



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VINÍCIUS MARTINS NOVAIS

**MONITORAMENTO, DIVERSIDADE E IDENTIFICAÇÃO
MOLECULAR DE FONTES ALIMENTARES E ARBOVÍRUS
EM MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE) NO NORTE DO
PARANÁ, BRASIL**

Londrina
2025

VINÍCIUS MARTINS NOVAIS

**MONITORAMENTO, DIVERSIDADE E IDENTIFICAÇÃO
MOLECULAR DE FONTES ALIMENTARES E ARBOVÍRUS
EM MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE) NO NORTE DO
PARANÁ, BRASIL**

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

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi.

Londrina
2025

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

Novais, Vinícius Martins.

Monitoramento, diversidade e identificação molecular de fontes alimentares e arbovírus em mosquitos (Diptera:Culicidae) no Norte do Paraná, Brasil / Vinícius Martins Novais. - Londrina, 2025.
103 f.

Orientador: João Antonio Cyrino Zequi.

Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Culicidae - Tese. 2. Hematofagia - Tese. 3. Arbovírus - Tese. 4. Dengue - Tese. I. Zequi, João Antonio Cyrino. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 574

VINÍCIUS MARTINS NOVAIS

**MONITORAMENTO, DIVERSIDADE E IDENTIFICAÇÃO
MOLECULAR DE FONTES ALIMENTARES E ARBOVÍRUS
EM MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE) NO NORTE DO
PARANÁ, BRASIL**

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

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Mario Antonio Navarro da Silva
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Prof^a. Dr.^a Rosemary Aparecida Roque
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- INPA

Prof.^a Dr.^a Flavia Rodrigues Fernandes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Halison Correia Golias
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- UTFPR

Londrina, 25 de abril de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me acompanhar em toda a caminhada do doutorado, desde a seleção à conclusão.

À minha família. Minha mãe Gerse e meu pai Zenaldo que são a base do incentivo ao estudo. Ao meu irmão Tharsis que sempre foi um exemplo de cientistas. À minha esposa Sara e meus filhos Samuel e Noemi, que faço tudo por eles e para eles, e nos momentos mais difíceis, eram o meu porto seguro, não me fazendo desistir. Como vocês acreditaram em mim!

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi, que com muita segurança me recebeu como seu orientado. E mesmo a tantas mudanças, acreditou em mim e não me fez desistir. Muito Obrigado!

A toda equipe do Laboratório de Entomologia Geral e Médica pelo apoio nas coletas e nos dados de monitoramento. Sem vocês este trabalho não seria concluído.

À Universidade Federal do Paraná, especialmente à equipe do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae, de uma forma especial ao Prof. Dr. Mário Navarro, a Prof. Dr^a. Ângela Palacio e a Me. Ana Carolina Felício, pela recepção, auxílio e esforço na identificação dos mosquitos, nas análises virais e identificação da fonte sanguínea.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, pelo auxílio em momentos necessários.

Aos membros da banca, que me deram a honra de corrigir e melhorar este trabalho com seus ensinamentos e sugestões.

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

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001"

NOVAIS, Vinícius Martins. **Monitoramento, diversidade e identificação molecular de fontes alimentares e arbovírus em mosquitos (Diptera:Culicidae) no Norte do Paraná, Brasil**. 2025. 103 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

RESUMO

Os mosquitos estão inseridos dentro da família Culicidae Meigen, 1818. Eles possuem uma alta diversidade, possuindo aproximadamente 3.729 espécies distribuídas em 113 gêneros, sendo que este número vem se elevando devido a sua importância médica e veterinária. Dentre os gêneros que podemos destacar estão *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, sendo estes vetores de arbovírus e patógenos. Devido as atividades humanas, os ambientes tem formado criadouros naturais e artificiais, causando a proliferação destes mosquitos e conseqüentemente um aumento nos casos de arboviroses. O estudo teve como objetivos estudar a diversidade de Culicidae vinculada a integridade de ambiente em fundos de vale na zona urbana e na Universidade Estadual de Londrina (UEL), do município de Londrina-PR, bem como avaliar o repasto sanguíneo dos mosquitos para verificação de hospedeiros vertebrados e identificação de vírus. Este trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, foram realizadas coletas entre dezembro de 2022 a junho de 2023 em seis pontos de coletas, sendo fundos de vale. A coleta de mosquitos adultos nos fundos de vale foram realizadas cinco réplicas em cada área amostral, no período crepuscular, de modo que houvesse um intervalo de duas semanas entre as coletas em cada local. Foram coletados 107 espécimes de culicídeos adultos, pertencendo a quatro espécies e cinco morfoespécies. Destaca-se a presença de espécies importantes para a saúde pública como *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Fica nítido a importância do monitoramento de vetores em regiões de fundo de vale pois abrigam uma diversidade espécies sinantrópicas e silvestres que tem relação com a integridade do ambiente. No capítulo dois, as coletas foram realizadas na Universidade Estadual de Londrina entre os meses de abril de 2023 à dezembro de 2023. Os mosquitos foram coletados com auxílio do aspirador de Nasci, sendo realizadas as capturas apenas nos pontos com alto risco de infestação em cada mês. A análise do sangue de repasto sanguíneo foi realizada através de extração de DNA e posterior sequenciamento para identificação dos potenciais hospedeiros, e análises moleculares para detecção de RNA viral (DENV, ZIKV, CHIKV). Foram coletados 939 mosquitos adultos, sendo *Culex quinquefasciatus* (n=693) a espécie mais abundante, seguida por *Aedes aegypti* (n=222). A atividade das fêmeas de *Aedes* spp. foi mais intensa nos meses com temperaturas e precipitações elevadas, havendo forte correlação entre estas variáveis climáticas e os índices de densidade de ovos (IDO) e positividade de ovitrampas (IPO). Embora não tenha sido detectada a presença de arbovírus, o estudo evidencia a importância do monitoramento entomológico como ferramenta de vigilância e prevenção de surtos de arboviroses, especialmente em áreas com histórico de alta incidência.

Palavras-chave: Hematofagia; Arbovírus; Integridade ambiental; Dengue; Antropização.

NOVAIS, Vinícius Martins. **Monitoring, diversity and molecular identification of food sources and arboviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Northern Paraná, Brazil**. 2025. 103 f. Thesis (Doctorate in Biological Sciences) – State University of Londrina, Londrina, 2025.

ABSTRACT

Mosquitoes are part of the Culicidae family (Meigen, 1818). They are highly diverse, with approximately 3,729 species distributed in 113 genera, and this number has been increasing due to their medical and veterinary importance. Among the genera that we can highlight are *Aedes*, *Anopheles* and *Culex*, which are vectors of arboviruses and pathogens. Due to human activities, environments have formed natural and artificial breeding sites, causing the proliferation of these mosquitoes and consequently an increase in cases of arboviruses. The study aimed to study the diversity of Culicidae linked to the integrity of the environment in valley bottoms in the urban area and at the State University of Londrina (UEL), in the city of Londrina-PR, as well as to evaluate the blood meal of mosquitoes to verify vertebrate hosts and identify viruses. This work was divided into two chapters. In the first chapter, collections were carried out between December 2022 and June 2023 at six collection points, all of which were valley bottoms. The collection of adult mosquitoes in the valley bottoms was carried out in five replicates in each sampling area, at twilight, so that there was a two-week interval between collections at each location. A total of 107 specimens of adult Culicidae were collected, belonging to four species and five morphospecies. The presence of species important for public health, such as *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, stands out. The importance of monitoring vectors in valley bottom regions is clear, as they are home to a diversity of synanthropic and wild species that are related to the integrity of the environment. In chapter two, collections were carried out at the State University of Londrina between April 2023 and December 2023. The mosquitoes were collected with the aid of the Nasco aspirator, and captures were carried out only at points with a high risk of infestation each month. Blood samples from blood meals were analyzed by DNA extraction and subsequent sequencing to identify potential hosts, and molecular analyses were performed to detect viral RNA (DENV, ZIKV, CHIKV). A total of 939 adult mosquitoes were collected, with *Culex quinquefasciatus* (n=693) being the most abundant species, followed by *Aedes aegypti* (n=222). The activity of female *Aedes* spp. was more intense in months with high temperatures and precipitation, with a strong correlation between these climatic variables and the egg density index (ODI) and ovitrap positivity index (OPI). Although the presence of arboviruses was not detected, the study highlights the importance of entomological monitoring as a tool for surveillance and prevention of arbovirus outbreaks, especially in areas with a history of high incidence.

Keywords: Hematophagy; Arbovirus; Environmental integrity; Dengue; Anthropization.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Mapa das áreas de coleta localizadas no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil: 1) Ribeirão Cambé Nascente (RCN), 2) Ribeirão Cambé Daher (RCD), 3) Ribeirão Cambé Rubi (RCR), 4) Ribeirão Cambé Colégio Universitário (RCC), 5) Córrego Capivara (COC) e 6) Assentamento Indígena (AIN). 46
- Figura 2** - Representação esquemática da coleta de culicídeos adultos durante o crepúsculo utilizando aspirador de Nasci, em cada local de coleta, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná, entre o período de dezembro de 2022 a junho de 2023..... 47
- Figura 3** - Dendogramas de similaridade de Bray-Curtis e Morisita entre as áreas de coletas de Culicidae realizadas entre dezembro de 2022 e junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná..... 56
- Figura 4** - Curvas de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus*, nos fundos de vale urbanos do município de Londrina, Paraná, Brasil. 57

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Mapa do Campus da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil, com a identificação dos pontos de instalação das ovitrampas. 72
- Figura 2** - Mapas de infestação elaborados e disponibilizados mensalmente à comunidade da UEL. 74
- Figura 3** - Número e média de ovos coletados com ovitrampa, entre os meses de abril e dezembro de 2023 na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. 82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** - Culicídeos adultos coletados durante o crepúsculo com aspirador de Nasci entre dezembro de 2022 e junho de 2023 nos diferentes locais do ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná. 53
- Tabela 2** - Abundância, dominância, riqueza, equitabilidade e diversidade de culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci, entre o período de dezembro de 2022 e junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná..... 54
- Tabela 3** - Resultados do teste t de Hutchenson comparando o índice de diversidade de Shannon de Culicidae crepusculares coletados em fundos de vale urbanos no município de Londrina, Paraná, Brasil (*diferença significativa). 55

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** - Número de culicídeos capturados com aspirador de Nasci, por mês, na Universidade Estadual de Londrina, entre os meses de abril e dezembro de 2023..... 79
- Tabela 2** - Espécies de aves utilizadas como fonte alimentar de *Culex quinquefasciatus* na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil..... 80
- Tabela 3** - Número examinado, percentual mensal e total de armadilhas de oviposição positivas para presença de *Aedes aegypti* e/ou *Aedes albopictus*, na Universidade Estadual de Londrina, entre os meses de abril e dezembro de 2023. 81
- Tabela 4** - Correlação de Pearson aplicado aos dados de IDO e IPO e variáveis climáticas 83
- Tabela 5** - Correlação de Spearman aplicado aos dados de número de culicídeos coletados e variáveis climáticas. 84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Protocolo de Avaliação Rápida das áreas amostradas, entre o período de dezembro de 2022 a junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná.....	52
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1	A família Culicidae	14
1.2	Hematofagia: relação mosquito-vertebrado	17
1.3	Impactos da urbanização e da fragmentação florestal em mosquitos	20
1.4	Monitoramento e controle de mosquitos	22
1.5	Arboviroses urbanas transmitidas por mosquitos	24
2	OBJETIVOS	26
2.1	Objetivo Geral	26
2.1	Objetivos Específicos	26
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
4	CAPÍTULO 1	40
4.1	Introdução	43
4.2	Materiais e métodos	44
4.2.1	Área de estudo	44
4.2.2	Integridade ambiental	46
4.2.3	Coleta de culicídeos adultos	47
4.2.4	Análise do sangue de repasto sanguíneo	48
4.2.4.1	Extração do DNA, reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento	48
4.2.4.2	Identificação das espécies hospedeiras do repasto	49
4.2.5	Análise viral	49
4.2.6	Análise de dados	50
4.3	Resultados	51
4.3.1	Diagnóstico ambiental	51
4.3.2	Comunidade de culicídeos	53
4.3.3	Deteção de presença de arbovírus (denv 1-4, zikv e chikv) em fêmeas de <i>Aedes</i> spp. e <i>Culex quinquefasciatus</i>	56
4.4	Discussão	57

4.5	Conclusão	61
4.6	Referências bibliográficas	62
5	CAPÍTULO 2	66
5.1	Introdução	69
5.2	Materiais e métodos	70
5.2.1	Área de estudo	70
5.2.2	Monitoramento dos vetores	71
5.2.3	Índices de positividade e densidade	73
5.2.4	Coleta de culicídeos adultos	75
5.2.5	Análise viral	75
5.2.6	Análise de fonte alimentar sanguínea	76
5.2.6.1	Extração do DNA, reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento	76
5.2.6.2	Identificação das espécies hospedeiras do repasto	77
5.2.7	Análise de dados das variáveis climáticas	78
5.3	Resultados	78
5.3.1	Caracterização do hábito alimentar	79
5.3.2	Deteção de presença de arbovírus (denv 1-4, zikv e chikv) em fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes albopictus</i> , <i>Aedes scapularis</i> e <i>Culex quinquefasciatus</i>	80
5.3.3	Avaliação da atividade de <i>Aedes</i> spp	81
5.3.4	Influência das variáveis climáticas sobre os índices IDO e IPO	82
5.3.5	Influência das variáveis climáticas sobre o número de culicídeos coletados	83
5.4	Discussão	84
5.5	Conclusão	87
5.6	Referências bibliográficas	88
6	ANEXOS	95

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A FAMÍLIA CULICIDAE

Os mosquitos pertencem ao Filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae Meigen, 1818. Atualmente são registradas 3.729 espécies válidas e 113 gêneros (Wilkerson *et al.*, 2015, 2021; Harbach, 2018; Harbach, 2025; WRBU; 2025), sendo este número constantemente elevado por conta da importância médica e veterinária do grupo, principalmente em regiões tropicais (WILKERSON *et al.*, 2021). Pertencendo à Infraordem Culicomorpha, os Culicidae formam um grupo monofilético e têm como grupo irmão as famílias Chaoboridae e Corethrellidae (WILKERSON *et al.*, 2021). A família Culicidae está organizada em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae. A subfamília Anophelinae é composta por três gêneros *Anopheles*, *Bironella* e *Chagasia*, com cerca de 489 espécies, e a subfamília Culicinae, possui aproximadamente 3.081 espécies subdividida em 11 tribos (WILKERSON *et al.*, 2021; WRBU, 2025). Os gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* são os mais conhecidos possuindo um número expressivo de espécies com importância médica, sendo reconhecidos como vetores de arbovírus e patógenos (WILKERSON *et al.*, 2015).

A diversidade da família está distribuída em todas as regiões biogeográficas, sendo um grande e abundante grupo que ocorre em todas as regiões temperadas e tropicais do mundo e bem além do Círculo Polar Ártico, sendo mais diversos em ambientes de floresta tropical (HARBACH *et al.*, 2012). Algumas espécies possuem grande plasticidade genética e ecológica (LOPES, 1997; ZEQUI *et al.*, 2005) tendo elevada capacidade de adaptação ao ambiente antrópico, respondendo melhor às pressões ambientais e se tornando abundantes em áreas que passam a apresentar baixa riqueza (RUIZ *et al.*, 2007; CHAVES *et al.*, 2011; GUEDES, 2012). A maior abundância e riqueza das espécies está 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, 2025; WRBU, 2025).

No Brasil, as espécies vetoras mais conhecidas e mais comuns no ambiente urbano são: *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI,

2002; IOC, 2009; EIRAS, 2016; ZARA *et al.*, 2016). Os comportamentos destes mosquitos são diversificados sendo o *Cx. quinquefasciatus* e *Ae. aegypti* encontrados frequentemente no interior de domicílios e estabelecimentos urbanos, enquanto *Ae. 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; HEINISH *et al.*, 2019).

O desenvolvimento dos culicídeos apresenta metamorfose completa sendo caracterizados pelo padrão de desenvolvimento de holometabolia, sendo as fases imaturas (ovo, larva e pupa) aquáticas, e o adulto é alado e terrestre (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; RUEDA, 2008; EIRAS, 2016). Os culicídeos são considerados mais aquáticos do que terrestres, porque é na fase imatura onde os indivíduos passam a parte vegetativa do ciclo de vida, se alimentando e crescendo. Os adultos têm uma função exclusiva de reprodução e dispersão da espécie. A cópula geralmente ocorre em pleno voo, onde fêmeas são atraídas por um enxame de machos em períodos crepusculares. Após as fêmeas saírem do enxame, já estarão acasaladas, sendo possível que as mesmas possam acasalar mais de uma vez, ao passo que a substância protetora para evitar outra cópula, se desfaz em um tempo de 24 horas (FORATTINI, 2002).

Os Culicidae variam entre as espécies no que se refere aos processos de desenvolvimento, com uma produção de muitos descendentes, e um número variável de deposição dos ovos, sendo entre 50 a 500. Por exemplo, o *Ae. aegypti* pode depositar de 49 a 68 ovos por ciclo gonotrófico (GUTIÉRREZ-LOPES *et al.*, 2022; STRICKMAN, 2006), enquanto algumas espécies de *Anopheles* podem colocar de 50 a 118 ovos em condições ideais (PASCINI *et al.*, 2013). Na maioria das espécies, a taxa de eclosão depende de fatores como temperatura, dessecação, predação ou inibição de outras larvas (MOHAMMED, CHADEE, 2011; ZHENG *et al.*, 2015; WILKERSON *et al.*, 2021).

O local onde ocorre a oviposição recebe o nome de criadouro. Diversas características dos criadouros influenciam uma fêmea grávida durante a escolha do local para colocar seus ovos, como cor, consistência, tamanho, forma, entre outros (LOPES *et al.*, 1995). Os criadouros podem ser (1) naturais no solo: permanentes ou semi-permanentes (lagoas e alagadiços) ou transitórios (tocas de animais e enchentes); (2) naturais em recipientes: permanentes ou semi-permanentes (bambus e bromélias) ou transitórios (cocos e folhas caídas); (3) artificiais no solo:

permanentes ou semi-permanentes (represas e piscinas) ou transitórios (marcas de pneus e acúmulo de pedras); (4) artificiais em recipientes: permanentes ou semipermanentes (tanques e esgotos) ou transitórios (latas, vidros, pneus, tampas de garrafa) e quaisquer lugares que acumulem água (FORATTINI, 2002). Quando uma fêmea escolhe um recipiente artificial para depositar seus ovos pode ser somente um tipo de oportunismo, como também pode ser um caso de mudança em seus hábitos (BEIER *et al.*, 1983; LUZ *et al.*, 1987; LOPES, 1997). Em paisagens alteradas ocorrem mudanças na distribuição e oferta de criadouros favorecendo espécies sinantrópicas (MONTAGNER, 2014).

O desenvolvimento larval é influenciado pela disponibilidade de alimentos e temperatura ambiente, como em casos de altas densidades larvais onde o período de desenvolvimento se prolonga, a maturidade se atrasa e as taxas de sobrevivência diminuem (COURET *et al.*, 2014; SAUERS *et al.*, 2022), podendo também afetar o metabolismo ou o comportamento alimentar de diferentes maneiras entre os sexos (WORMINGTON; JULIANO, 2014). A temperatura ideal varia entre espécies, mas a faixa limite máxima para as fases aquáticas situa-se entre 30°C e 40°C. Essas variações térmicas não apenas afetam o desenvolvimento das fases aquáticas, mas também têm impacto nas taxas diárias de eclosão e mortalidade dos mosquitos adultos (DE MAJO *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2020; SIVAN *et al.*, 2020).

Na fase adulta, os mosquitos são terrestres e as fêmeas se alimentam de sangue, processo denominado de hematofagia, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento adequado dos ovos e na transmissão de diversos agentes patogênicos (WILKERSON *et al.*, 2021), causando uma atenção no setor da saúde pública. Fêmeas e machos de mosquitos Culicidae, alimentam-se principalmente de açúcares de origem vegetal, mas a maioria das fêmeas requer um repasto sanguíneo para ativar processos hormonais e desenvolver seus ovos (WILKERSON, *et al.*, 2021; DOU *et al.*, 2022).

O processo de desenvolvimento dos ovos começa imediatamente após a emergência das fêmeas, quando seus ovários contêm uma série de estruturas chamadas ovariolos, que amadurecem sob a influência do hormônio juvenil (HJ) (HERNÁNDEZ-MARTINEZ *et al.*, 2019; WILKERSON, *et al.*, 2021; DOU *et al.*, 2022). A oviposição pode ocorrer individualmente ou em grupos de ovos, sendo que muitas espécies têm um comportamento de oviposição em saltos, o que é uma adaptação às limitações de recursos nutricionais nos recipientes onde os ovos são depositados

(REINBOLD-WASSON; REISKIND, 2021; WEIDIG *et al.*, 2022).

1.2 HEMATOFAGIA: RELAÇÃO MOSQUITO-VERTEBRADO

Os culicídeos adultos se alimentam de líquidos de origem vegetal, porém, as fêmeas da maioria das espécies também são hematófagas (HARBACH, 2007). A hematofagia em Culicidae foi moldada pela relação estabelecida entre as fêmeas de mosquitos e os vertebrados (BALASHOV, 1984), envolvendo adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais (GWADZ, 1969; KLOWDEN, 1995; CHADEE *et al.*, 1996; SHAO *et al.*, 2001; RIBEIRO; FRANCISCHETTI, 2003; LEHANE, 2005) maximizando a ingestão do sangue como fonte de energia (WAAGE, 1979). Essas adaptações permitiram a ingestão de grandes volumes de sangue, que podem chegar a ser quatro vezes o peso corporal de uma fêmea de mosquito (NAYAR; SAUERMAN JR, 1977). O sangue desempenha um papel crucial não apenas na manutenção de reservas de energia, mas principalmente na reprodução (LEHANE, 2005). Algumas espécies podem utilizar outras fontes de alimentos que auxiliam na reprodução (HARRIS *et al.*, 1969; TELANG; WELLS, 2004), porém, a quantidade de ovos produzida por postura, não é a mesma do que com sangue, tornando essencial para o sucesso reprodutivo (HARRIS; COOKE, 1969; ARIANI *et al.*, 2015)

A fonte de sangue dos mosquitos culicídeos abrange uma variedade de vertebrados, incluindo anfíbios, répteis, aves e mamíferos (FORATTINI *et al.*, 1987). Algumas espécies de mosquitos têm uma preferência por animais silvestres em ambientes rurais ou urbanos, fora das residências (exofílicas), enquanto outras têm uma afinidade com os seres humanos e se alimentam dentro das casas (endofilia), mas também podem se alimentar de aves e mamíferos não humanos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994), demonstrando flexibilidade em sua escolha de presas (CHAVES *et al.*, 2010).

A preferência alimentar é uma característica genética, mas pode ser influenciada por diversos fatores (BESANSKY *et al.*, 2004), como por exemplo, condições ambientais, características intrínsecas da fêmea e características do vertebrado (TAKKEN; VERHULST, 2013). No processo de busca pela fonte de alimento, as fêmeas se deslocam em busca do vertebrado sendo os ritmos circadianos e fatores internos responsáveis pela ativação desse momento (BOWEN, 1991).

Durante o voo, as fêmeas de mosquitos dependem da visão e de estímulos químicos para encontrar sua fonte de alimento (ALLAN *et al.*, 1987). Os principais estimulantes químicos são o dióxido de carbono (CO₂) e odores liberados pelos vertebrados, além do calor e umidade (ALLAN *et al.*, 1987; LU *et al.*, 2007; SCHYMURA *et al.*, 2010). Alguns componentes específicos como ácidos carboxílicos, amônia, ácido láctico e outros compostos voláteis, desempenham uma função na atração dos mosquitos pelo vertebrado (BOSCH *et al.*, 2000; SMALLEGANGE *et al.*, 2009; TAKKEN; VERHULST, 2017), trazendo também uma orientação mais precisa (SMALLEGANGE *et al.*, 2011). A escolha de vertebrados como alvo dos mosquitos também pode estar relacionada a fatores genéticos influenciando padrões de alimentação e descanso (GILLIES, 1964; MUKWAYA, 1977; COLUZZI *et al.*, 1977).

As condições ambientais interferem na busca de alimento pelos mosquitos afetando a percepção dos sinais do vertebrado pelos mosquitos e também a capacidade de localização (REITER, 2001; BIDLINGMAYER, 1985; GIBSON; TORR, 1999). As baixas temperaturas podem interromper o desenvolvimento dos folículos ovarianos por meio da diapausa ou quiescência, um estado de inatividade induzido pela temperatura, diminuindo a busca por vertebrados (NELMS *et al.*, 2013). A luminosidade afeta o voo de busca, influenciando o ritmo circadiano (MURILLO *et al.*, 1988), enquanto as variações de umidade relativa interagem com os odores do vertebrado, afetando a localização e seleção da fonte de alimento (TAKKEN *et al.*, 1997). A combinação de várias variáveis ambientais define as condições ideais para cada espécie na busca por vertebrados (FREIRE *et al.*, 2016).

O repasto sanguíneo é essencial para acumular nutrientes necessários ao desenvolvimento dos ovos em cada ciclo de reprodução (BRIEGEL *et al.*, 2002). Em relação aos fatores intrínsecos das fêmeas de mosquito, dependendo das necessidades individuais e da espécie, podem ser necessários múltiplos repastos para a maturação completa dos ovos (BRIEGEL; HORLER, 1993). Repastos múltiplos envolvendo diferentes grupos de vertebrados em cada ciclo reprodutivo tendem a acelerar a maturação e aumentar a quantidade de ovos produzidos (BRIEGEL; HORLER, 1993; XUE *et al.*, 2009; FARJANA; TUNO, 2013; YAMANY *et al.*, 2016).

Os vertebrados exibem comportamentos defensivos que influenciam na alimentação das fêmeas de mosquitos, sendo que a intensidade dessas reações, depende da capacidade de cada vertebrado de evitar os ataques (EDMAN; SCOTT, 1987). Algumas espécies são mais defensivas, outras mais tolerantes, e a abundância

de mosquitos pode influenciar o sucesso dessas defesas (WALKER; EDMAN, 1986). Animais menores e mais jovens tendem a apresentar defesas mais eficazes, reduzindo a atração dos mosquitos, e isso pode ser influenciado pelo tamanho ou idade (SOTA *et al.*, 1991). Por outro lado, animais doentes e enfraquecidos têm sua capacidade de defesa comprometida, tornando-se presas mais acessíveis (DAY; EDMAN, 1983). O comportamento de defesa inclui uma série de atividades motoras realizadas na tentativa de afastar os mosquitos (WEBBER; EDMAN, 1972; CULLY *et al.*, 1991), mas também pode ser um comportamento mais intenso como o vertebrado se alimentando do mosquito (DARBRO; HARRINGTON, 2007).

A escolha do vertebrado como fonte de alimento pelos mosquitos pode ser influenciada pela ocupação coincidente de habitats, mesmo em pequena escala, especialmente quando têm preferências específicas por determinados ambientes, como áreas dentro ou ao redor de domicílios ou diferentes níveis da floresta. Isso leva a seleção de vertebrados com base na sobreposição geográfica de seus habitats (LEHANE, 2005). A introdução de uma nova espécie de vertebrado no mesmo ambiente ocupado pelos mosquitos pode mudar a escolha de alimento, redirecionando-o para o novo vertebrado introduzido. Isso pode afetar significativamente os padrões de alimentação e comportamento de repouso, diminuindo sua frequência de contato com fontes alimentares menos preferidas (MAYAGAYA *et al.*, 2015).

Esse conjunto de condições e fatores, que incluem aspectos ambientais, características intrínsecas da fêmea e relacionados ao vertebrado, como defesa, fisiologia, morfologia, abundância, habitat e sazonalidade, influencia a eficácia da busca por alimento sanguíneo, a frequência de interações e a escolha do vertebrado. Isso, por sua vez, afeta a capacidade reprodutiva (TAKKEN; VERHULST, 2013) e determina os padrões gerais de utilização de fontes alimentares (BURKETT-CADENA *et al.*, 2014).

Além da especificidade na interação entre patógeno, mosquito e vertebrado, que envolve aspectos evolutivos, genéticos e fisiológicos, as escolhas alimentares dos mosquitos também podem influenciar a eficácia da relação entre patógeno, vetor e vertebrado (LEHANE, 2005). Algumas espécies de mosquitos, ao preferirem se alimentar de humanos (antropofilia), facilitam a transmissão bem-sucedida de arbovírus como os vírus da dengue, febre amarela, febre chikungunya e Zika (KENNEY; BRAULT, 2014; MUSSO; GUBLER, 2016). Por outro lado, espécies

de mosquitos como o *Cx. quinquefasciatus*, que têm um comportamento alimentar mais voltado para animais não humano e são oportunistas, podem transmitir patógenos como o vírus do Nilo Ocidental e o vírus da encefalite de Saint Louis a uma variedade de vertebrados, especialmente aves, contribuindo para a manutenção desses agentes em um ambiente específico (HAMER *et al.*, 2009; DIAZ *et al.*, 2016).

1.3 IMPACTOS DA URBANIZAÇÃO E DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL EM MOSQUITOS

O processo de urbanização e o crescimento do agronegócio levaram à fragmentação intensa da vegetação nativa, resultando em áreas menores e isoladas (MS, 2013; LINDENMAYER; FISCHER, 2013). Isso afetou negativamente muitas espécies de seres vivos, levando ao declínio ou extinção de algumas, enquanto outras se beneficiaram, mantendo ou aumentando sua abundância (MS, 2013; LAURANCE, 2008; HADDAD *et al.*, 2015). Com a urbanização e fragmentação florestal, os mosquitos sofrem impactos significativos. Muitas espécies perdem seus habitats naturais e migram para áreas urbanas em busca de comida e locais para reprodução. Isso resulta na domiciliação de espécies altamente adaptáveis a diferentes ambientes (LOPES, 1997; TAIPE-LAGOS; NATAL, 2003; LEISNHAM *et al.*, 2004; ZAHOU LI *et al.*, 2017; MONTAGNER *et al.*, 2018).

Áreas verdes próximas a ambientes urbanos servem como refúgio para várias espécies de mosquitos, incluindo aquelas que podem transmitir doenças (ZEQUI *et al.*, 2005; ESPINOZA, 2018; CERETTI-JUNIOR *et al.*, 2020). Esses locais oferecem criadouros naturais, como ocos em árvores e buracos em plantas, além de abrigar recipientes artificiais, como pneus e recipientes de plástico, que também são usados como criadouros por espécies oportunistas (LOPES, 1997; LEISNHAM *et al.*, 2004; ZAHOU LI *et al.*, 2017). Algumas espécies com alta flexibilidade genética podem se adaptar a ambientes urbanos e se reproduzir em locais domésticos, como caixas d'água, piscinas e ralos. Isso coloca fêmeas hematófagas, que podem transmitir patógenos, em maior proximidade com os seres humanos, animais de estimação e criação, aumentando o risco de disseminação de doenças (LOPES, 1997; TAIPE-LAGOS; NATAL, 2003; BARROS; HONÓRIO, 2015; MONTAGNER *et al.*, 2018).

Os fragmentos urbanos que sofrem ação antrópica, sem monitoramento adequado dos culicídeos, podem conter além de espécies silvestres, algumas espécies oportunistas, sinantrópicas e vetoras de patógenos, pois nesses

ambientes ocorrem tanto criadouros naturais quanto artificiais utilizados para oviposição das fêmeas de acordo com a preferência das espécies (ZEQUI *et al.*, 2005). Nesse contexto, larvas de culicídeos sinantrópicos possuem uma tendência a ocupar tipos específicos de criadouros, mas a maioria mostra preferência por aqueles artificiais (DA SILVA, 2002).

O processo de urbanização intensificado, fez com que o modelo econômico da sociedade contemporânea modificasse o meio ambiente de forma acelerada colocando em risco diversos processos ecológicos e afetando muitos organismos (LUCCHI, 1997). As necessidades básicas da urbanização (moradias, trabalho, indústrias, comércio e vias de transporte) unidas ao mal planejamento provocaram grandes impactos ambientais (DE SOUZA; HAYASHI, 2013). O crescimento populacional, juntamente com as suas demandas, fizeram com que ocorresse a fragmentação florestal e conseqüentemente a diminuição de espécies nesse ambiente (MYERS *et al.*, 2000; FAHRIG, 2003), alterando os micro-habitats, padrões de dispersão, distribuição, comportamento e sobrevivência das espécies (LAURANCE, 2008).

Mudanças no comportamento de mosquitos podem apresentar potencial epidemiológico (FORATTINI, 1998) tendo capacidade de fazer com que novas doenças surjam ou reapareçam (MARQUES, 2017). A mudança na dinâmica das populações causada pela antropização muitas vezes beneficia essas espécies vetoras de patógenos, prejudicando as populações humanas que estão ao redor ou que desenvolvem algum tipo de atividade nas proximidades, e ainda contribuem com ciclos epidemiológicos de reaparecimento de algumas doenças e aumento de outras (HUTCHINGS *et al.*, 2005; GUEDES; NAVARRO-SILVA, 2014).

Os repastos múltiplos aumentam o risco de exposição a patógenos e a possibilidade de transmissão de doenças (SCOTT; TAKKEN, 2012). A diversidade na escolha de alimentos pode ter um grande impacto na transmissão de patógenos, especialmente quando os mosquitos se alimentam de vertebrados reservatórios e ocasionalmente escolhem espécies que reagem de maneira diferente à infecção, podendo propagar doenças (KILPATRICK *et al.*, 2006). Os mosquitos desempenham o papel de vetores ao transmitir patógenos enquanto se alimentam de um ou mais indivíduos sem causar morte. Esse comportamento melhora sua aptidão e pode afetar negativamente os vertebrados (WILSON *et al.*, 2017). Esses vetores desempenham um papel crucial na probabilidade de transmissão dos patógenos, contribuindo para a

multiplicação e/ou desenvolvimento de estágios de vida do patógeno (COWMAN; CRABB, 2005; WANG *et al.*, 2010).

Muitos patógenos transmitidos por mosquitos são de grande importância para a saúde pública e economia, exigindo estratégias de controle (GUBLER, 2002). A plasticidade no comportamento alimentar de algumas espécies pode dificultar o controle de mosquitos que preferem se alimentar de humanos. Por exemplo, algumas espécies de *Anopheles*, que frequentemente se alimentam de sangue humano, também se alimentam de animais não humanos, tornando-se vetores importantes de patógenos como os da malária (KEVEN *et al.*, 2017).

Além de transmitir diversos patógenos que representam riscos para a saúde humana, a presença desses patógenos nos mosquitos pode afetar seu comportamento de busca por vertebrados. Mosquitos infectados por parasitas podem necessitar de mais sangue durante a alimentação, buscar alimento com mais frequência e ter sua atratividade por vertebrados alterada dependendo do estágio do parasita. Estudos com protozoários da malária e nematoides filariais sugerem que essa mudança no comportamento alimentar pode acelerar a transmissão dos parasitas entre as fontes de alimento (KOELLA *et al.*, 1998; GLEAVE *et al.*, 2016).

1.4 MONITORAMENTO E CONTROLE DE MOSQUITOS

Compreender as diferenças entre os comportamentos dos vetores é essencial para entender suas características ecológicas e desenvolver estratégias de prevenção e controle de patógenos. Para monitorar esses vetores, são utilizadas metodologias que estimam sua densidade no ambiente. Os métodos de monitoramento abrangem os estágios de ovos, larvas e adultos, e a probabilidade de captura depende da abundância local do vetor, seu habitat, disponibilidade de recipientes para oviposição e características das armadilhas (WHO, 2018).

Diversas metodologias e ferramentas foram desenvolvidas para a investigação e monitoramento dos níveis de infestação dos mosquitos vetores. Esses objetivos podem ser alcançados por meio da captura imaturos e/ou adultos dos mosquitos (MS, 2013; CEVS, 2009). Uma importante metodologia é o Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA). Ele foi promovido pelo Ministério da Saúde em 2002 e 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),

obtendo informações sobre os recipientes utilizados como criadouros para as larvas (MS, 2013). A armadilha ovitrampa, desenvolvida por Fay e Perry (1965), determina índices de infestação dos vetores a partir da quantidade de ovos depositados pelas fêmeas nas ovitrampas. Outra ferramenta muito utilizada é o aspirador de Nasci, muito eficiente na captura ativa de mosquitos adultos, podendo capturar esses insetos em pleno voo ou escondidos em abrigos naturais e artificiais.

A prevenção de epidemias de arbovírus depende da manutenção de baixas densidades de vetores. Para monitorar a distribuição e abundância desses vetores, as armadilhas de oviposição são a principal metodologia. Esse método é altamente sensível e econômico para detectar vetores como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, além de servir para vigilância, controle e detecção indireta de adultos (BRASIL, 2009; FIOCRUZ, 2014; DE SOUZA *et al.*, 2022). Fay e Eliason (1966) desenvolveram essa armadilha, que oferece dados sobre a atividade das fêmeas e detecta infestações precoces, mesmo em áreas com baixas infestações e poucas larvas detectadas. Além disso, essa armadilha pode monitorar os efeitos das ações de controle (MOURA *et al.*, 2020).

Locais com alta diversidade de espécies vegetais desempenham um papel crucial na estabilização da temperatura ambiente e na preservação da qualidade do ar, do solo e da água. Além disso, eles desempenham um papel fundamental na prevenção da erosão e do assoreamento nas margens dos corpos d'água, bem como na filtragem de agentes poluentes (SONODA, 2010). Esses ecossistemas também servem como refúgio para diversas espécies, incluindo mosquitos sinantrópicos vetores de patógenos, como *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762), *Ae. albopictus* (Skuse, 1894) e *Cx. quinquefasciatus* Say, 1823 (BARTALINI, 1986; CERETTI-JÚNIOR *et al.*, 2015; MEDEIROS-SOUZA *et al.*, 2013; 2015; 2017; VIEIRA *et al.*, 2020).

Diante do aumento significativo da infestação de mosquitos vetores e do crescente número de casos de dengue em Londrina desde 2019, é importante investigar a presença de vírus e seus sorotipos em mosquitos culicídeos fêmeas, encontrados em vegetações ripárias do município. Especial atenção deve ser dada às espécies *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Cx. quinquefasciatus*, pois são conhecidas por sua alta competência e capacidade de transmissão de determinados patógenos (FORATTINI, 2002; MS, 2011; FONSECA JUNIOR *et al.*, 2019). Essa abordagem complementa as atividades de monitoramento e controle de mosquitos vetores urbanos, que normalmente se concentram em residências e áreas urbanas, embora

esses locais também abriguem mosquitos de importância para a saúde pública, como já foi observado por Lopes *et al.* (2002), Zequi *et al.* (2005) e Espinosa (2018) em estudos realizados em áreas de vegetação ripária na zona urbana de Londrina, Paraná.

1.5 ARBOVIROSES URBANAS TRANSMITIDAS POR MOSQUITOS

Os vírus dengue (DENV) estão classificados cientificamente na família Flaviviridae e no gênero *Orthoflavivirus*. Até o momento são conhecidos quatro sorotipos – DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 –, que apresentam distintos materiais genéticos (genótipos) e linhagens (MS, 2025). Os sorotipos podem circular simultaneamente em uma área, aumentando o risco de desenvolvimento de dengue grave, especialmente quando ocorrem infecções secundárias por múltiplos sorotipos (MARTINS *et al.*, 2014; WHO, 2020).

A dengue possui uma incidência global, com destaque para as regiões tropicais e subtropicais, especialmente em áreas urbanas, sendo o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* os principais vetores nas Américas e em partes da Ásia e Europa (WHO, 2020; ECDC, 2021; PAHO, 2024). A incidência de dengue acompanha o aumento da presença do vetor, onde geralmente o número de mosquitos aumenta nos períodos quentes e chuvosos (REINHOLD *et al.*, 2018). No Brasil, em 2019, houve um aumento significativo nos casos de dengue, com 1.544.987 casos registrados, representando um aumento de 488% em relação ao ano anterior. No início de 2020, o número de casos prováveis de dengue foi maior que os anos epidêmicos de 2015 e 2019 (BRASIL, 2024). Em 2022, houve aumento de 162,5% nos casos de dengue, comparando com o ano de 2021 (BRASIL, 2024).

O vírus CHIKV pertence à família Togaviridae, gênero *Alphavirus*, tendo apenas um sorotipo conhecido (SANTOS *et al.*, 2015), podendo ser transmitido tanto pelo *Ae. aegypti* como pelo *Ae. albopictus* (WHO, 2020). O primeiro caso registrado no Brasil foi no ano de 2014, destacando os anos de 2019, onde foram relatados 132.205 casos prováveis, com 92 óbitos; 2020 com 82.419 casos prováveis, resultando em 30 óbitos; 2021 com 95.852 casos prováveis, com 14 óbitos confirmados; 2022 ocorrendo 173.258 casos prováveis, resultando em 93 óbitos e 2023 com 143.739 casos prováveis notificados, com 82 óbitos confirmados (BRASIL, 2024).

O vírus ZIKV, pertencente à família Flaviviridae e ao gênero *Flavivirus*, compartilha características estruturais semelhantes ao vírus DENV, mas possui apenas um sorotipo conhecido (HADDOW *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015). A transmissão do ZIKV é realizada principalmente por mosquitos *Aedes*, principalmente o *Ae. aegypti*, porém gestantes infectadas podem transmitir o vírus ao feto, levando a malformações congênitas ou abortos espontâneos (DUARTE *et al.*, 2021; WHO, 2024). Em 2015, ocorreu a primeira epidemia de Zika no Brasil, sendo observada a associação entre a infecção da arbovirose com casos de microcefalia, com a presença de outras anormalidades desenvolvidas durante a gravidez (BRASIL, 2023; WHO, 2024). Desde 2015, o Brasil registrou mais de 40.000 casos suspeitos, sendo mais de 21.000 casos suspeitos da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika (BRASIL, 2024).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar a estrutura populacional de Culicidae vinculada a integridade de ambiente em fundos de vale no perímetro urbano do município de Londrina, Paraná, Brasil, bem como caracterizar o conteúdo de repasto sanguíneo para inferir hospedeiros e possíveis patógenos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a diversidade e abundância de mosquitos culicídeos encontrados em fundos de vale do perímetro urbano do município de Londrina, Paraná, Brasil.
- Identificar o sangue oriundo do repasto sanguíneo por método genético.
- Conhecer a interação alimentar entre *Culex quinquefasciatus* e vertebrados por meio da análise do DNA do sangue ingerido.
- Identificar a presença dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV em mosquitos adultos.
- Avaliar os índices ecológicos de culicídeos crepusculares em fundos de vale.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, S. A.; DAY, J. F.; EDMAN, J. D. Visual ecology of biting flies. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 297–316, 1987.

ARIANI, C. V.; SMITH, S. C. L.; OSEI-POKU, J.; *et al.* Environmental and genetic factors determine whether the mosquito *Aedes aegypti* lays eggs without a blood meal. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 4, p. 715–721, 2015.

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. 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, 2018.

BALASHOV, Y. S. Interaction between blood-sucking arthropods and their hosts, and its influence on vector potential. **Annual Review of Entomology**, v. 29, n. 1, p. 137–156, 1984.

BARROS, F. S. M.; HONÓRIO, N. A. 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, 2015.

BARTALINI, V. Áreas Verdes E Espaço Livres Urbanos. **Paisag. e Ambient.** 49–56, 1986.

BEIER, J.C.; PATRICOSKI, C.; TRAVIS, M.; KRANZFELDER, J. Influence of water chemical and environmental parameters on larval mosquito dynamics intires. **Environmental Entomology**, 12(2): 434-438, 1983.

BESANSKY, N. J.; HILL, C. A.; COSTANTINI, C. No accounting for taste: host preference in malaria vectors. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 6, p. 249–251, 2004.

BIDLINGMAYER, W. L. The measurement of adult mosquito population changessome considerations. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 1, n. 3, p. 328–348, 1985.

BOSCH, O. J.; GEIER, M.; BOECKH, J. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. **Chemical Senses**, v. 25, n. 3, p. 323–330, 2000.

BOWEN, M. F. The sensory physiology of host-seeking behavior in mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, v. 36, n. 1, p. 139–158, 1991.

BRASIL, Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**. Brasília. 2009. 157 p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf. Acesso em 08 nov. 2024.

BRASIL. Ministério Da Saúde. **Boletins Epidemiológicos**. Brasília, 2024. Disponível em: <http://www.gov.br/saude/boletins/epidemiologicos>. Acesso em 08 nov. 2024.

BRIEGEL, H.; HEFTI, M.; DIMARCO, E. Lipid metabolism during sequential gonotrophic cycles in large and small female *Aedes aegypti*. **Journal of Insect Physiology**, v. 48, p. 547–554, 2002.

BRIEGEL, H.; HORLER, E. Multiple blood meals as a reproductive strategy in *Anopheles* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 6, p. 975–985, 1993.

BURKETT-CADENA, N. D.; BINGHAM, A. M.; PORTERFIELD, C.; UNNASCH, T. R. Innate preference or opportunism: mosquitoes feeding on birds of prey at the Southeastern Raptor Center. **Journal of Vector Ecology**, v. 39, n. 1, p. 21–31, 2014.

CEVS. Secretaria Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. **Vigilância entomológica de mosquitos (Diptera, Culicidae)**. Porto Alegre: CEVS, 2009.

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.; Mosquito faunal survey in a Central Park of the City of São Paulo, Brazil. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 31, 172-176, 2015.

CERETTI-JUNIOR, W.; OLIVEIRA-CHRISTE, R.; WILK-DA-SILVA, R.; MUCCI, L. F.; DUARTE, A. M. R. C.; FERNANDES, A.; BARRIO-NUOVO, K.M.; CARVALHO, M. P.; MARRELLI, M. T.; MEDEIROS-SOUSA, A. R. Diversity analysis and an updated list of mosquitoes (Diptera: Culicidae) found in Cantareira State Park, São Paulo, Brazil. **Acta Trop.** 212, 2020.

CHADEE, D. D.; BEIER, J. C.; MARTINEZ, R. The effect of the cibarial armature on blood meal hemolysis of four anopheline mosquitoes. **Bulletin of Entomological Research**, v. 86, p. 351–354, 1996.

CHAVES, L. F.; HAMER, G. L.; WALKER, E. D.; BROWN, W. M.; RUIZ, M. O.; KITRON, U. D. Climatic variability and heterogeneity impact urban mosquito diversity and vector abundance and infection. **Ecosphere**, 2(6): 1-21, 2011.

CHAVES, L. F.; HARRINGTON, L. C.; KEOGH, C. L.; NGUYEN, A. M.; KITRON, U. D. Blood feeding patterns of mosquitoes: random or structured? **Frontiers in Zoology**, v. 7, n. 1, p. 3, 2010.

COLUZZI, M.; SABATINI, A.; PETRARCA, V.; DECO, M. A. Behavioural divergences between mosquitoes with different inversion karyotypes in polymorphic populations of the *Anopheles gambiae* complex. **Nature**, v. 266, p. 832–833, 1977.

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

COURET, J.; DOTSON, E.; BENEDICT, M. Q. Temperature, Larval Diet, and Density Effects on Development Rate and Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **PLoS ONE**, vol. 9, no. 2, 2014.

COWMAN, A. F.; CRABB, B. S. Revealing the molecular determinants of gender in malaria parasites. **Cell**, v. 121, n. 5, p. 659–660, 2005.

CULLY, J. F.; GRIECO, J. P.; KISSEL, D. Defensive behavior of eastern chipmunks against *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 28, n. 3, p. 410–416, 1991.

DA SILVA, A. M. Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural no norte do estado do Paraná, Brasil. **Iheringia Serie Zoologia** 92: 31-36, 2002.

DA-CUNHA, M.; LIMA, J.; BROGDON, W.; MOYA, G.; VALLE, D.; Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 100 (4), 441-444, 2005.

DARBRO, J. M.; HARRINGTON, L. C. Avian defensive behavior and blood-feeding success of the West Nile vector mosquito, *Culex pipiens*. **Behavioral Ecology**, v. 18, n. 4, p. 750–757, 2007.

DAY, J. F.; EDMAN, J. D. Malaria renders mice susceptible to mosquito feeding when gametocytes are most infective. **Journal of Parasitology**, v. 69, n. 1, p. 163–170, 1983.

DE MAJO, M. S.; MONTINI, P; FISCHER, S. Egg Hatching and Survival of Immature Stages of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under Natural Temperature Conditions during the Cold Season in Buenos Aires, Argentina. **Journal of Medical Entomology**, vol. 54, no. 1, pp. 106–113, 2016.

DE SOUSA, P. R.; HAYASHI, C. Parques e reservas florestais do município de Maringá/PR. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista** 9(3): 69-84, 2013.

DE SOUZA, S. J; GUARALDO, A. C.; HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D. C. P.; SUKOW, N. M.; MACHADO, S. T.; DOS SANTOS, C. N. D.; COSTA-RIBEIRO, M. C. V. Spatial and temporal distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* oviposition on the Coast of Paraná, Brazil, a recent area of Dengue Virus transmission. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 9, p. 246–246, 2022.

DIAZ, L. A.; QUAGLIA, A. I.; KONIGHEIM, B. S.; BORIS, A. S.; AGUILAR, J. J.; KOMAR, N.; CONTIGIANI, M. S. Activity patterns of St. Louis encephalitis and West Nile viruses in free ranging birds during a human encephalitis outbreak in Argentina. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, p. e0161871, 2016.

DOU, X.; CHEN, K.; BROWN, M. R.; STRAND, M. R. Multiple Endocrine Factors Regulate Nutrient Mobilization and Storage in *Aedes aegypti* during a Gonadotrophic Cycle. **Insect Science**, 30(2):425-442, 2022.

DUARTE, G.; MIRANDA, A. E.; BERMÚDEZ, X. P. D.; SARACENI, V.; MARTÍNEZ-ESPINOSA, F. E. Protocolo Brasileiro Para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: Infecção Pelo Vírus Zika. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, vol. 30, no. spe1, 2021.

EDMAN, J. D.; SCOTT, T. W. Host defensive behaviour and the feeding success of mosquitoes. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 8, n. 4-5-6, p. 617-622, 1987.

EIRAS, A. E. Culicidae. In: NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia Humana**. 13 ed. Atheneu, São Paulo, pp. 411-424, 2016.

ESPINOZA, A. A. **Integridade Biótica e culicideofauna terrestre no Norte do Paraná**. 2018. 114f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **Factsheet about dengue**. 2021. Disponível em: <<https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-fever/facts>>. Acesso em: 02 nov 2024.

FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual review of ecology, evolution, and systematics** 487-515, 2003.

FARJANA, T.; TUNO, N. Multiple blood feeding and host-seeking behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 838-846, 2013.

FAY R. W.; ELIASON D. A. A preferred oviposition sites as surveillance methods for *Aedes aegypti*. **Mosquito News**. 1966.

FAY, R. W.; PERRY, A. S. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, 25(3), 276-281, 1965.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. **Avaliação de armadilhas para a vigilância entomológica de *Aedes aegypti* com vistas à elaboração de novos índices de infestação**. Nota técnica N.º 3/2014/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA. 2014.

FONSECA JÚNIOR, D. P. Vetores de arboviroses no estado de São Paulo: 30 anos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Revista de Saúde Pública**, 53, 84, 2019.

FORATTINI, O. P. Mosquitos Culicidae como vetores emergentes de infecções. **Revista de Saúde Pública** 32(6): 497-502, 1998.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia** Vol. 2. EDUSP, São Paulo, 2002.

FORATTINI, O. P.; GOMES, A. C.; NATAL, D.; KAKITANI, I.; MARUCCI, D. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 171-187, 1987.

FREIRE, M. G.; SCHWEIGMANN, N. J.; SVAGELJ, W. S.; LOETTI, M. V.; JENSEN, O.; BURRONI, N. E. Relationship between environmental conditions and host-seeking activity of *Ochlerotatus albifasciatus* (Diptera: Culicidae) in an agroecosystem and in an urban area in Chubut, Central Patagonia, Argentina. **Journal of Natural History**, v. 2933, p. 1–12, 2016.

GLEAVE, K.; COOK, D.; TAYLOR, M. J.; REIMER, L. J. Filial infection influences mosquito behaviour and fecundity. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 36319, 2016.

GIBSON, G.; TORR, S. J. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, p. 2–23, 1999.

GILLIES, M. T. Selection for host preference in *Anopheles gambiae*. **Nature**, v. 203, n. 4947, p. 852–854, 1964.

GUBLER, D. J. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. **Archives of Medical Research**, v. 33, n. 4, p. 330–342, 2002.

GUEDES, M. P. Culicidae (Diptera) no Brasil: relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. **Oecologia Australis** 16(2): 283-296, 2012.

GUEDES, M. L. P.; NAVARRO-SILVA, M. A. Mosquito community composition in dynamic landscapes from the Atlantic Forest biome (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 58(1) 88-94, 2014.

GUTIÉRREZ-LÓPEZ. R.; LOGAN, J.; PUENTE, J. M. **Ecology of Diseases Transmitted by Mosquitoes to Wildlife: Ecology and Control of Vector-Borne Diseases**. Volume 7, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3920/978-90-8686-931-2>>. Acesso em: 9 Jan. 2023.

GWADZ, R. W. Regulation of blood meal size in the mosquito. **Journal of Insect Physiology**, v. 15, n. 11, p. 2039–2044, 1969.

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. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. **Sci. Adv.** 1(2), 1–10, 2015.

HADDOW, A. D.; SCHUH, A. J.; YASUDA, C. Y.; KASPER, M. R.; HEANG, V.; HUY, R.; GUZMAN, H.; TESH, R. B.; WEAVER, S. C. Genetic characterization of zika virus strains: Geographic expansion of the asian lineage. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 6(2), 2012.

HAMER, G. L.; KITRON, U. D.; GOLDBERG, T. L.; *et al.* Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile Virus amplification. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, n. 2, p. 268–278, 2009.

HARBACH, R. E. The Culicidae (Diptera): A review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 1668, p. 591–638, 2007.

HARBACH, R. E. **Culicipedia: Species-group, genus-group and family-group names in Culicidae (Diptera)**. CABI: Wallingford, Oxfordshire, UK. 2018. xviii + 378 pp.

HARBACH, R. E. **Composition and Nature of the Culicidae (Mosquitoes)**. CABI: Wallingford, Oxfordshire, UK. xvii + 552 pp, 2024.

HARBACH, R. E.; KITCHING, I. J.; CULVERWELL, C. L.; DUBOIS, J.; LINTON, Y. M. Phylogeny of mosquitoes of tribe Culicini (Diptera: Culicidae) based on morphological diversity. **Zoologica Scripta**,41(5): 499-514, 2012.

HARBACH, R. **Mosquito Taxonomic Inventory**. 2025. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045>>. Acesso em: 14 fev 2025.

HARRIS, P.; COOKE, D. Survival and fecundity of mosquitoes fed on insect haemolymph. **Nature**, v. 222, p. 1264–1265, 1969.

HARRIS, P.; RIORDAN, D. F.; COOKE, D. Mosquitoes feeding on insect larvae. **Science**, v. 164, p. 184–185, 1969

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. 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, 2019.

HERNÁNDEZ-MARTINEZ. S., *et al.* Juvenile Hormone Controls Ovarian Development in Female *Anopheles albimanus* Mosquitoes. **Scientific Reports**, vol. 9, no. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-38631-6>>. Acesso em: 10 Jan. 2023.

HUTCHINGS, R. S. G.; SALLUM, M. A. M.; FERREIRA, R. L. M.; HUTCHINGS, R. W. Mosquitoes of the Jaú Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. **Medical and Veterinary Entomology** 19(4): 428-441, 2005.

IOC (Instituto Oswaldo Cruz). **Pesquisador aponta diferenças entre *Aedes aegypti* e pernilongo doméstico**. 2009. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=599&sid=32>>. Acesso em: 5 de fev de 2024).

KENNEY, J. L.; BRAULT, A. C. **The role of environmental, virological and vector interactions in dictating biological transmission of arthropod-borne viruses by mosquitoes**. 1ª ed. Elsevier Inc., 2014.

KEVEN, J. B.; REIMER, L.; KATUSELE, M.; *et al.* Plasticity of host selection by malaria vectors of Papua New Guinea. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 95, 2017.

KILPATRICK, A. M.; DASZAK, M.; JONES, M. J.; MARRA, P.P.; KRAMER, L. D. Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, p. 2327-2333, 2006.

KLOWDEN, M. J. Blood, sex and the mosquito -The mechanisms that control mosquito blood-feeding. **BioSciences**, v. 45, n. 5, p. 326–331, 1995.

KOELLA, J. C.; SORENSEN, F. L.; ANDERSON, R. A. The malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, increases the frequency of multiple feeding of its mosquito vector, *Anopheles gambiae*. **Proceedings of the Royal Society: Biological sciences**, v. 265, n. 1, p. 763–768, 1998.

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. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. **Elife**. 4, p. e08347, 2015.

LAURANCE, W. F. Theory meets reality: how habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. **Biological Conservation** 141(7): 1731-1744, 2008.

LEISNHAM, P., LESTER, P., SLANEY, D., WEINSTEIN, P., Anthropogenic Landscape Change and Vectors in New Zealand: Effects of Shade and Nutrient Levels on Mosquito Productivity. **Ecohealth** 1(3), 306–316, 2004.

LEHANE, M. J. **The biology of blood-sucking in insects**. 2o ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

LIMA, J., SILVA SOARES, S., VALLE, D., RAMOS, R., RIBEIRO GALARDO, A., DACUNHA, M. P., BRAGA, I. A., SILVA JÚNIOR, R. C. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 68 (3), 329-333, 2003.

LIMA-CAMARA, T. N. D., HONÓRIO, N. A., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de saúde pública** 22, 2079-2084, 2006.

LINDENMAYER, D. B., FISCHER, J. **Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis**. Island Press, 352, 2013.

LOPES, J. 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. **Revista de Saúde Pública** 31(4): 370-377, 1997.

LOPES, J., 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, 1997.

LOPES, J.; SILVA, M. A. N.; OLIVEIRA, V. D. R.; BRAGA, M. C. P.; BORSATO, A. M. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) que procriam em criadouros naturais e artificiais em área rural no Norte do Paraná, Brasil. III. Viabilização de recipientes como criadouro. **Semina** (Londrina), Londrina, v. 16, n.2, p. 244-253, 1995.

LOPES, J., ZEQUI, J. A., NUNES, V., OLIVEIRA, O. D., NETO, B. P. D., RODRIGUES, W. Immature Culicidae (Diptera) collected from the Igapó lake located in the urban área of Londrina, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 45, 465-471, 2002.

LU, T.; QIU, Y. T.; WANG, G.; *et al.* Odor coding in the maxillary palp of the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae*. **Current Biology**, v. 17, n. 18, p. 1533–1544, 2007.

LUCCI, E. A. **Geografia, o homem no espaço global**. 1. Ed. São Paulo: Editora Saraiva. 432p. 1997.

LUZ, E., CONSOLIM, J., BARBOSA, O. C., TORRES, P. B. Larvas de *Anopheles* (Subgênero *Kerteszia*) Theobald, 1905 encontradas em criadouros artificiais, no estado do Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 21(5): 466-468, 1987.

MARQUES, M. A. S. Mosquitos invasores na Europa e importância da sua vigilância em Portugal. **Revista Ibero-americana de saúde e envelhecimento** v. 3, n. 3, 2017.

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. Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. **PLoS One** 9(6), 2014.

MAYAGAYA, V. S.; NKWENGULILA, G.; LYIMO, I. N.; *et al.* The impact of livestock on the abundance, resting behaviour and sporozoite rate of malaria vectors in southern Tanzania. **Malaria Journal**, v. 14, n. 1, p. 17, 2015.

MEDEIROS-SOUSA, A. R., CERETTI-JÚNIOR, W., DE CARVALHO, G. C., NARDI, M. S., ARAUJO, A. B., VENDRAMI, D. P., MARRELLI, M. T. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: Larval habitats and temporal variation. **Acta Trop.** 150, 200–209, 2015.

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. Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) nos parques da cidade de São Paulo I. **Biota Neotrop.** 13, 317–321, 2013.

MEDEIROS-SOUSA, A. R., FERNANDES, A., CERETTI-JUNIOR, W., WILKE, A. B. B., MARRELLI, M. T. Mosquitoes in urban green spaces: Using an island biogeographic approach to identify drivers of species richness and composition. **Sci. Rep.** 7, 1–11, 2017.

MOURA, M. M. C. B., *et al.* Spatio-Temporal Dynamics o *Aedes aegypti* and *albopictus* Oviposition in an Urban Area of Northeastern Brazil. **Tropical Medicine & International Health**, vol. 25, no. 12, pp. 1510–1521, 2020.

MOHAMMED, A.; CHADEE, D. D. Effects of Different Temperature Regimens on the Development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Mosquitoes. **Acta Tropica**, vol. 119, no. 1, pp. 38–43, 2011.

MONTAGNER, F. R. G. **Ecologia de mosquitos (DIPTERA: CULICIDAE) em criadouros artificiais em oito áreas verdes do Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2014.

MONTAGNER, F. R. G., SILVA, O. S., JAHNKE, S. M. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. **Brazilian J. Biol.** 78(2), 233–239, 2018.

MS (Ministério da Saúde). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de Vigilância do *Culex quinquefasciatus*.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF.

MS (Ministério da Saúde). 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. 2013. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Brasília, DF.

MUKWAYA, L. G. Genetic control of feeding preferences in the mosquitoes *Aedes* (*Stegomyia*) *simpsoni* and *aegypti*. **Physiological Entomology**, v. 2, p. 133–145, 1977.

MURILLO, C.; ASTAIZA, R.; FAJARDO, P. Biología de *Anopheles* (*Kerteszia*) *neivai* H., D. & K., 1913 (Diptera:Culicidae) en la costa pacífica de Colombia. III Medidas de luminosidad y el comportamiento de picadura. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 2, p. 109–112, 1988.

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika virus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 487–524, 2016.

MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A. B., KENT, J. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. **Nature** 403(6772): 853–858, 2000.

NAYAR, J. K.; SAUERMAN JR, D. M. The effects of nutrition on survival and fecundity in Florida mosquitoes. Part 2. Utilization of a blood meal for survival. **Journal of Medical Entomology**, v. 12, n. 1, p. 99–103, 1977.

NELMS, B. M.; MACEDO, P. A.; KOTHEA, L.; SAVAGE, H. M.; REISEN, W. K. Overwintering biology of *Culex* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in the Sacramento Valley of California. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 773–90, 2013.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). **Dengue**. 2024. Disponível em: <www.paho.org/en/topics/dengue>. Acesso em: 10 Set. 2024.

PASCINI, T V *et al.* The Fine Structure of the Spermatheca in *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, vol. 106, no. 6, pp. 857–867, 2013.

REINBOLD-WASSON, D. D.; REISKIND, M. H. Comparative Skip-Oviposition Behavior among Container Breeding *Aedes* spp. Mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, vol. 58, no. 6, pp. 2091–2100, 2021.

REINHOLD, J., *et al.* Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes: A Review. **Insects**, vol. 9, no. 4, p. 158, 2018

REITER, P. Climate change and mosquito-borne disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 1, p. 141–161, 2001.

RIBEIRO, J. M. C.; FRANCISCHETTI, I. M. B. Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 73–88, 2003.

RUEDA, L. M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. **Hydrobiologia** 595, 477–487, 2008.

RUIZ, M. O., WALKER, E. D., FOSTER, E., HARAMIS, L., KITRON, U. D. Association of West Nile virus Illness and urban landscapes in Chicago and Detroit. **International Journal of Health Geographics** 6(1): 1, 2007.

SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K., URDANETA-MARQUEZ, L., RAJATILEKA, S., MOULTON, M., FLORES, A., FERNANDEZ-SALAS, I., BISSET, J., RODRIGUEZ, M., MCCALL, P. J., DONNELLY, M. J., RANSON, H., HEMINGWAY, J., BLACK 4TH, W. C. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. **Insect Mol. Biol.** 16 (6), 785-798, 2007.

SANTOS, N. S. O., ROMANOS, M. T. V., WIGG, M. D. **Virologia humana**. 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2015.

SAUERS, L. A., *et al.* Non-Linear Relationships between Density and Demographic Traits in Three *Aedes* Species. **Scientific Reports**, vol. 12, no. 1, 2022.

SCHYMURA, D.; FORSTNER, M.; SCHULTZE, A.; *et al.* Antennal expression pattern of two olfactory receptors and an odorant binding protein implicated in host odor detection by the malaria vector *Anopheles gambiae*. **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 7, p. 614–626, 2010.

SCOTT, T. W.; TAKKEN, W. Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 3, p. 114-121, 2012.

SHAO, L.; DEVENPORT, M.; JACOBS-LORENA, M. The peritrophic matrix of hematophagous insects. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 47, n. 2, p. 119–125, 2001.

SIVAN, A., *et al.* Thermotolerance and Acclimation in the Immature Stages of *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) to Simulated Thermal Stress. **International Journal of Tropical Insect Science**, vol. 41, no. 1, pp. 333–344, 2020.

SMALLEGANGE, R. C.; QIU, Y. T.; BUKOVINSZKINÉ-KISS, G.; *et al.* The effect of aliphatic carboxylic acids on olfaction-based host-seeking of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* sensu stricto. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 933-943, 2009.

SMALLEGANGE, R. C.; VERHULST, N. O.; TAKKEN, W. Sweaty skin: An invitation to bite? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 143–148, 2011.

SONODA, K.C. **Efeito da vegetação ripária na qualidade do recurso hídrico no Distrito Federal**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 1–3, 2010.

SOTA, T.; HAYAMIZU, E.; MOGI, M. Distribution of biting *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) among pigs: effects of host size and behavior. **Journal of Medical Entomology**, v. 28, n. 3, p. 428–433, 1991.

STRICKMAN D. Longevity of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) compared in cages and field under ambient conditions in rural Thailand. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**. 37(3):456-62, 2006.

TAIPE-LAGOS, C.B., NATAL, D. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. **Rev. Saude Publica** 37(3), 275–279, 2003.

TAKKEN, W.; KNOLS, B. G. J.; OTTEN, H. Interactions between physical and olfactory cues in the host seeking behaviour of mosquitoes: the role of relative humidity. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 91, n. 1, p. 119–120, 1997.

TAKKEN, W.; VERHULST, N. O. Host preferences of blood-feeding mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 1, p. 433–453, 2013.

TAKKEN, W.; VERHULST, N. O. Chemical signaling in mosquito–host interactions: the role of human skin microbiota. **Current Opinion in Insect Science**, v. 20, p. 68–74, 2017.

TELANG, A.; WELLS, M. A. The effect of larval and adult nutrition on successful autogenous egg production by a mosquito. **Journal of Insect Physiology**, v. 50, n. 7, p. 677–685, 2004.

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. Ecological aspects of potential arbovirus vectors (Diptera: Culicidae) in an urban landscape of Southern Amazon, Brazil. **Acta Trop.** 202, 105276, 2020.

VONTAS, J., KIOULOS, E., PAVLIDI, N., MOROU, E., DELLA TORRE, A., RANSON, H. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. **Pestic. Biochem. Physiol.** 104 (2),126-131, 2012.

XUE, A. R.; BARNARD, D. R.; ALI, A. Influence of multiple blood meals on gonotrophic dissociation and fecundity in *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 25, n. 4, p. 504–507, 2009.

YAMANY, A. S.; ADHAM, F. K.; MEHLHORN, H. Histologic parameters for detecting multiple blood meals in *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle. **Parasitology Research**, p. 1–11, 2016.

YANG, D., *et al.* Semi-Field Life-Table Studies of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Guangzhou, China. **PLOS ONE**, vol. 15, no. 3, p. e0229829, 2020.

WAAGE, J. K. The evolution of insect/vertebrate associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 12, n. 1, p. 187–224, 1979.

WALKER, E. D.; EDMAN, J. D. Influence of defensive behavior of eastern chipmunks and gray squirrels (Rodentia: Sciuridae) on feeding success of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 23, n. 1, p. 1–10, 1986.

WANG, Z.; ZHANG, X.; LI, C.; *et al.* Dissemination of Western Equine Encephalomyelitis Virus in the potential vector, *Culex pipiens pallens*. **Journal of Vector Ecology**, v. 35, n. 2, p. 313–317, 2010.

WEBBER, L. A.; EDMAN, J. D. Anti-mosquito behavior of Ciconiiform birds. **Animal Behaviour**, v. 20, n. 2, p. 228–232, 1972.

WEIDIG, N. C., *et al.* The Goldilocks Principle: Finding the Balance between Water Volume and Nutrients for Ovipositing *Culex* Mosquitoes (Diptera: Culicidae). **PLOS ONE**, vol. 17, no. 11, p. e0277237, 2022.

WILKERSON, R. C., LINTON, Y. M., FONSECA, D. M., SCHULTZ, T. R., PRICE, D. C., & STRICKMAN, D. A. Making mosquito taxonomy useful: a stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0133602, 2015.

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

WILSON, A. J.; MORGAN, E. R.; BOOTH, M.; *et al.* What is a vector? **Philosophical Transactions Royal Society B**, v. 372, p. 20160085, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Efficacy-Testing of Traps for Control of *Aedes* spp.** 2018, Disponível em: <https://doi.org/WHO/CDS/NTD/VEM/2018.06>. Acesso em 13 Jan. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Dengue and severe dengue**. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acesso em: 03 maio 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Chikungunya**. 2024. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/chikungunya/#tab=tab_1. Acesso em: 03 maio 2023.

WORMINGTON, J. D; JULIANO, S. A. Sexually dimorphic body size and development time plasticity in *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Evolutionary ecology research**, v. 16, p. 223–234, 2014.

WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit). **Systematic Catalog of Culicidae**. 2025. Disponível em: http://www.mosquitocatalog.org/taxon_table.aspx. Acesso em: 10 março 2025.

ZAHOULI, J. B. Z., KOUDOU, B. G., MÜLLER, P., MALONE, D., TANO, Y., UTZINGER, J. 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, 2017.

ZARA, A. L. S. A., SANTOS, S. M., FERNANDES-OLIVEIRA, E. S., CARVALHO, R. G., COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**. 25, 391–404, 2016.

ZEQUI, J. A. C., LOPES, J., MEDRI, Í. M. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Zool.** 22(3), 656–661, 2005.

ZHENG, M., *et al.* Standard Operating Procedures for Standardized Mass Rearing of the Dengue and Chikungunya Vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) - II - Egg Storage and Hatching. **Parasites & Vectors**, vol. 8, no. 1, 2015.

4 CAPÍTULO 1

DIVERSIDADE DE CULICÍDEOS CREPUSCULARES COM IDENTIFICAÇÃO DA FONTE ALIMENTAR SANGUÍNEA E DETECÇÃO DE ARBOVÍRUS EM FUNDOS DE VALE URBANOS NO MUNICÍPIO DE LONDRINA, PARANÁ BRASIL

RESUMO

Devido as atividades humanas, os ambientes têm se tornado cada vez mais antrópicos, formando criadouros artificiais que auxiliam no processo de proliferação destes mosquitos. As mudanças climáticas globais têm favorecido vetores nos diversos ambientes no mundo todo, inclusive com veiculação de novos arbovírus. Este estudo teve como objetivo avaliar os índices ecológicos de culicídeos crepusculares em fundos de vale do Ribeirão Cambezinho e relacionando com a integridade dos ambientes. O Ribeirão Cambezinho possui cerca de 25 km de extensão e cobre a maior parte da área urbana de Londrina, Paraná. Foram realizadas coletas entre dezembro de 2022 a junho de 2023 em seis pontos de coleta. Em cada ponto foi determinado um transecto de aproximadamente 200 m em cada margem do ribeirão, sendo realizada a aspiração de mosquitos adultos, utilizando o aspirador de Nasci, por um período de 30 minutos. Foram realizadas cinco réplicas em cada área amostral, no período crepuscular, havendo no mínimo, um intervalo de duas semanas entre as coletas em cada local. Foram realizadas as identificações e posteriormente acondicionadas a - 80° C. Foram coletados 107 espécimes de culicídeos adultos, pertencendo a quatro espécies e cinco morfoespécies, observando *Aedes scapularis* e *Culex quinquefasciatus* foram as espécies mais abundantes. Destaca-se a presença de espécies importantes para a saúde pública como como o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Não foi possível a amplificação das amostras de sangue nos mosquitos coletados. Não houve a detecção de vírus nas amostras analisadas. Fica nítida a importância do monitoramento de vetores em regiões de fundo de vale pois abrigam uma diversidade de espécies sinantrópicas e selvagens que tem relação com a integridade do ambiente.

Palavras-chave: Antropização; Integridade ambiental; Saúde pública; Mosquitos.

ABSTRACT

Due to human activities, environments have become increasingly anthropic, forming artificial breeding grounds that aid in the proliferation process of these mosquitoes. Global climate change has favored vectors in various environments around the world, including the transmission of new arboviruses. This study aimed to evaluate the ecological indices of crepuscular Culicidae in the valley bottoms of Ribeirão Cambezinho and relate them to the integrity of the environment and verify the degree of synanthropy of the species found. Ribeirão Cambezinho is approximately 25 km long and covers most of the urban area of Londrina, Paraná. Collections were carried out between December 2022 and June 2023 at six collection points. At each point, a transect of approximately 200 m was determined on each bank of the stream, and adult mosquitoes were aspirated using the Nasci aspirator for a period of 30 minutes. Five replicates were performed in each sampling area, during the twilight period, with at least a two-week interval between collections at each location. Identifications were performed and subsequently stored at -80°C. A total of 107 specimens of adult Culicidae were collected, belonging to four species and five morphospecies, with *Aedes scapularis* and *Culex quinquefasciatus* being the most abundant species. The presence of species important to public health, such as *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, stands out. It was not possible to amplify the blood samples from the mosquitoes collected. No viruses were detected in the samples analyzed. The importance of monitoring vectors in valley bottom regions is clear, as they are home to a diversity of synanthropic and wild species that are related to the integrity of the environment.

Keywords: Anthropization; Environmental integrity; Public health; Mosquitoes.

4.1 INTRODUÇÃO

A família Culicidae, inclui os chamados mosquitos, sovelas, carapanãs, bicuda e são de extrema importância para a saúde pública em regiões tropicais e subtropicais. Pertencendo à Infraordem Culicomorpha, os Culicidae formam um grupo monofilético e têm como grupos irmãos as famílias Chaoboridae, Corethrellidae e Dixidae (MILLER *et al.*, 1997; WIEGMANN *et al.*, 2011; WILKERSON *et al.*, 2021).

A família se divide em duas subfamílias, Anophelinae e Culicinae, compreendendo um total de 113 gêneros e 3.719 espécies (WILKERSON *et al.*, 2015, 2021; HARBACH, 2018; HARBACH, 2025; WRBU; 2025). Os gêneros *Aedes* Meigen, 1818, *Anopheles* Meigen, 1818 e *Culex* Linnaeus, 1758, são os mais conhecidos por conta da sua importância médica, sendo reconhecidos como vetores de arbovírus e outros patógenos (WILKERSON *et al.*, 2015). Os comportamentos destes mosquitos são diversos, sendo o *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 e *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) encontrados frequentemente no interior de domicílios e estabelecimentos urbanos, enquanto *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) 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; HEINISH *et al.*, 2019).

O local onde ocorre a oviposição das fêmeas recebe o nome de criadouro. Diversas características dos criadouros influenciam uma fêmea grávida durante a escolha do local para colocar seus ovos, como cor, consistência, tamanho, forma, entre outros (LOPES *et al.*, 1995). Quando uma fêmea escolhe um recipiente artificial para depositar seus ovos pode ser somente um tipo de oportunismo, como também pode ser um caso de mudança em seus hábitos (BEIER *et al.*, 1983; LUZ *et al.*, 1987; LOPES, 1997). Em paisagens alteradas ocorrem mudanças na distribuição e oferta de criadouros favorecendo espécies sinantrópicas (MONTAGNER, 2014). Na fase adulta, os mosquitos são terrestres e as fêmeas se alimentam de sangue, processo denominado de hematofagia, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento adequado dos ovos e na transmissão de diversos agentes patogênicos (WILKERSON *et al.* 2021), causando uma atenção no setor da saúde pública.

O processo de urbanização intensificado, em decorrência das atividades humanas nas cidades, fez com que o ser humano modificasse o meio ambiente de forma acelerada alterando diversos processos ecológicos e afetando muitos organismos (LUCCI, 1997). As necessidades básicas da urbanização com moradias,

trabalho, indústrias, escolas e hospitais, unidas ao mal planejamento tem provocado grandes impactos ambientais (DE SOUZA & HAYASHI, 2013). O crescimento populacional juntamente com as suas demandas de ocupação do solo, têm provocado a fragmentação e perda florestal alterando e diminuindo os micro-habitats, padrões de dispersão, distribuição, comportamento e sobrevivência das espécies (LAURANCE, 2008; MYERS *et al.*, 2000; FAHRIG, 2003).

Locais com alta diversidade de espécies vegetais desempenham um papel crucial na estabilização da temperatura do ambiente e na preservação da qualidade do ar, do solo, da água e manutenção da biodiversidade local em graus variáveis de acordo com a conservação. Eles desempenham um papel fundamental na prevenção da erosão e do assoreamento nas margens dos corpos d'água, bem como na filtragem de agentes poluentes (SONODA, 2010). Os fragmentos urbanos são locais que apresentam condições de abrigar espécies de Culicidae vetoras de patógenos, com preferência por áreas na área urbana com presença de maior cobertura vegetal e diversidade de criadouros, sejam naturais ou artificiais (ZEQUI *et al.*, 2005), e devido à proximidade das populações são locais que necessitam de monitoramento quanto a presença do vetor e seus patógenos.

Diante disso, este estudo teve como objetivos avaliar a diversidade de culicídeos crepusculares em regiões de fundos de vale relacionando com a integridade ambiental, e identificar a fonte alimentar sanguínea e presença de vírus, no município de Londrina, Paraná.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 ÁREA DE ESTUDO

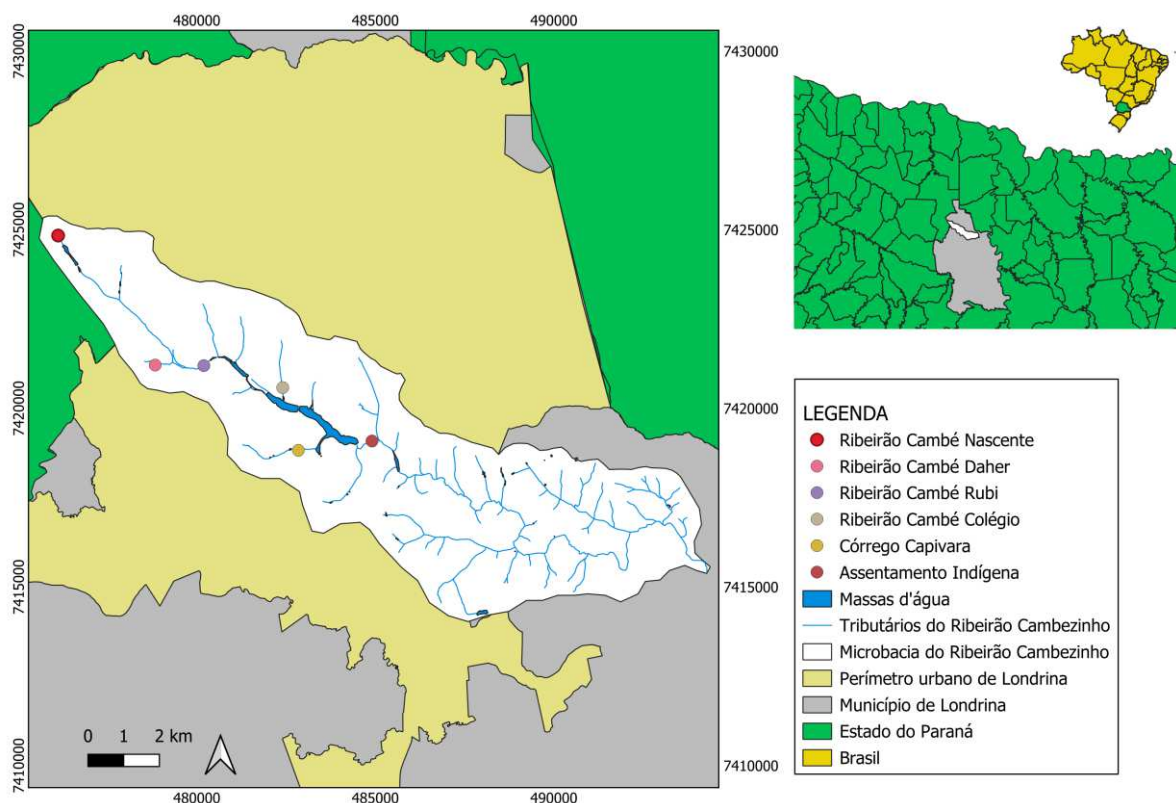
Londrina está localizada no norte do Estado do Paraná. O clima é subtropical úmido, com médias anuais de temperatura de 21° C, umidade relativa do ar entre 69 e 76% e precipitação pluviométrica de 1400 a 1800 mm, sendo a presença de chuvas em todas as estações do ano, mas concentradas no período do verão (CAVAGLIONE *et al.*, 2000; NITSCHKE *et al.*, 2019). A vegetação é caracterizada como Floresta Estacional Semidecidual pertencente ao bioma Mata Atlântica, onde a sua paisagem é composta por pequenos remanescentes devido ao intenso processo de fragmentação por ações de atividades agropecuárias (MAACK, 1981; LOPES 2002;

SOARES; MEDRI, 2002; WREGE *et al.*, 2017; SEMA, 2018)

O Ribeirão Cambé ou Cambezinho, pertence a bacia hidrográfica do rio Tibagi e apresenta a sua maior extensão no perímetro urbano do município de Londrina, com uma área total de 76 km², sendo 50 km² em área urbanizada e 26 km² em área rural (ÁGUAS PARANÁ, 2015). A área Ribeirão Cambé Nascente, fica localizada entre os municípios de Londrina e Cambé. A nascente está localizada próximo ao entroncamento da BR-369 e PR-445, com poucas residências, 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 doméstico e industrial. A Ribeirão Cambé Daher está inserida na Mata Daher, sendo uma área 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 doméstico e de construção civil. A área Ribeirão Cambé Rubi está localizada próxima as residências, com constante circulação de pessoas; apresenta vegetação marginal reduzida e alterada; possui grande quantidade de lixo sólido doméstico e despejo de esgoto. A localidade Ribeirão Cambé Colégio Universitário está próxima a residências, edifícios comerciais e um colégio, havendo constante circulação de pessoas; margens com vegetação arbórea reduzida; descarte de lixo sólido doméstico e evidência de despejo de esgoto. A área Córrego Capivara está inserido em área mais povoada, com muitas residências ao redor e circulação de pessoas; mata residual com vegetação alterada e reduzida; presença de lixo sólido doméstico e industrial. O ponto Assentamento Indígena possui moradia dos povos Kaingang, havendo outras residências ao redor, mas localizada em região mais periférica e menos povoada; circulação constante de pessoas, veículos e animais domésticos; vegetação marginal arbustiva comprometida; grande quantidade de lixo sólido doméstico.

As coletas foram realizadas em seis áreas de fundo de vale situadas no perímetro urbano de Londrina: Ribeirão Cambé Nascente – RCN, Ribeirão Cambé Daher – RCD, Ribeirão Cambé Rubi – RCR, Ribeirão Cambé Colégio Universitário – RCC, Córrego Capirava – COC e Assentamento Indígena – AIN (Figura 01). Estas áreas estão distribuídas pelo ribeirão Cambé e seus afluentes, importante curso d'água para o município.

Figura 1 – Mapa das áreas de coleta localizadas no perímetro urbano de Londrina, Paraná, Brasil: 1) Ribeirão Cambé Nascente (RCN), 2) Ribeirão Cambé Daher (RCD), 3) Ribeirão Cambé Rubi (RCR), 4) Ribeirão Cambé Colégio Universitário (RCC), 5) Córrego Capivara (COC) e 6) Assentamento Indígena (AIN).



Fonte: próprio autor. Elaborado no software QGIS 3.34.0.

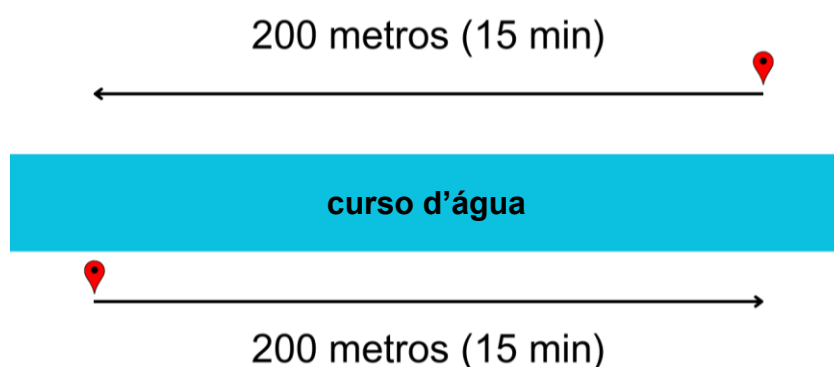
4.2.2 INTEGRIDADE AMBIENTAL

Para a avaliação da integridade ambiental dos pontos de coleta, foi aplicado o Protocolo de Avaliação Rápida (PAR) (CALLISTO *et al.*, 2002). Este método consiste na análise da integridade das margens e do leito dos corpos d'água, observando a vegetação marginal e a heterogeneidade do ambiente aquático. Este protocolo é baseado no valor final obtido através do somatório dos valores atribuídos a cada parâmetro, baseado na observação das condições ambientais. As pontuações finais caracterizam o nível de preservação das condições ecológicas que podem ser classificados como trechos impactados, alterados ou naturais.

4.2.3 COLETA DE CULICÍDEOS ADULTOS

As coletas ocorreram entre os meses dezembro de 2022 e junho de 2023 sob a licença permanente SISBIO/IBAMA (23093) em transectos previamente estabelecidos de aproximadamente 200 metros ao longo de cada margem dos corpos d'água. Foram realizadas cinco repetições em cada área selecionada com intervalo de no mínimo duas semanas entre as coletas. Os mosquitos foram capturados utilizando horizontalmente o aspirador de Nasci (NASCI, 1981) no período crepuscular. Cada coleta teve duração de 30 minutos (figura 02).

Figura 2 - Representação esquemática da coleta de culicídeos adultos durante o crepúsculo utilizando aspirador de Nasci, em cada local de coleta, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná, entre o período de dezembro de 2022 a junho de 2023.



Fonte: próprio autor.

Os mosquitos coletados foram acondicionados, em sacos de tule do aspirador de Nasci, até à chegada ao laboratório de Entomologia Geral e Médica da Universidade Estadual de Londrina, onde os indivíduos foram resfriados à -20°C para diminuição da atividade, possibilitando a identificação e contagem dos mesmos. A identificação dos mosquitos foi realizada utilizando as chaves de Consoli e Oliveira (1994), Forattini (2002), Wilkerson *et al.* (2021) e WRBU (2025). Após a identificação, cada mosquito foi acondicionado em microtubo de 1,5 mL e armazenados a -80°C . A identificação de todos os indivíduos foi confirmada com assessoria do Prof^o. Dr. Mário Antonio Navarro e comparação com a coleção do Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC2) no Departamento de Zoologia da

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Campus Curitiba.

4.2.4 ANÁLISE DO SANGUE DE REPASTO SANGUÍNEO

4.2.4.1 EXTRAÇÃO DO DNA, REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) E SEQUENCIAMENTO

Os ácidos nucleicos foram obtidos utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue (Quiagen), seguindo as recomendações do fabricante. Brevemente, cada fêmea foi macerada no tubo plástico de 1,5 mL contendo 180 µL de tampão ATL e 20 µL de proteinase K com ajuda de um pistilo. O macerado foi agitado vigorosamente no vórtex e logo incubado a 56°C durante 01h30min. Depois deste período foram adicionados 200 µL tampão AL à cada macerado e em seguida incubados durante 10 min a 70°C. Na sequência, foram adicionados 200 µL de etanol 96% a cada tubo e logo agitados no vórtex. Cada macerado foi transferido à coluna de extração e logo centrifugado. Em seguida a membrana foi lavada com dois tipos de tampão (AW1 e AW2) e depois os ácidos nucleicos foram eluidos da membrana com 30 µL do tampão AE fornecido pelo kit. A quantidade (ng µL⁻¹) e qualidade (relações A260/A280 e A260/A230) dos ácidos nucleicos foram medidas utilizando um espectrofotômetro NanoDrop®.

Todas as amostras foram analisadas usando Nested PCR com um conjunto de oligonucleotídeos específicos do gene mitocondrial COI de vertebrados das classes Amphibia, Reptilia, Aves e Mammalia descritos por Alcaide *et al.* (2009). As reações de PCR foram seguidas de acordo com Santos *et al.* (2019) com pequenas alterações. A primeira reação de PCR foi realizada num volume de 30 µL contendo 1.5 U da enzima Taq DNA Polimerase (Sigma), 3,0 µL de 10X tampão (Sigma), 1,6 mM de MgCl₂ (Invitrogen), 0,5 mM de mix dNTP (Invitrogen), 20 µg de BSA (Albumina Sérica Bovina- Thermo Fisher), 5% de DMSO, 0,7 µM oligonucleotídeo M13BC-FW FW (5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT HAA YCA YAA RGA YAT YGG-3') e BCV-RV1 (5'-GCY CAN ACY ATN CCY ATR TA-3') e 1 uL de ADN (100 ng µL⁻¹). As condições de amplificação foram: desnaturação inicial de 3 minutos a 94 °C, seguida de 39 ciclos de 40 segundos a 94°C, 40 segundos a 45°C e 1 minuto a 72°C, com extensão final de 7 minutos a 72°C, em termociclador (Applied Biosystems TM Veriti TM). A segunda reação de PCR foi realizada num volume de 30 µL contendo 1 U da enzima Taq DNA

Polimerase (Sigma), 3,0 µL de 10X tampão (Sigma), 3,8 mM de MgCl₂ (Invitrogen), 0,7 mM de mix dNTP (Invitrogen), 5 µg de BSA (Albumina Sérica Bovina- Thermo Fisher), 5% de DMSO, 0,7 µM dos oligonucleotídeos M13 (5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTG-3') e BCV-RV2 (5'-ACY ATN CCY ATR TAN CCR AAN GG-3') e 1,0 µL do produto da primeira PCR diluído 1:5000. As condições de amplificação da segunda PCR foram desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C, seguida do protocolo Touchdown de 16 ciclos a 94°C por 40 segundos, redução da temperatura de anelamento de 60°C para 45°C (- 1 °C/ciclo), seguido por 1 minuto de extensão a 72°C. Logo 14 ciclos de 94°C por 40 segundos, 45°C por 40 segundos e 72°C por um minuto, com extensão final de 7 minutos a 72°C. O tamanho esperado do fragmento amplificado após a segunda PCR variou entre 750 e 900 pb. Nas reações de PCR foi incluído um tubo contendo o master mix e água a cambio de ácidos nucleicos como controle da reação.

A amplificação dos produtos de PCR foi visualizada em transluminador de Led (Kasvi) após eletroforese em gel de agarose 1,2% e TBE. As amostras que amplificaram foram purificadas utilizando o QIAquick® PCR Purification Kit (Quiagen) conforme orientações do fabricante. O produto de PCR foi eluído da membrana da coluna utilizando 30 µL do tampão EB. O produto de PCR purificado foi quantificado usando espectrofotômetro NanoDrop®, em seguida as amostras foram normalizadas para 20 ng µL⁻¹ e logo enviadas para sequenciamento Sanger na GoGenetic no Tecno parque da Pontifícia Universidade Católica – PUC em Curitiba. Foi utilizado o oligonucleotídeo M13 na concentração 5 µM para realizar o sequenciamento.

4.2.4.2 Identificação das espécies hospedeiras do repasto

As sequências de nucleotídeos obtidas foram comparadas com as sequências disponíveis no banco de dados GenBank (NCBI: National Center for Biotechnology Information – <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) usando a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). As sequências foram atribuídas a uma espécie em particular somente quando apresentaram similaridade ≥ 98%.

4.2.5 ANÁLISE VIRAL

Os ácidos nucleicos foram extraídos das fêmeas de *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. scapularis* e *Culex quinquefasciatus* formando grupos contendo de 1 a 33 fêmeas. As fêmeas foram maceradas em 150 µL de tampão-fosfato salino (PBS) com ajuda de um pistilo. Após centrifugação (4°C), 140 µL do sobrenadante foram retirados e utilizados para a extração do RNA viral utilizando o kit QIAamp Viral RNA kit (Qiagen®) de acordo com as recomendações do fabricante. O RNA viral foi eluído da membrana num volume final de 50 µL de tampão AVE. A qualidade e quantidade do RNA viral extraído foi confirmada utilizando um espectrofotômetro Nanodrop-2000 (Thermo Fischer Scientific) e logo armazenados em - 80°C.

A detecção dos arbovírus Dengue, Zika e Chikungunya foi realizada utilizando uma sonda multiplex do kit qPCR/TaqMan technology (XG-ZDC-MB, Biometrix-MobiusÒ, registro ANVISA: 80502070100) seguindo as recomendações do fabricante em PCR em tempo real usando um termociclador Rotor-Gene Q (QiagenÒ). Foram usados 10 µL de RNA viral para a determinação da presença de cada arbovírus. Cada tubo de reação continha buffer de reação, sondas e oligonucleotídeos, enzima, e RNA viral, ademais de controle interno da reação. O controle interno tem como objetivo validar o processo de extração do RNA e a preparação do máster mix usado na reação de qPCR. As análises também incluem os controles positivos dos três arbovírus avaliados e um controle negativo.

4.2.6 ANÁLISE DE DADOS

Para analisar a estrutura da comunidade de Culicidae foram calculados os índices ecológicos Abundância, Riqueza de Margalef, Equitabilidade de Pielou, Diversidade de Simpson (1-D), Diversidade de Shannon-Wiener e Dominância de Berger-Parker. A similaridade entre as áreas foi calculada pelos índices de Morisita e Bray-Curtis, sendo os valores desses coeficientes transformados num dendrograma para melhor interpretação.

Foram aplicados o 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 a 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.

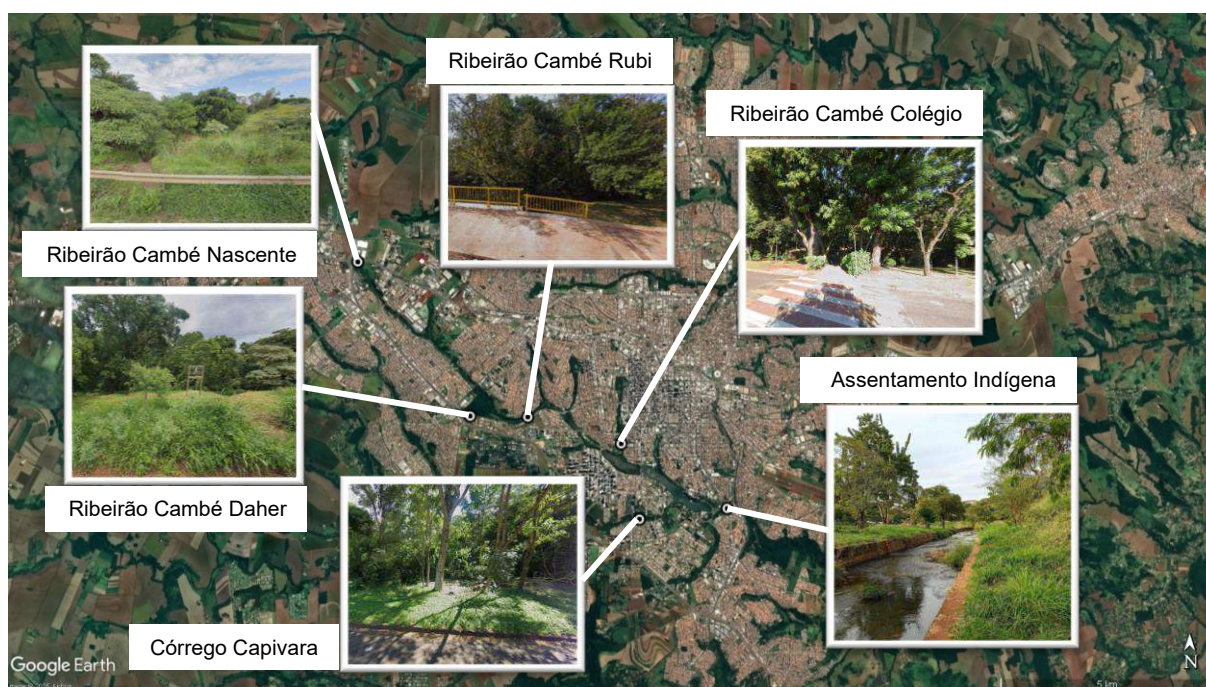
As análises foram realizadas por meio do programa Past (versão 4.03).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 DIAGNÓSTICO AMBIENTAL

Os resultados da avaliação de integridade ambiental para cada área de coleta estão descritos no quadro 01. Todas as áreas estão dentro do ambiente urbano, e nenhuma delas foi classificada como ambiente natural.

Quadro 1 - Protocolo de Avaliação Rápida das áreas amostradas, entre o período de dezembro de 2022 a junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná.



ÁREA	COORDENADAS	INTEGRIDADE AMBIENTAL
Ribeirão Cambé Nascente	23°17'10.13"S / 51°14'0.99"O	Impactado
Ribeirão Cambé Daher	23°19'5.51"S / 51°12'18.03"O	Alterado
Ribeirão Cambé Rubi	23°19'5.28"S / 51°11'34.64"O	Alterado
Ribeirão Cambé Colégio Universitário	23°19'27.06"S / 51°10'19.53"O	Impactado
Córrego Capivara	23°20'24.18"S / 51°10'4.20"O	Alterado
Assentamento Indígena	23°20'15.78"S / 51° 8'51.54"O	Impactado

4.3.2 COMUNIDADE DE CULICÍDEOS

Foram coletados 107 culicídeos adultos distribuídos em quatro espécies e cinco morfoespécies: *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. scapularis* (RONDANI, 1848), *Aedes* sp.1, *Anopheles* sp.1, *Anopheles* sp.2, *Anopheles* sp.3, *Cx. quinquefasciatus* e Culicinae sp.1 (tabela 01).

Tabela 1 - Culicídeos adultos coletados durante o crepúsculo com aspirador de Nasce entre dezembro de 2022 e junho de 2023 nos diferentes locais do ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná.

Táxons	RCN	RCD	RCR	RCC	COC	AIN	Total
<i>Aedes aegypti</i>	0	0	2	2	0	2	6
<i>Aedes albopictus</i>	1	0	4	0	0	6	11
<i>Aedes scapularis</i>	0	0	1	54	1	1	57
<i>Aedes</i> sp.1	1	0	0	2	0	0	3
<i>Anopheles</i> sp.1	0	0	0	0	1	0	1
<i>Anopheles</i> sp.2	0	0	0	0	1	0	1
<i>Anopheles</i> sp.3	2	2	0	0	0	0	4
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	3	3	14	0	2	23
Culicinae sp.1	0	0	0	0	0	1	1
Total espécimes	5	5	10	72	3	12	107

Legenda: RCN: Ribeirão Cambé Nascente; RCD: Ribeirão Cambé Daher; RCR: Ribeirão Cambé Rubi; RCC: Ribeirão Cambé Colégio Universitário; COC: Córrego Capivara; AIN: Assentamento Indígena.

Aedes scapularis foi a espécie mais abundante, representando 53,27% do total das espécies coletadas, seguida por *Cx. quinquefasciatus* com 21,50% e *Ae. albopictus* com 10,28%. *Ae. aegypti*, *Anopheles* sp. 3 e *Aedes* sp. 1 foram representadas respectivamente pelas proporções 5,61%, 3,74% e 2,80%. E as espécies com apenas um indivíduo coletado foram *Anopheles* sp. 1, *Anopheles* sp. 2 e Culicinae sp. 1, representando cada uma 0,93% do total.

Ribeirão Cambé Colégio (RCC) foi o ponto de coleta com maior valor de abundância (72 indivíduos - 67,29%). Já o ponto Córrego Capivara (COC) teve o menor número de culicídeos coletados (3 indivíduos - 2,80%). Os valores de

abundância, dominância de Berger-Parker, riqueza de Margalef, equitabilidade de Pielou, diversidade de Simpson (1-D) e diversidade de Shannon-Wiener estão representados na tabela 02.

Tabela 2 - Abundância, dominância, riqueza, equitabilidade e diversidade de culicídeos adultos capturados com aspirador de Nasci, entre o período de dezembro de 2022 e junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná.

Índices ecológicos	RCN	RCD	RCR	RCC	COC	AIN
Abundância	5	5	10	72	3	12
Dominância de Berger-Parker	0,400	0,600	0,400	0,750	0,333	0,545
Riqueza de Margalef	1,864	0,621	1,303	0,701	1,820	1,251
Equitabilidade de Pielou	0,961	0,971	0,923	0,528	1,000	0,843
Diversidade de Simpson	0,720	0,480	0,700	0,398	0,667	0,681
Diversidade de Shannon	1,332	0,673	1,280	0,733	1,099	1,169

Legenda: RCN: Ribeirão Cambé Nascente; RCD: Ribeirão Cambé Daher; RCR: Ribeirão Cambé Rubi; RCC: Ribeirão Cambé Colégio Universitário; COC: Córrego Capivara; AIN: Assentamento Indígena.

Os maiores valores para riqueza de Margalef foram nas áreas Ribeirão Cambé Nascente (RCN), sendo o menor valor em Ribeirão Cambé Daher (RCD). Já nas análises de equitabilidade de Pielou as áreas COC e RCD obtiveram os maiores valores. Por outro lado, a área RCC obteve o menor valor. Nas análises dos índices de diversidade, os valores tanto Simpson quanto Shannon-Wiener foram os mais altos em RCN e Ribeirão Cambé Rubi (RCR). Já os resultados com valores mais baixos para a diversidade Simpson foi em RCC, e para diversidade de Shannon-Wiener foi para a área RCD. Os resultados de dominância de Berger-Parker demonstraram os maiores valores para RCC e RCD, sendo que COC obteve o menor valor.

Para verificar se houve diferença significativa entre os resultados dos índices de diversidade foi realizado o teste t de Hutcheson, que compara Índice de diversidade de Shannon dos pontos amostrais, retornando um p-valor ($\alpha=0,05$) indicado na tabela 3 com os valores significativos destacados com asterisco.

Tabela 3 - Resultados do teste t de Hutchenson comparando o índice de diversidade de Shannon de Culicidae crepusculares coletados em fundos de vale urbanos no município de Londrina, Paraná, Brasil (*diferença significativa).

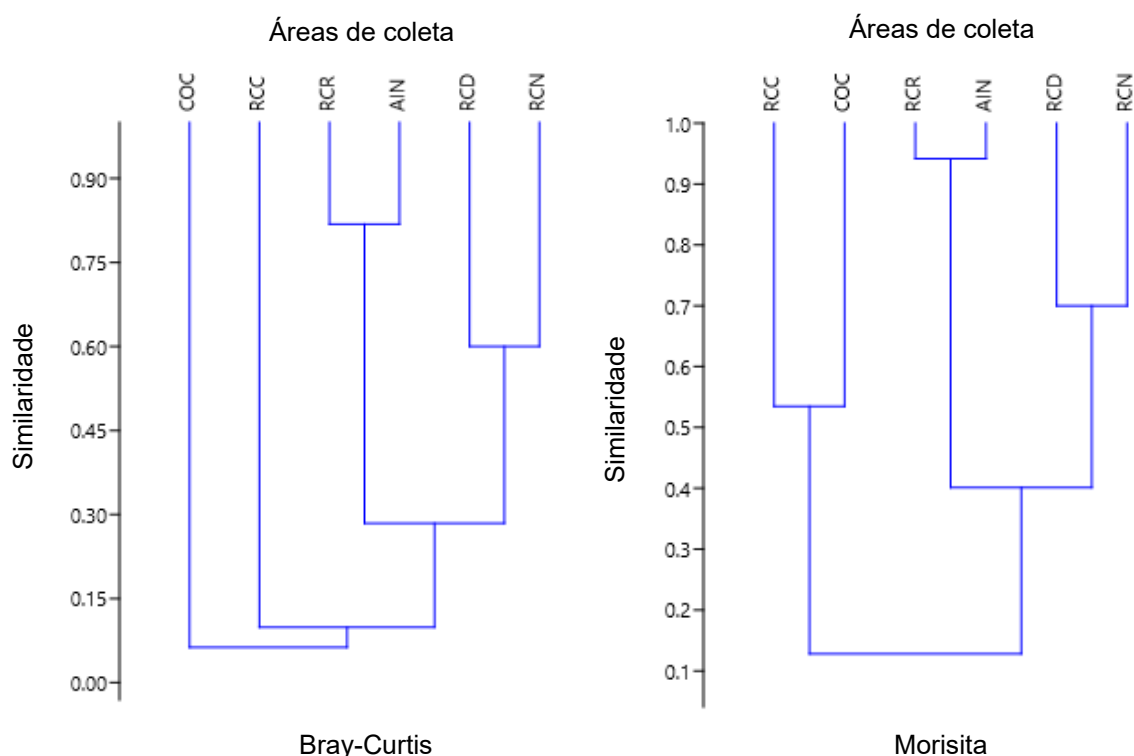
Pontos amostrais	RCN	RCD	RCR	RCC	COC	AIN
RCN		0,08311	0,88135	0,09556	0,61279	0,94585
RCD	0,08311		0,02761*	0,76603	0,31044	0,02959*
RCR	0,88135	0,02761*		0,01816*	0,65360	0,79509
RCC	0,09556	0,76603	0,01816*		0,36036	0,02633*
COC	0,61279	0,31044	0,65360	0,36036		0,54705
AIN	0,94585	0,02959*	0,79509	0,02633*	0,54705	

Legenda: RCN: Ribeirão Cambé Nascente; RCD: Ribeirão Cambé Daher; RCR: Ribeirão Cambé Rubi; RCC: Ribeirão Cambé Colégio Universitário; COC: Córrego Capivara; AIN: Assentamento Indígena.

Observou-se diferença significativa na diversidade de Shannon entre os pontos RCD e RCR, RCD e AIN, RCR e RCC, e RCC e AIN. Todas as comparações entre os outros pontos foram consideradas não significativas, ou seja, possuindo uma diversidade de espécies similares.

Os índices de similaridade Bray-Curtis e Morisita demonstraram resultados muito próximos entre as áreas de coleta (figura 3).

Figura 3 - Dendogramas de similaridade de Bray-Curtis e Morisita entre as áreas de coletas de Culicidae realizadas entre dezembro de 2022 e junho de 2023, no ribeirão Cambezinho em Londrina – Paraná.



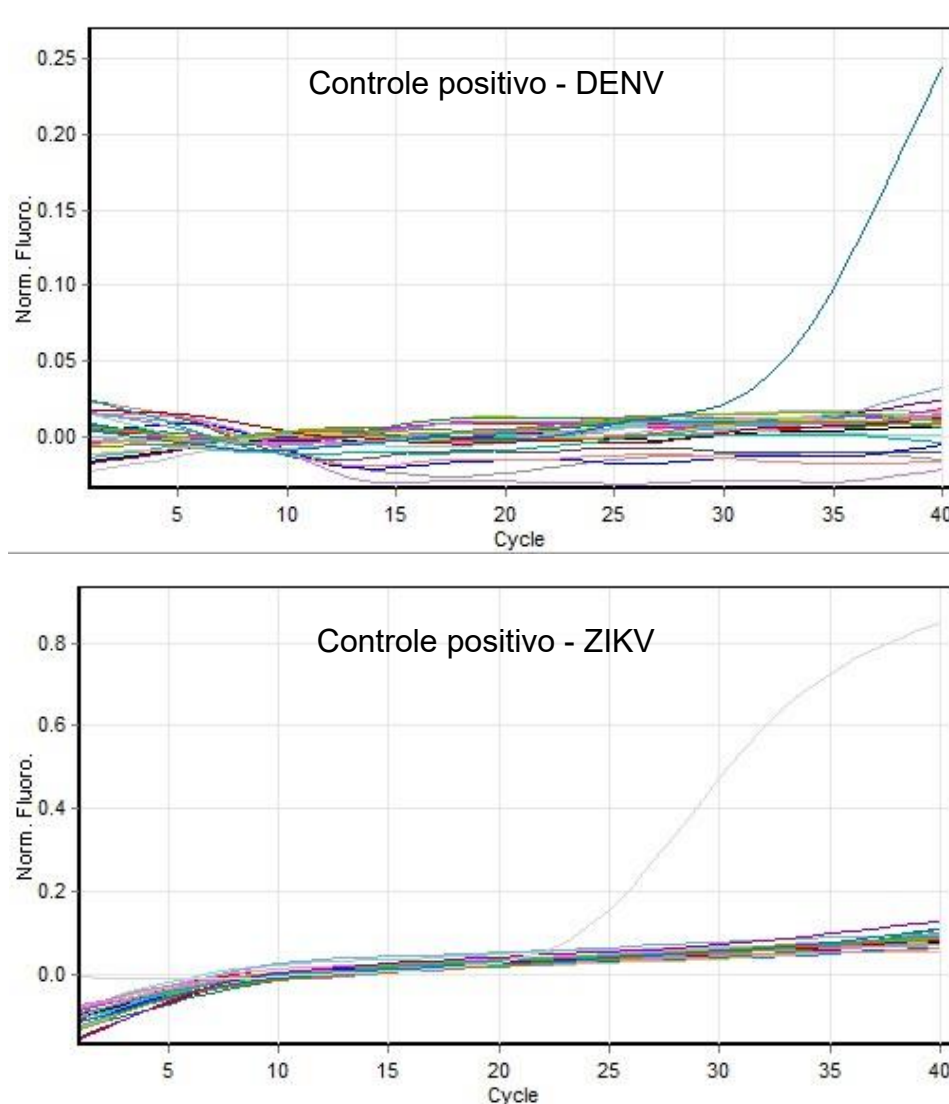
As áreas RCN e RCD foram consideradas similares nos dois índices, da mesma forma RCR e AIN. Tanto Bray-Curtis como Morisita utilizam como base para os seus cálculos, a abundância das espécies, por isso o agrupamento destas áreas. Porém, as áreas RCC e COC obtiveram resultados diferentes, enquanto o índice de Bray-Curtis leva apenas em consideração a abundância das espécies, a similaridade de Morisita avalia também a presença e ausência.

4.3.3 DETECÇÃO DE PRESENÇA DE ARBOVÍRUS (DENV 1-4, ZIKV E CHIKV) EM FÊMEAS DE *Aedes*. spp. E *Culex quinquefasciatus*

Foram avaliadas 100 fêmeas sendo *Ae. aegypti* (6), *Ae. albopictus* (11), *Ae. scapularis* (5)7, *Aedes* sp1 (3) e *Cx. quiquefasciatus* (23). Todas as amostras foram agrupadas por espécie, data e pontos de coleta. No presente estudo não foi confirmada a amplificação de RNA dos vírus DENV, CHIKV ou ZIKV nas amostras analisadas (figura 4). A validação das análises foi realizada pela confirmação da amplificação dos controles internos adicionados às amostras, sendo constatado sua

amplificação para cada um dos arbovírus testados em todas as amostras analisadas.

Figura 4 - Curvas de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus*, nos fundos de vale urbanos do município de Londrina, Paraná, Brasil.



4.4 DISCUSSÃO

A abundância observada a partir da coleta de mosquitos adultos crepusculares revelou que as áreas RCC, AIN e RCR são aquelas com os maiores valores (72, 12, 10 respectivamente), sendo essas regiões estabelecidas em áreas urbanas e conseqüentemente um maior fluxo de pessoas. Dentre essas três áreas, destaca-se o RCC com o maior valor de abundância, devido ser um local com um alto

fluxo de pessoas em relação às duas últimas áreas, pela presença do Colégio Universitário de Londrina à beira do fundo de vale e uma ponte de acesso entre as margens. Esta área foi classificada como Impactado de acordo a avaliação de integridade ambiental utilizando o PAR, sendo as margens totalmente comprometidas com vegetação reduzida e alterada, com canalização em locais do corpo d'água. Esse local está situado a poucos metros do Lago Igapó, uma importante área de lazer e recreação do município, onde Espinoza (2018) e Silva (2021) realizaram estudos em áreas próximas e encontraram resultados similares, demonstrando uma alta abundância neste local, corroborando assim com os dados registrados. Diferentemente dos resultados obtidos por Silva (2021), a área AIN obteve o segundo resultado mais alto em abundância de culicídeos. Isso pode ser explicado pela diferença na época do ano em que as coletas foram realizadas, nos horários das coletas e a metodologia utilizada.

A diminuição do habitat, como a remoção da vegetação, resulta na perda seletiva de espécies, criando um ambiente empobrecido dominado por aquelas que são mais dominantes em áreas alteradas, como o caso dos culicídeos *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, presentes nos ambientes citados acima. Essas condições favorecem espécies oportunistas, menos dependentes da preservação do ambiente, pois conseguem se adaptar a diversas condições criadas pela ação antrópica (MEDEIROS-SOUZA *et al.*, 2017).

Os menores valores para abundância foram observados nas áreas COC (3), RCN (5) e RCD (5), sendo elas caracterizadas com maior cobertura vegetal e menor fluxo de pessoas devido ao difícil acesso a estas áreas. Apesar de RCD possuir a maior cobertura vegetal de todas as áreas, há muita deposição de lixo sólido e alteração da vegetação nas margens do corpo d'água, porém ainda mantém árvores nativas de grande porte como *Cecropia glaziovii* Sneath, *Myroxylum peruiferum* L. e *Pterogyne nitens* Tul. Entretanto, no estudo realizado por Silva (2021), a área COC foi classificada como o segundo maior valor de abundância. Já as últimas duas áreas corroboraram com os resultados encontrados neste estudo.

A área RCC obteve o maior valor de dominância pela sua caracterização e localização evidenciada pelo alto número de indivíduos coletados de *Ae. scapularis*. Segundo Wilkerson *et al.* (2021) esta espécie demonstrou uma notável adaptação a ambientes artificiais, sendo amplamente encontrada em extensas áreas urbanas, com destaque para os parques urbanos. Esses mosquitos conseguem

adentrar facilmente as residências em busca de alimento. Ainda destaca que no Brasil é notório que as fêmeas, ao procurarem por hospedeiros, exibem uma maior atividade durante o crepúsculo. Observações estas que corroboram com os resultados encontrados neste estudo. *Ae. scapularis* apresenta uma ampla adaptação aos tipos de habitat, tanto em áreas naturais quanto próximas a domicílios humanos. Suas larvas são frequentemente encontradas em poças temporárias formadas por chuvas ou transbordamentos. Os exemplares adultos têm hábitos alimentares oportunistas, com preferência por hospedeiros enditérmicos (Forattini et al., 1989; Lorosa et al., 2010; De Carvalho et al., 2014; Santos et al., 2019), além de apresentarem comportamento sinantrópico — adentrando residências humanas e alimentando-se de sangue humano em ambientes internos (Forattini et al., 1995). Esses aspectos reforçam o papel potencialmente importante dessa espécie como vetor de ligação entre ecossistemas silvestres e áreas peridomiciliares. Wilkerson et al. (2021), destaca que os ovos do *Ae. scapularis* demonstram resistência à dessecação. Os imaturos são comuns em poças temporárias de água doce, mas também são coletados em lagoas, buracos em rochas e uma variedade de recipientes artificiais. Nas margens vegetadas de baixa elevação em áreas alagadas, eles podem ser especialmente abundantes, grandes bancos de ovos que podem ser inundados de uma só vez, produzindo altas densidades de mosquitos.

A presença de *Cx. quinquefasciatus* em RCC está associada com característica sinantrópica e predominantemente antropofílica. Imaturos são encontrados em ambientes domiciliares e peridomiciliares, em água limpa ou com a presença de muita matéria orgânica e esgoto. A disposição inadequada de recipientes artificiais propícios à retenção de água cria um ambiente favorável para a reprodução de mosquitos do gênero *Culex* (FORATTINI, 2002; WILKERSON et al., 2021; ZEQUI et al., 2005).

Em RCC também foi observada a presença de dois indivíduos de *Ae. aegypti*, uma espécie sinantrópica facilmente encontrada em ambientes urbanos e periurbanos, onde os imaturos podem ocupar diversos recipientes naturais ou artificiais (FORATTINI, 2002; CARVALHO; MOREIRA, 2017; WILKERSON et al., 2021). A disposição inadequada de recipientes artificiais propícios à retenção de água que cria um ambiente favorável para a reprodução de mosquitos da família Culicidae igualmente foi confirmada por Zequi e colaboradores (2005).

O menor valor de dominância foi observado na área COC, onde foi

coletado apenas um indivíduo de três espécies registradas. Consequentemente nesta área foi observado os maiores valores de riqueza de Margalef e equitabilidade de Pielou, confirmando os dados encontrados. Apesar deste local estar dentro da área urbana do município, o mesmo é caracterizado pela presença de vegetação densa e de difícil acesso aos cursos d'água, além da sua ampla cobertura vegetal. Corroborando com os resultados encontrados, destaca-se a presença de um único registro de duas espécimes de *Anopheles*, sp. 1 e sp. 2. Algumas espécies do gênero são importantes vetores de plasmódios causadores da malária no Brasil e no mundo, sendo considerados silvestres. Os imaturos geralmente são encontrados em águas limpas, frescas, paradas ou de movimento lento, características encontradas na área COC. As fêmeas possuem sua atividade iniciada a partir do crepúsculo, sendo aumentada no período noturno (FORATTINI, 2002; WILKERSON *et al.*, 2021).

A área AIN foi considerada uma área prioritária para monitoramento vetorial, pois registrou a presença das espécies *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. scapularis* e *Cx. quinquefasciatus*, todas elas importantes vetores de patógenos. A presença destas espécies é justificada pelo alto grau de alteração ambiental com cobertura vegetal arbórea reduzida e descarte inadequado de lixo. Na avaliação do PAR, esta área foi classificada como Impactado, destacando a modificação do leito do ribeirão sendo canalizado, retilizado e totalmente concretado, sem nenhuma vegetação marginal na maior parte do curso d'água. Neste local vivem famílias da comunidade Kaingang (PREFEITURA DE LONDRINA, 2023) em condições precárias de moradia, com a criação de diversos animais domésticos que inclui aves e mamíferos como cães, gatos e galinhas, tornando o local com condições ótimas para reprodução de culicídeos com diversos recipientes sendo utilizados como criadouros e a disponibilidade de fonte sanguínea para as fêmeas. Destacamos a presença de seis espécimes de *Ae. albopictus* e duas de *Ae. aegypti*, sendo o local com o maior número desses indivíduos em relação a todas as áreas.

Os maiores valores para os índices de riqueza de Margalef e diversidades de Simpson e Shannon foram encontrados na área RCN. Este local de coleta é caracterizado pela presença de duas nascentes que dão origem ao Ribeirão Cambé, sendo considerado um local urbano onde possui uma cobertura vegetal pouco densa comparando com outros locais de coleta, e uma região com a presença reduzida de pessoas. Esses valores são justificados pela distância em que este ponto está dos grandes centros urbanos do município. Isso torna possível tanto a presença

de espécies com alto grau de sinantropia, como *Ae. albopictus*, como aquelas que são consideradas silvestres, como *Anopheles* sp. 3. Entretanto, esta área foi classificada como Impactado na análise do PAR, sendo destacado a canalização em locais do curso d'água e a presença de duas rodovias principais da região, a BR-369 e PR-445, e indústrias em sua proximidade, porém é caracterizada por possuir poucas residências próximas.

Entretanto, os menores valores para riqueza de Margalef e diversidade de Shannon foram para a área RCD. Os dados obtidos divergem dos encontrados por Zequi *et al.* (2005), Grossi (2018), Espinoza (2018) e Silva (2021). Apesar do local ocupar uma área de 3,3 hectares, com a presença de árvores nativas de grande porte (ZEQUI *et al.*, 2005), neste estudo foram coletadas apenas duas espécies, uma sendo de hábito silvestre (*Anopheles* sp. 3 [N = 2]) e outra sinantrópica (*Cx. quinquefasciatus* [N = 3]). Essa divergência pode ser explicada pelo motivo que Zequi *et al.* (2005) e Grossi (2018) trabalharam com coleta de imaturos, Espinoza (2018) realizou a coleta em mais áreas (13) e Silva (2021) realizou a coleta no período diurno.

A área RCC obteve o menor valor para o índice de diversidade de Simpson (0,398). Este resultado pode ser corroborado observando que este local obteve o menor valor para equitabilidade de Pielou e o maior valor para dominância de Berger-Parker.

4.5 CONCLUSÃO

O curso do Riberião Cambé, dispõe de diferentes tipos de habitats potenciais para procriação de culicídeos de importância em saúde pública. Em todos os ambientes, tanto aqueles com cobertura vegetal densa e maior fluxo de pessoas, como aqueles com pouca vegetação e menor fluxo de pessoas, foi encontrada, pelo menos, uma espécie vetora de patógenos. Por isso, estas áreas são fundamentais para serem incluídas em programas de vigilância entomológica e virológica.

A realização do monitoramento ambiental nas áreas de fundo de vale permitiu a identificação de espécies silvestres em áreas com menor impacto ambiental e reduzida presença de pessoas, abrigando maior diversidade e riqueza de espécies.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCAIDE, M.; RICO, C.; RUIZ, S.; SORIGUER, R.; MUÑOZ, J.; FIGUEROLA, J. Disentangling Vector-Borne Transmission Networks: A Universal DNA Barcoding Method to Identify Vertebrate Hosts from Arthropod Bloodmeals. **PLoS ONE** 4(9): e7092, 2009.

AYLLÓN T, CÂMARA DCP, MORONE FC, GONÇALVES LDS, SAITO MONTEIRO DE BARROS F, *et al.* Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: Initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. **PLOS ONE** 13(4): e0195014, 2018.

BEIER, J.C.; PATRICOSKI, C.; TRAVIS, M.; KRANZFELDER, J. Influence of water chemical and environmental parameters on larval mosquito dynamics intires. **Environmental Entomology**, 12(2): 434-438, 1983.

CALLISTO, M., FERREIRA, W.R., MORENO, P., GOULART, M., PETRUCIO, M., Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). **Acta Limnol. Bras.** 2002.

CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species? **Neotrop. Entomol.** 46, 243–255, 2017.

CAVAGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B; CARAMORI, P. H. OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina. 2000.

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

DE CARVALHO, G. C.; MALAFRONTTE, R. S.; MITI IZUMISAWA, C.; SOUZA TEIXEIRA, R.; NATAL, L., MARRELLI, M. T. Blood meal sources of mosquitoes captured in municipal parks in Sao Paulo, Brazil. **J. Vector. Ecol.** 39:146–152, 2014.

ESPINOZA, A. A. **Integridade Biótica e culicideofauna terrestre no Norte do Paraná**. 114pp. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual review of ecology, evolution, and systematics**, p. 487-515, 2003.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia**. Edusp, São Paulo, 2002.

FORATTINI, O. P.; GOMES, A. D. E. C.; NATAL, D.; KAKITANI, I.; MARUCCI, D. Food preferences and domiciliation of Culicidae mosquitoes in the Ribeira Valley, Sao Paulo, Brazil, with special reference to *Aedes scapularis* and *Culex (Melanoconion)*. **Rev. Saude Publica.** 23:9–19, 1989.

FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 9-Synanthropy and epidemiological vector role of *Aedes scapularis* in south-eastern Brazil. **Rev. Saude Publica**. 29:199–207, 1995.

GROSSI, L. E. **Culicídeos (Diptera) sinantrópicos em três fragmentos florestais no norte do Paraná, Brasil**. 68 pp. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

HARBACH, R. E. **Culicopedia: Species-group, genus-group and family-group names in Culicidae (Diptera)**. CABI: Wallingford, Oxfordshire, UK. xviii + 378 pp, 2018.

HARBACH, R. E. **Mosquito Taxonomic Inventory**. 2025. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045>>. Acesso em: 14 fev 2025.

HEINISCH, M. R. S. *et al.* Seasonal and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a municipal urban park in São Paulo, SP, Brazil. **Acta tropica**, v. 189, p. 104-113, 2019.

LAURANCE, W. F. Theory meets reality: how habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. **Biological Conservation**, v. 141, n. 7, p. 1731-1744, 2008.

LIMA-CAMARA, T.N.D., HONÓRIO, N.A., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de saúde publica** 22, 2079-2084, 2006.

LOPES, J. 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. **Revista de Saúde Pública** 31(4): 370-377, 1997.

LOPES, J. Mosquitos (Diptera:Culicidae) da região do baixo Tibagi e suas adaptações a ambientes antropogênicos: causas e consequências. In: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds). **A bacia do rio Tibagi**. (327 – 351) Ed. EDUEL: Londrina, 2002.

LOPES, J.; SILVA, M. A. N.; OLIVEIRA, V. D. R.; BRAGA, M. C. P.; BORSATO, A. M. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) que procriam em criadouros naturais e artificiais em área rural no Norte do Paraná, Brasil. III. Viabilização de recipientes como criadouro. **Semina** (Londrina), Londrina, v. 16, n.2, p. 244-253, 1995.

LOROSA, E. S.; FARIA, M. S.; DE OLIVEIRA, L. C.; ALENCAR, J.; MARCONDES, C. B. Blood meal identification of selected mosquitoes in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Am. Mosq. Control Assoc**. 26:18–23, 2010.

LUCCI, E. A. **Geografia, o homem no espaço global**. 1. ed. São Paulo: Editora Saraiva, 1997.

LUZ, E., CONSOLIM, J., BARBOSA, O. C., TORRES, P. B. Larvas de *Anopheles* (Subgênero *Kerteszia*) Theobald, 1905 encontradas em criadouros artificiais, no estado do Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 21(5): 466-468, 1987.

MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paraná**. 2ª ed. J. Olympio/Secretaria de Cultura e do Esporte do Governo do Estado do Paraná, Rio de Janeiro/Curitiba, 1981.

MEDEIROS-SOUSA, A. R., FERNANDES, A., CERETTI-JUNIOR, W., WILKE, A. B. B., MARRELLI, M. T. Mosquitoes in urban green spaces: Using an island biogeographic approach to identify drivers of species richness and composition. **Sci. Rep.** 7, 1–11, 2017.

MILLER, B. R.; CRABTREE, M. B.; SAVAGE, H. M. Phylogenetic relationships of the Culicomorpha inferred from 18S and 5.8S ribosomal DNA sequences (Diptera: Nematocera). **Insect Molecular Biology**, 6, 105–114, 1997.

MONTAGNER, F. R. G. **Ecologia de mosquitos (DIPTERA: CULICIDAE) em criadouros artificiais em oito áreas verdes do Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2014.

MULLEN, G. R.; DURDEN, L. A. **Medical and Veterinary Entomology**. Starkville, United States: Academic Press, 3º ed, 2019.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B., KENT, J. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. **Nature** v. 403, n. 6772, p. 853- 858, 2000.

NASCI, R.S.A. Lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. **Mosquito News** 41(4), 808–811, 1981.

NITSCHKE, P.R., CARAMORI, P.H., RICCE, W.D.S., PINTO, L.F.D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, PR: IAPAR. 2019.

PREFEITURA DE LONDRINA. Secretaria Municipal de Planejamento, Orçamento e Tecnologia. **Perfil de Londrina 2023**. Disponível em: <<http://www.londrina.pr.gov.br/downloads-siglon>>. Acesso em 10 Nov. 2023.

SANTOS, C. S.; PIE, M. R.; DA ROCHA, T. C.; NAVARRO-SILVA, M. A. Molecular identification of blood meals in mosquitoes (Diptera, Culicidae) in urban and forested habitats in southern Brazil. **PLoS ONE**. 14:e0212517, 2019.

SEMA (Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Conhecendo o Bioma Mata Atlântica no Paraná. **Revista Atlântica**, 1(1), 20. 2018.

SILVA, K. R. S. **Diversidade de culicidae (Diptera) e análise da circulação viral em estabelecimentos públicos e fragmentos de vegetação ripária urbana no norte do Paraná, Brasil**. 133 pp. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

SOARES, F. S.; MEDRIL, M. E. Alguns aspectos da colonização da bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds) **A bacia do rio Tibagi**. (69 – 79) Ed. EDUEL: Londrina, 2002.

SONODA, K.C. Efeito da vegetação ripária na qualidade do recurso hídrico no Distrito Federal. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**. 1–3, 2010.

WALTER REED BIOSYSTEMATICS UNIT (WRBU). **Culicidae**. 2025. Disponível em: <www.wrbu.si.edu/taxonomy/term/1194>. Acesso em 10 fev. 2025.

WIEGMANN, B. M *et al.* Episodic radiations in the fly tree of life. **PNAS**. V. 108. N. 14. 2011.

WILKERSON RC, LINTON YM, FONSECA DM, SCHULTZ TR, PRICE DC, *et al.* Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. **PLOS ONE** 10(7): e0133602, 2015.

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

WREGGE, M.S., GARRASTAZU, M.C., FRITZSONS, E., SOUSA, V.A., AGUIAR, A.V. Principais fitofisionomias existentes no estado do Paraná e os novos cenários definidos pelas mudanças climáticas globais. **Ambiência Guarapuava** (PR) v.13 n.3 p. 600 – 615, 2017.

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

ZHANG, X., KANG, Z., DING, S., WANG, Y., BORKENT, C., SAIGUSA, T., & YANG, D. Mitochondrial Genomes Provide Insights into the Phylogeny of Culicomorpha (Insecta: Diptera). **International journal of molecular sciences**, 20(3), 747, 2019.

5 CAPÍTULO 2

MONITORAMENTO DE *Aedes* spp., IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DA FONTE SANGUÍNEA E DETECÇÃO DE ARBOVÍRUS NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL

RESUMO

O estudo teve como objetivos identificar espécies vetoras, potenciais hospedeiros e presença de arbovírus, bem como analisar a influência de variáveis climáticas na atividade vetorial. Foram utilizadas 61 ovitrampas para a coleta de ovos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, e aspirador de Nasci para captura de adultos, de abril a dezembro de 2023. Os ovos foram quantificados, e os mosquitos adultos identificados e submetidos a análises moleculares para detecção de RNA viral (DENV, ZIKV, CHIKV) e de fonte alimentar sanguínea. Foram coletados 939 mosquitos adultos, sendo *Culex quinquefasciatus* (n=693) a espécie mais abundante, seguida por *Aedes aegypti* (n=222). Não foi identificada a presença de arbovírus nas amostras analisadas. A análise de sangue de 18 fêmeas ingurgitadas de *C. quinquefasciatus* revelou ornitofilia, com todas as fontes alimentares sendo aves, tanto sinantrópicas quanto silvestres. A atividade das fêmeas de *Aedes* spp. foi mais intensa nos meses com temperaturas e precipitações elevadas, havendo forte correlação entre estas variáveis climáticas e os índices de densidade de ovos (IDO) e positividade de ovitrampas (IPO). A umidade relativa, por outro lado, apresentou correlação fraca e sem significância estatística. Embora não tenha sido detectada a presença de arbovírus, o estudo evidencia a importância do monitoramento entomológico como ferramenta de vigilância e prevenção de surtos de arbovirose, especialmente em áreas com histórico de alta incidência, como Londrina, que registrou mais de 40 mil casos de dengue no período de 2023/2024.

Palavras-chave: Mosquitos vetores; *Aedes aegypti*; ornitofilia; Monitoramento vetorial; Hematofagia.

ABSTRACT

The research aimed to identify vector species, potential blood hosts, and the presence of arboviruses, as well as to evaluate the influence of climatic variables on mosquito activity. A total of 61 ovitraps were used for egg collection of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, and adult mosquitoes were captured using a Nasci aspirator from April to December 2023. Eggs were quantified, and adult mosquitoes were identified and submitted to molecular analyses for viral RNA detection (DENV, ZIKV, CHIKV) and blood meal source identification. A total of 939 adult mosquitoes were collected, with *Culex quinquefasciatus* (n = 693) being the most abundant species, followed by *Aedes aegypti* (n = 222). No viral RNA was detected in any of the tested mosquito pools. Blood meal analysis of 18 engorged *C. quinquefasciatus* females revealed exclusive ornithophily, with all blood sources identified as birds, including both synanthropic and wild species. *Aedes aegypti* females showed increased oviposition activity in months with higher temperatures and rainfall. A strong correlation was observed between these climatic factors and both the Egg Density Index (EDI) and Ovitrap Positivity Index (OPI), while relative humidity showed weak and statistically insignificant correlations. Although arboviruses were not detected in this study, the results reinforce the importance of early entomological surveillance in preventing arbovirus outbreaks. This is especially relevant in regions such as Londrina, which reported over 40,000 confirmed dengue cases during the 2023/2024 epidemiological period.

Keywords: Mosquito vectors; *Aedes aegypti*; ornithophilia; Vector monitoring; Hematophagy.

5.1 INTRODUÇÃO

Os mosquitos são integrantes do filo Arthropoda, classe Insecta e ordem Diptera, estando classificados na subordem Nematocera e pertencendo à família Culicidae Meigen em 1818. Essa família é dividida em duas subfamílias principais: Anophelinae e Culicinae. Entre os gêneros mais estudados devido à sua relevância médica estão *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, pois atuam como vetores de diversos arbovírus e outros patógenos (WILKERSON *et al.*, 2015).

Algumas espécies possuem grande plasticidade genética e ecológica (LOPES, 1997; ZEQUI *et al.*, 2005) tendo elevada capacidade de adaptação ao ambiente antrópico, respondendo melhor às pressões ambientais e se tornando abundantes em áreas que passam a apresentar baixa riqueza (RUIZ *et al.*, 2007; CHAVES *et al.*, 2011; GUEDES, 2012). No Brasil, as espécies vetoras mais conhecidas e mais comuns no ambiente urbano são *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894). Os comportamentos destes mosquitos são diversificados sendo o *Cx. quinquefasciatus* e *Ae. aegypti* encontrados frequentes no interior de domicílios e estabelecimentos urbanos, enquanto *Ae. albopictus* prefere áreas peridomiciliares e com maior cobertura vegetal, ou áreas de mata próximas à população.

O processo de urbanização e o crescimento do agronegócio levaram à fragmentação intensa da vegetação nativa, resultando em áreas menores e isoladas (MS, 2003; LINDENMAYER; FISCHER, 2013). Com a urbanização e fragmentação florestal, os mosquitos sofrem impactos significativos. Muitas espécies perdem seus habitats naturais e migram para áreas urbanas em busca de alimento e locais para reprodução. Isso resulta na domiciliação de espécies altamente adaptáveis a diferentes ambientes (LOPES, 1997; TAIPE-LAGOS; NATAL, 2003; LEISNHAM *et al.*, 2004; ZAHOU LI *et al.*, 2017; MONTAGNER *et al.*, 2018). Ambientes urbanos fragmentados que passam por intervenções humanas sem o devido controle das populações de culicídeos podendo abrigar, além de espécies silvestres, oportunistas, sinantrópicos e vetoras de patógenos. Isso ocorre porque nesses locais existem tanto criadouros naturais quanto artificiais, que são utilizados pelas fêmeas para a oviposição, conforme as preferências específicas de cada espécie (ZEQUI *et al.*, 2005).

Para monitorar os vetores, são utilizadas metodologias que estimam sua

densidade no ambiente. Os métodos de monitoramento abrangem os estágios de ovos, larvas e adultos, e a probabilidade de captura depende da abundância local do vetor, seu habitat, disponibilidade de recipientes para oviposição e características das armadilhas (WHO, 2018). Desenvolvida por Fay e Perry em 1965, a armadilha ovitrampa é utilizada para estimar os níveis de infestação de vetores com base na quantidade de ovos deixados pelas fêmeas. Outro instrumento amplamente empregado no monitoramento é o aspirador de Nasci, que se destaca pela sua eficácia na captura ativa de mosquitos adultos, tanto durante o voo quanto quando estão escondidos em abrigos naturais ou artificiais. Esse método é altamente sensível e econômico para detectar vetores como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, além de servir para vigilância, controle e detecção indireta de adultos (BRASIL, 2009; FIOCRUZ, 2014; DE SOUZA *et al.*, 2022).

Os culicídeos adultos se alimentam de líquidos de origem vegetal, porém, as fêmeas da maioria das espécies são hematófagas (HARBACH, 2007). A fonte de sangue dos mosquitos culicídeos abrange uma variedade de vertebrados, incluindo anfíbios, répteis, aves e mamíferos (FORATTINI *et al.*, 1987). O repasto sanguíneo é essencial para acumular nutrientes necessários ao desenvolvimento dos ovos em cada ciclo de reprodução (BRIEGEL *et al.*, 2002). Além disso, a hematofagia, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento adequado dos ovos e na transmissão de diversos agentes patogênicos (WILKERSON *et al.*, 2021) causando uma atenção no setor da saúde pública.

Este estudo teve como objetivos realizar o monitoramento de culicídeos vetores de patógenos na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, identificando os potenciais hospedeiros e arbovírus (RNA) relacionados a *Aedes* spp e *Culex quinquefasciatus* e avaliar influência das variáveis climáticas na atividade vetorial de *Aedes* spp.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 ÁREA DE ESTUDO

Londrina está localizada no norte do Estado do Paraná, com 1.652,569 km² de área territorial, e sua população é estimada 577.318 habitantes (IBGE, 2024). O clima é subtropical úmido, com médias anuais de temperatura de 21° C, umidade

relativa do ar entre 69 e 76% e precipitação pluviométrica de 1400 a 1800 mm, sendo a presença de chuvas em todas as estações do ano, mas concentradas no período do verão (CAVAGLIONE *et al.*, 2000; NITSCHKE *et al.*, 2019). A vegetação é caracterizada como Floresta Estacional Semidecidual pertencente ao bioma Mata Atlântica, onde a sua paisagem é composta por pequenos remanescentes devido ao intenso processo de fragmentação por ações de atividades agropecuárias (MAACK, 1981; LOPES, 2002; SOARES; MEDRI, 2002; WREGE *et al.*, 2017; SEMA, 2018).

A Universidade Estadual de Londrina (UEL) conta com um total de mais de 2,4 milhões de m², sendo o Campus Universitário com 1.500.017,33 m² de área, abrigando nove Centros de Estudos, juntamente com o Hospital Universitário (HU/UEL). Atualmente a comunidade universitária conta com 21.191 pessoas entre servidores ativos e alunos ativos/matriculados (UEL, 2024).

5.2.2 MONITORAMENTO DOS VETORES

O monitoramento dos vetores de arborívoros é realizado no Campus Universitário da Universidade Estadual de Londrina por meio do Grupo de Trabalho *Aedes* (GT *Aedes*) desde 2016, vinculado ao Programa de Atendimento à Sociedade (PAS) – “Vigilância e Controle Biológico do *Aedes*”. O projeto é realizado pelo Laboratório de Entomologia Geral e Médica, coordenado pelo Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi com participação de estudantes de graduação e pós-graduação.

Mensalmente, o GT *Aedes* realiza o monitoramento de 61 armadilhas de oviposição, denominadas ovitrampas, espalhadas pelo Campus da Universidade (figura 1) a qual permite a contagem e identificação dos ovos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em palhetas. O modelo elaborado por Fay & Eliason (1966) consiste em uma palheta do tipo Duratree com medidas de 15 cm x 3 cm, expondo a parte áspera voltada para cima, para oviposição das fêmeas. A palheta é colocada dentro de um recipiente plástico de cor preta com capacidade de 500 ml, contendo água, levedo e formulado de BTI (*Bacillus thuringiensis israelenses*).

Figura 1 – Mapa do Campus da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil, com a identificação dos pontos de instalação das ovitrampas.



Fonte: GT Aedes.

Semanalmente, as palhetas foram recolhidas e levadas ao Laboratório de Entomologia Geral e Médica para posterior quantificação do número de ovos. Após a retirada das palhetas em campo, elas foram expostas para secagem por cerca de três dias em local abrigado de interferência externa, e em seguida foi realizada a contagem dos ovos sob o estereomicroscópio. Os dados referentes ao número de ovos foram tabulados no programa Excel/Windows para posterior processamento e análises. Após a contagem dos ovos, as palhetas foram escovadas para a remoção dos ovos e utilizadas posteriormente para novas instalações.

5.2.3 ÍNDICES DE POSITIVIDADE E DENSIDADE

Para o cálculo de infestação dos pontos de coleta, por meio da contagem de ovos detectados nas palhetas, foi possível o cálculo de dois índices: o Índice de Densidade de Ovos (IDO) e o Índice de Positividade de Ovitampa (IPO), de acordo Gomes (1998). O IDO mede a densidade de ovos por armadilha indica os períodos de maior e menor reprodutividade das fêmeas de mosquito, com possibilidade de ser inferida a abundância do grupo de fêmeas numa localidade. Este índice é calculado a partir da seguinte equação:

$$\text{IDO} = \frac{\text{Número de ovos}}{\text{Número de armadilhas positivas}}$$

O IPO traduz a distribuição espacial da infestação em uma localidade trabalhada, indicando o percentual de armadilhas positivas, aquelas que apresentavam alguma oviposição, entre as examinadas. O índice é expresso pela seguinte equação:

$$\text{IPO} = \frac{\text{Número de armadilhas positivas}}{\text{Número de armadilhas examinadas}} \times 100$$

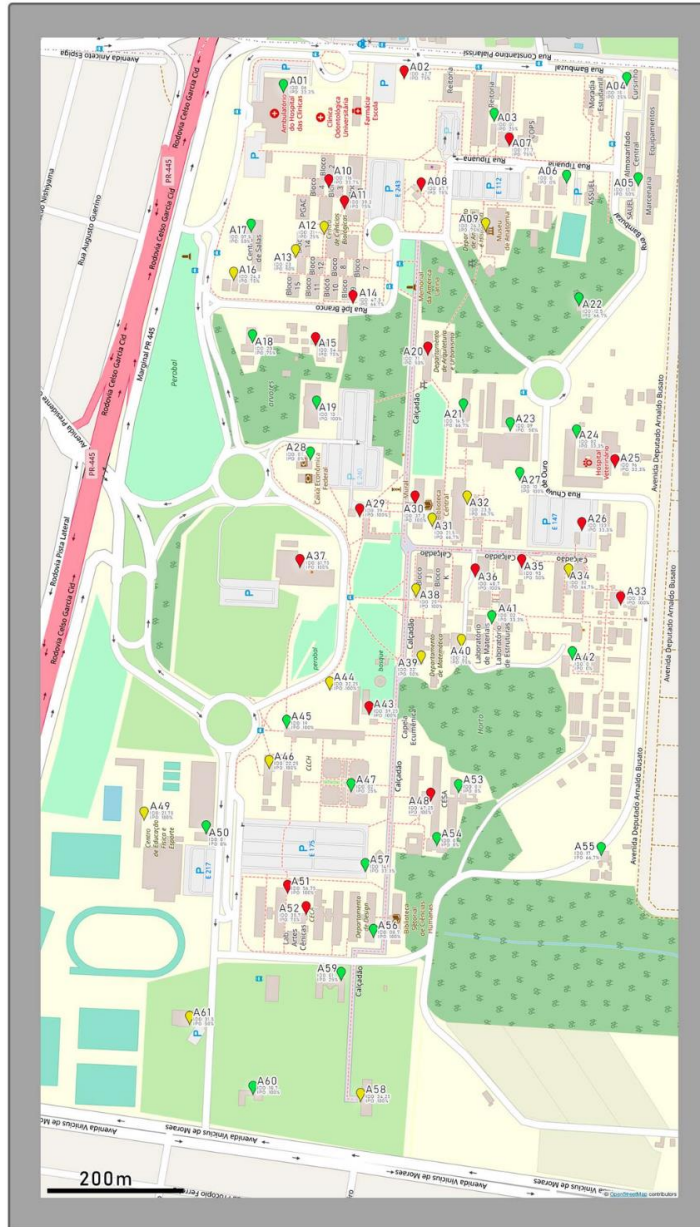
Com os resultados obtidos a partir dos cálculos do IDO, foram elaborados mapas de infestação (Figura 2) todos os meses, durante todo o período da coleta de dados. Os mapas foram elaborados no programa Photoshop, a partir dos dados de georreferenciamento das armadilhas.

Figura 2 - Mapas de infestação elaborados e disponibilizados mensalmente à comunidade da UEL.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA
Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB
PROJETO MONITORAMENTO DE Aedes
Prof. Dr. João A. C. Zequi
FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 33,67
IPO: 61,97%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **3918 ovos** através das armadilhas.

Fonte: GT Aedes.

5.2.4 COLETA DE CULICÍDEOS ADULTOS

As coletas ocorreram entre os meses de abril de 2023 a dezembro de 2023. Todos os meses, dentre as 61 armadilhas, foram selecionadas aquelas em que o nível de risco era alto (IDO acima de 35), sendo utilizado como base o mapa de infestação do mês anterior publicado pelo GT *Aedes*. Os mosquitos adultos foram capturados utilizando o Aspirador de Nasci (NASCI, 1981).

Em cada ponto com nível de risco alto foi realizada a aspiração em setores em um raio de 200m, sendo que cada aspiração tinha uma duração de 30 minutos. Os mosquitos coletados foram acondicionados, ainda vivos dentro dos sacos de tule do aspirador de Nasci até o Laboratório de Entomologia Geral e Médica da Universidade Estadual de Londrina, onde os indivíduos foram resfriados à -20° C para diminuição da atividade, possibilitando a identificação e contagem dos mesmos. A identificação dos mosquitos foi realizada utilizando as chaves de Consoli e Oliveira (1994), Forattini (2002), Wilkerson *et al.* (2021) e WRBU (2025). Após a identificação, cada mosquito foi acondicionado em microtubo de 1,5 mL e armazenados a -80° C.

5.2.5 ANÁLISE VIRAL

Os ácidos nucleicos foram extraídos das fêmeas de *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Aedes scapularis* e *Culex quinquefasciatus* formando grupos contendo de 1 a 33 fêmeas. As mesmas foram maceradas em 150 µL de tampão-fosfato salino (PBS) com ajuda de um pistilo. Após centrifugação (4°C), 140 µL do sobrenadante foram retirados e utilizados para a extração do RNA viral utilizando o kit QIAamp Viral RNA kit (Qiagen®) de acordo com as recomendações do fabricante. O RNA viral foi eluído da membrana num volume final de 50 µL de tampão AVE. A qualidade e quantidade do RNA viral extraído foi confirmada utilizando um espectrofotômetro Nanodrop-2000 (Thermo Fischer Scientific) e logo armazenados em - 80°C.

A detecção dos arbovírus dengue, Zika e chikungunya foi realizada utilizando uma sonda multiplex do kit qPCR/TaqMan technology (XG-ZDC-MB, Biometrix-MobiusÒ, registro ANVISA: 80502070100) seguindo as recomendações do fabricante em PCR em tempo real foi realizada utilizando um termociclador Rotor-Gene Q (QiagenÒ). Foram usados 10 µL de RNA viral para a determinação da presença de cada arbovírus. Cada tubo de reação continha buffer de reação, sondas

e oligonucleotídeos, enzima, e RNA viral, ademais de controle interno da reação. O controle interno teve por objetivo validar o processo de extração do RNA e a preparação do máster mix usado na reação de qPCR. As análises também incluem os controles positivos dos dois arbovírus avaliados e um controle negativo.

5.2.6 ANÁLISE DE FONTE ALIMENTAR SANGUÍNEA

5.2.6.1 EXTRAÇÃO DO DNA, REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) E SEQUENCIAMENTO

Os ácidos nucleicos foram obtidos utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue (Quiagen), seguindo as recomendações do fabricante. Brevemente, cada fêmea foi macerada no tubo plástico de 1,5 mL contendo 180 µL de tampão ATL e 20 µL de proteinase K com ajuda de um pistilo. O macerado foi agitado vigorosamente no vórtex e logo incubado a 56°C durante 01h30min. Depois deste período foram adicionados 200 µL tampão AL à cada macerado e em seguida incubados durante 10 min a 70°C. Na sequência, foram adicionados 200 µL de etanol 96% a cada tubo e logo agitados no vórtex. Cada macerado foi transferido à coluna de extração e logo centrifugado. Em seguida a membrana foi lavada com dois tipos de tampão (AW1 e AW2) e depois os ácidos nucleicos foram eluídos da membrana com 30 µL do tampão AE fornecido pelo kit. A quantidade (ng µL⁻¹) e qualidade (relações A260/A280 e A260/A230) dos ácidos nucleicos foram medidas utilizando um espectrofotômetro NanoDrop®.

Todas as amostras foram analisadas usando Nested PCR com um conjunto de oligonucleotídeos específicos do gene mitocondrial COI de vertebrados das classes Amphibia, Reptilia, Aves e Mammalia descritos por Alcaide *et al.* (2009). As reações de PCR foram seguidas de acordo com Santos *et al.* (2019) com pequenas alterações. A primeira reação de PCR foi realizada em um volume de 30 µL contendo 1.5 U da enzima Taq DNA Polimerase (Sigma), 3,0 µL de 10X tampão (Sigma), 1,6 mM de MgCl₂ (Invitrogen), 0,5 mM de mix dNTP (Invitrogen), 20 µg de BSA (Albumina Sérica Bovina- Thermo Fisher), 5% de DMSO, 0,7 µM oligonucleotídeo M13BC-FW (5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT HAA YCA YAA RGA YAT YGG-3') e BCV-RV1 (5'-GCY CAN ACY ATN CCY ATR TA-3') e 1 µL de ADN (100 ng µL⁻¹). As condições de amplificação foram: desnaturação inicial de 3 minutos a 94 °C, seguida de 39 ciclos

de 40 segundos a 94°C, 40 segundos a 45°C e 1 minuto a 72°C, com extensão final de 7 minutos a 72°C, em termociclador (Applied Biosystems TM Veriti TM). A segunda reação de PCR foi realizada num volume de 30 µL contendo 1 U da enzima Taq DNA Polimerase (Sigma), 3,0 µL de 10X tampão (Sigma), 3,8 mM de MgCl₂ (Invitrogen), 0,7 mM de mix dNTP (Invitrogen), 5 µg de BSA (Albumina Sérica Bovina- Thermo Fisher), 5% de DMSO, 0,7 µM dos oligonucleotídeos M13 (5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTG-3') e BCV-RV2 (5'-ACY ATN CCY ATR TAN CCR AAN GG-3') e 1,0 µL do produto da primeira PCR diluído 1:5000. As condições de amplificação da segunda PCR foram desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C, seguida do protocolo Touchdown de 16 ciclos a 94°C por 40 segundos, redução da temperatura de anelamento de 60°C para 45°C (- 1 °C/ciclo), seguido por 1 minuto de extensão a 72°C. Logo 14 ciclos de 94°C por 40 segundos, 45°C por 40 segundos e 72°C por um minuto, com extensão final de 7 minutos a 72°C. O tamanho esperado do fragmento amplificado após a segunda PCR variou entre 750 e 900 pb. Nas reações de PCR foi incluído um tubo contendo o master mix e água de ácidos nucleicos como controle da reação.

A amplificação dos produtos de PCR foi visualizada em transluminador de Led (Kasvi) após eletroforese em gel de agarose 1,2% e TBE. As amostras que amplificaram foram purificadas utilizando o QIAquick® PCR Purification Kit (Quiagen) conforme orientações do fabricante. O produto de PCR foi eluído da membrana da coluna utilizando 30 µL do tampão EB. O produto de PCR purificado foi quantificado usando espectrofotômetro NanoDrop®, em seguida as amostras foram normalizadas para 20 ng µL⁻¹ e logo enviadas para sequenciamento Sanger na GoGenetic no Tecnoparque da Pontifícia Universidade Católica – PUC em Curitiba. Foi utilizado o oligonucleotídeo M13 na concentração 5 µM para realizar o sequenciamento.

5.2.6.2 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES HOSPEDEIRAS DO REPASTO.

A identificação do sangue foi realizada em 18 fêmeas de *Culex quinquefasciatus* que estavam ingurgitadas no momento da coleta. Após identificação taxonômica utilizando a chave de Foratini, as fêmeas foram individualizadas em tubos plásticos de 1,5 mL e preservadas a -80 °C até o momento das análises moleculares.

As sequências de nucleotídeos obtidas foram comparadas com as sequências disponíveis no banco de dados GenBank (NCBI: National Center for

Biotechnology Information – <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) usando a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). As sequências foram atribuídas a uma espécie em particular somente quando apresentaram similaridade \geq 98%.

5.2.7 ANÁLISE DE DADOS DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS

Para a avaliação da distribuição normal, ou não, das variáveis climáticas e dos índices de positividade e densidade foi utilizado o teste Shapiro Wilk. Para avaliar a relação entre as variáveis climáticas de temperatura, precipitação e umidade relativa com a atividade das fêmeas de *Aedes* spp. foi utilizada a correlação. Para as variáveis que não tinham a distribuição normal dos dados foi utilizada a correlação de Spearman e para aquelas que possuíam a distribuição normal dos dados foi utilizada a correlação de Pearson. A influência das variáveis climáticas em relação ao número de mosquitos adultos coletados seguiu o mesmo padrão aplicado nas análises anteriores.

As informações de meteorologia foram obtidas a partir do resumo climatológico do município de Londrina, ano 2023, disponibilizados pelo Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná).

5.3 RESULTADOS

Foram capturados 939 mosquitos adultos distribuídos em quatro espécies sendo elas *Aedes aegypti* (222), *Aedes albopictus* (22), *Aedes scapularis* (2) e *Culex quinquefasciatus* (693). A espécie mais predominante foi *Cx. quinquefasciatus*, presente em todos os meses de coleta do estudo, seguido de *Ae aegypti* com a presença mais abundante nos meses de novembro e dezembro (tabela 1).

No mês de setembro de 2023, observou-se um número elevado de indivíduos de *Cx. quinquefasciatus* devido a aspiração de adultos ser realizada em bueiros no Centro de Estudo de Ciências Biológicas. Foi decidido realizar a coleta neste local para que aumentasse as chances positivas nas análises posteriores de identificação tanto de vírus quanto da fonte alimentar sanguínea dos mosquitos.

Tabela 1 – Número de culicídeos capturados com aspirador de Nasci, por mês, na Universidade Estadual de Londrina, entre os meses de abril e dezembro de 2023.

MESES	TÁXONS				Total por mês
	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Aedes scapularis</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>	
ABR	3	0	0	2	5
MAI	35	12	1	36	84
JUN	0	1	0	15	16
JUL	0	0	0	11	11
AGO	3	0	0	3	6
SET	1	0	0	417	418
OUT	1	0	0	89	90
NOV	111	9	1	64	185
DEZ	68	0	0	56	124
Total de espécimes	222	22	2	693	939

5.3.1 CARACTERIZAÇÃO DO HÁBITO ALIMENTAR

Dos 939 mosquitos culicídeos coletados, 352 foram machos e 587 fêmeas, das quais 18 estavam ingurgitadas, todas correspondentes à espécie *Culex quinquefasciatus*. Das fêmeas ingurgitadas que passaram pela análise molecular, 15 tiveram a fonte alimentar identificada, sendo todas as espécies de vertebrados identificadas como aves (tabela 2). Três amostras tiveram a porcentagem de similaridade de identidade dos vertebrados entre 98% e 100%, sendo distribuídos em três espécies (*Mimus saturninus*, *Patagioenas picazuro* e *Turdus leucomelas*). Sete amostras apresentaram similaridade entre 92% e 97% distribuídos em cinco espécies (*Dacnis cayana*, *Mimus saturninus*, *Passer domesticus*, *Turdus amaurochalinus* e *Zenaida auriculata auriculata*).

Tabela 2 - Espécies de aves utilizadas como fonte alimentar de *Culex quinquefasciatus* na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

Ponto de coleta	Total de indivíduos	Similaridade (%)	Espécie de vertebrado	Nome comum
A01/06	1	92	<i>Passer domesticus</i> (Passeriformes: Passeridae)	Pardal
A09	1	99	<i>Patagioenas picazuro</i> (Columbiformes: Columbidae)	Pomba-asa-branca
A09	2	95,6	<i>Dacnis cayana</i> (Passeriformes: Thraupidae)	Sai-azul
A20	1	93,16	<i>Zenaida auriculata auriculata</i> (Columbiformes: Columbidae)	Pomba-de-bando
A26	1	99,25	<i>Turdus leucomelas</i> (Passeriformes: Turdidae)	Sabiá-barranco
A41	1	97	<i>Mimus saturninus</i> (Passeriformes: Mimidae)	Sabiá-do-campo
A41	2	96	<i>Mimus saturninus</i> (Passeriformes: Mimidae)	Sabiá-do-campo
A41	3	98	<i>Mimus saturninus</i> (Passeriformes: Mimidae)	Sabiá-do-campo
A43/45	1	92,8	<i>Zenaida auriculata auriculata</i> (Columbiformes: Columbidae)	Pomba-de-bando
A51/56	2	92	<i>Turdus amaurochalinus</i> (Passeriformes: Turdidae)	Sabiá-branco

Dentre as espécies de aves identificadas destaca-se tanto a presença de indivíduos sinantrópicos representados por *Mimus saturninus* e *Passer domesticus*, como grupos silvestres que frequentemente habitam o ambiente urbano representados por *Dacnis cayana* e *Turdus amaurochalinus*.

5.3.2 DETECÇÃO DE PRESENÇA DE ARBOVÍRUS (DENV 1-4, ZIKV E CHIKV) EM FÊMEAS DE *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Aedes scapularis* E *Culex quinquefasciatus*

Foram avaliadas 445 fêmeas sendo 123 de *Ae. aegypti*, 16 de *Ae. albopictus*, uma de *Ae. scapularis* e 305 de *Cx. quinquefasciatus*. Todas as amostras foram agrupadas por espécie, data e pontos de coleta. No presente estudo não foi confirmada a amplificação de RNA dos vírus DENV, CHIKV ou ZIKV nas amostras

analisadas. A validação das análises foi realizada pela confirmação da amplificação dos controles internos adicionados às amostras, sendo constatado sua amplificação para cada um dos arbovírus testados em todas as amostras analisadas.

5.3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE *Aedes* spp.

Foram instaladas 2257 armadilhas com 13,11% perdidas, somando um total de 296. O mês de julho de 2023 foi o que obteve o maior percentual de armadilhas perdidas, com um total de 24,18%. Como as coletas são feitas semanalmente, nos meses de junho e setembro de 2023 tivemos um maior número de armadilhas instaladas. No estudo obteve-se uma recuperação total de armadilhas de 86,89% (tabela 3).

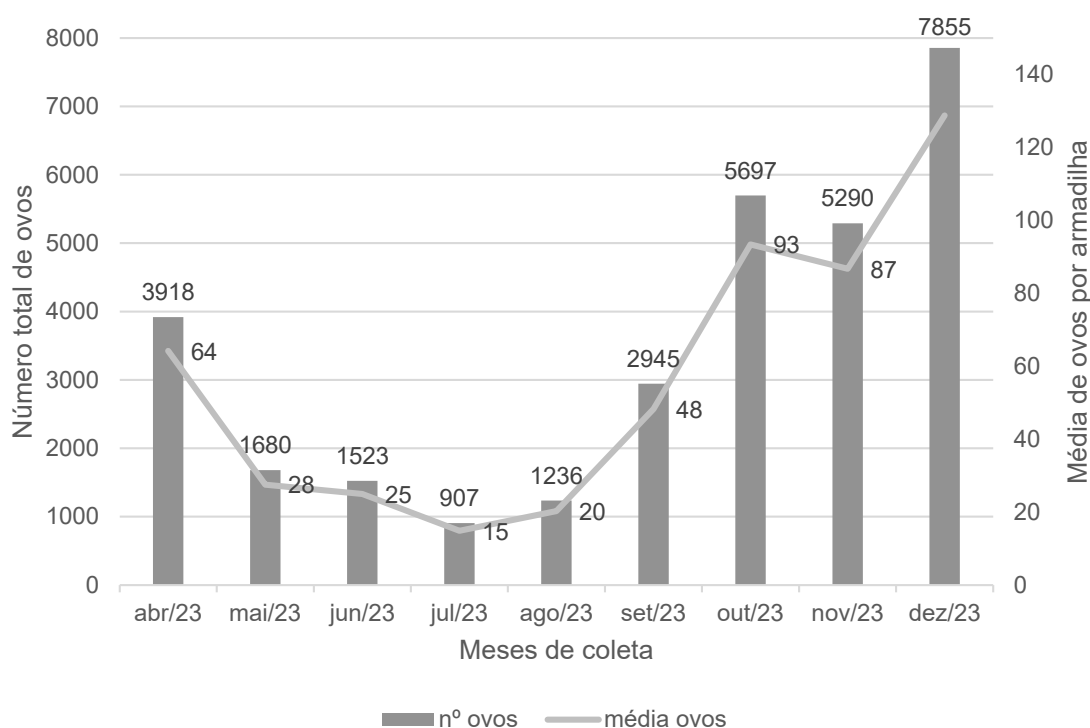
Tabela 3 – Número examinado, percentual mensal e total de armadilhas de oviposição positivas para presença de *Aedes aegypti* e/ou *Aedes albopictus*, na Universidade Estadual de Londrina, entre os meses de abril e dezembro de 2023.

Mês	Armadilhas					
	Examinadas		Perdidas		Positivas	
	N	N	%	N	%	
ABR	244	32	13,11	123	50,41	
MAI	244	25	10,25	102	41,80	
JUN	305	57	18,69	91	29,84	
JUL	244	59	24,18	56	22,95	
AGO	244	40	16,39	54	22,13	
SET	305	38	12,46	115	37,70	
OUT	244	22	9,02	143	58,61	
NOV	244	16	6,56	148	60,66	
DEZ	183	7	3,83	135	73,77	
Total	2257	296	13,11	967	42,84	

A porcentagem total de armadilhas positivas foi de 42,84%, sendo um total de 967. Os maiores valores percentuais de positividade de armadilhas foram os meses de outubro, novembro e dezembro de 2023, com 58,61%, 60,66% e 73,77%, respectivamente. Os menores valores foram observados nos meses de julho e agosto de 2023 com 22,95% e 22,13%, respectivamente.

No período do estudo foram coletados um total de 31.051 ovos. Os meses de outubro, novembro e dezembro de 2023 obtiveram maior atividade das fêmeas de *Aedes* spp. com 5.697, 5.290 e 7.855 ovos coletados, respectivamente. Já os meses com os menores valores de número de ovos foram julho e agosto de 2023 com 907 e 1.236 ovos, respectivamente. Observou-se uma média de 3.450,11 média de ovos coletados nos meses de estudo. As menores médias de ovos por armadilhas foram observadas nos meses de julho e agosto de 2023, com 15 e 20 ovos, respectivamente (figura 4).

Figura 3 - Número e média de ovos coletados com ovitrampa, entre os meses de abril e dezembro de 2023 na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.



5.3.4 INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS SOBRE OS ÍNDICES IDO E IPO

Todos os dados apresentaram distribuição normal, portanto, a correlação utilizada foi a de Pearson. As variáveis Temperatura Média (TM), Temperatura Mínima Média (TMiM) e Precipitação (PREC) apresentaram correlação forte tanto para IDO Já a Temperatura Máxima Média (TMaM) apresentou uma correlação forte para IDO e moderada para IPO. A variável Umidade (UMI) foi a única que apresentou uma correlação fraca para os índices de densidade e positividade (tabela 4). Em todas as

correlações forte e moderada, o valor de p foi maior que 0,05 indicando haver diferença significativa entre as análises. Apenas na correlação entre os índices e UMI que o valor de p foi acima de 0,05, indicando não haver uma diferença significativa.

Tabela 4 - Correlação de Pearson aplicado aos dados de IDO e IPO e variáveis climáticas.

CORRELAÇÃO DE PEARSON						
		Temp. Média	Temp. MiM	Temp. MaM	Umidade	Precip.
IDO	Coeficiente de correlação	0.81576	0.86117	0.76063	0.059572	0.76444
	valor-p	0.0073435*	0.0028584*	0.017324*	0.879	0.016445*
IPO	Coeficiente de correlação	0.80125	0.88856	0.6958	0.23275	0.82411
	valor-p	0.0094313*	0.0013621*	0.037382*	0.54674	0.0062973*

Legenda: Temp.Média: Temperatura média; Temp.MiM: Temperatura mínima média; Temp.MaM: Temperatura máxima média; Umidade e Precip.: Precipitação acumulada.

5.3.5 INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS SOBRE O NÚMERO DE CULICÍDEOS COLETADOS

O número de culicídeos coletados não obtiveram os dados com distribuição normal, por isso foi utilizada a correlação de Spearman. As variáveis TM, TMiM, TMaM apresentaram uma correlação moderada em relação ao número de culicídeos coletados. Já a Umidade Relativa e a Precipitação Acumulada obtiveram uma correlação fraca (tabela 5). Em todas as correlações o valor de p não foi igual ou maior que 0,05 indicando não haver diferença significativa entre as análises.

Tabela 5 - Correlação de Spearman aplicado aos dados de número de culicídeos coletados e variáveis climáticas.

CORRELAÇÃO DE SPEARMAN						
		Temp. Média	Temp. MiM	Temp. MaM	Umidade	Precip.
Nº de culicídeos	Coeficiente de correlação	0.66667	0.61667	0.68333	-0.45	0.46667
	valor-p	0.05889	0.085725	0.05032	0.22982	0.20316

Legenda: Temp.Média: Temperatura média; Temp.MiM: Temperatura mínima média; Temp.MaM: Temperatura máxima média; Umidade e Precip.: Precipitação acumulada.

5.4 DISCUSSÃO

Com os resultados obtidos por meio da identificação molecular da fonte alimentar sanguínea dos culicídeos coletados, podemos observar as interações que os mosquitos estabelecem com os vertebrados. A quantidade de fêmeas ingurgitadas de *Culex quinquefasciatus* (18 indivíduos – 3,07%) é pequena em relação a quantidade de fêmeas coletadas (587 indivíduos). Este resultado reflete a dificuldade deste tipo de estudo, sendo que a porcentagem de fêmeas de culicídeos ingurgitadas depende de fatores como período do ano, método de coleta, técnicas de coleta e área estudada (BLOSSER *et al.*, 2016; KEK *et al.*, 2014; FARAJI *et al.*, 2014; MURDOCK *et al.*, 2010).

Apenas fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* tiveram sucesso na amplificação por PCR, e isso pode estar relacionado a diversos fatores que envolvem a preservação do DNA do sangue. A temperatura e o tempo são as variáveis que mais influenciam no sucesso das análises da caracterização alimentar. Para um resultado positivo na identificação molecular do sangue, a temperatura mais empregada em estudos é de -80° C (REEVES, *et al.*, 2016), sendo observados resultados positivos a -20° C (SANTOS *et al.*, 2019; ALROKAYAN, 2000). Já o tempo, a ideia é que quanto mais rápido a análise for realizada e quanto menos tempo for armazenada, terá mais chances de sucesso nos resultados evitando a digestão e degradação do DNA, com resultados positivos sendo observados em horas e entre 30 a 180 dias (OSHAGHI *et al.*, 2006; REEVES *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2019). Outros fatores como o modo de congelamento do sangue, o tamanho do fragmento alvo, a especificidade do *primer*

e o protocolo de extração utilizado influenciam positivamente ou negativamente à amplificação (PRENDINI *et al.*, 2002; GÓMEZ-DÍAZ; FIGUEROLA, 2010; MARTÍNEZ-DE LA PUENTE *et al.*, 2012).

As fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* diversificaram o repasto sanguíneo em sete espécies de aves, observando um alto índice de ornitofilia, corroborando que os mosquitos desta espécie tem as aves como preferência alimentar (FORATTINI *et al.*, 1987). As aves visitadas pelas fêmeas foram os Passeriformes, seguido dos Columbiformes, onde foram encontrados resultados similares por Garcia-Rejon *et al.* (2010) e Santos *et al.*, (2019) estudando áreas urbanas e florestais, com uma relevante ornitofilia para área urbana. A preferência no comportamento alimentar de *Cx. quinquefasciatus* pode estar relacionada pela disponibilidade e abundância dos vertebrados do que por fatores intrínsecos (MOLAEI *et al.*, 2007; GARCIA-REJON *et al.*, 2010; MUCCI *et al.*, 2015), sendo a preferência pelas aves influenciada também por sinais químicos como compostos voláteis e odor de fezes exalado pelas aves facilitando a localização pelos mosquitos (ALLAN *et al.*, 2006; BERNIER *et al.*, 2008; COOPERBAND *et al.*, 2008). Apesar desta espécie também possuir uma tendência alimentar antropofílica (FORATTINI *et al.*, 1987; SAMUEL *et al.*, 2004), a espécie *Homo sapiens* não foi identificada como fonte alimentar, corroborando a observação da preferência alimentar dos mosquitos pelas aves.

A presença de *Aedes aegypti* foi observada em todos os meses com a utilização das ovitrampas, sendo considerada uma armadilha sensível na detecção dos mosquitos (ZEQUI *et al.*, 2018) pelos índices calculados, estimando a distribuição e densidade populacional dos vetores (GOMES, 1998). No presente estudo, O IPO médio foi de 50,19% indicando uma alta infestação de mosquitos, com exceção dos meses de julho e agosto que apresentaram IPO 30,27% e 26,47%, respectivamente. Depoli *et al.* (2016) observaram o IPO com variação entre 43,1% a 83,1% e IDO entre 15,8% a 68,5%, enquanto Zequi *et al.* (2018) identificaram uma variação do IPO entre 34,6% a 88,8% e IDO entre 7,9% e 49%, demonstrando a sensibilidade da ovitrampa em baixa e alta infestação de mosquitos.

Na avaliação da correlação entre os índices de densidade e positividade, e as variáveis climáticas, as variáveis temperatura (média, mínima e máxima) e precipitação tiveram uma forte ou moderada relação, corroborando com dados encontrados na literatura (CALADO, SILVA, 2002). Esta associação foi observada em outros estudos (ZEQUI *et al.*, 2018; ISHAK *et al.*, 2021; COSTA *et al.*, 2015;

REINHOLD *et al.*, 2018; AHMED *et al.*, 2019), onde essas variáveis influenciam no desenvolvimento, alimentação e conseqüentemente a circulação de arbovírus (SILVA *et al.*, 2016; MELO-MOURA *et al.*, 2020). Neste presente estudo foi observado que nos períodos de alta precipitação e temperatura, também obteve-se o aumento tanto do índice de densidade quanto de positividade. Este padrão foi observado em outros trabalhos (BARRERA *et al.*, 2011; TARANTO *et al.*, 2014; REINHOLD *et al.*, 2018; AHMED *et al.*, 2019), onde o número de indivíduos estão relacionados positivamente em relação à temperatura e a precipitação acumulada. A temperatura influencia diretamente no metabolismo dos insetos (LOPES *et al.*, 2004) e a precipitação contribui para a formação de criadouros para a reprodução dos mosquitos (COSTA *et al.*, 2015; REINHOLD *et al.*, 2018; AHMED *et al.*, 2019).

A correlação entre a umidade relativa e os índices tiveram uma relação fraca, porém sem apresentar uma diferença significativa. Em outros trabalhos foram observados que a umidade está associada à densidade populacional (NASIR *et al.*, 2017) e que a probabilidade de sobrevivência de mosquitos adultos aumentam conforme há o aumento da umidade (LEGA *et al.*, 2017). Também foi relatado que a umidade pode ter efeito negativo na abundância de vetores, quando acima de 79% (FERREIRA *et al.*, 2017). Neste presente trabalho não foi observado um padrão entre a umidade, e a temperatura e precipitação, sendo um fator secundário na densidade da população de *Aedes aegypti*.

Na aspiração de mosquitos, foi identificada a presença de quatro vetores em todo o período de coleta do estudo, sendo *Cx. quinquefasciatus* a espécie com a maior abundância, seguido de *Ae. aegypti*, os dois vetores possuem preferência por áreas urbanas, com hábito antrópico. A presença tanto de *Ae. albopictus* e *Ae. scapularis*, estão relacionadas com a presença de áreas silvestres com vegetação arbórea considerável no local de coleta, sendo o seu hábito com preferência à ambientes rurais e silvestres (LOPES, 2002; LIMA-CAMARA *et al.*, 2006). O encontro das duas espécies é justificado pela característica das áreas do campus da Universidade Estadual de Londrina, onde possui locais urbanizados com edificações intercaladas com locais de fragmentos de mata reflorestada (ZEQUI *et al.*, 2018).

Durante o período de coleta não foi detectado vírus de DENV 1-4, CHIKV ou ZIKV, que pode estar relacionado com o número relativamente baixo de mosquitos coletados. Para que haja uma alta probabilidade na identificação viral é necessário 1.600 indivíduos, influenciando positivamente o sucesso na detecção (GU *et al.*,

2004). Porém, no estudo de Silva et. al. (2024) foram coletados um total de 99 indivíduos e havendo a detecção de arbovírus, entendendo que a detecção depende dos índices de transmissão dos locais de coleta. Sobre o número de indivíduos coletados neste presente estudo, um fator a ser observado é que o local onde foram realizadas as coletas é um espaço que possui certa distância de residências e tem uma cobertura arbórea relativamente alta. Tanto o *Ae. aegypti* quanto o *Cx. quinquefasciatus* possuem a característica sinantrópica, dando preferência em área residencial onde terão uma maior disponibilidade de alimento.

Apesar da não identificação de arbovírus no presente trabalho, o monitoramento de mosquitos adultos possibilita a identificação da circulação de arbovírus. Nos dois últimos períodos epidemiológicos, o município de Londrina apresentou uma crescente nos números de casos de dengue. No período epidemiológico 2022/2023 o município liderou em número de casos de dengue com 34.815 e também no número de óbitos, em um total de 29. No período de 2023/2024 mais uma vez o município liderou com 40.552 casos confirmados de dengue e 52 mortes (PARANÁ, 2024).

5.5 CONCLUSÃO

Das quatro espécies de culicídeos identificadas neste estudo, apenas *Cx. quinquefasciatus* teve a identificação da fonte alimentar sanguínea. Todos os vertebrados identificados foram aves, corroborando com os resultados encontrados na literatura. Esta mesma espécie é considerada oportunista, entendendo que em um ambiente com maior presença de humanos, ou apenas deles, os resultados poderiam ser diferentes. Porém, essa característica da preferência em aves é observada tanto em ambientes preservados como antrópicos, trazendo base para o hábito ornitófilo desses indivíduos.

Foi observada a atividade vetorial em todos o período de coleta dos dados, indicando a possibilidade de transmissão de arbovírus no campus da Universidade Estadual de Londrina. As variáveis de temperatura e precipitação influenciam de igual forma a atividade das fêmeas de *Ae. aegypti*, possuindo uma forte correlação entre os dados e com diferença significativa. Outros trabalhos relatam a forte influência das mesmas variáveis, podendo ser potencializadas pela alteração de outras variáveis como a umidade relativa, porém neste presente estudo não foi observada esta relação

estatisticamente significativa.

Dentre as variáveis climáticas que influenciaram os índices de densidade e positividade de ovos de *Aedes* spp., apenas a umidade não teve uma correlação positiva. Isso pode indicar que a umidade depende de outros fatores que não foram avaliados neste estudo. As variáveis temperatura e precipitação estão intimamente relacionadas com a presença de criadouros dos mosquitos em ambientes, facilitando e potencializando a densidade destes vetores. Com isso, entendemos a importância que é minimizar o surgimento destes locais, evitando descarte de lixo em qualquer tipo de local, sendo este preservado ou urbano.

5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, R. M., *et al.* Climatic Factors Affecting Density of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Kassala City, Sudan 2014/2015. **Asploro Journal of Biomedical and Clinical Case Reports**, vol. 2019, 26 Nov. 2019.

ALCAIDE M.; RICO C.; RUIZ S.; SORIGUER R.; MUÑOZ J.; FIGUEROLA J. Disentangling vector-borne transmission networks: A universal DNA barcoding method to identify vertebrate hosts from arthropod bloodmeals. **PLoS One**. 4: e7092, 2009.

ALLAN, S. A.; BERNIER, U. R.; KLINE, D. L. Laboratory evaluation of avian odors for mosquito (Diptera: Culicidae) attraction. **Journal of Medical Entomology**, v. 43, n. 2, p. 225–231, 2006.

ALROKAYAN, S. A. H. Effect of storage temperature on the quality and quantity of DNA extracted from blood. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 3, p. 392–394, 2000.

BARRERA, R., *et al.* Population Dynamics of *Aedes aegypti* and Dengue as Influenced by Weather and Human Behavior in San Juan, Puerto Rico. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, vol. 5, no. 12, 20 Dez. 2011, p. e1378.

BERNIER, U. R.; ALLAN, S. A.; QUINN, B. P.; *et al.* Volatile compounds from the integument of White Leghorn Chickens (*Gallus gallus domesticus* L.): candidate attractants of ornithophilic mosquito species. **Journal of Separation Science**, v. 31, p. 1092–1099, 2008.

BLOSSER, E. M.; STENN, T.; ACEVEDO, C.; BURKETT-CADENA, N. D. Host use and seasonality of *Culex (Melanoconion) iolambdis* (Diptera: Culicidae) from eastern Florida, USA. **Acta Tropica**, v. 164, p. 352–359, 2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue. Brasília. 2009. 157 p. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf.

BRIEGEL, H.; HEFTI, M.; DIMARCO, E. Lipid metabolism during sequential gonotrophic cycles in large and small female *Aedes aegypti*. **Journal of Insect Physiology**, v. 48, p. 547–554, 2002.

CALADO, D. C.; SILVA, M. A. N. Influência da temperatura sobre o *Aedes albopictus*. **Rev. Saúde Pública**. 2002;36(2):173-9.

CAVAGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000.

CHAVES, L.F., HAMER, G.L., WALKER, E.D., BROWN, W.M., RUIZ, M.O., KITRON, U.D. 2011. Climatic variability and heterogeneity impact urban mosquito diversity and vector abundance and infection. **Ecosphere** 2(6): 1-21, 2011.

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

COOPERBAND, M. F.; MCELFRISH, J. S.; MILLAR, J. G.; CARDÉ, R. T. Attraction of female *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) to odors from chicken feces. **Journal of Insect Physiology**, v. 54, p. 1184–1192, 2008.

COSTA, A. C. C., *et al.* Surveillance of Dengue Vectors Using Spatio-Temporal Bayesian Modeling. **BMC Medical Informatics and Decision Making**, vol. 15, no. 1, 13 Nov. 2015

DEPOLI, P. A. C., ZEQUI, J.A.C., NASCIMENTO, K.L.C., LOPES, J., Eficácia de Ovitampas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. **EntomoBrasilis** 9(1), 51–55, 2016.

DE SOUZA, S. J. *et al.* Spatial and temporal distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* oviposition on the Coast of Paraná, Brazil, a recent area of Dengue Virus transmission. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 9, p. 246–246, 2022.

FARAJI, A.; EGIZI, A.; FONSECA, D. M.; *et al.* Comparative host feeding patterns of the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus*, in urban and suburban Northeastern USA and implications for disease transmission. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, p. e3037, 2014.

FAY R.W., ELIASON D.A. A preferred oviposition sites as surveillance methods for *Aedes aegypti*. **Mosquito News**. 1966.

FAY, R.W., PERRY, A.S. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, 25(3), 276–281, 1965.

FERREIRA, D. A. C., *et al.* Meteorological Variables and Mosquito Monitoring Are Good Predictors for Infestation Trends of *Aedes aegypti*, the Vector of Dengue, Chikungunya and Zika. **Parasites & Vectors**, vol. 10, no. 1, 13 Feb. 2017.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. **Avaliação de armadilhas para a vigilância entomológica de *Aedes aegypti* com vistas à elaboração de novos índices de infestação**. Nota técnica N.º 3/2014/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA. 2014.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica - Identificação, biologia e epidemiologia**. Vol. 2. EDUSP, São Paulo, 2002.

FORATTINI, O. P.; GOMES, A. C.; NATAL, D.; KAKITANI, I.; MARUCCI, D. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 171–187, 1987.

GARCIA-REJON, J. E.; BLITVICH, B. J.; FARFAN-ALE, J. A.; *et al.* Host-feeding preference of the mosquito, *Culex quinquefasciatus*, in Yucatan State, Mexico. **Journal of Insect Science**, v. 10, n. 32, p. 1–12, 2010.

GOMES, A. C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. **IESUS**. 7(3):49-56, 1998.

GÓMEZ-DÍAZ, E.; FIGUEROLA, J. New perspectives in tracing vector-borne interaction networks. **Trends in Parasitology**, v. 26, n. 10, p. 470–476, 2010.

GU, W.; NOVAK R.J., *et al.* Short Report: Detection Probability of Arbovirus Infection in Mosquito Populations. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, vol. 71, no. 5, 2004.

GUEDES, M. P. Culicidae (diptera) no Brasil: relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. **Oecologia Australis** 16(2): 283-296, 2012.

HARBACH, R. E. The Culicidae (Diptera): A review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 1668, p. 591–638, 2007.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Brasileiro de 2022**. Rio de Janeiro: IBGE, 2024.

ISHAK, H., *et al.* Spatial Mapping of *Aedes* sp. Densities and Endemicity Level of Dengue in Three Villages in South Sulawesi, Indonesia. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, vol. 921, no. 1, 1 Nov. 2021, p. 012077.

KEK, R.; HAPUARACHCHI, H. C.; CHUNG, C.; *et al.* Feeding host range of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) demonstrates its opportunistic host-seeking behavior in Rural Singapore. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 4, p. 880–884, 2014.

LEGA, J., *et al.* *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Abundance Model Improved With Relative Humidity and Precipitation-Driven Egg Hatching. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 5, p. 1375–1384, 2017

LEISNHAM, P., LESTER, P., SLANEY, D., WEINSTEIN, P. Anthropogenic Landscape Change and Vectors in New Zealand: Effects of Shade and Nutrient Levels on Mosquito Productivity. **Ecohealth** 1(3), 306–316, 2004.

LIMA-CAMARA, T.N.D., HONÓRIO, N.A., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de saúde pública** 22, 2079-2084, 2006.

LINDENMAYER, D.B., FISCHER, J. **Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis**. Island Press, 352, 2013.

LOPES, J. 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. **Revista de Saúde Pública** 31(4): 370-377, 1997.

LOPES, J. Mosquitos (Diptera:Culicidae) da região do baixo Tibagi e suas adaptações a ambientes antropogênicos: causas e consequências. In: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds) **A bacia do rio Tibagi**. (327-351) Ed. EDUEL: Londrina, 2002.

LOPES, J.; MARTINS, E. A. C.; OLIVEIRA, O.; OLIVEIRA, V.; OLIVEIRA NETO, B. P.; OLIVEIRA, J. E. Dispersion of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in the rural zone of north Paraná State. **Braz. arch. biol. technol.** 47(5):739-746, 2004.

MAACK, R. **Geografia física do estado do Paraná**. 2ª ed. J. Olympio/Secretaria de Cultura e do Esporte do Governo do Estado do Paraná, Rio de Janeiro/Curitiba, 1981.

MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J.; MORENO-INDIAS, I.; HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L. E.; ARGÜELLO, A.; RUIZ, S.; SORIGUER, R.; FIGUEROLA, J. Host-feeding pattern of *Culex theileri* (Diptera: Culicidae), potential vector of *Dirofilaria immitis* in the Canary Islands, Spain. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 6, p. 1419–1423, 2012.

MELO-MOURA, C. B. M., *et al.* Spatio-Temporal Dynamics of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Oviposition in an Urban Area of Northeastern Brazil. **Tropical Medicine & International Health**, vol. 25, no. 12, 9 Oct. 2020, pp. 1510–1521.

MOLAEI, G.; ANDREADIS, T. G.; ARMSTRONG, P. M.; *et al.* Host feeding pattern of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and its role in transmission of West Nile Virus in Harris County, Texas. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 1, p. 73–81, 2007.

MONTAGNER, F.R.G., SILVA, O.S., JAHNKE, S.M., Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. **Brazilian J. Biol.** 78(2), 233–239, 2018.

MUCCI, L. F.; CARDOSO JÚNIOR, R. P.; PAULA, M. B.; *et al.* Feeding habits of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an area of sylvatic transmission of yellow fever in the state of São Paulo, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 21, n. 1, p. 6, 2015.

MURDOCK, C. C.; OLIVAL, K. J.; PERKINS, S. L. Molecular identification of host feeding patterns of snow-melt mosquitoes (Diptera: Culicidae): potential implications for the transmission ecology of Jamestown Canyon Virus. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 2, p. 226–229, 2010.

NASCI, R.S.A. Lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. **Mosquito News** 41(4), 808–811, 1981.

NASIR, S., *et al.* Effect of Climatic Conditions and Water Bodies on Population Dynamics of the Dengue Vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, vol. 11, no. 1, 2017, pp. 50–59.

NITSCHKE, P.R., CARAMORI, P.H., RICCE, W.D.S., PINTO, L.F.D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, PR: IAPAR, 2019.

OSHAGHI, M. A.; CHAVSHIN, A. R.; VATANDOOST, H.; *et al.* Effects of postingestion and physical conditions on PCR amplification of host blood meal DNA in mosquitoes. **Experimental Parasitology**, v. 112, n. 4, p. 232–236, 2006.

PRENDINI, L.; HANNER, R.; DESALLE, R. Obtaining, storing and archiving specimens and tissue samples for use in molecular studies. **Techniques in Molecular Systematics and Evolution**. p.176–248, 2002.

REINHOLD, J., *et al.* Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes: A Review. **Insects**, vol. 9, no. 4, 6 Nov. 2018, p. 158.

REEVES, L. E.; HOLDERMAN, C. J.; GILLETT-KAUFMAN, J. L.; KAWAHARA, A. Y.; KAUFMAN, P. E. Maintenance of host DNA integrity in field-preserved mosquito (Diptera: Culicidae) blood meals for identification by DNA barcoding. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 503, 2016.

RUIZ, M.O., WALKER, E.D., FOSTER, E., HARAMIS, L., KITRON, U.D. Association of West Nile virus illness and urban landscapes in Chicago and Detroit. **International Journal of Health Geographics** 6(1): 1, 2007.

SAMUEL, P. P.; ARUNACHALAM, N.; HIRIYAN, J.; *et al.* Host-feeding pattern of *Culex quinquefasciatus* Say and *Mansonia annulifera* (Theobald) (Diptera: Culicidae), the major vectors of filariasis in a rural area of South India. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 442–446, 2004.

SANTOS, C. S., PIE, M. R., DA ROCHA, T. C., & NAVARRO-SILVA, M. A. Molecular identification of blood meals in mosquitoes (Diptera, Culicidae) in urban and forested habitats in southern Brazil. **PloS One**, 14(2), e0212517, 2019

SEMA (Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Conhecendo o Bioma Mata Atlântica no Paraná. **Revista Atlântica**, 1(1), 20. 2018.

SILVA, F. D., *et al.* Temporal Relationship between Rainfall, Temperature and Occurrence of Dengue Cases in São Luís, Maranhão, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 21, no. 2, 641–646, 2016.

SILVA, K. R.; ZEQUI, J. A. C.; PALACIO-CORTÉS, A. M.; VILAS-BOAS, G. F. L. T.; VILAS-BOAS, L. A.; NAVARRO-SILVA, M. A. Density and diversity of Culicidae (Diptera), with analysis of viral circulation, in urban public establishments in Northern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 68, p. 1-12, 2024.

SOARES, F. S.; MEDRIL, M. E. Alguns aspectos da colonização da bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds) **A bacia do rio Tibagi**. (69 – 79) Ed. EDUEL: Londrina, 2002.

TAIPE-LAGOS, C.B., NATAL, D. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. **Rev. Saude Publica** 37(3), 275–279, 2003.

TARANTO, M. F. R., *et al.* Dengue Outbreaks in Divinópolis, South-Eastern Brazil and the Geographic and Climatic Distribution of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in 2011-2012. **Tropical Medicine & International Health**, vol. 20, no. 801, 20 Oct. 2014, pp. 77–88.

UEL – Universidade Estadual de Londrina. **UEL em dados**. 2024. Disponível em: <https://sites.uel.br/proplan/uel-em-dados/>. Acesso em: 28 dez 2024.

WILKERSON, R. C., LINTON, Y. M., FONSECA, D. M., SCHULTZ, T. R., PRICE, D. C., & STRICKMAN, D. A. Making mosquito taxonomy useful: a stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0133602, 2015.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Efficacy-Testing of Traps for Control of *Aedes* spp.** 2018, Disponível em: <https://doi.org/WHO/CDS/NTD/VEM/2018.06>. Acesso em 13 Jan. 2023.

WALTER REED BIOSYSTEMATICS UNIT (WRBU). **Culicidae**. 2025. Disponível em: www.wrbu.si.edu/taxonomy/term/1194. Acesso em 10 Nov. 2025.

WREGE, M.S., GARRASTAZU, M.C., FRITZSONS, E., SOUSA, V.A., AGUIAR, A.V. Principais fitofisionomias existentes no estado do Paraná e os novos cenários definidos pelas mudanças climáticas globais. **Ambiência Guarapuava** (PR) v.13 n.3 p. 600 – 615, 2017.

ZAHOULI, J.B.Z., KOUDOU, B.G., MÜLLER, P., MALONE, D., TANO, Y., UTZINGER, J. 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, 2017.

ZEQUI, J. A. C.; LOPES, J.; MEDRI, Í.M.; Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Zool.** 22(3), 656–661, 2005.

ZEQUI, J. A. C.; OLIVEIRA, A. A.; SANTOS, F. P.; LOPES, J. Monitoramento E Controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) E *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) Com Uso de Ovitrapas. **Semina Cienc. Biol. Saude**, vol. 39, no. 2, 93–102, 2018.

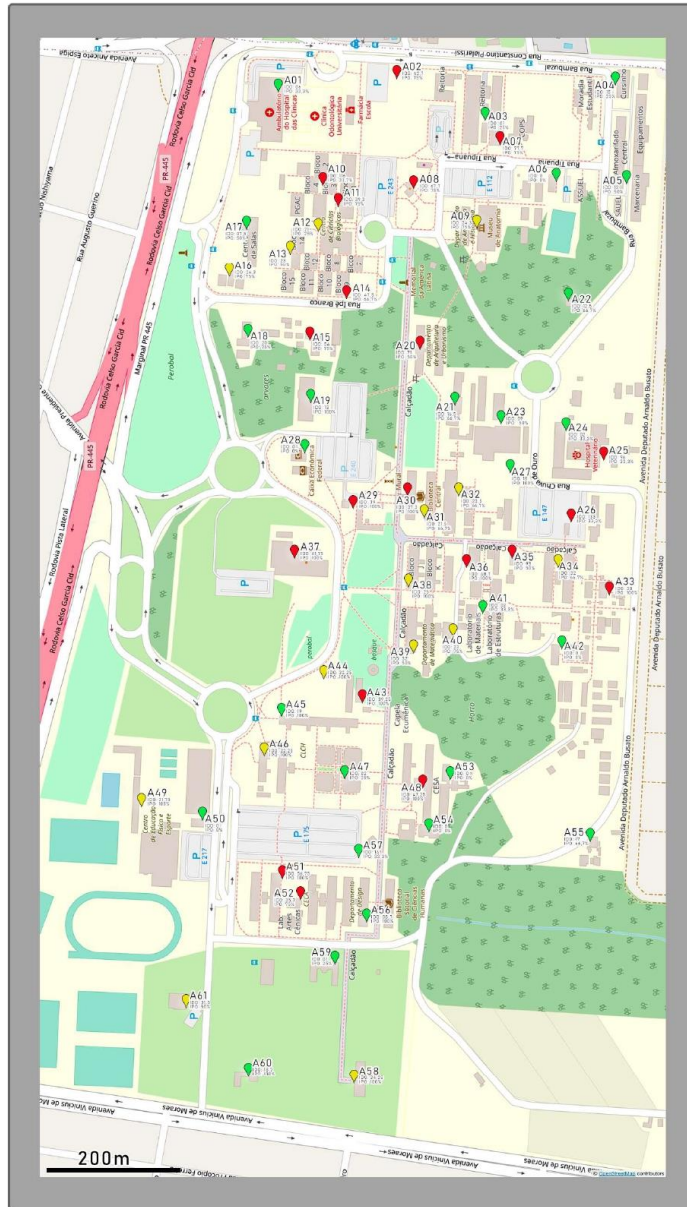
6 ANEXOS

Anexo 1 – Mapas de infestação elaborados pelo GT Aedes e disponibilizados para toda a comunidade acadêmica e do município.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA
Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB
PROJETO MONITORAMENTO DE AEDES
Prof. Dr. João A. C. Zequi
FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 33,67
IPO: 61,97%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **3918 ovos** através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

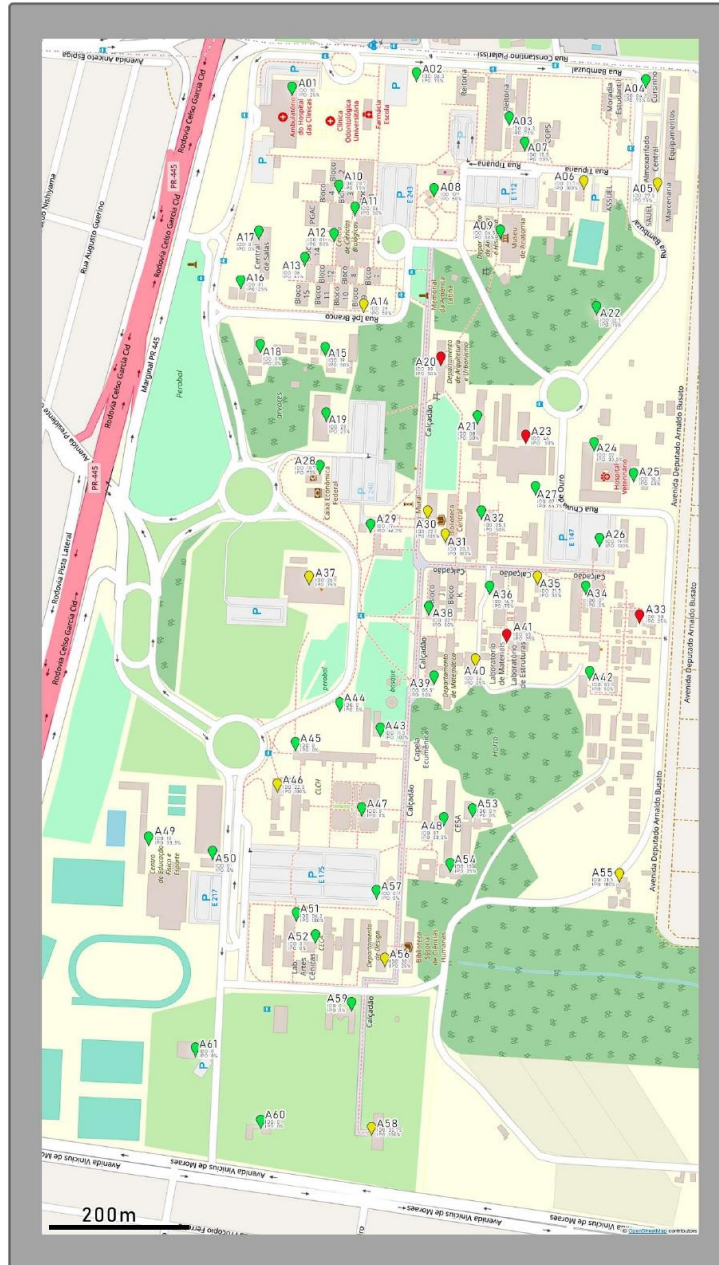
LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 16,47
IPO: 46,58%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **1680 ovos** através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

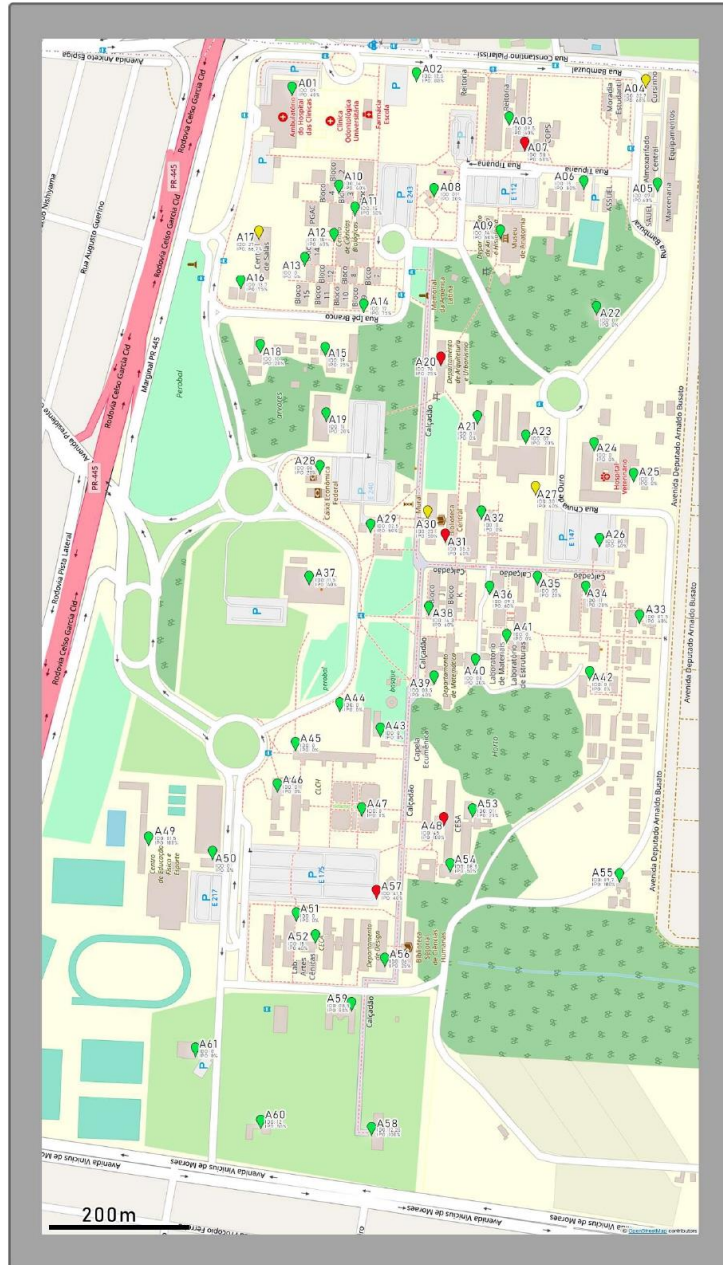
LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 16,74
IPO: 36,69%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **1523 ovos** através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

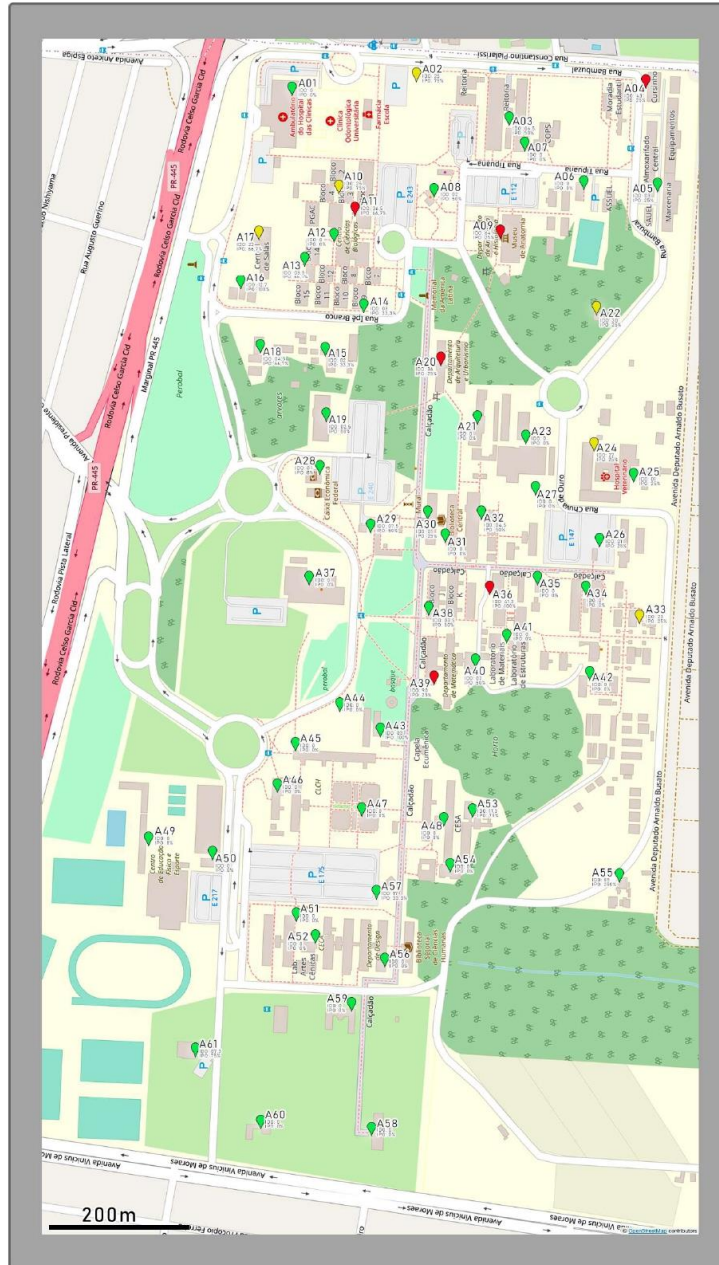
LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 16,20
IPO: 30,27%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **907** ovos através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

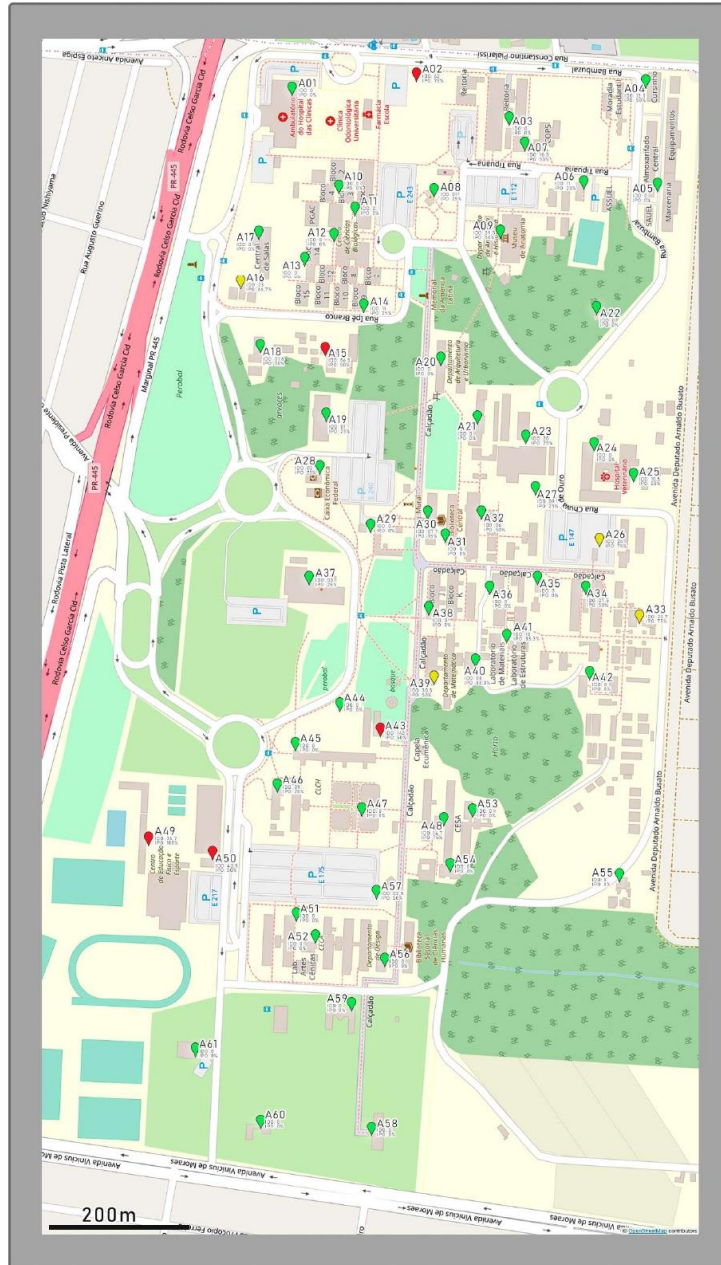
LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 22,89
IPO: 26,47%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **1236 ovos** através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 25,61
IPO: 43,07%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **2945** ovos através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 41,80
IPO: 64,50%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **5697 ovos** através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 35,74
IPO: 64,91%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO)	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **5290** ovos através das armadilhas.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA

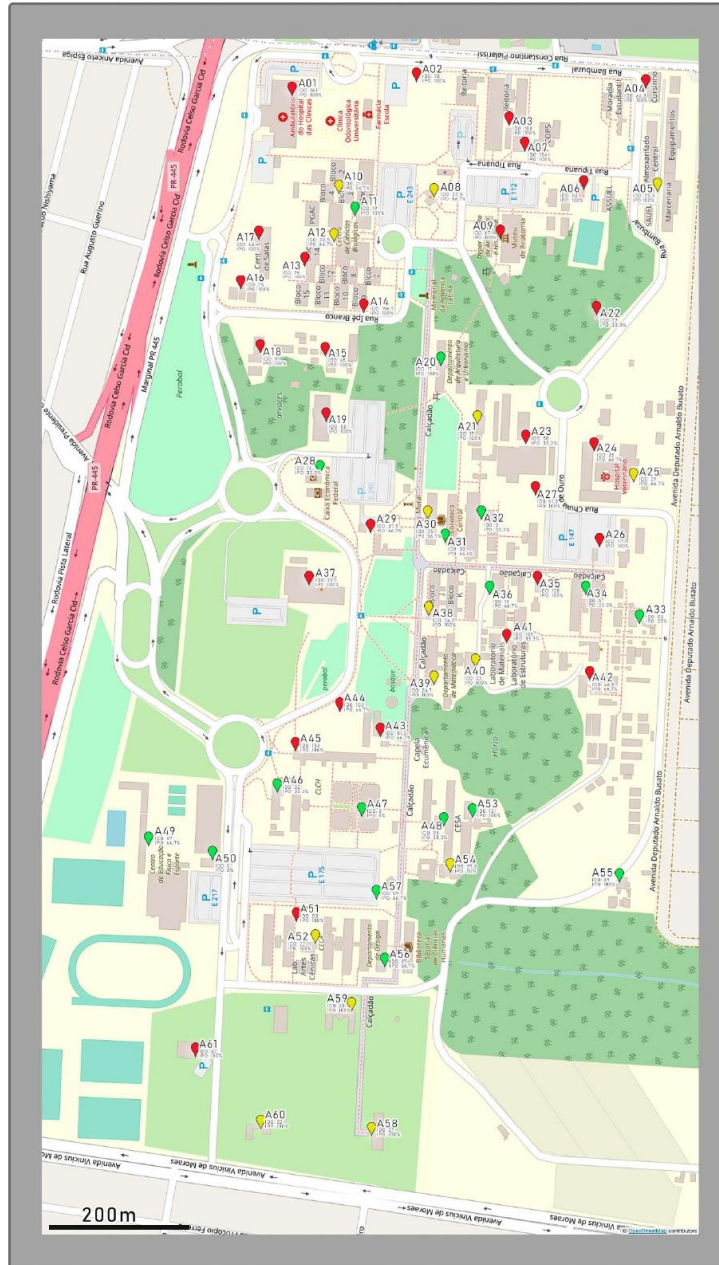
LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB

PROJETO MONITORAMENTO DE *Aedes*

Prof. Dr. João A. C. Zequi

FONE: 3371-4666



Geral
IDO: 67,93
IPO: 77,27%



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
LONDRINA



Níveis do Índice de Densidade de Ovos (IDO) <small>(IDO) com 95%</small>	
IDO	Risco
Até 20	Satisfatória
21- 35	Alerta
Acima de 35	Risco

Neste mês foram coletados **7855 ovos** através das armadilhas.