



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Colegiado do CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FELIPE AUGUSTO RECHE

**Monitoramento e análise da circulação viral de
Culicidae (Diptera) no município de Porecatu,
Paraná, Brasil**

Londrina – Paraná

2024

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

FELIPE AUGUSTO RECHE

**Monitoramento e análise da circulação viral de
Culicidae (Diptera) no município de Porecatu,
Paraná, Brasil**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Estadual de Londrina
como um dos requisitos à obtenção do

Orientador: João Antonio Cyrino Zequi

Coorientadora: Letícia Bernadete da Silva

Londrina – Paraná

2024

F315a Reche, Felipe.

Monitoramento e análise da circulação viral de Culicidae (Diptera) no município de Porecatu, Paraná, Brasil / Felipe Reche. - Londrina, 2024. 38 f.

Orientador: João Zequi.

Coorientador: Leticia Bernadete.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Monitoramento viral em mosquitos - TCC. I. Zequi, João. II. Bernadete, Leticia. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU 574

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a). João Antonio Cyrino Zequi

Prof(a). Dr(a). Bianca Piraccini Silva

Prof(a). Dr(a). Laurival Antônio Vilas Bôas

Londrina, 10 de maio de 2024.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à minha família, que sempre apoiou minhas decisões, estando do meu lado e me aconselhando para que eu pudesse me tornar a pessoa de hoje.

À Emanuele Neres, minha companheira que sempre me escuta, me traz felicidades, nos bons momentos comemora comigo e nos maus demonstra compreensão e acolhimento.

A todos os meus amigos que, mesmo eu não conseguindo sempre estar presente e o tempo ter afastado alguns, nos reencontros todas as conversas continuam as mesmas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Antonio Cyrino Zequi, que desde o meu primeiro ano na graduação me deu oportunidades e ainda hoje, no fim da faculdade, continua me auxiliando.

A toda equipe do Laboratório de Entomologia Geral e Médica, em especial meus amigos Eduardo, Letícia e Pedro, que contribuíram de muitas formas na elaboração deste trabalho e em outras ocasiões.

Ao Edson Kenji Kawabata, que desde o primeiro ano da graduação está comigo no Laboratório de Entomologia Geral e Médica, trocando informações e evoluindo juntos.

Ao Prof. Dr. Mario Antônio Navarro da Silva, que me apresentou o Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC) da Universidade Federal do Paraná, deu apoio e conselhos para a elaboração deste e de futuros trabalhos.

À Dra. Angela Maria Palacio Cortés e a Me. Ana Carolina Felício Alves, também do LAMFIC, que me ensinou os procedimentos de análise do RNA viral com atenção, cuidado e paciência, contribuindo imensamente para o trabalho.

À Dra. Bianca Piraccini Silva, por ter aceitado o convite de compor a banca examinadora, e assim contribuir para a melhora deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Laurival Antônio Vilas Bôas, que também aceitou compor a banca examinadora e por melhorar o clima quanto presente com suas histórias, proporcionando boas risadas.

A todos os meus professores, tanto da graduação quanto da educação básica, que se tornaram exemplos de profissionais para mim e continuam trabalhando arduamente para a melhoria da educação.

Aos técnicos Aparecido Souza, Edson Santana e Robson, que auxiliaram de grande forma nas coletas com a grande experiência, não sendo possível a realização deste trabalho sem eles.

À FAUEL, que possibilitou a realização do trabalho através do financiamento parcial do projeto.

A todos os integrantes do controle de Endemias de Porecatu, que mesmo com a alta demanda de trabalhos, aceitou realizar este projeto, contribuindo de forma crucial no decorrer das atividades. Sem eles este trabalho não seria realizado.

RECHE, Felipe. **Monitoramento e análise da circulação viral de Culicidae (Diptera) no município de Porecatu, Paraná, Brasil.** 2024. 36. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2024

RESUMO

Os mosquitos são insetos da família Culicidae, ordem Diptera. Alados, holometábolos e com hábitos de hematofagia para a maturação dos ovos. Por conta do hábito hematofago, o grande processo de urbanização e a capacidade de adaptação dos mosquitos ao ambiente antrópico, estes insetos tiveram relação estreita com os homens e animais domésticos, veiculando arbovírus, filárias, plasmódios. Entre os principais vetores urbanos estão *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823), onde a espécie *Ae. aegypti* se tornou um grande problema para a saúde pública, podendo veicular os vírus DENV (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4), CHIKV, ZIKV, entre outros, sendo necessários trabalhos para controlar o vetor. O objetivo deste trabalho foi capturar mosquitos adultos para verificar a presença dos vírus DENV, CHIKV e ZIKV *Ae. aegypti* e determinar se os dados meteorológicos influenciaram na coleta de mosquitos. Para a captura dos indivíduos adultos foi utilizado um aspirador de Nasci adaptado e foram selecionados 7 pontos de coletas (UBS's: endemias, Miguelito, Vila Iguaçu, 3 conjuntos; Ponto 1, Creche, Pátio). Foram capturados um total de 161 mosquitos, distribuídos em duas espécies, *Ae. aegypti* e *Culex*. Correlacionando os indivíduos coletados durante o período amostral com os dados de precipitação e temperatura média, não foi encontrado diferença significativa. Na análise viral não foi encontrado a presença de vírus, porém os resultados demonstram que mosquitos estão circulando em unidades básicas de saúde, sendo então necessário continuar o monitoramento viral a fim de preservar a saúde populacional.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Vírus. Mosquitos.

ABSTRACT

Mosquitoes are insects belonging to the Culicidae family, Diptera order. They are winged insects, holometabolous, with hematophagy habits for egg maturation. Due to this habit, the significant process of urbanization and mosquitoes' adaptation to the anthropic environment, these insects have started to transmit harmful organisms to humans. Among the main vectors are the species *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse, 1894), and *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823), where the *Ae. aegypti* species has become a major public health problem, capable of transmitting viruses such as DENV (its serotypes), CHIKV, ZIKV, among others, requiring efforts to control the vector. The aim of this study was to capture adult mosquitoes to verify the presence of DENV, CHIKV, and ZIKV viruses in *Ae. aegypti* females and determine if meteorological data influenced mosquito collection. An adapted Nasci aspirator was used for adult mosquito capture at 7 collection points (UBS's: endemias, Miguelito, Vila Iguaçú, 3 conjuntos; Ponto 1, Creche, Pátio). A total of 161 mosquitoes were captured, including *Ae. aegypti* species and *Culex* genus. Correlating the collected individuals during the sampling period with precipitation and average temperature data, no significant difference was found. Viral analysis did not detect the presence of viruses; however, the results indicate that mosquitoes are circulating in basic health units, highlighting the need to continue viral monitoring to preserve public health.

Sumário

1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1 Taxonomia e biologia de Culicidae	2
2.1.1 Ovos.....	3
2.1.2 Larvas	3
2.1.3 Pupas.....	4
2.1.4 Adultos	4
2.2 Potencialização da reprodução de Culicídeos	4
2.3 Culicídeos como vetores de arboviroses	5
2.4 Patógenos vinculados por <i>Aedes aegypti</i>	6
2.4.1 Dengue (DENV)	6
2.4.2 Chikungunya (CHIKV).....	7
2.4.3 Zika (ZIKV).....	8
2.4.4 Febre amarela (YFV)	9
2.5 Métodos de coleta e monitoramento dos vetores	9
2.6 Metodologias de controle	10
2.7 Pesquisa viral em mosquitos com a técnica PCR.....	11
3. Material e métodos.....	11
3.1 Área de Estudo	11
3.2 Coleta dos mosquitos adultos	12
3.3 Armazenamento e identificação dos mosquitos.....	14
3.4 Análise viral.....	15
3.5 Análise estatística	16
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5.CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

Os insetos conhecidos popularmente como mosquitos, pernilongo, muriçoca, entre outros, pertencem à família Culicidae, ordem Diptera e subordem Culicomorpha. Já descritos em todas as regiões do mundo, a região Neotropical possui sua maior riqueza (Forattini, 2002; Rueda, 2008).

Os culicídeos possuem metamorfose completa (holometábolos), apresentando quatro estágios, sendo ovo, larva, pupa e adulto, Estes estágios podem variar de 7 a 20 dias considerando a maioria dos gêneros, dependendo da disponibilidade de criadouro, alimento, fonte sanguínea e condições climáticas como temperatura e umidade (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008).

O primeiro estágio de vida do mosquito é representado pelos ovos, possuindo um revestimento pelo cório. Após a eclosão dos ovos, a fase larval é aquática e podem se alimentar de microrganismos e matéria orgânica. Seguido da fase larval vem a pupa, com forma de vírgula cuja principal característica é realizar as metamorfoses e se tornar adulto, onde nesta fase será alado com o corpo revestido por escamas (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Os adultos, tanto fêmeas quanto machos, podem se alimentar de substâncias naturais, como seiva e néctar. As fêmeas de Culicídeos, com exceção de *Toxorhynchites* spp. são hematófagas, ou seja, necessitam de nutrientes do sangue para a maturação de seus ovos, neste momento, podem veicular agentes etiológicos, se destacando na entomologia médica (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008).

Importantes espécies vetores no Brasil são *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). Entre estas, destaca-se o *Ae. aegypti*, veiculando o vírus DENV (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4), ZIKV e CHIKV (Consoli e Oliveira, 1994; MS [s.d.]; Martinez-Torrez, 1990).

Devido a esta situação, metodologias de monitoramento e controle vem sendo estudadas, como a coleta deste inseto, desde sua forma imatura até sua fase adulta (MS, 2013). Entre estas, está a estratégia de utilização do aspirador de Nasci, com o intuito de capturar indivíduos adultos, em qualquer horário. Criada em 1981, este aspirador consiste em um tubo cilíndrico de alumínio, um tecido de tule, uma hélice e uma bateria 12V (Nasci, 1981).

Por conta das epidemias causadas pelo vetor *Ae. aegypti* (OPAS, 2023a; OPAS, 2023b; OPAS, 2023c), este estudo tem como objetivo realizar um monitoramento viral na cidade de Porecatu, Paraná, por meio da coleta de adultos de *Ae. aegypti*, verificando a presença dos vírus DENV (seus sorotipos), CHIKV e ZIKV, sendo que a hipótese deste trabalho é de que o vírus DENV estará presente, devido os casos na cidade, estará presente nas amostras de mosquito (Infodengue, 2024).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Taxonomia e biologia de Culicidae

Os mosquitos são insetos pertencentes à família Culicidae, ordem Diptera, subordem Culicomorpha. Este grupo possui diversos nomes populares como pernilongo, muriçoca, mosquitos. Esta família possui duas subfamílias: Anophelinae, com três gêneros e Culicinae, com 110 gêneros, compreendendo cerca de 3.727 espécies (Forattini, 2002; Harbach, 2007; WRBU, 2024). Estes insetos estão amplamente distribuídos em diferentes regiões geográficas do mundo, sendo que a Neotropical apresenta sua maior riqueza (Rueda, 2008).

Os Culicídeos são holometábolos, no qual possuem quatro estágios, sendo eles ovo, larva (com quatro instares larvais) e pupa, onde o período larval e pupa são aquáticos, e o adulto alado com hábito terrestre. O tempo de vida varia de sete a vinte dias entre os diferentes gêneros de acordo com as condições do ambiente, como a temperatura, umidade e disponibilidade de alimento. (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Rueda, 2008).

Os locais de oviposição são ambientes com a presença de água, podendo ser locais feitos por outros animais ou vegetações, sendo estes chamados de ambientes naturais, como por exemplo bambus e buraco em árvores, ou ambientes antrópicos, onde a ação humana gera criadouros para o mosquito, sendo estes chamados de ambientes artificiais, como por exemplo pneus e caixas d'água. (Forattini, 2002).

2.1.1 Ovos

Os ovos dos mosquitos possuem um formato oval, podendo ser alongado. Possuem um revestimento formado pelo cório, com duas camadas: exocório (externa) e o endocório (interna). A oviposição pode ser feita formando um conjunto de ovos, cuja denominação se dá por “jangadas” como no gênero *Culex*, separados acima do nível da água, como acontece no gênero *Aedes* ou então separados com a presença de flutuadores, como ocorre em *Anopheles*. (Figura 1) (Consoli e Oliveira, 1994).

Figura 1 – Ovos isolados e flutuadores (*Anopheles*), ovos em jangadas (*Culex*) e ovos separados acima do nível da água (*Aedes*).



Fonte: Zequi et al., 2021.

2.1.2 Larvas

As larvas são aquáticas e se alimentam de microrganismos como fungos, protozoários, pequenos animais e, principalmente, matéria orgânica presente nos criadouros. Possuem cerdas com função sensorial, um par de antenas e um par de olhos formados por grupos de ocelos. Seu aparelho bucal é do tipo mastigador-raspador (Consoli e Oliveira, 1994).

Os corpos das larvas são compostos por segmentos, onde no VIII está presente uma estrutura denominada de sifão, com função respiratória. Este sifão possui importância taxonômica, onde a subfamília *Culicinae* se caracteriza por possuir um sifão exuberante, diferentemente da subfamília *Anophelinae* onde ele é ausente. Além disso, a forma e o número de espinhos no sifão variam entre diferentes grupos de culicídeos, sendo utilizado como caráter diagnóstico (Consoli e Oliveira, 1994).

2.1.3 Pupas

Ao final do período larval, o indivíduo passa para o estágio de pupa. Neste estágio, o objetivo é ocorrer metamorfoses no indivíduo imaturo, deixando inclusive de se alimentar com o objetivo de atingir o estágio adulto. A pupa possui a fusão da cabeça com o tórax, formando o cefalotórax e o abdômen. Esta configuração faz com que seu corpo fique em forma de vírgula. (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

2.1.4 Adultos

Com a metamorfose completa da pupa, o organismo adulto ao emergir geralmente procura um abrigo, com o objetivo de endurecer o seu tegumento. O corpo do adulto é coberto por escamas e dividido em cabeça, tórax e abdômen, com pernas longas e finas, e aparelho bucal formado por uma probóscide longa (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Fêmeas e machos possuem dimorfismo sexual: sendo as antenas do macho plumosas, enquanto das fêmeas pilosas. Em Culicinae os palpos maxilares das fêmeas são curtos, enquanto dos machos são alongados. Ambos os sexos podem se alimentar de substâncias açucaradas, como seiva e néctar. Porém, para que as fêmeas de Culicidae, com exceção de *Toxorhynchites* spp., consigam os nutrientes necessários para a maturação de seus ovos, é necessário a hematofagia. Então, por conta da hematofagia, as fêmeas podem contrair patógenos ao se alimentar de um organismo infectado e este patógeno migrar do intestino para as glândulas salivares e assim o mosquito se torna um vetor (Consoli e Oliveira, 1994; Dimond, 1956; Farjana, 2013; Forattini, 2002; Rueda, 2008).

2.2 Potencialização da reprodução de Culicídeos

O constante crescimento urbano e, conseqüentemente, o grande desmatamento, provoca uma fragmentação florestal fazendo com que muitas espécies entrem em declínio. Porém, outras espécies conseguem sobreviver a estas mudanças e podem, inclusive, aumentar sua abundância. (Laurance, 2008; Haddad et al., 2015).

Os culicídeos também sofreram com esta grande perda de habitat, porém devido sua plasticidade genética, rápido ciclo de vida e a capacidade de

comportamento sinantrópico, fizeram com que algumas espécies de mosquitos conseguissem aumentar sua abundância no ambiente urbano (Lopes, 1997; Zahouli et al., 2017; Leisnham et al., 2004).

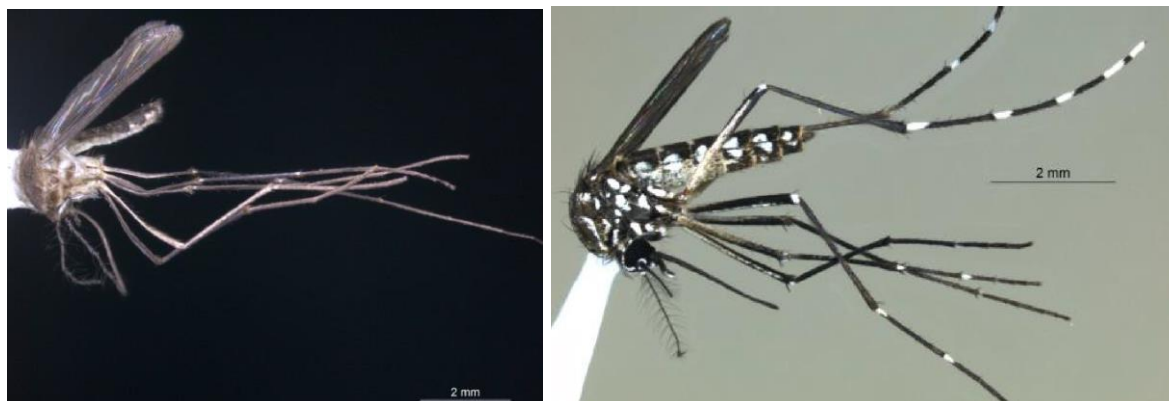
Um trabalho feito por Iwamura (2020) indica que devido as mudanças climáticas como aumento de temperatura e precipitação, o mundo se tornou 1,5% mais favorável para a proliferação do *Ae. aegypti* entre 1950 a 2000. Ainda, com uma previsão para este mosquito, o estudo diz que até 2050 a previsão é de 3,2% a 4,4% mais favorável, indicando uma dispersão do mosquito de 2 a 6 km por ano até 2050 na América do Norte (Iwamura, 2020).

2.3 Culicídeos como vetores de arboviroses

Algumas das espécies vetoriais mais comuns encontradas no Brasil são: *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894), *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) (figura 2) e *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* (Root, 1926). Estes mosquitos podem ser hospedeiros de agentes etiológicos, tendo assim uma grande importância médica. (Consoli e Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Natal, 2002).

O gênero *Aedes*, sobretudo a espécie *Aedes (Stegomyia) aegypti*, possui uma grande proliferação, criando uma preocupação global. Esta espécie atua como vetor do vírus da dengue, zika chikungunya e febre amarela urbana (Consoli e Oliveira, 1994). O gênero *Culex*, com destaque a espécie *Culex quinquefasciatus*, também atua como vetor de patógenos em humanos, como o nematoda *Wuchereria bancrofti*, causador da filariose linfática no Brasil (Guedes et al., 2017; Farajollahi et al. 2011).

Figura 2 – Adultos de *Culex* e *Aedes*, respectivamente.



Fonte: Zequi et al., 2021.

2.4 Patógenos vinculados por *Aedes aegypti*

2.4.1 Dengue (DENV)

O vírus da dengue possui quatro sorotipos (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4), sendo pertencentes à família *Flaviviridae*, são transmitidos pelo mosquito *Ae. aegypti*. O isolamento dos vírus DENV começou em 1943, com Kimura, e Hotta em 1944, onde esta cepa foi denominada como Mochizuki. Em 1945, Sabin e Schlesinger isolaram a cepa Havaí. Ainda em 1945, Sabin identificou outro vírus em Nova Guiné e observou características antigênicas diferentes, percebendo que eram sorotipos do mesmo vírus. As primeiras cepas foram denominadas de sorotipo 1 e a cepa de Nova Guiné, sorotipo 2. Em 1956, houve um surto de dengue grave no Sudeste Asiático, onde foram isolados os sorotipos 3 e 4 (Martinez-Torrez, 1990; Barreto e Teixeira, 2008).

Todos os quatro sorotipos podem causar tanto a dengue clássica, como também uma exposição mais virulenta (Santos et al., 2015; WHO, 2023). Ainda, há a possibilidade de todos os sorotipos estarem em circulação ao mesmo tempo, como já foi relatado na cidade de Manaus, Amazonas (Bastos et al., 2012) e na cidade de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul (Souza et al., 2018).

A incidência do vírus da dengue vem crescendo nas últimas décadas. Com uma maior ocorrência em regiões tropicais e subtropicais, a dengue grave é uma das principais causas de risco de morte em alguns países da América Latina e da Ásia. Na região das Américas, estima-se que cerca de 500 milhões de pessoas correm o risco de se contaminar com os vírus da dengue (OPAS, 2023a). Segundo os dados

da Organização Pan-americana da Saúde, em 2016 houve um grande aumento de casos de dengue em todo o mundo, e após este surto, em 2017 e 2018 houve uma diminuição dos casos, seguidos de um grande surto em 2019. Em 2023, ainda nas Américas, houve a maior quantidade de registros de dengue, somando um total de 4.565.911 casos, sendo 7.653 casos graves e 2340 óbitos (OPAS, 2023a). No Brasil, até a semana epidemiológica 13 de 2024, foram notificados cerca de 2,6 milhões casos suspeitos de dengue no país, com 991 óbitos confirmados e 1,4 mil em investigação (MS, 2024c).

No ano de 2024, nas Américas, desde a primeira semana epidemiológica até a oitava, foram registrados 1.874.021 casos de suspeita de dengue, representando um aumento de 249% em comparação com o mesmo período em 2023 e 354% em comparação aos últimos 5 anos (OPAS, 2023a).

Devido ao grande número de casos de dengue nos anos de 2022 e 2023, o ministério da saúde iniciou o processo de vacinação no país. Com a metodologia de atender municípios com certas características, como: população igual ou maior que 100 mil habitantes, alta transmissão do vírus DENV nos últimos 10 anos e predominância do sorotipo DENV-2. A intenção é que 521 municípios sejam atendidos com uma primeira remessa de 757 mil doses, sendo que a previsão para o ano de 2024 é de 5,2 milhões de doses e, para 2025, um total de 9 milhões de doses (MS, 2024b).

2.4.2 Chikungunya (CHIKV)

Com apenas um sorotipo e diferentemente dos vírus DENV, o CHIKV pertence à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus* (Santos et al., 2015). Os primeiros casos registrados foram na Tânzania, em 1952, sendo o vírus isolado em 1958, na Tailândia (WHO, 2022). Os sintomas apresentados pelas pessoas contaminadas com o vírus CHIKV são semelhantes às infecções dos vírus da DENV e ZIKV, tornando assim uma maior chance do diagnóstico da chikungunya ser errado (WHO, 2022).

Desde 2004, o CHIKV já foi identificado em mais de 110 países na Ásia, Europa, Américas e África (WHO, 2022). O vírus é transmitido principalmente pelo *Ae. aegypti*, mas também pode ser veiculado pelo *Ae. albopictus* (WHO, 2022). Após o ano de 2014, os incidentes com o vírus CHIKV diminuíram em escala global (OPAS, 2023b). No ano de 2023, até a semana epidemiológica 21, foram notificados

213.561 casos de Chikungunya nas Américas, onde 124.270 casos foram notificados no Brasil, sendo o país com o maior número de casos da doença (OPAS, 2023b).

No Brasil, durante a semana epidemiológica 1 a 4 de 2024, foram notificados 14.958 possíveis casos de Chikungunya, observando-se uma pequena redução de 0,7% comparando com o mesmo período no ano de 2023 (MS, 2024a).

2.4.3 Zika (ZIKV)

O vírus Zika, assim como a Dengue, pertence à família *Flaviviridae* e é transmitido através do mosquito *Ae. aegypti* (Santos et al, 2015). O primeiro isolamento do vírus ocorreu em 1947 na floresta de Zika, em Uganda (África). Desde então foram relatados pequenos surtos na Ásia, até que em 2007, na Ilha de Yap (Micronésia) houve uma grande epidemia onde cerca de 75% da população foi infectada pelo vírus (OPAS, 2020)

Em maio de 2015, o vírus foi detectado no nordeste brasileiro e, em julho do mesmo ano, foi constatada a associação entre o contágio do vírus com a malformação do sistema nervoso em bebês, incluindo a microcefalia, e a ligação com a síndrome de Guillain-Barré (OPAS, 2020).

Desde 2015, o vírus ZIKV se espalhou por toda a América, com exceção do Uruguai, Canadá e Chile continental. No ano de 2016 ocorreu um grande aumento de casos notificados de Zika, somando 651.470 casos, que nos anos seguintes houve uma grande redução (OPAS, 2023b).

No ano de 2023, até a semana epidemiológica 21 nas Américas, foram notificados 8.758 casos de Zika, observando-se uma redução quando comparada ao mesmo período no ano de 2022 (OPAS 2023b). Dos 8.758 casos notificados, o país com a maior proporção de notificações foi o Brasil, com 7.352 casos (84%) (OPAS, 2023b).

No Brasil, durante as 3 primeiras semanas epidemiológicas de 2024, foram registrados 105 casos prováveis de Zika, onde as regiões Sudeste, Nordeste e Centro-oeste foram as mais afetadas. Comparando com o mesmo período de 2023, houve uma redução de 63% casos prováveis (MS, 2024a).

2.4.4 Febre amarela (YFV)

O vírus YFV, pertence à mesma família do Vírus DENV e ZIKV, a Flaviviridae, com apenas um sorotipo conhecido. Porém, o vírus da Febre Amarela pode se manifestar através de dois ciclos, urbano e silvestre (Santos et al., 2015; MS, 2020).

No ciclo silvestre do vírus YFV, os principais vetores são os mosquitos do gênero *Haemagogus* e *Sabethes*, onde por meio da hematofagia, os principais hospedeiros são primatas não-humanos (PNHs), e os humanos são hospedeiros acidentais deste ciclo. Os humanos infectados em ambientes silvestres, ao frequentar o ambiente urbano, podem contagiar os mosquitos da espécie *Ae. aegypti* e posteriormente transmitir para outras pessoas, iniciando assim o ciclo urbano (MS, 2020; MMA, 2018).

De acordo com os dados epidemiológicos do OPAS (2023c), o Brasil enfrentou grandes surtos durante 2016 a 2020, com 2.256 casos confirmados. Durante o período de julho de 2022 a junho de 2023 registrou-se 1.009 eventos envolvendo primatas não-humanos mortos, onde 5 foram confirmados a presença da febre amarela. Ainda durante este período, houve 300 casos suspeitos em humanos, onde três foram confirmados e um veio à óbito (OPAS, 2023c).

2.5 Métodos de coleta e monitoramento dos vetores

Por conta dos elevados números de mosquitos e, conseqüentemente, as diversas epidemias de arboviroses presentes no ambiente urbano, se tornou necessário a criação de metodologias para lidar com estas situações, auxiliando a mensurar a situação dos vetores, podendo utilizar formas imaturas do inseto e até o indivíduo adulto (MS, 2013).

Para auxiliar o trabalho de agentes, o Ministério da Saúde implementou o Plano Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Uma das estratégias presentes no plano é o levantamento rápido de índice de *Ae. aegypti* (LIRAA), que consiste em visitar residências e quantificar as larvas encontradas, ademais utilizando o índice de Breteau, e obtendo os dados de infestação predial (MS, 2013).

Com o intuito de realizar o monitoramento do mosquito, existem as metodologias com armadilhas, como a ovitrampas, larvitampas e adultrap. As

ovitrampas consistem em um pote preto, preenchido com água e atrativo, com uma palheta de madeira (onde o mosquito irá realizar a oviposição), posteriormente contando estes ovos e gerando índices de infestação. As larvitrapas são pneus adaptados para a oviposição do mosquito e a eclosão dos ovos. Adultraps são armadilhas que simulam locais ideais para a oviposição, porém com o intuito de prender os adultos (Fay e Perry, 1965; Gomes, 2007; Regis et al., 2008).

Com a coleta dos indivíduos adultos, é possível realizar vários trabalhos, como por exemplo a análise viral. Para realizar a coleta do mosquito adulto, pode-se utilizar armadilhas, como a de luz, que se demonstra eficaz para a coleta noturna. Outra estratégia se dá com aspiradores que, diferentemente da armadilha de luz, que é eficiente no período noturno, esta é eficaz em qualquer período (Facchinelli, 2007). O aspirador de Nasci, ferramenta criada em 1981, é um dos exemplos de estratégias para capturar indivíduos adultos. Esta ferramenta, composta por um cilindro de alumínio com um tecido de tule, uma hélice e uma bateria 12 volts, se torna eficaz em capturar os mosquitos em pleno voo, ou então quando estão escondidos. Ao ser capturado, o mosquito se prende a rede e permanece vivo, possibilitando a análise viral (Nasci, 1981).

2.6 Metodologias de controle

No Brasil, eram comuns utilizar diversos inseticidas à base de organofosforados e carbamato para o controle do mosquito adulto e sua fase larval (Lopes et al., 2021). Estes produtos, além de não terem especificidade aos mosquitos, eliminando assim outros insetos, também podem selecionar indivíduos por conta dos alelos *Kdr*, gerando resistência a inseticidas químicos à base de piretróides (Lopes et al., 2021). Ainda, inseticidas químicos podem ser prejudiciais à saúde humana e outros organismos por conta da toxicidade e o processo de lixiviação, contaminando solos, rios e fontes de água (Lima e Gurgel, 2018).

Em busca de outras metodologias para o controle dos mosquitos, trabalhos com agentes biológicos estão em crescimento por conta de importantes características, como especificidade, não gerar resistência e não causar danos ao ambiente (Lacey et al., 2015).

Diversas técnicas já estão em desenvolvimento para o controle biológico de Culicídeos, como a utilização de fêmeas contaminadas com a bactéria

Wolbachia sp., bloqueando a infecção do mosquito por patógenos (Oliveira et al., 2015), trabalhos com manipulação genética como mosquitos estéreis (Alphey et al., 2010), esterilização por irradiação, e produtos bacterianos à base de *Bacillus thuringiensis* sub *israelenses* Berliner, 1911 (Costa et al., 2010; Sarmiento et al., 2016).

2.7 Pesquisa viral em mosquitos com a técnica PCR (reação em cadeira polimerase) em tempo real

Devido a crescente vigilância epidemiológica, a PCR em tempo real passou a ser muito utilizada para a investigação de arboviroses em humanos, auxiliando nos diagnósticos, e em mosquitos vetores, contribuindo no monitoramento viral (Yang et al., 2010; Ferreira-de-Brito et al., 2016; Balingit et al., 2020).

Desenvolvida em 1983 por Kary Mullis, a técnica PCR tem como função analisar a expressão gênica e desenvolver diagnósticos em amostras (Mullis, 1986; Novais, 2004).

A técnica PCR ocorre por meio da ação da enzima DNA-polimerase, que amplifica sequências de DNA *in vitro*, seja de tecidos, fluidos ou células, gerando de uma sequência molde de bilhões de cópias de DNA (Mullis, 1986; Novais, 2004). Caso a amostra a ser analisada seja um RNA, é necessário utilizar a técnica de RT-PCR (Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeira Polimerase), que consiste converter o ácido nucleico em DNA complementar (transcrição reversa) e então utilizar a técnica de PCR, pois a molécula de RNA é mais instável que a de DNA (Santos et al., 2015).

3. Material e métodos

3.1 Área de Estudo

Localizada na região norte do Paraná, Porecatu se encontra, geograficamente, em 22° 45' 37" Sul e 51° 23' 9" Oeste (figura 3). Possui uma área territorial de 291.663 km² e 11.624 habitantes (IBGE, 2022).

Figura 3 – Localização do município de Porecatu, área onde foram realizadas as coletas de mosquitos Culicidae.



De acordo com a classificação de Köppen, Porecatu apresenta um clima subtropical úmido (Cfa). Durante o ano, a cidade apresenta uma média de temperatura que varia entre uma média mínima de 15°C e uma média máxima de 31°C. Com chuvas durante todas as estações, Porecatu apresenta uma maior taxa de pluviosidade em janeiro, com uma média de 185 milímetros, e uma menor taxa em agosto, com uma média de 46 milímetros (Weather Spark, 2024) e, com relação a umidade relativa do ar, Porecatu possui uma média de 63,1% (Clima Today, 2022).

3.2 Coleta dos mosquitos adultos

As coletas dos mosquitos adultos foram realizadas entre 10 de novembro de 2023 a 01 de março de 2024, com a licença permanente SISBIO/IBAMA (23093) e autorização da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Porecatu.

Foram organizados dois grupos com três locais de coleta cada, sendo que a cada duas semanas eram coletados em um grupo. Um dos grupos eram

compostos pelos seguintes locais: UBS Miguelito, UBS Vila Iguaçu e UBS 3 conjuntos. O segundo grupo era composto por: Creche (posteriormente mudada para o Pátio da prefeitura), Ponto 1 e UBS Endemias (figura 4). Foram realizadas 4 repetições em cada local no primeiro grupo. No segundo grupo foram realizadas 5 coletas no Ponto 1 e na UBS endemias, enquanto na creche uma e no Pátio 4 coletas (tabela 1), sendo todas entre 12:30 e 14:30.

Para a captura dos indivíduos, foi utilizado o aspirador de Nasci adaptado (Figura 5). Cada coleta tinha um período estabelecido de 15 minutos, e eram acompanhadas de um ajudante com um bastão, cuja função era estimular o voo dos mosquitos batendo nas superfícies.

Figura 4 – Os sete locais de aspiração no mapa da cidade de Porecatu,PR.

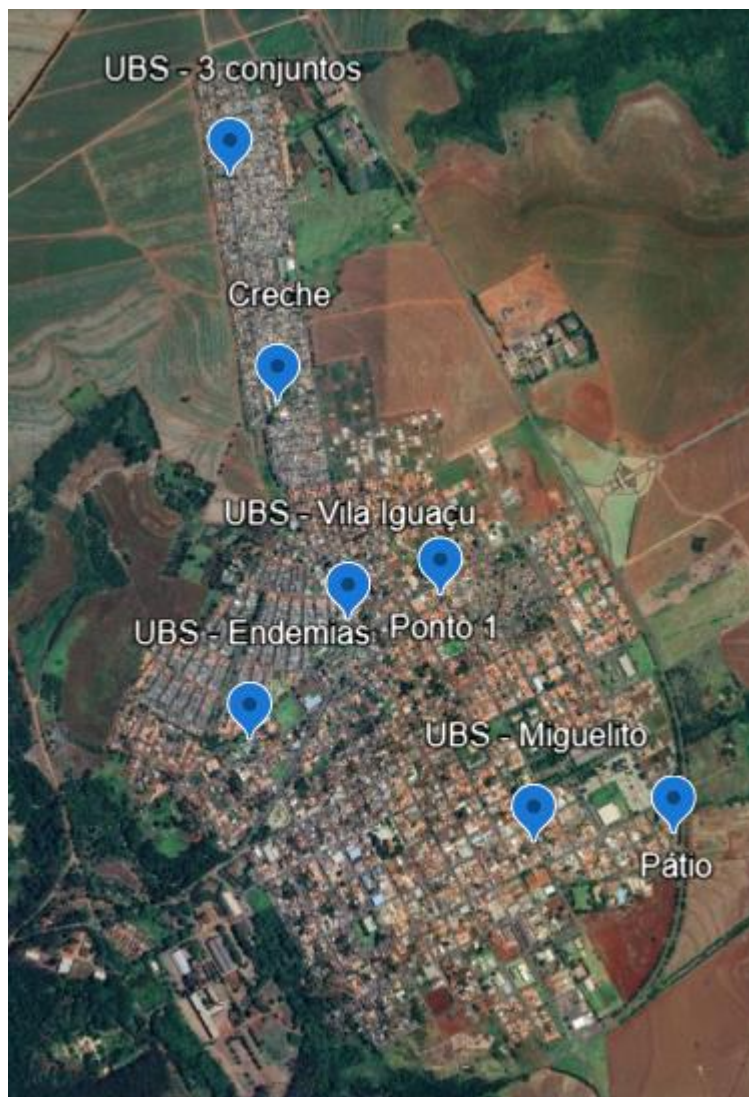


Tabela 1 – Divisão dos grupos dos locais e quantidade de coletas em cada local.

	LOCAL	Quantidade de coletas
Grupo 1	UBS - V. Iguçu	4
	UBS - Miguelito	4
	UBS - 3 Conjuntos	4
Grupo 2	Ponto 1	5
	Creche	1
	Pátio	4
	UBS - Endemias	5

Figura 5 – Aspirador de Nasci modificado, ferramenta utilizada para a captura de mosquitos adultos.

Fonte: o próprio autor.

3.3 Armazenamento e identificação dos mosquitos

Após a coleta os mosquitos foram armazenados em caixa de isopor, com gelo reutilizável e uma cama de algodão embebida de água e levados para o

Laboratório de Entomologia Geral e Médica, na Universidade Estadual de Londrina (UEL), e foram armazenados por 10 minutos em freezer a uma temperatura média de -5°C a fim de cessarem os movimentos para facilitar a triagem e identificação. Posteriormente, foram armazenados em microtubos, separados e etiquetados de acordo com o local de coleta, sexo e espécies. Em seguida, os indivíduos foram armazenados em freezer a uma temperatura de -80°C , a fim de preservar seu material genético para a análise viral (Figura 6).

Figura 6 – Freezer -80°C utilizado para armazenar os mosquitos adultos com o intuito de preservar seu material genético.



Fonte: O próprio autor.

3.4 Análise viral

A pesquisa viral foi realizada no Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC), na Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba. Para a extração do RNA viral foi utilizado o kit: QIAamp Viral RNA - Qiagen, seguindo as instruções do fabricante. Após a extração, a técnica realizada foi o PCR em tempo real (reação em cadeia de polimerase) e para a detecção dos vírus da dengue, zika e chikungunya, foi utilizado o Kit Multiplex Zika, dengue e chikungunya (lote 32100093).

Resumidamente, os mosquitos foram separados em oito grupos com apenas *Ae. aegypti* fêmeas. Elas foram maceradas com pistilos em tubos de centrifugação de 1,5 mL, com 140 uL de tampão-fosfato salino (SBS). Após, o macerado foi centrifugado a 13.000 rpm por 15 minutos. Posteriormente foi retirado 140 uL do sobrenadante e seguiu-se as próximas etapas da instrução.

Com a utilização do NanoDrop 2000 foram feitos os testes de espectrometria para verificar a qualidade e quantidade do RNA das amostras. Foi utilizado 10 uL de RNA extraído para avaliar a presença ou ausência dos arbovírus. Para os testes relacionados aos vírus DENV e CHIKV, são feitos a partir de uma mesma reação, porém a visualização dos resultados da PCR em tempo real, aparecem em comprimentos de ondas diferentes, sendo 520nm utilizando fluoróforo FAM para DENV positiva (cor verde no resultado) e 550nm utilizando fluoróforo JOE/VIC para CHIKV positiva (cor amarela). Para o teste com relação ao ZIKV, foi realizada outra reação, onde seu resultado se dá pelo comprimento de onda de 550nm, com fluoróforo ROX/TEXAS RED (cor laranja no resultado). Para a visualização do resultado PCR em tempo real, utilizou-se o termociclador Rotor-Gene O - Qiagen, com um controle positivo e um negativo.

3.5 Análise estatística

Foi realizado um agrupamento dos dados em dias de coleta, sendo duas mensais, com a intenção de comparar se houve variância entre os meses. Para analisar se os dados dos adultos capturados eram normais ($p > 0,05$) ou não-normais ($p < 0,05$), foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk e, após, analisado a variância, sendo usado o teste ANOVA-1, caso as amostras se classifiquem como normal, ou então o teste de Kruskal-Wallis, caso as amostras fossem sem normalidade.

Além disto, os dados de indivíduos adultos também foram agrupados mensalmente e feito uma apuração dos dados meteorológicos possíveis, fazendo então um outro teste de Shapiro-Wilk, e então, caso os dados fossem paramétricos seria utilizado um teste de correlação de Pearson, enquanto caso fossem não paramétricos, seria utilizado um teste de correlação de Spearman. Neste último teste, além dos dados de precipitação mensal do mês em questão, também foi utilizado os últimos 14 dias do mês anterior, levando em conta o ciclo de vida dos mosquitos. Todos os testes foram realizados utilizando o R Studio (versão 4.3.3.).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período amostral, foi coletado um total de 161 culicídeos adultos, sendo 77 da espécie *Ae aegypti* (47,82%), e 84 do gênero *Culex* (52,17%). Com relação aos indivíduos pertencentes à espécie *Ae aegypti*, 41 eram machos (53,24%) e 36 fêmeas (46,75%), enquanto do gênero *Culex* 46 machos (54,76%) e 38 fêmeas (45,23%). Observa-se que no local “pátio” foi capturado mais indivíduos quando comparado a outras regiões, enquanto na UBS – 3 conjuntos não foram coletados nenhum organismo (tabela 2).

Tabela 2 – Culicídeos coletados em Porecatu, com auxílio de aspirador de Nasci, de novembro de 2023 a 01 de março de 2024.

Local	<i>Ae. aegypti</i>			<i>Culex sp.</i>		
	Macho	Femea	%	Macho	Femea	%
Ponto 1	4	4	10,39	3	2	5,95
Creche	2	-	2,6	-	1	1,2
Pátio	20	19	50,64	32	27	70,23
UBS- Endemias	8	11	24,67	4	4	9,52
UBS- Miguelito	4	1	6,5	3	2	5,95
UBS- Vila Iguaçú	3	1	5,19	4	2	7,14
UBS- 3 Conjuntos	-	-	0	-	-	0
TOTAL	41	36	100	46	38	100
	261					

A presença do mosquito *Culex* spp. nos locais de coleta indica que ali estão presentes seus criadouros, que geralmente são água estagnada e poluída, podendo ser fossas, esgotos etc. É necessária atenção com relação a este gênero, especialmente a espécie *Cx. quinquefasciatus*, pois além de ser o transmissor de filariose linfática no Brasil, pode também ser o vetor dos vírus Oropouche, Mayaro e Rocio. Outro fator importante relacionado ao gênero *Culex* spp. se dá com seu grande incômodo devido tanto a prática hematofágica quanto o barulho de suas asas no período noturno, indicando uma má qualidade urbana. (Farajollahi et al. 2011; Guedes et al., 2017).

O Pátio foi o local de maior captura de indivíduos adultos, de ambas as espécies. A principal função do Pátio é ser um estacionamento, possuindo tráfego de pessoas diariamente, porém também há um local de descartes de pneus, assim gerando muitos criadouros para os mosquitos (figura 7).

Figura 7 – Pneus deixados no Pátio, gerando muitos criadouros para os mosquitos.



Fonte: O próprio autor.

A maioria das coletas na UBS – 3 conjuntos foram impossibilitadas em todos seus cômodos, pois alguns estavam trancados ou em utilização. Somado a isso, assim como as outras UBS's, em muitos cômodos havia um ar-condicionado

ligado, o que pode ter influenciado na ausência dos mosquitos. Porém, os mosquitos coletados nestes locais se tornam um dado importantíssimo, pois em unidades de saúde ocorre uma grande circulação de pessoas com a saúde debilitada, e a presença destes vetores pode indicar mais um possível risco à população.

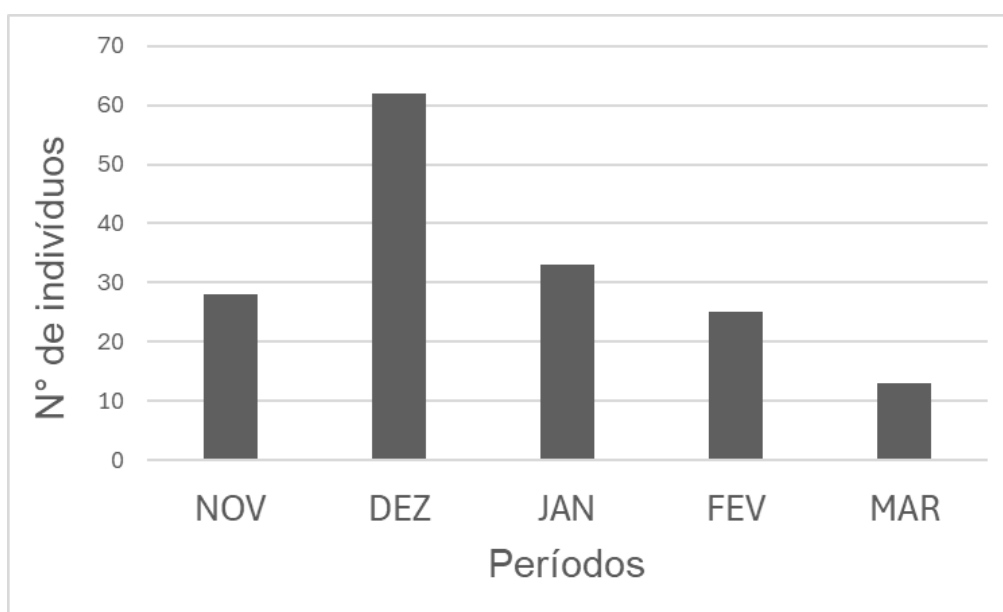
Para realizar as análises estatísticas com a intenção de comparar os adultos coletados mensalmente, os dados foram agrupados por dias de coletas, considerando apenas o número de indivíduos (tabela 3). Ao realizar o teste Shapiro-Wilk, foi constatado o valor de $p=0.09605$, sendo então dados paramétricos. Para o teste ANOVA a nível 5% de confiança, não houve diferença significativa ($F= 0,293$ e $p=0,869$).

Tabela 3 – Dados agrupados por dias de coletas para realizar os testes estatísticos (foram invertidos para melhor visualização).

	Período								
	NOV	NOV	DEZ	DEZ	JAN	JAN	FEV	FEV	MAR
N° de indivíduos	14	14	53	9	31	2	22	3	13

Seguindo os dados coletados, observou-se que nos meses de dezembro e janeiro foram capturados mais mosquitos, enquanto março e fevereiro foi o mês com menos indivíduos capturados (gráfico 1).

Gráfico 1 – Número de mosquitos adultos coletados em cada mês no período amostral.



Para a obtenção dos dados meteorológicos, utilizou-se o Infodengue (2024) com os dados de temperatura e o SEMA (2024) para os dados de precipitação. Durante os meses de coleta, a temperatura média observada foi de 25,97°C, enquanto a temperatura máxima observada foi de 31°C, e a temperatura mínima foi de 21°C.

No período amostral da coleta, observou-se pouca variação média de temperatura, sendo que o mês com maior temperatura média foi março, enquanto o com a menor foi janeiro (tabela 4).

Tabela 4 – Temperatura média e nº de indivíduos em cada mês no período amostral.

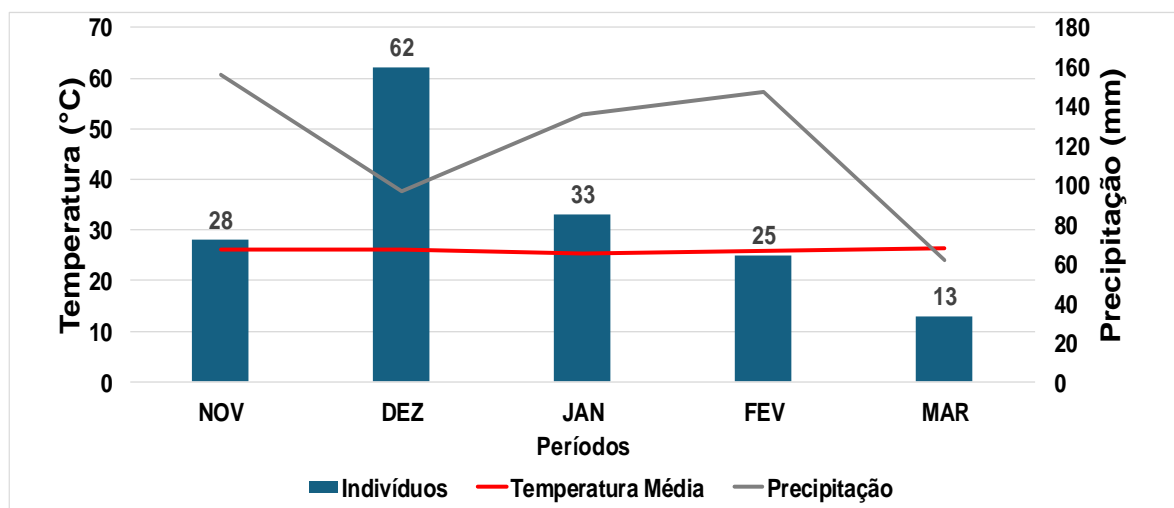
PERÍODO	TEMPERATURA MÉDIA	Nº INDIVÍDUOS
NOV	26.2	28
DEZ	26.23	62
JAN	25.26	33
FEV	25.89	25
MAR	26.31	13

Como as coletas foram finalizadas no dia 01 de março de 2024, o baixo número de indivíduos neste mês pode se justificar por ter sido realizada apenas uma coleta.

Com relação a precipitação pluviométrica, considerando os valores de 14 dias antes da primeira coleta, e os 14 dias antes da última coleta, teve um total de 392,1 mm, com a máxima neste período sendo de 53mm.

Para o teste de Shapiro-Wilk com os dados de pluviosidade e temperatura, o resultado foi de normalidade para ambos. O resultado do teste de correlação de Pearson para pluviosidade e número de indivíduos foi de $r = 0.0278$ e para a temperatura e número de indivíduos foi de $r = 0.0083$, indicando assim uma relação fraca entre as duas variáveis. No gráfico abaixo é possível observar os dados de temperatura, precipitação e indivíduos (figura 8). Estes resultados podem se dar por razão do baixo número de indivíduos coletados e o pouco tempo de período amostral.

Figura 8 – Dados de temperatura, precipitação e indivíduos durante o período amostral



Como resultado da análise, nenhum vírus foi encontrado nos 8 pools de *Ae. aegypti* fêmeas (figuras 8 a 10). As análises foram confirmadas por meio dos controles positivos.

Figura 9 – Curva de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti* com o controle positivo para Dengue.

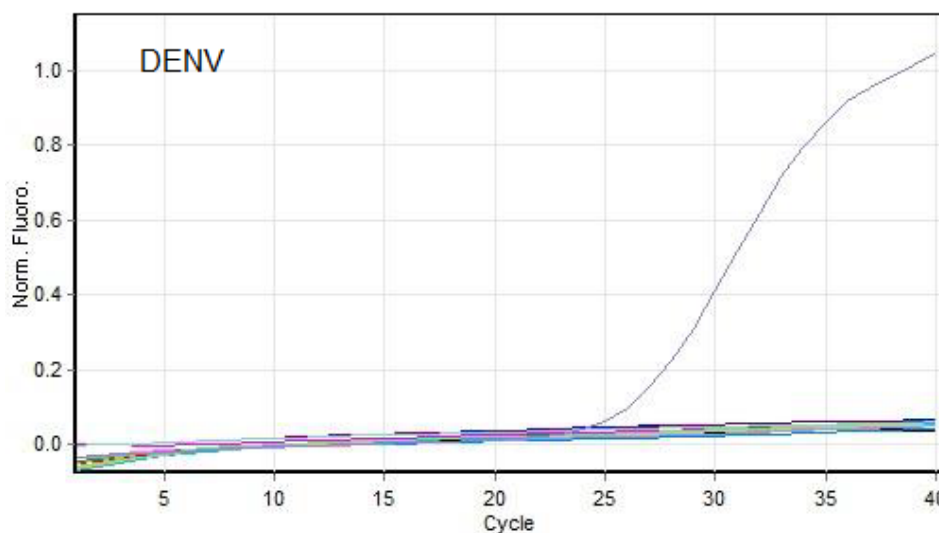


Figura 10 – Curva de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti* com o controle positivo para Chikungunya.

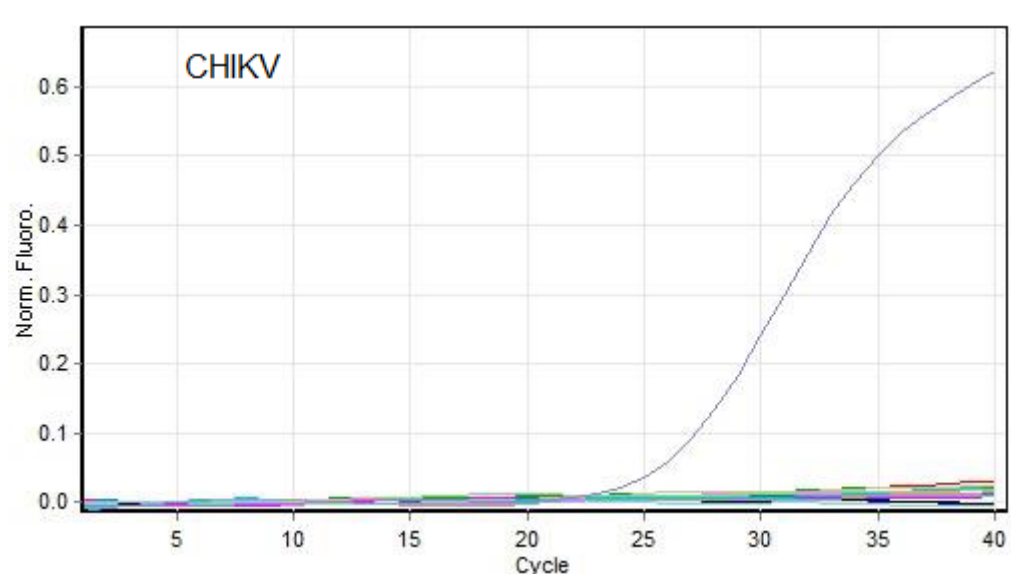
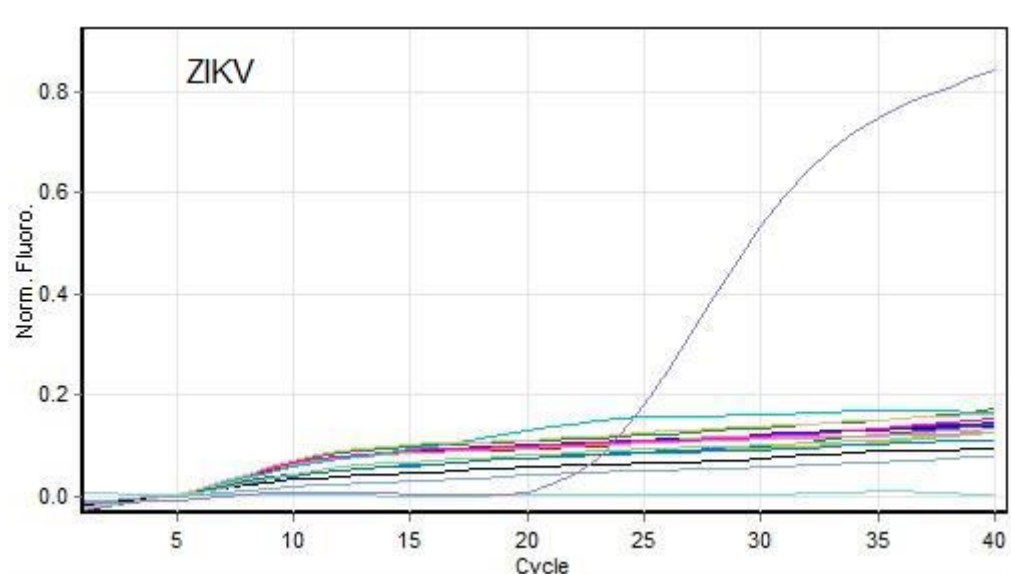


Figura 11 – Curva de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti* com o controle positivo para Zika.



Com relação à análise viral, do início das coletas até a semana epidemiológica (SE) 9 (25 de fevereiro de 2024), Porecatu apresentou um alerta amarelo, onde há condições favoráveis para a reprodução do mosquito, porém não há circulação viral significativa (Infodengue, 2024). A baixa circulação viral, somado ao número reduzido de amostras obtidas pode justificar este resultado

A baixa detecção viral pode ser evidenciada em outros trabalhos. Lourenço-de-Oliveira et al. (2002) capturaram mais de 2 mil indivíduos na cidade de

Nova Iguaçu (Rio de Janeiro) e obtiveram DENV-3 em três pools de nove fêmeas de *Ae. aegypti*. Gu et al. (2004), conclui que a chance de detecção viral em 700 mosquitos é de 0,5, e para conseguir uma alta probabilidade de detecção (mais de 0,8) são necessários mais de 1600 indivíduos.

Ainda de acordo com o Infodengue (2024), no período amostral houve apenas 1 caso de Chikungunya, em 4 de fevereiro de 2024, enquanto para o vírus ZIKV, não houve nenhum número de casos.

5. CONCLUSÃO

Mesmo com a ausência viral nas amostras, foram dois vetores importantes em locais com grande circulação de pessoas, o que torna relevante a contínua vigilância viral, principalmente em unidades básicas de saúde, a fim de preservar a integridade populacional e melhorar a qualidade de vida dos habitantes.

A presença do mosquito *Culex* sp. pode indicar uma má qualidade urbana, visto que utiliza locais com grande matéria orgânica para oviposição, como fossas, e ainda causa um grande incômodo na população com seu barulho e hematofagia.

Conclui-se ainda que as metodologias deste trabalho são uma importante ferramenta de ação para alinhar juntamente ao Plano Nacional de Combate à Dengue, aumentando a qualidade de vida da população.

É necessário realizar um trabalho com um período amostral maior a fim de obter dados, tanto meteorológicos quanto dos indivíduos mais robustos e assim ter resultados com maior precisão.

REFERÊNCIAS

ALPHEY, Luke et al. Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. **Vector-borne and zoonotic diseases**, v. 10, n. 3, p. 295-311, 2010. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/vbz.2009.0014>. Acesso em: 20 de março de 2024.

Attardo, G. M., Hansen, I. A., & Raikhel, A. S. Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: implications for anautogeny. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 35, n. 7, p. 661-675, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0965174805000676>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2024.

BALINGIT, Jean Claude et al. Surveillance of dengue virus in individual *Aedes aegypti* mosquitoes collected concurrently with suspected human cases in Tarlac City, Philippines. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-13, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-020-04470-y>. Acesso em: 16 de abril de 2024.

BARRETO, Maurício L.; TEIXEIRA, Maria Glória. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos avançados**, v. 22, p. 53-72, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/7FKpQj7MLZ7WbcGtfccxZrd/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 25 de abril de 2024.

BASTOS, Michele de Souza et al. Circulação simultânea dos quatro sorotipos do vírus dengue em Manaus, Estado do Amazonas, Brasil e 2011. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 393-394, 2012.

Clima Today. 2022. **Clima em Porecatu, PR, BR**. Disponível em: <https://clima.today/BR/PR/Porecatu/>. Acesso em: 16 de abril de 2024.

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

DA COSTA, Juliana RV et al. Atividade tóxica de isolados de *Bacillus thuringiensis* a larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, p. 757-766, 2010. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/5c9270e8-01b3-4ea2-9dbe-e575cef1b55a>. Acesso em: 16 de abril de 2024.

DIMOND, J. B. et al. The Amino Acids Required for Egg Production in *Aedes aegypti*. **The Canadian Entomologist**, v. 88, n. 2, p. 57-62, 1956. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/canadian-entomologist/article/abs/amino-acids-required-for-egg-production-in-aedes-aegypti/7E6845AD41920EDC0A238CA25B8A7C27>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2024.

FACCHINELLI, Luca et al. Development of a novel sticky trap for container-breeding mosquitoes and evaluation of its sampling properties to monitor urban populations of *Aedes albopictus*. **Medical and veterinary entomology**, v. 21, n. 2, p. 183-195, 2007. Disponível em: <https://resjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2915.2007.00680.x>. Acesso em: 20 de março de 2024.

FARAJOLLAHI, A. et al. “Bird biting” mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens complex* mosquitoes in epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 11, n. 7, p. 1577–1585, out. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134811002929>. Acesso em: 21 de abril de 2024.

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. Disponível em: <https://academic.oup.com/jme/article/50/4/838/890791?login=false>. Acesso em: 25 de abril de 2024.

FAY, R. W.; PERRY, A. S. **Laboratory Studies of Ovipositional Preferences of *Aedes aegypti***. 1965.

FERREIRA-DE-BRITO, Anielly et al. First detection of natural infection of *Aedes aegypti* with Zika virus in Brazil and throughout South America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 111, p. 655-658, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/KdhJJFNcD9BYNXDLGxrJ5hd/?format=html&lang=en>. Acesso em: 25 de abril de 2024.

FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Edusp; v. 2, 864 p. 2002.

Gomes, A. D. C., Silva, N. N. D., Bernal, R. T. I., Leandro, A. D. S. Camargo, N. J. D., Silva, A. M. D. & Moura, S. M. D. Especificidade da armadilha Adultrap para capturar fêmeas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 216-219, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/ZrppgsbTxMx6ynGRnZGwsXR/>. Acesso em 10 de abril de 2024.

GUEDES, D. R. et al. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerging Microbes & Infections**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1038/emi.2017.59>. Acesso em 21 de abril de 2024.

Haddad et al. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. **Science advance**, v. 1, n. 2, p. 1–10, 2015. Disponível em: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.1500052>. Acesso em 10 de abril de 2024.

HARBACH, Ralph E. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 1668, n. 1, p. 591–638-591–638, 2007. Disponível em: <https://www.biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.1668.1.28>. Acesso em 15 de fevereiro de 2024.

Infodengue. 2024. **Situação da Dengue – Porecatu**. Disponível em: <https://info.dengue.mat.br/alerta/4120002/dengue> Acesso em 21 de abril de 2024.

IWAMURA, Takuya; GUZMAN-HOLST, Adriana; MURRAY, Kris A. Accelerating invasion potential of disease vector *Aedes aegypti* under climate change. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 2130, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16010-4>. Acesso em 25 de abril de 2024.

Lacey, L.A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D.I., Frutos, R., Brownbridge, M., Goettel, M.S. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-4, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201115001342>. Acesso em 20 de março de 2024.

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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006320708001845>. Acesso em 10 de abril de 2024.

Leishnam, 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**, v. 1, n. 3, p. 306–316, 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10393-004-0026-5>. Acesso em 25 de abril de 2024.

Lima, A. F. T. DE., Gurgel, A. M. **Perigos associados ao malation e seus metabólitos no controle vetorial do *Aedes aegypti***. In: Ed. Universitária da UFPE (Ed.); Agrotóxicos: vulnerabilidades socioambientais, político-institucionais e teórico-metodológicas. 2018. 1st ed., p.32–50.

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**, v. 14, n. 3, p. 571-578, 1997. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbzool/a/dfMd67Hpnf4Y7ChNP6PW4jd/abstract/?format=html&lang=en>. Acesso em 10 de abril de 2024.

LOPES, Thayná Bisson Ferraz et al. Genetic study in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) from Londrina (Paraná State, Brazil): an approach to population structure and pyrethroid resistance. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 65, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbent/a/5ntrf6bXv9XvGXnQbSkynDh/?lang=en&format=html>. Acesso em 25 de março de 2024.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, Ricardo et al. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 799-800, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/YyZZPX6YP5kn5CWJbGQfgPH/?lang=en>. Acesso em 21 de abril de 2024.

MARTINEZ-TORRES, M. E. **Dengue hemorrágico em crianças**: editorial. Havana: José Martí, 1990. 180p.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). 2018. **Macacos não transmitem febre amarela**. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/noticias/noticia-acom-2018-01-2814>. Acessado em 10 de abril de 2024.

MS (Ministério da Saúde). [s.d.] ***Aedes aegypti***. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti> Acesso em 22 de abril de 2024.

MS (Ministério da Saúde). 2013. **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipo de recipientes**. Brasília, DF. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/porecatu/panorama>. Acesso em 16 de abril de 2024.

MS (Ministério da Saúde). 2020. **Febre Amarela**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-amarela>. Acesso em 10 de abril de 2024.

MS (Ministério da Saúde). 2024a. **Informe semanal nº 07 Dengue, Chikungunya e Zika**. SE 01 a 04/2024 – 31 de janeiro de 2024.

MS (Ministério da Saúde). 2024b. **Ministério da Saúde anuncia estratégia de vacinação contra a dengue**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/janeiro/ministerio-da-saude-anuncia-estrategia-de-vacinacao-contra-a-dengue>. Acesso em 16 de abril de 2024.

MS (Ministério da Saúde). 2024c. **Vinte estados apresentam tendência de estabilidade ou queda na incidência de dengue**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/abril/vinte-estados-apresentam-tendencia-de-estabilidade-ou-queda-na-incidencia-de-dengue>. Acesso em 23 de abril de 2024.

MULLIS, Kary et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**. v. 51, p. 263-273, 1986.

Nasci, R. S. A. Lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. **Mosquito News**, v. 41 n. 4, p. 808-811, 1981.

NOVAIS, Caroline M.; PIRES-ALVES, Melissa; SILVA, F. F. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 10-13, 2004.

Oliveira, C.D., Gonçalves, D.S., Baton, L.A., Shimabukuro, P.H.F., Carvalho, F.D., Moreira, L.A. **Broader prevalence of *Wolbachia* in insects including potential human disease vectors**. Bulletin of Entomological Research, v. 105, p. 305-315, 2015. Acesso em: 31 de janeiro de 2024.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). 2020. **Zika**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/zika>. Acesso em: 20 de março de 2024.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). 2023a. **Dengue**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/dengue>. Acesso em: 14 de março de 2024.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). 2023b. **Atualização epidemiológica Dengue, Chikungunya e Zika**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documentos/atualizacao-epidemiologica-dengue-chikungunya-e-zika-10-junho-2023>. Acesso em: 21 de março de 2024.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). 2023c. Atualização **Epidemiológica - Febre amarela na Região das Américas - 25 de abril de 2023**. <https://www.paho.org/pt/documentos/atualizacao-epidemiologica-febre-amarela-na-regiao-das-americas-25-abril-2023>. Acesso em: 10 de abril de 2024.

Regis, L et al. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: Basis for surveillance, alert and control system. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 103, n. 1, p. 50-59. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/zhDGRMmcBrL84R85wZy5jLw/?lang=en&format=html>. Acesso em 30 de janeiro de 2024.

RUEDA, Leopoldo M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. **Freshwater animal diversity assessment**, p. 477-487, 2008. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-8259-7_48. Acesso em: 22 de abril de 2024.

Santos, N.S.O., Romanos, M.T.V., Wigg, M.D. **Virologia humana**. 3 ed. Guanabara Kooga, Rio de Janeiro. 2015.

SARMENTO, Ulana Chaves et al. Larvicidal efficacies of plants from Midwestern Brazil: melianodiol from *Guarea kunthiana* as a potential biopesticide against *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, p. 469-474, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/vgmqqCRBSYRJH6DZfnFzHSh/?lang=en>. Acesso em 23 de abril de 2024.

SEMA (Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos). 2024. **Alturas diárias de precipitação (mm)**. Disponível em: <http://www.sih-web.aguasparana.pr.gov.br/sih-web/gerarRelatorioAlturasDiariasPrecipitacao.do?action=carregarInterfacelInicial>. Acesso em 22 de abril de 2024.

SOUZA, Rachid Figueirôa; MACHADO, Aline Rafaela da Silva Rodrigues; MACHADO, Alex Martins. Geoprocessamento e detecção dos 4 sorotipos de dengue em vetores e larvas capturadas em regiões de alto índice de casos humanos em Três Lagoas-MS, Brasil. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 7, 2018. Disponível em: <https://archhealthinvestigation.com.br/ArchHI/article/view/4104>. Acesso em: 10 de abril de 2024.

Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU). **Culicidae**. Disponível em: www.wrbu.si.edu/taxonomy/term/1194. 2024. Acessado em 03 de maio de 2024.

Weather Spark. 2024. **Clima e condições meteorológicas médias em Porecatu no ano todo**. Disponível em: <https://pt.weatherspark.com>. Acessado em 16 de abril de 2024.

WHO (World Health Organization). 2022. **Chikungunya**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya> Acessado em 21 de março de 2024.

WHO (World Health Organization). 2023. **Dengue and severe dengue**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> Acessado em 14 de março de 2024.

YANG, Cheng-Fen et al. Screening of mosquitoes using SYBR Green I-based real-time RT-PCR with group-specific primers for detection of Flaviviruses and Alphaviruses in Taiwan. **Journal of virological methods**, v. 168, n. 1-2, p. 147-151, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166093410001886>. Acesso em 31 de janeiro de 2024.

ZAHOULI, Julien BZ et al. Urbanization is a main driver for the larval ecology of Aedes mosquitoes in arbovirus-endemic settings in south-eastern Côte d'Ivoire. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005751, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005751>. Acesso em 20 de abril de 2024.