, A., Medina, J., Petrie, W.D., Beier, J.C., 2019b. Urbanization creates diverse aquatic habitats for immature mosquitoes in urban areas. *Sci. Rep.* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51787-5>
- Wilke, A.B.B., de Carvalho, G.C., Marrelli, M.T., 2017. Microgeographic Population Structuring of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) From São Paulo, Brazil. *J. Med. Entomol.* 54, 1582–1588. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx149>
- WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). 2021a. Systematic Catalog of Culicidae. Available at: http://www.mosquitocatalog.org/taxon_table.aspx. (accessed 25 apr 2021).
- WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). 2021b. *Psorophora ferox* species page. <http://wrbu.si.edu/vectorspecies/mosquitoes/ferox>. (accessed 19 jul 2021).
- WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). 2021c. *Anopheles* Meigen, 1818. Available at: <https://www.wrbu.si.edu/vectorspecies/genera/anopheles>. (accessed 19 jul 2021).
- Wrege, M.S., Garrastazu, M.C., Fritzsos, E., Sousa, V.A., Aguiar, A.V., 2017. Principais fitofisionomias existentes no estado do Paraná e os novos cenários definidos pelas mudanças climáticas globais Plant vegetation types in the state of Paraná and the new scenarios defined by global climate change. *Ambiência* 13, 600–615. <https://doi.org/10.5935/ambiencia.2017.03.05>
- Zeidler, J.D., Acosta, P.O.A., Barrêto, P.P., Cordeiro, J.D.S., 2008. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 42(6), 986–991.
- Zequi, J.A.C., Lopes, J., Medri, Í.M., 2005. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 22, 656–661. <https://doi.org/10.1590/s0101-81752005000300021>

CONCLUSÃO GERAL

A realização deste estudo possibilitou conhecer a densidade e diversidade de mosquitos culicídeos presentes em diversos ambientes da área urbana de Londrina, tornando possível analisar também a distribuição desses insetos, bem como suas relações ecológicas e associações com os seres humanos e o ambiente urbano. A partir da aspiração de mosquitos em estabelecimentos públicos urbanos, foi possível concluir que esses locais são propícios para abrigar espécies extremamente sinantrópicas (*A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*), uma vez que são frequentados diariamente por pessoas de diferentes idades e localidades, fornecendo fontes de alimento para mosquitos fêmeas.

A alta infestação de *A. aegypti* obtida em vários desses locais, juntamente com a identificação do vírus DENV nessa espécie, coletada em UBS, alerta para a urgente necessidade de intensificar as medidas de monitoramento e controle do *Aedes* no município. Para isso, o uso de ovitrampas e aspiradores para coleta de ovos e adultos, aliado à investigação viral, são excelentes medidas complementares ao LIRAa, visando otimizar a análise de distribuição dos vetores e dos vírus, para evitar novas epidemias e sobrecarga do sistema de saúde. É importante destacar também a possibilidade de participação do *A. albopictus* no ciclo urbano das arboviroses em Londrina, considerando sua presença ao redor dos estabelecimentos, identificada a partir da coleta de ovos, o que evidencia a importância de incluir essa espécie em análises virais.

O estudo em vegetações ripárias urbanas também forneceu importantes contribuições para a área de ecologia e epidemiologia de mosquitos vetores, pois possibilitou identificar as principais espécies presentes e sua abundância em cada área de estudo, onde foi possível comparar esses dados com as características ambientais de cada local. Essas análises permitiram concluir sobre a importância da presença de fragmentos de vegetação em área urbana para a manutenção da biodiversidade, além de demonstrar os impactos negativos das ações antrópicas

nesses locais, uma vez que áreas menos impactadas por ações antrópicas apresentaram maior diversidade e riqueza, abrigando espécies mais silvestres, enquanto áreas mais impactadas e com maior fluxo de pessoas apresentaram pouca riqueza e diversidade, possuindo alta abundância e dominância de espécies sinantrópicas.

Diante do exposto, ações de vigilância entomológica e virológica devem ocorrer não só em residências e estabelecimentos urbanos, mas também em áreas de vegetação localizadas na zona urbana, uma vez que muitos desses locais também são frequentados por pessoas, seja para lazer, recreação ou atividades educativas. Ademais, abrigam espécies de mosquitos tanto silvestres como sinantrópicas que possuem papel relevante na transmissão de patógenos.

Monitoramento ambiental e ações de conscientização da população também são necessários, pois as vegetações que margeiam o Ribeirão Cambé e seus afluentes estão próximas a estabelecimentos urbanos e ou residências, havendo circulação constante de pessoas, e frequentemente são utilizadas de forma inadequada pela população, servindo como áreas de descarte de poluentes e diversos tipos de lixos artificiais que acumulam água. Essas ações prejudicam a integridade dos ambientes, levando à diminuição da biodiversidade, mas, ao mesmo tempo, favorecem mosquitos oportunistas que podem se proliferar em abundância, frequentando residências e causando incômodo ao ser humano, além de poder transmitir diversos patógenos aos humanos e animais domésticos.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados de temperatura (T) média, máxima e mínima, e umidade relativa do ar (UR) média, obtidos em cada período amostral realizado nos estabelecimentos públicos urbanos de Londrina Paraná

Períodos de coleta	T média (°C)	T máxima (°C)	T mínima (°C)	UR (%)
17/01/2019	26,3	33,8	20,9	75
18/01/2019	25,6	32,8	20,9	80
19/01/2019	24,4	31,6	21,3	89
20/01/2019	24,0	30,6	20,2	90
21/01/2019	26,7	33,4	20,0	77
Média	25,4	32,4	20,7	82,2
14/02/2019	23,0	27,6	18,0	78
15/02/2019	22,4	25,2	20,0	91
16/02/2019	23,6	28,6	19,5	82
17/02/2019	23,6	29,4	19,6	80
18/02/2019	23,5	30,1	19,2	81
Média	23,2	28,2	19,3	82,4
25/02/2019	25,1	30,6	21,0	84
26/02/2019	20,4	24,6	19,4	100
27/02/2019	21,6	24,2	19,8	97
28/02/2019	22,5	25,8	20,6	93
01/03/2019	23,7	27,8	20,3	78
Média	22,6	26,6	20,2	90,4
08/03/2019	23,9	30,6	20,4	80
09/03/2019	24,0	27,8	19,4	75
10/03/2019	24,9	31,2	21,3	81
11/03/2019	23,4	27,0	20,2	78
12/03/2019	25,2	30,8	19,0	66
Média	24,3	29,5	20,1	76
15/03/2019	23,1	27,6	21,6	95
16/03/2019	23,6	28,4	20,8	85
17/03/2019	23,0	29,0	20,8	86
18/03/2019	23,6	29,4	19,8	81
19/03/2019	23,7	29,6	21,0	85
Média	23,4	28,8	20,8	86,4
22/03/2019	21,7	27,4	16,6	72
23/03/2019	22,8	29,0	16,5	63
24/03/2019	24,1	31,0	17,0	60
25/03/2019	25,1	31,2	18,6	57
26/03/2019	25,1	31,5	19,7	60
Média	23,8	30,0	17,7	62,4
05/04/2019	25,2	31,1	20,9	83
06/04/2019	23,7	30,2	21,2	93
07/04/2019	22,6	26,0	20,4	97
08/04/2019	23,6	30,6	19,2	83
Média	23,8	29,5	20,4	89
12/04/2019	23,1	30,5	16,1	71

13/04/2019	23,2	30,5	16,8	73
14/04/2019	23,1	28,1	19,9	89
15/04/2019	24,3	30,5	19,6	80
16/04/2019	24,5	31,1	20,3	78
Média	23,6	30,1	18,5	78,2
26/04/2019	24,4	32,2	19,6	83
27/04/2019	24,7	32,4	19,9	84
28/04/2019	21,6	24,6	19,9	97
29/04/2019	20,9	27,2	16,6	89
30/04/2019	20,4	26,4	15,1	88
Média	22,4	28,6	18,2	88,2
03/05/2021	23,6	29,8	18,6	85
04/05/2019	24,8	29,8	20,0	80
05/05/2019	25,2	31,3	20,0	79
06/05/2019	24,6	32,5	19,1	79
07/05/2019	24,0	30,7	20,4	82
Média	24,4	30,8	19,6	81
10/05/2019	22,1	29,4	17,0	85
11/05/2019	22,5	27,3	19,6	96
12/05/2019	22,2	28,4	18,9	92
13/05/2019	21,5	26,0	18,7	96
14/05/2019	18,2	23,9	13,9	85
Média	21,3	27,0	17,6	90,8
17/05/2019	19,4	24,3	14,8	82
18/05/2019	19,3	26,1	13,7	83
19/05/2019	18,9	25,6	13,9	85
20/05/2019	19,7	27,4	14,1	83
21/05/2019	20,3	28,0	13,9	81
Média	19,5	26,3	14,1	82,8
31/05/2019	24,0	29,5	19,3	81
01/06/2019	21,4	24,8	19,8	98
02/06/2019	20,0	23,4	17,6	98
03/06/2019	19,3	25,0	15,6	89
04/06/2019	17,0	22,1	12,5	85
Média	20,3	25,0	17,0	90,2
07/06/2019	17,3	25,6	10,6	81
08/06/2019	18,6	26,6	12,4	75
09/06/2019	17,7	23,9	12,5	74
19/06/2019	17,8	23,9	12,3	78
11/06/2019	18,7	25,8	12,6	79
Média	18,2	25,2	12,1	77,4
28/06/2019	21,5	28,3	15,8	82
29/06/2019	21,9	28,4	14,8	73
30/06/2019	21,7	28,7	14,0	71
01/07/2019	21,6	29,0	15,4	68
Média	21,7	28,6	15,0	73,5

05/07/2019	8,6	18,2	8,6	60
06/07/2019	7,8	15,8	1,6	53
07/07/2019	9,6	17,8	3,0	67
08/07/2019	12,0	19,6	4,8	66
09/07/2019	14,6	22,8	7,2	66
Média	10,5	18,8	5,0	62,4
12/07/2019	17,3	24,8	10,2	58
13/07/2019	18,6	26,6	11,8	59
14/07/2019	21,7	29,4	13,8	44
15/07/2019	17,6	22,4	14,6	82
16/07/2019	15,3	21,2	13,2	60
Média	18,1	24,9	12,7	60,6
19/07/2019	17,8	22,6	11,2	70
20/07/2019	17,6	24,5	11,4	65
21/07/2019	18,1	24,0	11,4	59
22/07/2019	19,2	24,6	13,3	70
23/07/2019	20,4	27,2	13,6	58
Média	18,6	24,6	12,2	64,4
26/07/2019	21,3	26,5	16,2	65
27/07/2019	22,8	28,2	17,3	66
28/07/2019	19,7	25,6	15,0	65
29/07/2019	18,6	24,6	13,8	69
30/07/2019	17,9	23,6	13,8	73
Média	20,1	25,7	15,2	67,6
02/08/2019	20,2	28,8	15,5	63
03/08/2019	12,6	20,2	7,6	37
04/08/2019	10,9	17,6	5,2	66
05/08/2019	15,6	22,0	9,0	68
06/08/2019	17,6	23,4	12,0	76
Média	15,4	22,4	9,9	62
16/08/2019	18,5	26,4	12,1	51
17/08/2019	21,8	29,4	12,8	43
18/08/2019	23,3	29,0	16,8	48
19/09/2019	17,8	24,4	15,6	77
20/08/2019	18,8	25,4	12,8	70
Média	20,1	26,9	14,0	57,8
23/08/2019	17,8	26,2	11,6	53
24/08/2019	17,4	24,6	11,8	55
25/08/2019	18,2	26,5	10,8	50
26/08/2019	19,6	28,4	11,0	57
27/08/2019	20,4	26,0	13,8	62
Média	18,7	26,3	11,8	55,4
30/08/2019	24,3	32,2	14,6	43
31/08/2019	23,4	33,2	19,0	74
01/09/2019	18,8	19,9	16,6	96
02/09/2019	18,5	22,0	15,5	87

03/09/2019	20,8	24,4	17,4	90
Média	21,2	26,3	16,6	78
06/09/2019	19,0	26,8	12,2	66
07/09/2019	25,3	33,1	15,7	49
08/09/2019	27,5	34,4	19,2	41
09/09/2019	28,4	35,6	19,9	40
10/09/2019	28,6	35,6	20,3	39
Média	25,8	33,1	17,5	47
13/09/2019	24,7	32,7	19,8	58
14/09/2019	22,9	32,5	15,8	52
15/09/2019	26,3	33,8	18,5	46
16/09/2019	29,3	36,6	22,3	33
17/09/2019	29,5	36,7	20,0	26
Média	26,5	34,5	19,3	43
Média Total	21,3	27,6	16,2	73,2

APÊNDICE B – Dados de precipitação pluviométrica registrada 14 dias antes de cada período amostral realizado nos estabelecimentos públicos urbanos das cinco regiões de Londrina, Paraná

Período	Precipitação Total (mm)
Sul	
03/01 a 16/01	97,6
31/01 a 13/02	79,7
22/03 a 04/04	5,6
03/05 a 16/05	46,8
28/06 a 11/07	58,8
Norte	
11/02 a 24/02	147,2
22/02 a 07/03	118,8
12/04 a 25/04	5,2
24/05 a 06/06	139,8
12/07 a 25/07	2,8
16/08 a 29/08	0,2
Leste	
11/02 a 24/02	147,2
22/02 a 07/03	118,8
29/03 a 11/04	12,4
17/05 a 30/05	38,2
05/07 a 18/07	31,8
09/08 a 22/08	0,2
Centro	
01/03 a 14/03	81,6
19/04 a 02/05	15,4
14/06 a 27/06	2,4
19/07 a 01/08	0

23/08 a 05/09	25,6
Oeste	
08/03 a 21/03	52,8
26/04 a 09/05	19,2
21/06 a 04/07	32,2
02/08 a 15/08	0
30/08 a 12/09	25,6
Total	778,1

APÊNDICE C – Quantidade de ovos de *Aedes* spp. coletados por meio de ovitrampas, em cada réplica realizada na região Sul de Londrina, Paraná

Quantidade de ovos / ovitrampas										
Ovitrampas	21/jan		18/fev		08/abr		21/mai		16/jul	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
1	242	0	0	0	6	0	0	2	0	0
2	332	0	156	40	20	0	0	0	0	0
3	0	5	0	14	85	0	0	25	0	0
4	220	0	29	0	0	0	0	96	0	2
5	109	248	126	0	0	11	0	0	0	0
Total de ovos	903	253	311	54	111	11	0	123	0	2
Positivas	4	2	3	2	3	1	0	3	0	1
Analisadas	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Legenda: L = Local de coleta.

APÊNDICE D – Quantidade de ovos de *Aedes* spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica de coleta na região Norte de Londrina, Paraná

Quantidade de ovos / ovitrampas												
Ovitrampas	01/mar		12/mar		30/abr		11/jun		30/jul		03/set	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
1	0	32	135	0	0	26	0	6	0	0	0	
2	0	62	9	0	0	0	0	169	0	0		
3	0	438	12	0	0	0	89	0	0	0		
4	0	34	30	0	0	0	0	0	0	0		
5	0	0	202	142	0	0	0	0	0	0		
Total de ovos	0	566	388	142	0	26	89	175	0	0		
Positivas	0	4	5	1	0	1	1	2	0	0		
Analisadas	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		

Legenda: L = Local de coleta.

APÊNDICE E – Quantidade de ovos de *Aedes* spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região central de Londrina, Paraná

Quantidade de ovos / ovitrampas										
Ovitrampas	19/mar		07/mai		01/jul		06/ago		10/set	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
1	117	0	60	20	12	84	0	0	0	0
2	47	77	29	0	83	0	0	0	53	55
3	0	10	21	51	0	0	0	0	0	0
4	0	0	20	14	0	0	0	0	0	0
5	0	16	34	41	0	0	0	0	0	0
Total de ovos	164	103	164	126	95	84	0	0	53	55
Positivas	2	3	5	4	2	1	0	0	1	1
Analisadas	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Legenda: L = Local de coleta.

APÊNDICE F – Quantidade de ovos de *Aedes* spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região Oeste de Londrina, Paraná

Quantidade de ovos / ovitrampas										
Ovitrampas	26/mar		14/mai		09/jul		20/ago		17/set	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
1	0	9	0	112	0	0	0	0	0	0
2	0	5	10	0	0	0	0	0	0	0
3	0	133	0	28	0	0	0	3	0	0
4	0	7	4	106	0	0	0	0	0	0
5	0	6	97	36	4	0	0	0	0	0
Total de ovos	0	160	111	282	4	0	0	3	0	0
Positivas	0	5	3	4	1	0	0	1	0	0
Analisadas	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Legenda: L = Local de coleta.

APÊNDICE G – Quantidade de ovos de *Aedes* spp. coletados por meio de ovitrampas em cada réplica realizada na região Leste de Londrina, Paraná

Quantidade de ovos / ovitrampas										
Ovitrampas	01/mar	12/mar	16/abr		04/jun		23/jul		27/ago	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
1	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	85	0	0	0	0	0	0
3	0	133	0	0	0	0	0	X	0	0
4	0	58	0	17	94	0	0	0	0	8
5	0	29	23	4	48	0	0	0	0	0
Total de ovos	0	240	23	106	142	0	0	0	0	8
Positivas	0	4	1	3	2	0	0	0	0	1
Analisadas	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5

Legenda: L = Local de coleta.

X = Ovitampa não analisada.

APÊNDICE H – Dados de temperatura (T) média, máxima e mínima, e umidade relativa do ar (UR) média registrados durante o período amostral, e precipitação acumulada 14 dias antes de cada coleta realizada nas vegetações ripárias urbanas de Londrina, Paraná

Data de coleta	T média (°C)	T máxima (°C)	T mínima (°C)	UR média (%)	Precipitação (mm)
10/11/2020	23,0	30,6	18,3	77,4	7,5
17/11/2020	27,6	35,0	21,1	59,6	41,8
24/11/2020	25,0	33,7	16,3	55,6	68,3
01/12/2020	24,7	30,6	20,4	77,5	42,0
08/12/2020	23,8	30,7	17,8	74,0	59,1
15/12/2020	24,2	30,3	20,0	80,8	80,7
26/01/2021	24,0	30,1	19,1	83,8	156,4
02/02/2021	25,3	31,9	19,6	82,4	136,2
09/02/2021	21,7	27,3	16,0	71,9	65,9
19/02/2021	23,6	31,6	16,4	54,6	52,3
23/02/2021	26,1	34,9	18,7	66,6	52,3
02/03/2021	22,2	30,8	18,6	87,7	43,4
Média / Total	24,3	31,4	18,5	72,7	544,4