

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIO ARTURO ACERO-SANDOVAL

DETECÇÃO DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) E *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) COMO INSTRUMENTO EFETIVO NA PREVENÇÃO DE TRANSMISSÃO DE ARBOVIROSES

CURITIBA

2020

MARIO ARTURO ACERO-SANDOVAL

DETECÇÃO DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) E *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) COMO INSTRUMENTO EFETIVO NA PREVENÇÃO DE TRANSMISSÃO DE ARBOVIROSES

Detection of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) as an effective tool in the prevention of arbovirus transmission

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia), Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Entomologia).

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva

Curitiba
2020

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Rosilei Vilas Boas – CRB/9-939).

Acero-Sandoval, Mario Arturo.

Detecção de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) como instrumento efetivo na prevenção de transmissão de arboviroses. / Mario Arturo Acero-Sandoval. – Curitiba, 2020.

145 f. : il.

Orientador: Mário Antônio Navarro da Silva.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia).

1. *Aedes aegypti*. 2. *Aedes albopictus*. 3. Espaço urbano – Paranaguá. 4. Entomologia. 5. Arbovirus. 6. Prevenção e controle. I. Título. II. Silva, Mário Antônio Navarro da. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia).

CDD (20. ed.) 595.772



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ENTOMOLOGIA) - 40001016005P5

TERMO DE APROVAÇÃO

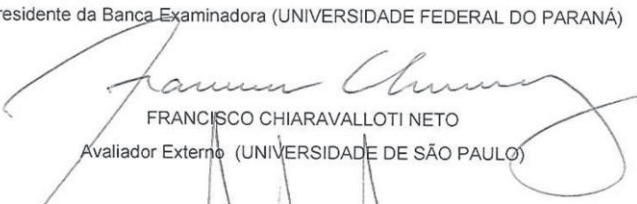
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ENTOMOLOGIA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARIO ARTURO ACERO SANDOVAL** intitulada: *Deteccção de Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) e Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse, 1895) como instrumento efetivo na prevenção de transmissão de arboviroses*, sob orientação do Prof. Dr. MARIO ANTONIO NAVARRO DA SILVA, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

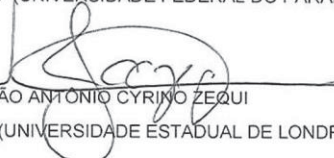
CURITIBA, 18 de Fevereiro de 2020.


MARIO ANTONIO NAVARRO DA SILVA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


FRANCISCO CHIARAVALLOTI NETO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)


ANDREY JOSE DE ANDRADE
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


JOÃO ANTONIO CYRINO ZEQUI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

AGRADECIMENTOS

Eu sempre quis escrever a tese de doutorado começando pelos agradecimentos:

É um exercício de inspiração que faz parte da arte de todos aqueles que de algum jeito (direta o indiretamente) ajudaram-me em diferentes momentos nesta minha viagem chamada vida...

DEUS, sempre tú eis aquela força de inspiração que me protege e me faz acreditar que o teu amor, o respeito e a humildade abrem as portas em todos meus projetos de vida. Certeza plena que DEUS age de forma misteriosa...

Ao meu Orientador Professor-Doutor Mario Antônio Navarro da Silva. Pessoa intelectual e mais humilde, que tive a honra de me formar do lado dele. Você colocou em mim todos seus conhecimentos, e me levou até o ponto de que toda minha inspiração e forças aparecem nesta tese. Eu sou o reflexo de tudo aquilo que você me inspirou para fazer, colocando retos sempre cada vez mais elevados. *Profe.*, parece que foi ontem que cheguei e nós começamos o projeto de monitoramento de *Aedes (Stegomyia) spp.* na "*Roque Vernalha*". Sempre grato por ser meu orientador, conselheiro, amigo e o Pai que sempre quis ter.

A minha Mãe, durante todos estes quatro anos do meu doutorado não teve dia que você não me escrevesse, ajudasse mandando um "*oi filho vai dar tudo certo*". Amo a você com todo meu coração, você é minha inspiração e fortaleza para continuar diante. Você parte desta viagem. O seu amor e exemplo da tua vida são minhas raízes. Te amo "*jonoshita*".

A toda minha família, com muito carinho as minhas irmãs Roxana e Catalina; aonde fôssemos o nosso destino o meu amor e respeito são eternos. As minhas afilhadas Zoe e Alondrita e o mais novo integrante da família "*Ian*" o futuro da nossa família fica nas suas mãos.

À Doutora Angela Maria Palacio e ao Doutor Vinícius Sobrinho Richardi (LAMFIC²) pela ajuda para dar começo e durante cada momento do projeto. Angela, obrigado pela força em cada etapa do projeto, brigas (intelectuais), pela força no trabalho no laboratório e por sempre me dar incentivo para sempre dar o melhor de mim. Essa dupla latina é Massa! Mas sobretudo, por me mostrar o seu lado humano e compartilhar momentos inesquecíveis com a sua família (Professor Marco e Manu) que tenho a honra de conhecer a vocês. *Nam Myoho Rengue Kyo.*

A Organização dos Estados Americanos (OEA), o grupo Coimbra de Universidades Brasileiras (OEA-GCUB 2015), a organização Pan-Americana da Saúde (OPS/OMS) pela obtenção da beca (inscrição no. 97851). Menção especial para a Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de nível Superior (CAPES) do Ministério da Educação do Governo Brasileiro pela administração e obtenção da beca de pós-graduação (matrícula número: 201600042212) para me desenvolver durante estes quatro anos de doutorado. Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/4860241277153453>.

Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia (PGENTO) do departamento de Zoologia setor Ciências Biológicas por me formar durante estes quatro anos. Agradeço a cada um dos meus Professores da (PGENTO), e com muito carinho aos Professores: Cibele Ribeiro-Costa, Claudio Carvalho, Eduardo Carneiro, Maurício Moura que além dos seus conhecimentos e ser meus professores, me compartilharam a sua amizade, conselhos e preocupação na minha formação. Obrigado Jorge Luis dos Santos (Secretaria da PGENTO), pela ajuda na correria para resolver as questões administrativas nestes quatro anos.

Fica difícil não falar da galera do laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae LAMFIC² (antes LEMV) da UFPR. Thalita, Betina, Gisele excelentes colegas e grandes cientistas Brasileiras. O futuro do Brasil está na mão de vocês. Ao Doutor Óscar Aguirre, “Chino” obrigado pela parceria e por se converter no meu irmão de coração. O México te aguarda. Menção especial para A Emily Nentwig e Mariana Peres. Obrigado “amadas” pela força em cada momento de trabalho do projeto, sobretudo

naquela época que o trabalho não parava. Obrigado meninas. Aos colegas mais novos (Valeria, Ana Schafaschek, Lisssandra, Juliane e Nicholas).

Menção especial nos agradecimentos para a Doutora Ilda Nagafuti, diretora da 1ª Regional de Saúde de Paranaguá (SESA) do Governo do estado de Paraná, ao Flavio Frota e Diovaldo Almeida de Freitas (SESA), que forneceram todas as facilidades e encomendas durante o trabalho em Paranaguá. Sem ajuda e a parceria de vocês não teria sido possível desenvolver cada uma das etapas durante o desenvolvimento do projeto.

Aos agentes de endemias que percorrem sob chuva ou sol escaldante as ruas e casas em busca dos criadouros de *Aedes* spp. Senhoras e Senhores que poderiam ser denominados “agentes de solidariedade”, uma vez que buscam com seu trabalho evitar que pessoas sejam infectadas por arbovírus.

Ao Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR) pelo fornecimento dos dados físicos ambientais durante o desenvolvimento do trabalho de campo no município de Paranaguá. Estação climatológica de Paranaguá.

Aos amigos e família latina, Magda (El Salvador), Pao (Bolívia) e María Torres (Colômbia). Cada uma diferente de seu jeito, mas com cada uma o carinho e demonstração de amizade ficaram no meu coração. Magdita, você vale ouro mi “colochita valiente”, a tua fé me inspira em acreditar na mudança em nossa sociedade. Pao, além da sua amizade você sempre zelou pelo bem e convivência em nosso apartamento. María, mi “*güerita*”, além de colegas trocamos horas e horas conversando. A tua amizade fica escrita em ouro no meu coração. Meire, obrigado pelo acolhimento e pela sua amizade, foi um grande presente te conhecer aqui em Curitiba, e valoro muito sua amizade. Ao Icaro, e o Tiago, obrigado pelos momentos de parceria no apto. 107 no JB.

Aos amigos da pós-graduação. Menção especial ao brasileiro, que é curitibano, mais que parece mexicano, o meu parceiro, amigo e irmão Lucas Roberto Gomes (Bolanhos brincadeira). Você virou aquele irmão Brasileiro que me ajudou com sua amizade. Vou sentir tua falta, *mi chingón*. (O futebol

e a ciência unem-nos). Julisilla canijilla. Obrigado pela amizade e por me ensinar parte da cultura do Perú (o teu País). A Doutora Tatiana Sepúlveda e Diego (husband dela) pela amizade, los quiero parceiros.

A galera do futebol (David, Mayron-tigrillo, Eduardo Carneiro, Diego-Borboleta, Marco André-Chapecó, Pedro-Chewvaca, João Fogaça, Gabriel-surfista, Vinícius-Miranda e Maurício Moura. Além de compartilhar a paixão pelo futebol, vocês me fizeram ser parte do Brasil com os churrascos e amizade. Menção especial para o Pedro Calixto (Chewvaca) pela força e asesoria no desenho dos meus mapas, obrigado mano. O México aguarda a vocês com o coração aberto. Oh Pátria amada, o meu Brasil.

Aos meus Professores no México, com especial menção daqueles que me formaram na etapa do Mestrado no INSP-México: Doutora Lupita Vázquez, Doutor Américo Rodríguez, Mestre Genaro Ordóñez, Doutora Paty Penilla, Doutora Tere López, sempre grato com vocês pela confiança e por semear em mim o espírito cientista. Menção especial para Doutora Karla Saavedra e o Doutor Saúl Lozano da Universidade Estadual do Colorado (CSU) nos Estados Unidos da América (EE.UU). Pelo recebimento, orientação e conselhos que me ajudaram neste caminho da ciência. Sempre grato.

Ao povo Paranaense, ainda acredito que os movimentos populacionais enriqueceram e formam a base daquela identidade cultural no Sul do Brasil. Especialmente a família Schevisvisky-Grickzinski. Senhora Eroni, você me abriu as portas da sua casa e me permitiu compartilhar momentos com a sua família. As “joaninhas” estarão voando para o Norte, o sinal que o meu navio pegou para chegar até Irati...

Este trabalho contou com financiamento público de caráter científico através do projeto “Inovação em produtos de controle e repelência do vetor e no monitoramento de arbovírus”. Chamada MCTIC/FNDCT-CNPq/ MEC-CAPES/ MS-Decit / Nº 14/2016 - Prevenção e Combate ao vírus Zika. Processo: 440385/2016-4 - CNPq cnpq. processo: 8881.130794/2016-01 CAPES.

DEDICATÓRIA

Gostaria de dedicar este trabalho ao povo Brasileiro, por me receber e acolher durante estes quatro anos durante minha formação de vida chamado doutorado. Especialmente a os cidadãos de Paranaguá, Paraná. Obrigado por permitirem-me desenvolver durante minha pesquisa e aprender nesta área da entomologia. Sempre acima “Parnanguaras”.

Abuelito Arturo, a estas alturas de mi vida me falta camino para crear una vacuna contra las arbovirosis (dengue, Zika, fiebre amarilla y/o chikungunya), y no estoy cerca de acabar con los “mosquitos” (mi ética en la biología no me lo permite). Pero, te puedes sentir orgulloso de mí ya que, en este puerto llamado “Brasil” he dejado amigos, sapiencia adquirida y compartida, así como parte de tu esencia, que será recordada toda vez que por estos pasillos de mi UFPR se pronuncie el apellido “Sandoval”. Hasta el cielo mi Señor de señores...

Vai em frente meu Brasil, que tua história, tuas cidades, teus povos, tua cultura, teu carnaval, teus filhos, cidadãos e tuas copas (especialmente no México-70) são maiores que qualquer dificuldade, porque o Brasil “é bonito por natureza”. Vai passar...

***“Não vai demorar que passemos adiante uma grande e bela ciência,
que faz arte em defesa da vida. ”***

**- Carlos Justiniano Ribeiro Chagas,
1878 -1934.**

RESUMO

Em que pese à complexidade dos componentes ecológicos, econômicos e sociais na determinação da infestação do *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) nas áreas urbanas, é necessário direcionar as ações de redução da densidade vetorial alicerçada em séries históricas com dados de caráter científico e de cunho essencialmente local. O alvo do trabalho foi utilizar procedimentos de reduzido custo e ampla cobertura espacial, integrando dados de Vigilância Entomológica como componente prioritário na integração de programas locais que visam reduzir efetivamente o contato vetor hospedeiro, coadjuvando a elevada agilidade no retorno dos resultados aos gestores responsáveis pela tomada de decisões. Os objetivos deste trabalho foram: i) identificar a presença de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* como espécies de Culicidae que participam na infestação da área urbana em Paranaguá, ii) Avaliar o impacto da implantação e rotina de detecção de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área urbana e rural utilizando armadilha de oviposição como método tecnicamente sustentável no tempo, iii) Caracterizar os índices estegômicos (índice de densidade de ovos - IDO e índice de positividade de ovos - IPO) como indicativo da atividade das espécies vetores na área urbana de Paranaguá e sua relação com as variáveis ambientais como temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica e velocidade do vento, iv) determinar o papel da transmissão vertical dos arbovírus dengue, Zika e chikungunya em *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, v) delimitar áreas prioritárias de ações de redução da atividade de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, vi) disponibilizar aos gestores da área de saúde pública os resultados em no máximo 48 horas após a finalização das atividades de campo. O trabalho foi desenvolvido na área urbana e rural do município de Paranaguá-PR, Brasil, no período de junho de 2017 até novembro de 2018, com instalação mensal de ovitampas. A presença dos vetores foi constatada ao longo do período analisado, porém com oscilações relevantes em determinados períodos. As espécies de culicídeos identificadas foram: *Ae. aegypti* 31.943 (89.80%) e *Ae. albopictus* 3.627 exemplares (10.2%). A análise de transmissão vertical por RT-PCR foi realizada a partir de 287 pools formados por 6.615 fêmeas de *Ae. aegypti* (196 pools) e 1.402 fêmeas de *Ae. albopictus* (91 pools). Nenhum dos pools apresentou RNA dos arbovírus avaliados sugerindo que a transmissão vertical não foi um mecanismo de manutenção e circulação de arbovírus na área de estudo durante o período de avaliação. A distribuição das duas espécies de *Aedes (Stegomyia)* não foi homogênea, porém teve locais de ocorrência simpátrica. Foram identificadas áreas que de forma recorrente mantiveram constante atividade vetorial. A temperatura apresentou associação positiva com o IDO, principalmente a temperatura mínima registrada 30 dias antes da coleta de cada mês. É possível realizar a predição de risco de atividade dos vetores *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, utilizando reduzido investimento financeiro com elevada eficiência. Buscou-se nesta investigação posicionar a detecção de *Aedes (Stegomyia)* spp. como instrumento efetivo na predição de risco de transmissão de arboviroses.

Palavras-chave: Detecção vetorial. *Stegomyia*. Pesquisa Entomológica. Arbovírus. Prevenção.

ABSTRACT

In spite of the complexity of ecological, economic and social components in determining the infestation of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) in urban areas, there are strategies which can be effectively employed, based primarily on locally-sourced historical data for the urban area of interest, with the effect of reduction of vector density necessary to address actions to reduce vector density based on historical data series of local source. The aim of this study was to use low cost and wide spatial coverage methods, integrating Entomological Surveillance as a priority component of integrated local programs that intend to reduce host vector contact and reduce the time window of return of results to managers responsible for making decisions. The objectives of this work were: i) To identify the presence of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* as species of Culicidae that participate in the infestation of the urban area in Paranaguá, State of Paraná, Brazil ii) To evaluate the impact of the routine detection of *Aedes (Stegomyia)* spp. in an urban area using oviposition trap as a sustainable method in the long term, iii) Characterize the stenotic indices (IDO and IPO) indicators of the activity of the vector species in the urban area of Paranaguá and their correlation with environmental variables (temperature, relative humidity, rainfall and wind velocity), iv) To determine the role of vertical transmission of dengue, Zika and chikungunya arboviruses in *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, v) To delimit priority areas for actions to reduce the activity of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, vi) to make feasible results to public health managers within 48 hours after the completion of field activities. Decision-making and the design of effective actions to reduce vectorial activity based on the results obtained did not sustain any interference from UFPR researchers. The study was carried out in rural and urban areas of the municipality of Paranaguá from June of 2017 to November of 2018. Ovitrap were installed monthly. The presence of the vectors was verified throughout the period analyzed, but with relevant oscillations in evident periods. Culicidae species identified were: *Ae. aegypti* 31.943 (89.80%) and *Ae. albopictus* 3.627 (10.2%). The RT-PCR vertical transmission analysis were done using 287 pools distributed in 6.615 females of *Ae. aegypti* (196 pools) and 1.402 females of *Ae. albopictus* (91 pools). None of the evaluated pools presented viral RNA, suggesting that vertical transmission is not a significant mechanism in the maintenance and circulation of arboviruses during the time and area evaluated. The distribution of the two *Aedes (Stegomyia)* species was not homogeneous; rather, sympatric occurrence between the two species was observed in some places. The temperature presented a positive correlation with IDO, and the minimum temperature lagged 30 days before the field work of each month. It is concluded that accurate prediction of risk periods based on activity the vectors *Ae. aegypti* and *Ae. Albopictus* is possible, with reduced financial investment with high efficiency. This investigation sought to position the detection of *Aedes (Stegomyia)* spp. as an effective instrument in predicting the risk of transmission of arboviruses.

Key words: Vector detection. *Stegomyia*. Entomological Surveillance. Arbovirus. Prevention.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* coletados com armadilha tipo ovitrampa em Paranaguá-PR. Arquivo LAMFIC².....28
- Figura 2. Larvas de *Aedes (Stegomyia)* spp. com cada um dos seus estádios de desenvolvimento. A) larva L-1 primer estágio, B) larva L-2 segundo estágio, C) larva L-3 terceiro estágio, D) larva L-4 quarto estágio, E) espinhos diferenciados no sétimo esclerito abdominal em *Aedes aegypti* F) espinhos diferenciados em *Aedes albopictus*. Arquivo LAMFIC².....29
- Figura 3. *Aedes (Stegomyia) aegypti* (macho) emergindo da cápsula pupal. Arquivo UFPR-LAMFIC².....29
- Figura 4. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (fêmea).....30
- Figura 5. Localização geográfica do município de Paranaguá (área urbana e rural) na planície litorânea do Paraná. Arquivo LAMFIC².....44
- Figura 6. Estratificação por estratos do município de Paranaguá. Em cada ponto (azul) representa a localização de cada uma das 331 Ovitampas instaladas. Arquivo LAMFIC².....48
- Figura 7. Armadilha de oviposição (ovitrampa) utilizada na detecção da atividade adultos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de Paranaguá durante o período de junho de 2017 a novembro de 2018. Foto: arquivo LAMFIC².....48
- Figura 8. Palhetas tipo Eucatex (Duratree) submergidas dentro de copos de plástico com água e ração para a estimulação e desenvolvimento de ovos, separados individualmente e por estrato em Paranaguá-Pr. Foto: arquivo LAMFIC².....53
- Figura 9. Armadilha de emergência retirando os alados com aspirador entomológico modelo Castro para sua identificação, processamento e armazenamento. Foto: Arquivo LAMFIC².....54
- Figura 10. Esquema de rotulagem de cada tubo *ependorf* para armazenamento e identificação dos adultos criados a partir de coletas de ovos com ovitrampa.....55
- Figura 11. Fluxograma de atividades de monitoramento do *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* no município de Paranaguá-PR no período 2017-2018.....58

Figura 12. Reuniões com membros da SESA 1ª. RS Paranaguá, Prefeitura de Paranaguá-Saúde e LAMFIC ² -UFPR para avaliação dos resultados durante o estudo no município de Paranaguá-PR.....	59
Figura 13. Porcentagem média da emergência de adultos de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> nos 16 estratos durante 14 meses de coleta entre os meses junho de 2017 e novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.....	68
Figura 14. Curvas de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> . A. Curva de amplificação para o controle positivo de dengue no canal FAM, B. Curva de amplificação para o controle positivo de Zika no canal JOE, C. Curva de amplificação para o controle positivo de Chikungunya no canal VIC.....	70
Figura 15. Mapas de Paranaguá referentes às coletas dos meses de 2017 apresentando as armadilhas do tipo ovitrampas dos 16 estratos positivas.....	73
Figura 16. Mapas de Paranaguá referentes às coletas dos meses de 2018 apresentando as armadilhas do tipo ovitrampas dos 16 estratos positivas.....	74
Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> nos meses de monitoramento de 2017 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. A. junho, B. julho, C. agosto, D. setembro, E. outubro, F. novembro, G. dezembro.....	76
Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> nos meses de monitoramento de 2018 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. H. janeiro, I. fevereiro, J. março, K. abril, L. junho, M. setembro, N. novembro.....	79
Figura 18. Distribuição espacial e densidade total de ovos de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> mediante o monitoramento implementado com armadilhas tipo “ovitrampa” durante o período junho 2017 a novembro 2018 no município de Paranaguá-PR.....	83
Figura 19. Distribuição espacial e densidade de adultos obtido do monitoramento realizado com armadilhas tipo ovitrampa durante junho-2017 a novembro 2018 no município de Paranaguá-PR. A. <i>Aedes aegypti</i> e B. <i>Aedes albopictus</i>	84

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Porcentagem de recuperação de ovitrampas durante os 14 meses de coleta entre o período junho de 2017 e novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.....	62
GRÁFICO 2. Porcentagem de ovitrampas positivas a ovos de <i>Aedes (Stegomyia)</i> spp. durante 14 meses de coleta no período junho 2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	64
GRÁFICO 3. Número de ovos coletados com ovitrampa durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	65
GRÁFICO 4. Distribuição da frequência acumulada de ovos no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	66
GRÁFICO 5. Número de ovos e total de adultos de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> emergidos durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	67
GRÁFICO 6. Fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas na detecção de transmissão vertical (DENV, CHIKV e ZIKV) de junho 2017 a junho 2018 no município de Paranaguá-PR.....	71
GRÁFICO 7. Fêmeas de <i>Aedes albopictus</i> avaliadas na detecção de transmissão vertical (DENV, CHIKV e ZIKV) de junho 2017 a junho 2018 no município de Paranaguá-PR.....	71
GRÁFICO 8. Porcentagem de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> avaliadas na transmissão vertical de arbovírus (DENV, CHIKV, ZIKV) durante 12 meses no município de Paranaguá-PR.....	72
GRÁFICO 9. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 do município de Paranaguá-PR.....	86
GRÁFICO 10. Índice de densidade de ovos (IDO) durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 do município de Paranaguá-PR.....	86
GRÁFICO 11. Matriz dos coeficientes de correlação de <i>Spearman</i> (ρ) do número de ovos totais, número de armadilhas positivas (Ar_posit), índices entomológicos (IDO e IPO) e as variáveis climáticas: temperatura máxima (TM), mínima (Tm) e média (Tp) e dias secos (DSecos) 10, 20, e 30 dias antes da instalação das ovitrampas no município de Paranaguá-PR.....	89

GRÁFICO 12. Total de número de ovos e temperaturas máximas (T° max) e mínimas (T° min) desfasadas 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	90
GRÁFICO 13. Total de número de ovos comparado com a precipitação acumulada desfasada 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	91
GRÁFICO 14. Total de número de ovos de <i>Aedes (Stegomyia)</i> spp. e o número de dias secos (10, 20 e 30 dias) antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	92
GRÁFICO 15. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.....	94
GRÁFICO 16. Índice de densidade de ovos (IDO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.....	95
GRÁFICO 17. Índice de positividade de ovitrampas (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) por estrato a partir de dados randomizados durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Principais métodos de monitoramento de <i>Aedes (Stegomyia)</i> spp.....	17
Tabela II. Principais Arbovírus transmitidos por Culicidae na América Latina.....	32
Tabela III. Numeração consecutiva das armadilhas e número de armadilhas distribuídas em cada um dos estratos no município de Paranaguá-PR.....	50
Tabela IV. Data de coletas com armadilha tipo “ovitrampa” durante o período junho-2017 a novembro-2018 e semana epidemiológica (SE) no município de Paranaguá-PR.....	51
Tabela V. Implementação das atividades dentro do LAMFIC ² para o acompanhamento dos ovos coletados no município de Paranaguá-PR.....	52
Tabela VI. Número de ovitrampas instaladas, número de ovitrampas analisadas, número de ovitrampas positivas e negativas para ovos de <i>Aedes (Stegomyia)</i> spp. e ovitrampas perdidas entre os meses de junho de 2017 e novembro 2018 no município de Paranaguá-PR.....	63
Tabela VII. Número de ovitrampas viáveis, ovitrampas com presença de adultos de <i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i> e ovitrampas com ambas espécies durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	65
Tabela VIII. Número de alados emergidos e espécies de culicídeos identificadas durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.....	68
Tabela IX. Número de <i>pools</i> e número de fêmeas por espécie avaliados para transmissão vertical de DENV, CHIKV, ZIKV através de RT-PCR durante 14 meses da cidade de Paranaguá-PR.....	69
Tabela X. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) com desvio padrão (DP) e valores do teste de comparação múltipla de <i>Dunn</i> durante 14 meses de coleta no período de junho de 2017 a novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.....	85

Tabela XI. Coeficientes de correlação de <i>Spearman</i> do número de ovos, índices entomológicos (IDO e IPO) e armadilhas positivas com variáveis climáticas do município de Paranaguá desfasadas 10, 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampa. DSecos: dias secos, TM: temperatura máxima, Tm: mínima e Tp: médias; ppt: precipitação, URM: umidade relativa máxima, URm: mínima e URp: média, vM: velocidade do vento máxima, vm: mínima e vp: média.....	88
Tabela XII. Coeficientes de correlação de (ρ) (ρ) e valor de p do número de ovos, índice de positividade de ovitrampa IPO e índice de densidade de ovos IDO com os dias secos (DSec), temperatura máxima (TM), mínima (Tm) e média (Tm) 10, 20 e 30 dias desfasados antes da instalação das ovitrampas no município de Paranaguá-PR.....	90
Tabela XIII. Áreas dos estratos e distâncias percorridas e consumo de combustível durante as avaliações de vigilância entomológica no período de junho de 2017 a novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.....	93
Tabela XIV. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.....	95
Tabela XV. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) gerado a partir da randomização dos dados de campo de cada estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.....	96
Tabela XVI. Estimativa do número de quarteirões, número de prédios, e habitantes localizados em cada um dos 16 estratos que foi dividido o município de Paranaguá-PR.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ae.	<i>Aedes</i>
CHIKV	Chikungunya vírus
DENV	Dengue vírus
DG	Dengue grave
DSA	Dengue com Sinais de Alarme
DP	Desvio padrão
E	Estrato
hab	habitantes
IDO	Índice de densidade de ovos
IIP	Índice de infestação predial
IPO	Índice de positividade de ovitrampas
LIRAA	Levantamento Rápido de Índices de Infestação
Md	Mediana
mm	milímetro
MS	Ministério da Saúde
NAE	Número de armadilhas examinadas
NAP	Número de armadilhas positivas
OMS	Organização mundial da saúde
PNCD	Programa nacional do controle da dengue
PR	Paraná
Qrt	Quarteirão
RT-PCR	PCR em tempo real
SE	Semana epidemiológica
SESA	Secretaria de Estado da Saúde
Spp.	Espécie
T° max	Temperatura máxima
T° min	Temperatura mínima
ZIKV	Zika vírus

SUMARIO

PRÓLOGO	1
1 INTRODUÇÃO	6
2 Justificativa	13
3 Objetivos	15
3.1 OBJETIVO GERAL	15
3.1.2 Objetivos específicos	15
4 REVISÃO DE LITERATURA	16
4.1 Métodos de monitoramento de <i>Aedes (Stegomyia) spp</i>	16
4.2 Panorama de monitoramento de <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> em Paranaguá-PR	25
4.3 <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> vetor de arbovírus nas Américas	27
4.3.1 <i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	29
4.4 Arbovírus como agentes etiológicos de doenças emergentes	31
4.4.1 Dengue virus (DENV)	33
4.4.2 Zika virus (ZIKV)	36
4.4.3 Chikungunya virus (CHIKV)	38
4.5 Transmissão vertical como via de circulação de arbovírus	40
5 MATERIAL E MÉTODOS	42
5.1 Área de estudo	42
5.2 Delineamento experimental	47
5.2.1 Delimitação dos estratos e método de detecção de atividade de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	47
5.2.2 Armadilha de oviposição	47
5.3 Processamento e fase de laboratório	51
5.3.1 Triagem de armadilhas	52
5.3.2 Condições de eclosão das larvas	52
5.4 Criação e emergência dos adultos	53
5.4.1 Identificação e armazenamento dos adultos	54

5.5	Extração do RNA viral e detecção dos arbovírus mediante PCR em tempo real (RT-PCR)	55
5.6	Apresentação dos resultados para as entidades públicas.....	56
5.7	Estimativa dos índices entomológicos de infestação.....	59
5.8	Análises das variáveis climáticas e abundância espaciotemporal.....	60
5.9	Simulação de cenários hipotéticos comparativos da atividade de fêmeas de <i>Aedes (Stegomyia) spp.</i>	61
5.10	Análise dos resultados.....	61
6	RESULTADOS	62
6.1	Triagem das armadilhas procedentes de campo.....	62
6.2	Avaliação da atividade das fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> em função do número de ovos.....	64
6.3	Emergência de adultos.....	66
6.4	Detecção da transmissão vertical dos arbovírus dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV) em fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	69
6.5	Elaboração e envio dos relatórios mensais às entidades públicas....	72
6.6	Índices entomológicos de infestação IPO e IDO.....	84
6.7	Influência das variáveis climáticas na atividade das fêmeas de <i>Aedes (Stegomyia) spp.</i>	87
6.8	Logística do transporte na instalação e retirada das ovitrampas.....	92
6.9	Simulação de cenários hipotéticos comparativos de fêmeas de <i>Aedes (Stegomyia) spp.</i>	93
7	DISCUSSÃO	99
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	114
	REFERÊNCIAS	115
	ANEXOS	137

PRÓLOGO

A transmissão de arbovírus no Brasil com destaque para o vírus dengue ocorre de forma recorrente no país desde a década de 1980 em diferentes estados da federação, com intensidade e frequências variáveis. Nos momentos de epidemia e diante da ocorrência de óbitos em consequência da infecção por dengue há ampla ressonância dos meios de comunicação na divulgação e acompanhamento das estatísticas oficiais dos casos de dengue bem como medidas de prevenção. Na esteira do protagonismo da pauta e o rápido aumento da demanda por atendimento em unidades de saúde, são anunciadas pelas autoridades medidas, em determinados casos, sem sustentação científica associada em alguns momentos a promessa de solução definitiva, ou ainda como espaço para denúncia ou escaramuças entre diferentes esferas do poder público (Ferraz & Melo 2012. França *et al.* 2004).

No entanto como apontado por Ferraz & Melo 2012, *“... a importância da prevenção poderia ser enfocada nos momentos em que ainda é possível eliminar os criadouros, e não apenas nos períodos epidêmicos, quando as ações de combate e o discurso de guerra propalado pela mídia buscam apenas garantir domínio ao desequilíbrio, não auxiliando na alteração do curso da doença...”*

Talvez a principal abordagem para verificação da intensidade da presença do vetor na área urbana esteja sustentada na busca ativa das formas imaturas de *Aedes* spp. Nesta ação de Pesquisa Entomológica é utilizado um elevado contingente de agentes de saúde para sua execução. Isso resulta em *“andanças extenuantes”* pelas ruas visitando edificações públicas e privadas, na busca dos locais de desenvolvimento dos imaturos. Neste trabalho são colhidas informações que auxiliam na determinação da frequência relativa dos diferentes tipos de criadouros na área urbana. São dados relevantes, que salvo exceções, não são utilizados na formulação de medidas corretivas que impactem negativamente o crescimento da população do vetor. O ideal seria a busca de correção da arquitetura de

estruturas que acumulam água. Remoção e destinação adequada de material descartado que apresenta igualmente condições de armazenar água. A experiência acumulada pelos agentes de endemias não é adequadamente aproveitada para correção das condições que permitem a multiplicação da densidade dos vetores de arbovírus na área urbana (Williams *et al.* 2010).

A determinação quantitativa de criadouros, com imaturos no seu interior, isoladamente não permite o adequado dimensionamento da densidade dos dípteros *Aedes* spp. como consequência carece de sensibilidade ante diferentes panoramas epidêmicos, deslocando os “agentes de endemias” para áreas de risco somente quando a situação ultrapassou a fase de prevenção da epidemia. É preciso contar com ferramentas e alternativas que utilizem a ciência como núcleo central, integrando informações, estruturais e ecológicas e a relevância relativa dos componentes que proporcionam condições adequadas para o desenvolvimento e multiplicação dos dípteros vetores. Ainda, viabiliza o desenvolvendo de resposta de caráter “preventivo” ao invés de “corretivo” na transmissão de arbovírus por *Aedes* spp. na área urbana (Azil *et al.* 2010; de Melo *et al.* 2012).

Um programa de pesquisa Entomológica deve disponibilizar métodos que permitam identificar a presença dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Aedes* spp. (Focks, 2003; Azil *et al.* 2010; Johnson *et al.* 2017). O método a ser empregado deve ser de baixo custo operacional agregando tecnologia de informação que permita agilidade na geração de informações qualificadas sobre intensidade da presença dos vetores *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no espaço urbano (Honório *et al.* 2009). Por outro lado, a adoção de procedimentos de elevado investimento financeiro dificilmente se mantém no longo prazo o que acaba inviabilizando a construção de série histórica de dados. É necessário colocar em relevo que a racionalização de ações de prevenção depende de dados comparáveis no espaço e tempo (de Resende *et al.* 2013). Assim auxiliaria efetivamente na

avaliação das medidas a serem corrigidas e ou aperfeiçoadas na busca da redução da presença dos vetores na área urbana.

Além da detecção da atividade do vetor é necessário agregar à série histórica de dados das características estruturais da área urbana e as condições ambientais. As características da estrutura urbana com as suas condicionantes sociais, econômicas e a alterações das condições meteorológicas frente à emergência climática (temperatura, umidade e pluviosidade), irão compor um conjunto de informações com possibilidade de indicar áreas críticas e período sazonal que favoreçam a reprodução de *Aedes* spp. no espaço urbano (Honório *et al.* 2009; Regis *et al.* 2013; Serpa *et al.* 2013). A análise integrada das informações tem o potencial de gerar condições de detecção e previsão precoce de alterações na intensidade da atividade vetorial. O objetivo é salvaguardar a saúde pública da transmissão de arbovírus que uma vez estabelecida rapidamente atinge a situação de epidemia, com as consequências no sistema de saúde pública amplamente conhecida pela sociedade.

Existem diferentes métodos para verificar a presença dos vetores em uma determinada área, direcionados a quantificar a densidade dos diferentes estágios de desenvolvimento do vetor (ovos larvas, pupas e adultos) (Focks, 2003; de Resende *et al.* 2013; Johnson *et al.* 207). Ao longo da história da investigação de vetores foram desenvolvidas armadilhas específicas para cada estágio do ciclo de vida do vetor. Em alguns casos as armadilhas foram utilizadas na avaliação da densidade vetorial e ou redução da população do vetor, ou ambas as finalidades.

O presente trabalho teve por objetivo colocar em relevo método de detecção da atividade dos dípteros *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* na área urbana utilizando instrumento sustentável no longo prazo, no sentido de viabilizar a construção segura de série histórica de dados sobre os vetores. Foram os seguintes elementos norteadores da investigação:

- a) Investimento financeiro. Parcimônia na utilização dos recursos públicos, frequentemente escassos na esfera municipal. Ao utilizar

poucos recursos a probabilidade de continuidade da atividade de detecção dos vetores é significativamente ampliada, viabilizando a confiabilidade de construção de série histórica de dados.

- b) Recursos Humanos. Envolver reduzido número de pessoas na detecção do vetor, priorizando maior volume de recursos humanos para ações efetivas de correção das condições que viabilizam o desenvolvimento dos vetores. Formação de equipe técnica estável no tempo. A estabilidade temporal tem o potencial de gerar patrimônio qualificado de informação e menor possibilidade de interrupção do trabalho por carência de pessoal.
- c) Cobertura espacial. A investigação do espaço urbano em sua totalidade empregando insumos de baixo custo associado ao número equilibrado de profissionais envolvidos na detecção dos vetores.

Além dos componentes mencionados adicionamos outro desafio no desenvolvimento do trabalho. Agilidade na apresentação dos resultados das atividades de campo aos gestores públicos. Ao longo do período de estudo o tempo de apresentação da síntese dos resultados para os gestores foi de aproximadamente 48 horas. A rápida apresentação dos resultados tinha por meta permitir a tomada de decisões técnicas alicerçada em informações seguras e comparáveis no tempo e espaço. Importante e necessário acrescentar que as decisões e ações estavam apenas sob o escrutínio dos gestores. A preocupação dos gestores assim como do trabalho foi no sentido de adotar medidas que impedissem a elevação da atividade dos vetores com isso reduzindo a probabilidade de propagação de arbovírus.

O trabalho foi desenvolvido em cenário urbano de área territorial marcado pela complexidade. Dificuldade induzida pela ação antrópica bem como pelas características naturais de região de baixo nível altimétrico (Planície litorânea). A presença do porto, fruto do engenho

humano, coloca o município como local de passagem de pessoas e mercadorias de diferentes regiões e continentes. Infelizmente o trânsito de riquezas e diversidade cultural não proporcionou aos habitantes o legado de qualidade ambiental, pelo contrário, durante o período de 14 meses percorrendo as ruas do município foi possível observar assimetrias na oferta à população de equipamentos urbanos essenciais para manutenção de ambiente saudável e equilibrada nos diferentes bairros e espaços da área urbana.

Nas próximas páginas deste documento serão apresentados resultados e discussões que buscam colocar em relevo a possibilidade de realizar a detecção dos vetores *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* empregando reduzido investimento financeiro, tecnologia de informação, e agilidade na comunicação dos resultados sustentados na ciência.

1 INTRODUÇÃO

Os Culicidae (do latim *Culex* = *mosquito*) formam uma família monofilética da infraordem Culicomorpha, subordem Nematocera, ordem Diptera, Classe Insecta (Hexapoda) (Wiegmann *et al.* 2011; Lambkin *et al.* 2013), a qual é dividida em duas subfamílias: Anophelinae que contém três gêneros: *Anopheles* (cosmopolita), *Bironella* (Australasian) e *Chagasia* (Neotropical) (Harbach, 2007), onde estão reunidas 488 espécies; e Culicinae (11 tribos, 110 gêneros e 3.113 espécies) (Harbach, 2007; Reinert *et al.* 2009). O gênero *Aedes*, da tribo Aedini junto com *Culex* (Culicini) e *Anopheles* são os mais representativos com espécies de importância na saúde pública (Wilkerson *et al.* 2015). Aproximadamente das 3.600 espécies descritas de Culicidae, entre cinco a oito por cento são vetores potenciais de arbovírus (Reidenbatch *et al.* 2009). No Brasil, ocorrem 495 espécies de Culicidae (Gaffigan *et al.* 2015).

O mosquito *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), adaptado a ambientes modificados pela ação humana (antropofílico); com uma ampla distribuição em áreas urbanas de países tropicais e subtropicais, e considerado vetor primário de arbovírus que causam dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) (Bhatt *et al.* 2013; Weaver & Lecuit, 2015), além disso, no Brasil participa no ciclo urbano na transmissão da febre amarela (YFV) (Gardner, & Ryman, 2010). Acredita-se que *Ae. aegypti* têm origem na África, e dispersou-se em países tropicais e subtropicais a partir do acréscimo na rota marítima África-América no século XVI-XVIII (Brown *et al.* 2014; Powell *et al.* 2018). Nesta tese, será utilizado *Ae.* como abreviação de *Aedes*, seguindo a proposta por Reinert 2001.

Um estudo no município de Londrina, região Norte do estado do Paraná, comprovou que *Ae. aegypti* se encontrava estabelecido em diferentes criadouros artificiais em duas áreas urbanas durante 1985 e 1987 (Lopes *et al.* 1993). Os autores estimaram que o fato de terem encontrado o vetor em lugares urbanos afastados, indicaria que a introdução do vetor ocorreu durante momentos diferentes. Silva (2002), caracterizou a

disponibilidade de criadouros e identificou as espécies de Culicidae em área urbana-rural no Norte do Paraná. O vetor *Ae. aegypti*, além de ser a espécie com maior abundância (em área urbana), foi encontrada em diferentes tipos de criadouros como: vasos de plantas, pneus e diversos objetos de plástico. Na área rural, se manteve com a mesma proporção que outras espécies do *Aedes* (*Stegomyia*).

Zequi e colaboradores em 2005 compararam a disponibilidade de *Ae. aegypti* colonizar diferentes criadouros artificiais em uma área florestal localizada na área urbana no município de Londrina; os resultados mostraram que *Ae. aegypti* utilizava criadouros artificiais (pneus) coexistindo com outras espécies de *Stegomyia*; comportamento também encontrado por Fantinatti e colaboradores em municípios do Norte e Noroeste do Paraná em 2007; mediante armadilhas de oviposição monitoraram a presença de *Ae. aegypti* principalmente agregada em áreas urbanizadas, podendo coexistir com outras espécies de *Stegomyia* (peri-urbana) e com menor presença em área rural.

Por outro lado, em 2010 entre os 399 municípios que compõem o estado do Paraná, ao redor de 273 deles apresentaram certo grau de infestação pelo *Ae. aegypti*, e para o período de 2016-2017 o número ultrapassou 315 municípios infestados em território paranaense (Paraná, 2017).

A troca histórica cultural e comercial que o estado do Paraná mantém com o seu vizinho do Norte (o estado de São Paulo) é relevante; dados do Ministério da Saúde (MS) mediante pesquisa larvária apontaram que as infestações de *Ae. aegypti* começaram nos municípios da região Oeste do São Paulo, dispersão começada através de transporte comercial (forma passiva) mantida entre os municípios Paranaenses (Foz do Iguaçu) com os municípios do Oeste de São Paulo, situação observada a partir do ano de 1984 (Glasser & Gomes, 2000). Já em 2002 Chiaravalloti e colaboradores na região de São Jose do Rio Preto (SP), mediante o *Índice de Breteau* (IB) encontraram que 89,8 % das amostras coletadas pertenciam a *Ae. aegypti*, o 6,1 % a uma segunda espécie de *Aedes* (*Stegomyia*) e 4,1 %

corresponderam a ambas espécies de *Stegomyia* compartilhando habitats de criadouros. A região estudada faz divisa com municípios de Minas Gerais (Região Sudeste) e Mato Grosso do Sul (Região Centro-Oeste).

O programa nacional para prevenção da febre amarela urbana, instaurado no dia 4 de fevereiro de 1942 (Decreto no. 8.675) no Rio de Janeiro capital (Costa *et al.* 2011), alicerçava dois componentes Sanitários: A cobertura de imunização comunitária (17D vírus atenuado), vacina fabricada no Brasil pelo Instituto Oswaldo Cruz (biomanguinhos) no ano de 1937, e que teve sucesso na queda da incidência de casos a partir da década de 1940 (Shearer *et al.* 2017). Os estados do Nordeste e Sudeste do país por décadas albergaram as maiores epidemias destas arboviroses em território brasileiro; por outro lado, surtos de dengue também acometiam alguns outros países das Américas (Teixeira *et al.* 1999).

As atividades desenvolvidas pelo pessoal de campo, assim como o gerenciamento e implementação de medidas integradas no controle e eliminação vetorial em parceria com instituições internacionais, permitiram controlar o vetor no território Brasileiro, oficializando sua eliminação durante dois cenários nos anos de 1958 e 1973 (Brasil, 1999).

A partir do ano de 1975 aproximadamente 15 estados do Brasil reportavam novamente a presença do *Ae. aegypti* (Lima, 1985); entre os fatores que favoreceram a reintrodução e estabelecimento do *Ae. aegypti*, destacam-se: falhas no monitoramento e nas atividades de controle, expansão de centros urbanizados sem delimitação planejada e o comércio internacional (Braga & Valle, 2007). Os resultados das investigações apontaram que as re-infestações começaram na cidade de Belém, capital do estado de Pará (Região Norte), disseminando-se na cidade de Salvador na Bahia no ano de 1976, e continuando na capital do Rio de Janeiro durante o ano de 1977, mesmo cenário na capital do estado de Rio Grande do Norte (Natal) em 1979, e no estado de São Paulo no ano de 1980 na cidade de Santos (Lima, 1985).

Acredita-se que países como os Estados Unidos da América, assim como países fronteiriços com o Brasil (Guiana Francesa e Suriname) seriam os pontos de origem da reintrodução de *Ae. Aegypti* em território brasileiro (Lima, 1985).

Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse, 1895) ocorre principalmente em áreas rurais e suburbanas tornando-se vetor potencial do DENV, com relevância no papel da transmissão do CHIKV em vários países do Velho mundo demonstrando competência vetorial para 26 tipos de arbovírus (Paupy *et al.* 2009; Chouin-Carneiro *et al.* 2016). Originário do Sudeste da Ásia e descrito pela primeira vez na cidade de Calcutá na Índia (Skuse, 1895), com uma distribuição ampla nas ilhas do Oceano Índico e Pacífico, apresenta um comportamento zoofílico mantendo-se em áreas com cobertura vegetal (Tsuda *et al.* 2006; Delatte, *et al.* 2009).

Aedes albopictus é uma espécie vetora que representa um quebra-cabeças para os programas de Saúde e controle; a sua plasticidade ecológica permitiu-lhe ganhar importância nas Américas, e por ser uma espécie alóctone vale a pena ponderar o contexto histórico dos acontecimentos que permitiram e delimitaram sua distribuição no território brasileiro (Carvalho *et al.* 2014).

No estado do Paraná, os primeiros alados de *Ae. albopictus* foram duas fêmeas encontradas na cidade de Curitiba em abril e maio de 1996, coletadas mediante isca humana, próximo da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sentido da BR 277 (Sant'Ana, 1996).

A presença de *Ae. albopictus* no norte do estado do Paraná foi confirmada por Silva em 2002 no município de Sertaneja. A pesquisa larval foi feita em área urbana e rural, sendo determinada criadouros como vasos de plantas (área urbana) e recipientes de plástico com acúmulo de água (rural). Além disso, pneus encontrados em diferentes regiões da cidade apresentavam larvas de *Ae. albopictus*. Fatores como: a precipitação acumulada, disponibilidade de recipientes em áreas abertas, e presença de

vegetação permitiram infestações recorrentes de *Ae. albopictus* em municípios do Norte, Leste e Oeste paranaense.

Estudos de Culicidae em municípios paranaenses identificaram as épocas do ano com maior disponibilidade de criadouros e consequente probabilidade de encontrar imaturos de Culicidae (Silva & Lopes, 1985), além disso, foram tipificadas as variáveis climáticas (precipitação acumulada, umidade do ar e temperatura) mais relevantes na delimitação temporal de Culicidae (Lopes *et al.* 1987). Dados do MS sugerem que durante o período (1997-2002) o *Ae. albopictus* poderia ter sido introduzido no litoral do Paraná, possibilitando assim o começo da infestação no município de Paranaguá durante esse período (Santos, 2003).

Löwenberg-Neto e Navarro-Silva em 2002, apresentaram o primeiro registro de *Ae. albopictus* no litoral Norte de Santa Catarina, estado pertencente a região Sul do Brasil. As coletas foram feitas durante setembro de 2001 em área peri-domiciliar na ilha de São Francisco do Sul (200 km de Florianópolis capital). As coletas de *Ae. albopictus* (três fêmeas) foram feitas mediante isca humana em horários vespertinos. A demografia da ilha mantém relevância comercial com os estados do Sul e Sudeste do território brasileiro, além de apresentar diferentes vias e pontos de acesso e um fluxo de transporte contínuo com importante atividade ferroviária (com acesso a ilha) e com rotas a países fronteiriços (Argentina).

É importante questionar se estes fatores (comércio e transporte) seriam considerados ao hipotetizar as chances da espécie vetora se estabelecer em novas áreas sem presença vetorial.

Na América do Sul, o *Aedes albopictus* foi identificado (cinco machos e seis fêmeas) no município de Itaguaí (Rio de Janeiro), no dia 25 de junho de 1986 (Forattini, 1986). As coletas foram feitas pela equipe de endemias de Saúde (SUCAM), que encontraram larvas em um criadouro artificial (pneu) localizado sobre o acostamento da rodovia Rio-São Paulo (km 47); a presença de vegetação, sombreamento e a captação de água dentro do pneu providenciou condições favoráveis para o desenvolvimento das formas

imaturas (Ferreira-Neto, *et al.* 1987). É possível que a terminal portuária de Vitória no estado do Espírito Santo teria sido o ponto do acesso no Brasil, a partir do comércio transatlântico mediante o transporte de pneus que continham imaturos do *Ae. albopictus* (Carvalho, *et al.* 2014).

O estado de São Paulo reportou em setembro de 1986 imaturos de *Ae. albopictus* (três larvas) coletadas em vasos de plantas (cemitério) no município de Areias, no Nordeste do estado, divisa com o estado do Rio de Janeiro (Brito *et al.* 1986). Chiaravalloti-Neto e colaboradores em 2002 caracterizaram a abundância do vetor em São José do Rio Preto no Noroeste do estado paulista, com ocorrência durante os meses de chuvas (janeiro-março e dezembro) sendo coletadas 97 % das amostras nas imediações externas de imóveis com presença de cobertura vegetal. No estado do Espírito Santo no ano de 1987, trabalhos de Pesquisa Entomológica reportaram imaturos nos arredores de áreas com cobertura vegetal no município de Anchieta (87 km de Vitória capital do estado), sendo coletados alados desta espécie unicamente em extensões próximas de vegetação conhecidas como “capoeiras” (Ferreira-Neto, *et al.* 1987).

Estudos de pesquisa Entomológica no estado de São Paulo permitiram caracterizar os criadouros naturais de *Ae. albopictus* sendo coletados imaturos (19 larvas e cinco pupas) em ocos de árvores de Flambuaiã (*Delonix regia*), dentro de vegetação secundária no município de Tremembé, localizado a 150 km da capital do estado (Gomes & Marques, 1988). Os criadouros que se encontraram em áreas próximas da mata assim como a ausência de alados dentro dos imóveis poderiam indicar-nos que, *Ae. albopictus* é uma espécie generalista, exofílica, com preferência de criadouros com matéria orgânica e sombreamento, diminuindo assim a dessecação (Tsuda *et al.* 2006; Delatte *et al.* 2013); dois possíveis cenários comportamentais que poderiam explicar isso: o deslocamento mediante o voo na busca de fonte de alimentação sanguínea em áreas descobertas e de fácil acesso de imóveis como o peri-domicílio, ou o repouso sobre a vegetação até o momento de decidir fazer repasto sanguíneo em diferentes vertebrados.

Registros do MS do ano 1997, encontraram que aproximadamente 14 estados e 1.407 municípios brasileiros reportaram certo nível de infestação pelo *Ae. albopictus* (Gomes *et al.* 1999). Entre os anos 1997 e 2002 o número de estados com infestação do *Ae. albopictus* passou de 14 a 20, sendo os estados de Amapá, Roraima, Acre, Tocantins, Piauí, Ceará e Sergipe (região Norte e Nordeste) os únicos que não apresentavam presença de *Ae. albopictus* (Santos, 2003).

Por outro lado, para o ano 2014 o panorama vetorial no Brasil se acrescentou e no ano 2005 na cidade de Fortaleza, no estado de Ceará o MS encontrou imaturos (ovitampas) de *Ae. albopictus* em área urbana (Martins, *et al.* 2006); mesma situação no estado do Tocantins em 2006 (Balestra *et al.* 2008), e em Boa Vista capital do estado de Roraima (Aguilar *et al.* 2008), e finalmente no estado de Piauí no ano 2014 foi reportado certo grau de infestação pelo *Ae. albopictus* (Carvalho *et al.* 2014).

2 JUSTIFICATIVA

O Brasil (14° 14' 06.014" S 51° 55' 31.008" W) tem 210.147.125 habitantes em 8.515.767,049 km² (IBGE, 2019), durante os anos 2014-2016 apresentou uma das maiores adversidades de saúde pública no mundo, uma vez que no ano 2015 foi reportado um total de 1.688.688 casos prováveis de dengue e 986 óbitos sendo os sorotipos 1 e 4 os responsáveis da maioria dos casos (Brasil, 2017).

No estado do Paraná, nos últimos 25 anos houve um acréscimo de casos por febre da dengue e dengue grave contabilizando óbitos por síndrome de choque – dengue (Duque *et al.* 2010). A circulação viral do DENV-1 no Paraná, iniciou a partir do ano 1991 predominando na maioria dos casos de dengue até o ano de 2018, no entanto, a partir do 2019 o sorotipo de DENV-2 alcançou maior prevalência, em menor frequência são detectados os sorotipos de DENV-4 e DENV-3 (Paraná, 2020). Os municípios do litoral Paranaense (região Sul-leste do estado), durante os últimos 10 anos foram registrados um total de 18.653 casos por dengue, com a maioria dos casos registrados ocorrendo na cidade de Paranaguá (17.614) e entre o período agosto de 2015 e julho de 2016 (SE 31-30) o município contabilizou 15.779 casos confirmados (15.538 autóctones e 241 importados) e 29 óbitos (Paraná, 2017). Por outro lado, entre 2015 e 2017, 15 casos de febre Chikungunya e 10 casos de febre por Zika foram reportados no município de Paranaguá (Paraná, 2016; 2017), convertendo-se numa área com alta transmissão de arboviroses.

O programa nacional de Controle da dengue (PNCD) do Ministério de Saúde apresentado em 2002, desempenha o braço executor nas atividades para o controle de *Ae. aegypti*, delegando aos municípios brasileiros a operacionalidade do monitoramento vetorial a partir de indicadores de infestação (Brasil, 2002). No entanto, a construção de cenários no controle vetorial através do Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) oferece aos municípios, um conjunto de atividades habituais baseadas no deslocamento de “Agentes de Controle de Endemias” para a busca ativa de estádios imaturos (larvas e pupas) ao longo do ano (Brasil,

2009; Brasil, 2013). Porém, existe plenamente a necessidade de delimitar zonas táticas de intervenção que permitam uma resposta intuitiva na detecção, intervenção e monitoramento espacial (Brasil, 2001), caracterizando a distribuição de criadouros artificiais que existissem em diferentes áreas, mediante índices proporcionais em função de uma amostra representativa em relação ao número de imóveis e considerando a densidade populacional e o número de imóveis amostrados por estrato (Brasil, 2013).

A distribuição populacional de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* varia entre cada uma das espécies, delimitadas no meio ambiente por fatores abióticos como temperatura, umidade e precipitação, que demarcam sua presença, podendo convergir existindo variações ao longo do ano nas áreas urbanas da cidade. De fato, a transmissão vertical de arbovírus onde a descendência de ambas espécies vetoras nascem infectados representa uma alternativa na circulação de arbovírus em temporadas hipo-endêmicas na população de Paranaguá.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Detecção de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) como procedimento de prevenção da circulação de arbovírus no município de Paranaguá - PR.

3.1.2 Objetivos específicos

- i) Identificar a presença de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* como espécies de Culicidae que participam na infestação da área urbana em Paranaguá
- ii) Avaliar o impacto da implantação e rotina de detecção de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área urbana e rural utilizando armadilha de oviposição como método tecnicamente sustentável no longo prazo
- iii) Caracterizar os índices estegômicos (índice de densidade de ovos - IDO e índice de positividade de ovos - IPO) como indicativo da atividade das espécies vetores na área urbana de Paranaguá e sua relação com as variáveis ambientais como temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica e velocidade do vento)
- iv) Determinar o papel da transmissão vertical dos arbovírus Dengue, Zika e Chikungunya em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*
- v) Delimitar áreas prioritárias de ações de redução da atividade de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*
- vi) Disponibilizar aos gestores da área de saúde pública dos resultados em no máximo 48 horas após a finalização das atividades de campo.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Métodos de monitoramento de *Aedes (Stegomyia) spp.*

A utilização de diferentes métodos para o monitoramento de *Aedes (Stegomyia) spp.* são baseados no comportamento de busca de refúgio, fonte de alimentação e manutenção da descendência (Focks, 2003), o vetor mediante estímulos visuais e olfatórios busca áreas de estabelecimento e repouso para o seu desenvolvimento do ciclo biológico (Navarro *et al.* 2003; Ponnusamy *et al.* 2010). A partir destas informações é possível direcionar atividades para detectar atividade do vetor nos seus diferentes estádios de desenvolvimento (Oliva *et al.* 2014).

A pesquisa entomológica busca aprimorar a obtenção de dados para detectar a presença vetorial, estratificar áreas com possível infestação assim como detecção de maior ocorrência vetorial (sazonalidade), a partir da notificação de um evento por alguma arbovirose (Brasil, 2009; Brasil, 2013). O Manejo Integrado de Vetores (MIV) direciona as medidas de controle e prevenção vetorial a partir da geração de índices entomológicos, estes últimos classificam áreas de risco considerando a biologia e ecologia do vetor (OPAS, 2019).

Diversos estudos científicos demonstram que um programa de controle de vetores efetivo deve incluir mais de um método de monitoramento, sendo necessário acrescentar diversas ferramentas de controle da densidade vetorial que sejam adequadas à realidade local para serem executadas de forma integrada e seletiva (Braga & Valle, 2007; Regis *et al.* 2014; Barrera *et al.* 2018). As ações empregadas no programa de controle de vetores também devem ser monitoradas de forma eficaz e constante.

A detecção de *Aedes spp.* pode ser realizada a partir de indicadores obtidos nas diferentes fases de desenvolvimento, os métodos preconizados para o monitoramento do *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* são apresentados na tabela I:

Tabela I: Principais métodos de monitoramento de *Aedes (Stegomyia) spp.*

Estágio biológico	Método de monitoramento / armadilha empregada	Índice estimado	Descrição do método
Ovo	Pesquisa entomológica (ovitrampa)	Índice de densidade de ovos (IDO) Índice médio de Ovos (IMO) Índice de positividade de ovitrampa (IPO)	Detecção de áreas de infestação de <i>Aedes spp.</i> baseado na atividade de fêmeas grávidas e oviposição.
	Pesquisa entomológica Levantamento de índice Amostral (LIA) Busca ativa larval (LIRAA)	Índice de Breteau (IB) Índice de Infestação predial (IIP) Índice por Tipo de Recipiente (ITR)	Estimativa da densidade do vetor a partir de coleta de estádios imaturos de <i>Aedes spp.</i> Classificação de depósitos e habitats larvários nos imóveis selecionados.
Larva	Pesquisa entomológica (Larvitampa)	Índice de densidade da larvitampa (IDL _a)	Identificação de espécies (imaturos) presentes nas larvitampas instaladas por área.
	Pesquisa entomológica (Busca ativa)	Índice de Pupas (Ipu) Índice de pupa por área Índice de pupa por pessoa	Coleta e identificação de espécies (imaturos) presentes, classificação de criadouros encontrados com presença de pupas.
Adulto	Pesquisa entomológica Busca ativa (aspiração)	Índice de alados capturadas	Coleta de alados nos imóveis e identificação de <i>Aedes spp.</i> para estimar a abundância no ambiente.
	Armadilha para fêmeas grávidas (AdulTrap)	Índice de positividade de armadilha (IPA) Índice Médio de fêmeas de <i>Aedes spp.</i> (IMFA)	Classificação de risco pelo nível de abundância sazonal.
	Armadilha adesiva (StickyTrap)	Índice de positividade de armadilha (IPA) Média de alados capturados	
	Armadilha BG-Sentinel	Índice de positividade de armadilha (IPA) Média de alados capturados	
	Armadilha para captura de fêmeas grávidas (MosquiTRAP)	Índice de positividade de Armadilha (IPA) Índice Médio de Fêmeas de <i>Aedes spp.</i> (IMFA)	
	Armadilha CDC	Índice de positividade de armadilha (IPA) Média de alados capturados	

Fonte: Gomes *et al.* 2002; Focks *et al.* 2003; Sivagnaname & Gunasekaran, 2012; Brasil, 2013; Baldachinno *et al.* 2015; Johnson *et al.* 2017.

As taxas de infestação do *Ae. aegypti* medidas pela pesquisa larvária (método tradicional) e armadilhas de oviposição em centros urbanos, indicam que a detecção vetorial realizada por meio de ovitrampas é mais sensível e específica, mesmo em áreas consideradas não infestadas (Codeço *et al.* 2009; de Resende *et al.* 2013).

Ou seja, apesar de não permitir a obtenção de índices diretos sobre a quantidade de adultos, a detecção utilizando armadilhas de oviposição é mais sensível do que a pesquisa larvária na detecção da presença do mosquito no ambiente.

Dibo e colaboradores em 2008 avaliaram o uso de ovitrampas e armadilhas de captura de fêmeas grávidas na detecção de *Ae. aegypti* assim como as variáveis climatológicas e sua relação na incidência de casos de dengue em São Paulo. Entre os resultados, destacam-se que a ovitrampa apresentou especificidade na detecção de *Ae. aegypti*, e a armadilha para alados coletou quatro espécies de Culicidae. Foram coletados 165.607 ovos com uma média de 3.066 ovos por semana, o índice de positividade de ovitrampas (IPO) oscilou entre 20-80% com uma média de 58% de positividade ao longo do estudo, o índice de média de ovos por armadilhas totais (IMO) oscilou entre 10-30 ovos durante os meses de janeiro e fevereiro, triplicando-se o valor durante os meses de março-abril (50-100 ovos).

Os autores mencionam que a maior incidência de casos de dengue aconteceu durante a segunda semana de janeiro e final de fevereiro, podendo estar relacionado com o aumento da média de ovos coletados, a temperatura mínima (20-22 °C), a temperatura máxima (30-35 °C), assim como a precipitação acumulada (acima de 100 mm). Por outro lado, o IPO mostrou relevância na delimitação de áreas infestadas com *Ae. aegypti* nas diferentes sazonalidades, permitindo o direcionamento das atividades preventivas de controle vetorial. Os autores destacam que além da ação das variáveis climáticas na abundância vetorial, existem outros fatores que interferem na incidência da dengue, entre elas destacam-se: o comportamento vetorial (deslocamento, busca de alimentação e sítios para

ovipor), a quantidade e tipo de criadouros, e a imunidade da população aos diferentes sorotipos de DENV.

Regis e colaboradores em 2008 determinaram a distribuição de *Ae. aegypti* mediante o uso de armadilhas de oviposição (ovitrapas) relacionando as variáveis climatológicas na ocorrência de casos de dengue em Recife, Brasil. Entre os resultados destacam-se que em quatro das cinco áreas estudadas 98% das armadilhas apresentaram ovos de *Ae. aegypti*; e áreas com maior cobertura vegetal, *Ae. albopictus* foi encontrado em 88% das ovitrapas. Foram coletados um total de 4 milhões de ovos (média = 722 ovos por armadilha/semana), o IPO se manteve alto (98%) durante as 52 semanas do estudo.

O valor mais alto do índice de Densidade de ovos (IDO) (média de 954 ovos) aconteceu em áreas densamente povoadas (30.895 hab/km²), apresentando valores maiores nos períodos de calor e chuva (janeiro-março). Enquanto que em áreas com menor população (3.737 hab.km²) o IDO oscilou entre 100-750 ovos, aumentando durante os meses com chuvas moderadas e temperaturas quentes (maio- agosto). Com isso, os autores associaram um maior risco de incidência de dengue em áreas densamente povoadas (hab/km²) e que também apresentaram maior abundância de *Ae. aegypti*.

Esse resultado pode estar relacionado com uma maior chance de repasto sanguíneo sem necessidade de grandes deslocamentos (voo) para busca de fontes de alimentação, considerando que o comportamento vetorial está associado com a disponibilidade de recipientes que armazenam água, os criadouros artificiais localizados dentro e nos arredores de cada imóvel, e a busca da fonte alimentar.

Honório e colaboradores em 2009 caracterizaram a densidade populacional de *Ae. aegypti* mediante o uso de ovitrapas e armadilhas para alados, comparando a influência de variáveis climatológicas na distribuição vetorial em três regiões do Rio de Janeiro. Um total de 703.000 ovos foram coletados mediante ovitrapa (média de 8.573 ovos semanal),

com um percentual de 98 % de *Ae. aegypti*, e somente 2 % de *Ae. albopictus*. Os índices entomológicos apresentaram os valores mais altos durante os meses de início e final do verão (IPO = 90%). A região com menor grau de urbanização apresentou a menor média do valor de densidade de ovos (IDO = 40), com valores máximos no verão (IDO = 60-70). A ovitrampa foi mais sensível na detecção e medição do grau de infestação de *Ae. aegypti*.

A temperatura média (22-24°C) desfasada uma semana (com relação na semana de cada coleta) e a precipitação acumulada com três a cinco semanas de desfasamento tiveram correlações com o IDO e IPO, e com a temperatura média, esta última sendo mais significativa ($p < 0.001$). Uma correlação negativa foi encontrada com a temperatura média com três e cinco semanas de desfasamento, neste caso os autores consideram que a temperatura contribuiria na evaporação da água acumulada nos recipientes descartáveis na época de chuvas, em lugares que apresentassem acúmulo de recipientes como latas e garrafas, pneus etc. ocasionado por um sistema ineficaz de descarte de lixo municipal.

De Melo e colaboradores em 2012 apresentaram resultados sobre Pesquisa Entomológica com o objetivo de correlacionar a incidência de casos por dengue com a abundância de *Aedes* spp. em áreas urbanas da cidade de Belo Horizonte, no Brasil. Foram comparados três tipos de ferramentas de monitoramento: armadilhas tipo “ovitrampa” (imaturos) com infusão vegetal ao 10%, armadilhas para captura de alados e busca ativa larval mediante o Levantamento Rápido de Índices de Infestação (LIRAa).

Os resultados apontaram que o pico de casos por dengue assim como de abundância de *Ae. aegypti* ocorreram durante o verão com temperaturas máximas acima de 25°C. A ovitrampa apresentou maior sensibilidade na detecção de infestação por *Aedes* spp. assim como uma correlação positiva com o número de casos, seguida da armadilha para alados. A ovitrampa confirmou a presença de *Aedes* spp. quase seis meses antes dos picos de reporte de casos. Os autores discutem que a Pesquisa Entomológica precisa de ferramentas específicas capazes de identificar

zonas de risco de transmissão em diferentes épocas do ano, para direcionar medidas de resposta rápida antes do estabelecimento de períodos epidêmicos.

Já em 2013 de Resende e colaboradores compararam diferentes métodos para detecção do *Ae. aegypti*, ao determinarem as variáveis climatológicas relacionadas com a densidade do vetor num município do interior de Minas Gerais. Os autores encontraram que o método mais sensível para detecção de *Ae. aegypti* foi mediante o uso da ovitrampa. Um total de 95.511 ovos foram coletados com uma média semanal de 7.959 ovos. A média do IPO foi 78 %. Durante as semanas do mês de fevereiro ocorreram as maiores médias (9.055 ovos, IPO 85%).

A temperatura média apresentou uma correlação positiva significativa com os índices IPO e IMO de ovitrampa. No final do verão, a temperatura média passou de 22,7 para 25,3 °C. Com isso, a frequência de dias de chuvas e a precipitação acumulada apresentaram uma correlação negativa. Os autores justificam que o aumento da temperatura impactaria na biologia do vetor como por exemplo na diminuição no tempo para desenvolvimento das larvas em criadouros, assim como na redução do ciclo gonotrófico de *Ae. aegypti*.

Serpa e colaboradores em 2013, caracterizaram a abundância de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* relacionando a distribuição de ambas espécies com variáveis climáticas no município de São Sebastião no estado de São Paulo, Brasil. Foram instaladas mensalmente 80 armadilhas tipo ovitrampa, colocadas em 40 imóveis na área urbana do município, em cada imóvel selecionado cada ovitrampa foi instalada no intra domicílio (1) e peri domicílio (1). Os resultados foram apresentados mediante índices entomológicos utilizando uma regressão linear simples e o coeficiente de correlação de *Spearman* para comparar a abundância e distribuição de cada espécie com as variáveis climáticas.

Entre os resultados, 20.264 ovos foram coletados durante 13 meses, as médias dos índices entomológicos foram as seguintes: IPO= 24,8%;

IMO= 20 ovos; e IDO= de 79.4 ovos por mês. Os meses de verão representaram os valores de IPO e IMO mais altos sendo fevereiro o mês que apresentou os maiores valores (IPO= 50% e IMO= 40 ovos). Entre as 8.058 (100%) larvas identificadas, *Ae. aegypti* foi a espécie mais presente ao longo do ano (91%), enquanto que *Ae. albopictus* foi encontrada com menor frequência (9%), estando ausente durante os meses de junho e novembro. Ambas espécies foram encontradas em 12% das armadilhas positivas.

Por outro lado, *Ae. aegypti* apresentou uma razão de correlação positiva significativa ($p= 0.00$) com a temperatura mínima ($r= 0.67$), média ($r= 0.76$) e máxima ($r= 0.76$). *Ae. albopictus* manteve uma correlação com a temperatura máxima ($r= 0.58$) com significativo ($p= 0.04$) e não foi encontrada nenhuma relação com outras variáveis climáticas.

Os autores mencionam que *Ae. aegypti* apresenta maior competência interespecífica sobre *Ae. albopictus*. É possível inferir que a atividade de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* no mês de setembro se mantém baixa devido a temperatura máxima não ultrapassar os 21.4 °C, enquanto que em outubro acontece um aumento da atividade das fêmeas devido a média de temperatura se manter em 24.3 °C, essa atividade se prolonga até fevereiro quando a temperatura mínima é de 20.1 °C. O fato dos índices entomológicos durante os meses de inverno (junho-agosto) serem baixos, sugere a existência de criadouros a partir de recipientes com acúmulo de água nos arredores dos imóveis, o que favorece a presença de *Ae. aegypti* ao longo do ano.

Regis e colaboradores em 2014, caracterizaram os níveis de infestação de *Ae. aegypti* correlacionando a temperatura e precipitação acumulada (mm³) em áreas urbanizadas de Fernando de Noronha, estado de Pernambuco, Brasil. Foram instaladas e georreferenciadas 103 armadilhas de oviposição tipo ovitampa em imóveis em áreas urbanizadas durante janeiro de 2011 a maio de 2013. Os índices entomológicos (IPO e IDO) foram gerados mensalmente correlacionando a temperatura e a precipitação acumulada. Mapas de densidade de Kernel foram gerados

utilizando o valor do IDO mensal para identificação de áreas críticas de infestação.

Um total de 377.154 ovos foram coletados com uma média de 2.946 ovos semanalmente, o IPO teve uma média de 81% (60-100 %), a média do valor do IDO foi de 42 ovos (37-295) por armadilha. Valores mínimos de IDO foram encontrados durante os meses de seca (novembro-fevereiro) de cada ano. *Ae. aegypti* foi a única espécie encontrada ao longo do estudo.

A correlação mais significativa ocorreu entre o valor do IDO com a precipitação acumulada (300-600 mm³) com dois meses de desfasamento. Os autores mencionam que o efeito da precipitação acumulada na infestação de *Ae. aegypti* é maior pela presença de recipientes ao longo da área estudada, no entanto a falta de correlação com a temperatura é devido à pouca variação ao longo do ano (24-30 °C), fenômeno observado em lugares próximos a linha do Equador. Enquanto que, é mais relevante em maiores latitudes, que possuem variações sazonais mais amplas.

Codeço e colaboradores em 2015 examinaram quatro diferentes armadilhas (ovos e alados) com o objetivo de identificar a abundância de *Ae. aegypti* em cinco cidades do Brasil. Foram utilizados índices entomológicos para comparar sua relação com fatores abióticos (temperatura e pluviosidade). Os resultados apontaram que as quatro armadilhas detectavam a presença de alados em épocas de transmissão de dengue; no entanto, a armadilha de oviposição (ovitampa) apresentou maior especificidade e diferenças significativas na presença e atividade de fêmeas de *Ae. aegypti* em diferentes épocas do ano. A temperatura (mínima e máxima) desfasada de uma a três semanas foi fortemente correlacionada com maior abundância do vetor *Ae. aegypti* tornando-se relevante na detecção precoce de alterações da densidade populacional do vetor.

Rozilawati e colaboradores em 2015 determinaram a abundância e preferência de criadouros de *Aedes* spp. em cinco cidades da Malásia com relatos de surtos por DENV e CHIKV. A Pesquisa Entomológica foi realizada mediante ovitrampas instaladas no intra e peri domicílio de prédios, assim

como a pesquisa larval e busca de criadouros. Os resultados foram avaliados mediante índices estegômicos. Os autores destacaram a presença de ambas espécies em ovitrampas. Durante o tempo avaliado, o *Ae. albopictus* apresentou maior abundância significativa, encontrando-se principalmente no peri-domicílio, o *Ae. aegypti* teve pouca presença focalizada no intra-domicílio nas quatro das cinco cidades avaliadas. A operacionalidade das ovitrampas à qual apresenta um baixo custo, e a disponibilidade de pessoal de campo foi inferior.

Rodrigues e colaboradores em 2015, encontraram uma associação da abundância de *Ae. aegypti* com a precipitação pluvial (média e acumulada) e a temperatura mínima no município de São Sebastião (São Paulo) Brasil. A maior densidade vetorial foi durante o mês de março (verão) e menor durante julho (inverno). Além disso, o número de residentes em cada imóvel está relacionado com a distribuição espacial do vetor.

Os autores mencionaram que fêmeas grávidas do *Ae. aegypti* mantêm um raio de ação espacial nos arredores dos imóveis que resultaram positivos de cada quarteirão sendo que estes permanecem delimitados por barreiras físicas (como ruas) e / ou geográficas. No entanto, fatores relacionados com a biologia do vetor como a busca de fonte de alimentação e repasto sanguíneo, assim como a disponibilidade de criadouros para ovipor ovos limitariam deslocamentos maiores.

Estudos realizados na região Sul do Brasil (Porto Alegre, Rio Grande do Sul) encontraram que uma temperatura mínima (entre 16-19 °C) desfasada quatro semanas manteve uma correlação com a presença de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti*, sendo que temperaturas acima deste intervalo aumentam a infestação do vetor e a incidência de casos de dengue, demonstrando que o pico de casos acontece durante o verão, dois meses após o aumento da densidade do vetor (da Cruz Ferreira *et al.* 2017).

Um novo índice vetorial baseado no monitorando e a expansão geográfica de *Ae. aegypti*, correlacionando a presença de criadouros com a prevalência de casos de febre por dengue vírus (DENV) em Singapura foi apresentado por Ong e colaboradores em 2019. O índice entomológico empregado pelo sistema de vigilância sanitária naquele país é o Índice de Casa (IC) mediante a busca de estádios imaturos de desenvolvimento do vetor.

Entre os resultados, identificaram-se áreas de baixo, médio e alto risco em diferentes áreas da cidade durante o período avaliado (11 anos), os mapas de risco apresentavam correlação espacial entre o crescimento com a distribuição focalizada de criadouros de *Ae. aegypti*, assim como a prevalência de casos por DENV. Os autores propõem que a validade de um programa de Pesquisa Entomológica requer indicador capaz de colocar informação detalhada de forma espacial baseado em dados de inspeção de rotina, e de melhor relevância para tomada de decisão nos esforços de controle de vetores.

4.2 Panorama de monitoramento de *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Ae. (Stegomyia) albopictus* em Paranaguá-PR

A prefeitura Municipal de Paranaguá através da Secretaria Municipal de Saúde e Prevenção desenvolve atividades de monitoramento de *Aedes (Stegomyia)* spp. mediante o Levantamento de Índice Amostral (LIA) e o Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA), atividades desenvolvidas a cada dois meses em imóveis da cidade (Brasil, 2005; Brasil, 2009; Brasil, 2013).

Dados da Secretaria Municipal de Saúde e Prevenção, mostraram que em Paranaguá, no ano 2017, o Índice de Infestação Predial (IIP) foi de 3,6% (risco médio) em setembro e aumentou para 8,9% (risco alto) em novembro (ANEXO 1). O delineamento amostral do LIRAA foi mediante a divisão de sete estratos (bairros) considerando 2.629 imóveis (100%) sendo efetivamente amostrados 1.301 (49,1%) imóveis. Valores de IIP se mantem entre 4% (Paranaguá, 2019).

O Programa Nacional de Dengue do Ministério da Saúde (MS), preconiza a implementação de atividades de vigilância e controle vetorial mediante a participação de Agentes de Controle de Endemias (ACEs), responsáveis por atividades de controle mecânico (remoção de criadouros), pesquisa larvária, participação comunitária e controle químico nos imóveis dos municípios, contemplando a disposição de um ACEs por cada 800 a 1.000 imóveis (Brasil, 2009).

O município de Paranaguá conta com 56 ACEs para os 70.000 imóveis cadastrados pelo município na área urbana e rural (Paranaguá, 2018), o que é considerado um déficit aproximado de 22 ACEs (considerando 1 ACE para 900 imóveis), com uma cobertura de 50.400 imóveis, e sem cobertura 19.600 imóveis para atividades de pesquisa e controle vetorial.

As atividades da 1ª. Regional de Saúde-SESA estabelecem o monitoramento de *Aedes (Stegomyia)* spp. mediante armadilhas do tipo “Ovitrapa” em 62 pontos estratégicos nos imóveis, como por exemplo em borracharias, sucatas e cemitérios da cidade (Brasil, 2009).

A implementação de atividades de detecção e controle vetorial permite a identificação do início de surtos por alguma das Doenças Transmitidas por Vetores (DTVVs) (Honório *et al.* 2009; Rodrigues *et al.* 2015), evitando que o número de casos seja exponencial, o trabalho implementado pelos ACEs é de grande relevância e não deve ser desvalorizado pois é um fator de proteção para sociedade contra a transmissão de arboviroses (Chiaravalloti-Neto *et al.* 2006; Cazola *et al.* 2009; Sayono *et al.* 2019).

No ano de 2016 a SESA implementou uma campanha de imunização contra a dengue em 30 dos 399 municípios do estado do Paraná mediante a vacina quadrivalente (Dengvaxia Sanofi-Pasteur), com grupo alvo de pessoas entre 9-45 anos de idade (Paraná, 2016a). Entre as 500.000 pessoas pertencentes ao grupo alvo da vacinação, 311.053 receberam a primeira dose (62%), e um total de 109. 448 receberam a terceira dose (35%), os quais completaram o esquema de imunização (Paraná, 2018).

No município de Paranaguá, 91.318 pessoas pertencem ao grupo alvo de idade, sendo que 66.522 (72,8%) receberam a primeira dose de imunização, entre elas, aproximadamente 29.588 (44,4%) receberam a terceira dose, completando a imunização (Paraná, 2018). Estudos de fase 3 desenvolvidos na Ásia e América Latina têm reportado uma diferença na eficácia da vacina contra o DENV 1 e 2, principalmente nos grupos de até 16 anos (Halstead, 2017; Dorigatti *et al.* 2018).

4.3 *Aedes (Stegomyia) aegypti* vetor de arbovírus nas Américas

Existem duas subespécies de *Ae. aegypti* com diferenças comportamentais, morfológicas, e na distribuição global: *Ae. aegypti aegypti* (Aaa) de comportamento antropofílico, distribuição cosmopolita com maior presença em países tropicais e subtropicais, preferencialmente alimentando-se do sangue de pessoas e ovipondo os seus ovos em baldes e sítios de armazenamento de água (McBride *et al.* 2014; Powell *et al.* 2018). *Ae. aegypti formosus* (Aaf) com comportamento zoofílico com distribuição principalmente em países da África-Subsaariana (47 países), com preferência alimentar de animais (ambiente silvestre) (Brown *et al.* 2011). O *Ae. aegypti formosus* é uma espécie refratária ao vírus da febre amarela (YFV), representando um papel secundário na transmissão de arbovírus, contrário a *Ae. aegypti aegypti* que é o vetor principal do DENV1-4, CHIKV e ZIKV (Dickson, *et al.* 2014).

O acúmulo de recipientes descartáveis, o armazenamento de água para uso e consumo humano nos arredores dos domicílios acrescentam a chance destes se transformarem em criadouros artificiais de *Ae. aegypti*, favorecendo a dispersão de alados onde as fêmeas colocam os ovos próximo da película de água sobre as laterais dos diversos recipientes (Scott, *et al.* 1993). As fêmeas de *Ae. aegypti* desenvolvem hematofagia, e por apresentar comportamento antropofílico, se alimentam de humanos em horários diurnos, precisando mais de um repasto sanguíneo para desenvolver o processo de fecundação e oviposição (Scott & Takken, 2012).

Os ovos apresentam forma ovóide e uma vez fecundados, mantem uma tonalidade escura (Figura1) e com capacidade de suportar a dessecação, entrando em diapausa até que nível de água o alcance e permita a ruptura do opérculo na liberação das larvas (Silva & Silva, 1999). O estágio de desenvolvimento apresenta quatro fases: ovo, larva (Figura 2) e pupa (ambiente aquático) e adulto (ambiente terrestre) este último com a capacidade de voo (Figura 3) (Goindin *et al.* 2015).



Figura 1. Ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* coletados com armadilha tipo ovitrampa em Paranaguá-PR. Foto: Arquivo LAMFIC².

As larvas são aquáticas, morfologicamente dividida em: cabeça, tórax e abdômen (Figura 2). Na fase de larva existem quatro estádios de crescimento (Fig.2 A-D). No final do abdômen encontra-se o sifão respiratório (Figura 2 E e F). A forma de pupa é de vida livre, com o corpo subdividido em cefalotórax e abdômen que possui junto com as larvas um par de espiráculos (Forattini, 2002).

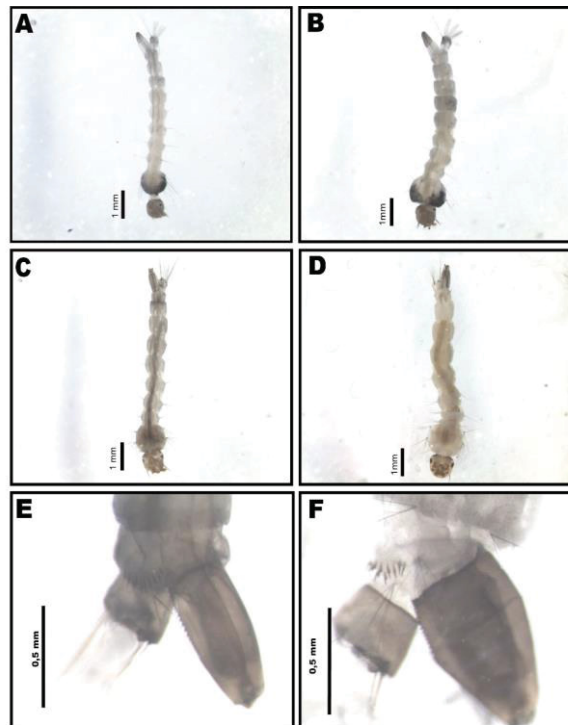


Figura 2. Larvas de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. com cada um dos seus estádios de desenvolvimento. A) larva L-1 primeiro estágio; B) larva L-2 segundo estágio; C) larva L-3 terceiro estágio; D) larva L-4 quarto estágio; E) espinhos diferenciados no sétimo esclerito abdominal em *Ae. aegypti* F) espinhos diferenciados em *Ae. albopictus*. Foto: Arquivo LAMFIC².



Figura 3. *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (macho) emergindo da cápsula pupal. Foto: Arquivo LAMFIC².

4.3.1 *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus*

Um fator relevante é o hábito generalista do *Ae. albopictus* na utilização de criadouros, que nos municípios do território brasileiro teriam a mesma importância que os criadouros utilizados na Ásia (Ferreira-Neto, *et*

al. 1987). De fato, *Ae. albopictus* se encontra distribuído amplamente no Brasil, com maiores infestações em municípios dos estados do Sudeste brasileiro (Carvalho *et al.* 2014).

Há registros sobre a introdução de *Ae. albopictus* nas Américas desde sua chegada na “década de 1980”, onde o comércio transatlântico de pneus de segunda mão originou o transporte de ovos de maneira passiva (Bonizzoni *et al.* 2013).

No continente americano, os trabalhos de monitoramento vetorial detectaram a presença de *Ae. albopictus* primeiramente na América do Norte (Texas, USA) em meados de 1980 (Sprenger & Wuithiranyagool, 1986), de fato entre 1980 e 1990, ocorreu na América Central (Ibañez-Bernal & Martínez-Campos, 1994), no Brasil foi encontrado em 1986 (Figura 4) (Forattini, 1986). Os adultos apresentam uma tonalidade escura, na região do tórax um conjunto de escamas brancas formam uma linha que atravessa o escuto e escutelo (Figura 4).

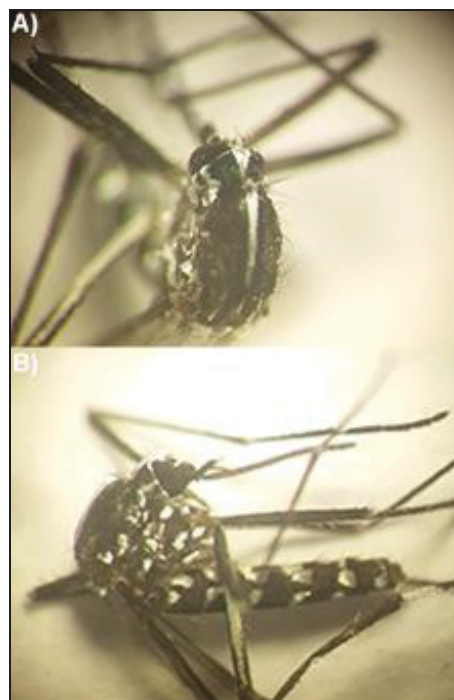


Figura 4. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (fêmea). A) Vista dorsal apresentando o conjunto de escamas brancas desenhando uma listra longitudinal ao tórax atravessando o escuto e escutelo. B) Vista lateral do tórax ressaltando o conjunto de escamas brancas próximo da sutura pleural. Foto: arquivo LAMFIC².

4.4 Arbovírus como agentes etiológicos de doenças emergentes

Os arbovírus "*arthropod-borne vírus*" são partículas patogênicas virais que efetuam parte do seu ciclo de vida em células de diferentes hospedeiros, como em vertebrados e artrópodes hematófagos, os arbovírus são mundialmente catalogados como agentes etiológicos de graves doenças infecciosas em humanos (McDonald, *et al.* 2019). Aproximadamente, 134 tipos de arbovírus são reconhecidos como patógenos de zoonoses com a capacidade de infectar e causar doenças (Lanciotti & Roehrig, 2016), acometendo, seriamente alguns casos, a saúde das crianças e adultos, onde os vetores principais são mosquitos (Diptera: Culicidae) e carrapatos (Acari) (Karabatsos, 1985; Gubler, 2001).

A taxonomia dos arbovírus, reconhece seis famílias e 42 gêneros (Vasilakis *et al.*, 2016), com a característica comum de compartilhar a mesma estrutura de RNA genômica: Flaviviridae, Bunyaviridae, Reoviridae, Rhabdoviridae, Togaviridae, Orthomyxoviridae (Gubler, 2001; VIPR, 2009; ICTV, 2017). O vírus da peste suína africana (Asfaviride), é o único arbovírus que apresenta uma molécula de DNA genômica de fita dupla-linear (Alonso *et al.* 2018), onde o vetor principal são carrapatos do gênero *Ornithodoros* (Heerden *et al.* 2017).

Originalmente, os Arbovírus se mantinham restritos em áreas silvestres de países tropicais mediante ciclos enzoóticos, que incluíam vertebrados como: aves, roedores, primatas e artrópodes hematófagos (Gubler, 1996). Porém, surtos de arbovirose originam-se a partir da tríade arbovírus-vetor-hospedeiro; ocorrendo tanto em ambientes silvestres como urbanos assim como áreas naturais impactadas pelas atividades antrópicas (Gubler, 2001). De fato, às Arbovirose têm surgido de forma epidêmica em áreas urbanas da África, Ásia, Europa e América (WHO, 2017), aproximadamente, quatro bilhões de pessoas moram em áreas de risco no mundo, fator agravado pela ausência de vacina específica que forneça imunidade eficiente e permanente (Bhatt *et al.* 2013). No cenário mundial anualmente são reportados aproximadamente 400 milhões de casos por algum tipo de arbovirose (WHO, 2019). A maioria dos arbovírus que

causam doenças se encontram em três famílias: Bunyaviridae, Flaviviridae, Togaviridae (Tabela II).

Tabela II. Principais Arbovírus transmitidos por Culicidae na América Latina

Vírus	Origem	Gênero	Família	Mosquito Vetor	Hospedeiro Vertebrado	Distribuição geográfica	Bibliografia
Chikungunya (CHIKV)	Oeste da África	<i>Alphavirus</i>	Togaviridae	<i>Aedes</i> spp.	Primatas, gado, roedores, aves	África, Ásia, Europa, Américas	1,2,3
Mayaro (MAYV)	América do Sul	<i>Alphavirus</i>	Togaviridae	<i>Haemagogus</i> spp.	Primatas, cavalos, aves	América Central, América do Sul	4,5
Encefalite equina do Leste (EEE)	América do Sul	<i>Alphavirus</i>	Togaviridae	<i>Culiseta</i> , <i>Aedes</i> , <i>Coquillettidia</i> , <i>Culex</i> spp.	Aves, Cavalos, outros mamíferos	América	6,7
Encefalite equina Venezuelana (VEEV)	América do Sul	<i>Alphavirus</i>	Togaviridae	<i>Culex</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Anopheles</i> , <i>Mansonia</i> , <i>Psorophora</i> , <i>Aedes</i> spp.	Aves roedores, cavalos, outros mamíferos	América	8,9
Dengue (DENV)	África	<i>Flavivirus</i>	Flaviviridae	<i>Aedes</i> spp.	Primatas	Ásia, América, África, Europa, Oceania	10,11,12
Zika (ZIKV)	Leste da África	<i>Flavivirus</i>	Flaviviridae	<i>Aedes</i> spp.	Primatas	África, Ásia, América central, América do Sul, Oceania	13,14,15
Febre amarela (YFV)	África	<i>Flavivirus</i>	Flaviviridae	<i>Aedes</i> , <i>Haemagogus</i> spp.	Primatas	América do Sul, África	16,17
Rocio (ROCV)	América do Sul	<i>Flavivirus</i>	Flaviviridae	<i>Aedes</i> , <i>Psorophora</i> spp	Aves	América do Sul	18,19
Oeste do Nilo (WNF)	África	<i>Flavivirus</i>	Flaviviridae	<i>Culex</i> spp.	Aves, cavalos, outros mamíferos	África, Ásia, Europa, Oceania, América	20,21
Oropouche (OROV)	América do Sul	<i>Orthobunyavirus</i>	Bunyaviridae	<i>Coquillettidia</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Culicoides</i> spp.	Aves, Primatas	América Central, América do Sul	22,23

***Gênero que pertence à família Ceratopogonidae (Diptera).**

¹(Gubler, 1996); ²(Volk *et al.* 2010); ³(Powers *et al.* 2000); ⁴(Tesh *et al.* 1999); ⁵(de Thois *et al.* 2003); ⁶(McLean *et al.* 1985); ⁷(Del Piero *et al.* 2001); ⁸(Shope, *et al.* 1964); ⁹(Vasconcelos *et al.* 1991); ¹⁰(Rosen, *et al.* 1985); ¹¹(Mattingly, 1967); ¹²(Lambrechts, *et al.* 2010); ¹³(Dick *et al.* 1952); ¹⁴(Simpson, 1964); ¹⁵(McCrae & Kirga, 1982); ¹⁶(Evans *et al.* 2015); ¹⁷(Kotsakiozi *et al.* 2018); ¹⁸(Acha & Szyfres, B 2003); ¹⁹(Straatman *et al.* 1997); ²⁰(Traore-Lamizana *et al.* 1994); ²¹(Fall *et al.* 2014); ²²(Anderson *et al.* 1961); ²³(Vasconcelos *et al.* 2011).

4.4.1 Dengue Vírus (DENV)

O Dengue vírus (DENV) é um arbovírus da família Flaviviridae gênero *Flavivirus*, com quatro sorotipos (DENV1-4) com características genéticas diferentes, onde cada um dos sorotipos desenvolve uma resposta única na célula hospedeira (Linbenbach & Rice, 2003). O DENV evidencia-se como o principal arbovírus com mais de 100 milhões de infecções de pessoas por ano (Weaver & Vasilakis, 2013). Amplamente distribuído ao redor do mundo, e com maior presença em países tropicais e subtropicais, o DENV é reconhecido como agente causador da Dengue (quadro febril), e das complicações tais como dengue com sinais de alarme (decrescimento da febre, dor abdominal e/ou vômito contínuo, hemorragias) e das complicações súbitas como dengue grave com sintomatologia mais agressivas como: Choque, Sangramento crítico e danos em órgãos vitais (Brasil, 2019a).

As epidemias por DENV surgem na convergência de fatores como: acréscimo na abundância vetorial, a falta de imunidade de pessoas com algum dos sorotipos e a circulação ativa do DENV numa região (Lambrechts, *et al.* 2010). Dados atuais apresentam que a metade da população do mundo encontra-se em risco de se infectar (WHO, 2019). Em 2010, foram estimados um total de 96 milhões de casos por DENV no mundo sendo que nas Américas um total de 13 milhões (14%) foram reportados; países como o Brasil e o México concentraram quase a metade dos casos com algum dos sorotipos de Dengue (Bhatt *et al.* 2013).

O genoma do DENV contém 11.000 pares de base, constituídos em uma fita de RNA com um tamanho de 11 Kb com polaridade positiva. Apresentando uma única sequência de leitura aberta que recuam e codificam as proteínas virais mantendo duas regiões não codificantes (3'UTR e 5'UTR), relevantes na regulação e expressão do vírus. O genoma viral encripta três proteínas estruturais: cápside (C), Envelope (E) e de Membrana (prM). Os vírus imaturos compreendem uma proteína precursora (de membrana) conhecida como prM. São sete proteínas não estruturais com ações na expressão e regulação do vírus, assim como na replicação,

virulência e patogenicidade, agrupando-se em: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (Acosta-Bass & Gómez-Cordeiro, 2005).

Na infecção com algum dos sorotipos do DENV a pessoa desenvolve uma proteção imunológica específica, porém, esta proteção não é igual contra infecções secundárias causadas com sorotipos diferentes na pessoa (Bhatt *et al.* 2013). Quadros por Dengue grave acontecem por infecções secundárias: hipóteses apontam que cada um dos sorotipos do DENV pode ser mais virulento que outros (Sorotipo 2), desencadeando epidemias severas ao longo do tempo (Weaver & Vasilakis, 2013). Nos ecossistemas florestais o DENV é mantido por ciclos restritos com uma gama de hospedeiros vertebrados. (Linbenbach & Rice, 2003). O ciclo de transmissão de DENV apresenta dois cenários:

1) O ciclo DENV (quatro sorotipos) endêmico em humanos, que atuam como hospedeiro (amplificador) e como vetor *Ae. aegypti* (urbano) (Linbenbach & Rice, 2003). Outras espécies de *Aedes* spp. poderiam atuar como vetores secundários em países do Velho Mundo. (Gubler & Clarck, 1995).

2) O ciclo enzoótico (Silvestre) com restrição preferentemente em primatas não-humanos do Velho Mundo, que atuam como hospedeiros amplificadores e reservatórios do DENV. Espécies arbóreas de *Aedes*, principalmente *Ae. africanus*, *Ae. furcifer* e *Ae. taylori* participam como vetores dentro do ciclo silvestre (Linbenbach & Rice, 2003). Por outro lado, o ciclo silvestre pode-se espalhar a outras zonas florestais, zonas de amortecimento biológico que pelo desmatamento florestal pode permitir um primeiro contato com humanos (Weaver & Vasilakis, 2013).

Os quatro sorotipos de DENV apresentam homologia no genoma, dados no sequenciamento genético (na ligação E/NS1) confirmaram apenas uma divergência de seis por cento nas sequências nucleotídicas entre os quatro sorotipos. Entre os quatro sorotipos de DENV é possível encontrar genótipos que são representados por linhagens geográficas amplamente distribuídos pelo mundo (Linbenbach & Rice, 2003).

A partir do ano 2014 o Sistema de Saúde no Brasil estabeleceu o uso da nova classificação empregada pela OMS para os casos de Dengue, hierarquizados como: Dengue, Dengue grave (DG) e Dengue com sinais de alarme (DSA) respectivamente (Brasil, 2015). Durante o ano de 2015 (SE 52), o Brasil registrou um total de 1.649.008 casos notificados de Dengue, entre eles 1.569 foram confirmados como DG, 20.329 DSA e 863 óbitos; 62% dos casos aconteceram nos municípios da região Sudeste (Brasil, 2016). No mesmo período no ano 2014 (SE 53), foram notificados 591.080 casos prováveis, entre eles 689 casos de DG, 8.150 casos classificados como DSA e 410 óbitos (Brasil, 2015).

A curva epidemiológica de casos de Dengue começa a partir do mês de novembro, com maior incidência de casos no decorrer do mês de abril (229,7 casos/100 mil hab.), e entre os meses de maio e outubro acontece a diminuição dos casos (Brasil, 2016). Em 2016 foram registrados (até SE 52) 1.500.535 casos prováveis por Dengue, entre os quais 861 pertenciam a DG, 8.402 casos de DSA (Brasil, 2017) e 701 óbitos registrados; no período de 2015-2017 os municípios da região Sudeste albergaram mais de 50% dos casos de Dengue no território brasileiro (Brasil, 2018). No ano de 2017, ocorreram 252.054 possíveis casos de Dengue, entre eles 271 casos categorizados como DG assim como 2.590 casos de DSA (Brasil, 2019), contabilizando 185 óbitos no final do período (Brasil, 2018).

No entanto, no ano de 2018, foram reportados (SE 52) 265.934 casos prováveis de Dengue, entre eles 321 casos de DG e 3.616 casos de DSA com 155 óbitos no período (Brasil, 2019). Para o ano 2019 (SE 52), foram estimados um total de 1.544.987 casos por Dengue, entre eles 1.419 de DG foram confirmados, assim como 18.740 de DSA contabilizando 782 óbitos no país (Brasil, 2020). Até o momento no ano 2020 (SE 14), foram reportados 525.381 casos suspeitos, entre eles um total de 381 casos de DG assim como 4.443 de DSA contabilizando 181 óbitos no território brasileiro (Brasil, 2020b).

4.4.2 Zika Vírus (ZIKV)

O Zika vírus (ZIKV), que pertence ao gênero *Flavivirus* um dos três gêneros da família Flaviviridae (*Flavivirus*, *Hepacivirus* e *Pestivirus*). É um fragmento de RNA simples de tamanho 10,7 Kb que codifica a 3,419 aminoácidos. O vírus apresenta uma forma esférica com aproximadamente 40-50 nm de diâmetro. O genoma viral codifica para três proteínas estruturais que são o capsídeo (C), de membrana (prM) e envelope (E); assim como sete proteínas não estruturais conhecidas como: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (Lindenbach & Rice, 2003).

Foi isolado primeiramente em abril de 1947, na Uganda (África) na floresta denominada de Zika. De fato, a partir do programa de monitoramento da febre amarela mediante macacos sentinelas nessa região, originou a possibilidade de identificar o reservatório; dando positivo em soro sanguíneo proveniente de um macaco do gênero *Rhesus* spp. (Dick *et al.* 1952).

Estudos abordaram a possibilidade que o ZIKV se dispersou em grande parte do território da África, mantido num ciclo silvestre entre espécies de macacos do gênero *Rhesus* e culicídeos *Aedes*, sendo os mais importantes *Aedes* (*Stegomyia*) *africanus* (Theobald, 1901), *Aedes* (*Stegomyia*) *luteocephalus* (Newstead, 1907), *Aedes* (*Diceromyia*) *furcifer* (Edwards, 1913), *Aedes* (*Diceromyia*) *taylori* (Edwards, 1936) (McCrae & Kirga, 1982). De fato, em janeiro de 1948, nove meses depois do isolamento do ZIKV em *Rhesus* spp. Nas proximidades da floresta da Uganda, foram coletados os primeiros Culicidae em campo naturalmente infectados, no caso a espécie identificada foi o *Ae. africanus* (Dick *et al.* 1952).

Para o ano 2007, Duffy e colaboradores em 2009, encontraram o primeiro surto fora da África e de Países próximos dentro da Ásia. Nas Ilhas de Yap, localizando-se ao Sul Oeste do Oceano Pacífico (a 1.820 km leste da república das Filipinas), dos 185 casos que foram suspeitos, 49 foram confirmados por RT-PCR e 59 ficaram como prováveis. O trabalho de Pesquisa Entomológica (coleta de estádios de imaturos de Culicidae, busca

ativa-aspiração dentro das casas) indicou que *Aedes (Stegomyia) hensilli* (Farner) 1945, foi à espécie mais abundante durante o estudo. Nenhum dos pools testados em Culicidae foi positivo para ZIKV.

No período 2013-2014 foi identificado o genótipo asiático do ZIKV como responsável pela epidemia que ocorreu nas Ilhas do Oceano do Pacífico Sul, Polinésia Francesa, Nova Caledônia, Ilhas Cook, e Taiti (Cao-Lormeau *et al.* 2014; Pyke *et al.* 2014; Waehre *et al.* 2014; Dupont-Rouzeyrol *et al.* 2015;).

O Brasil reportou a chegada de ZIKV (linhagem Asiática), no começo do ano de 2015 com o primeiro caso autóctone registrado na cidade de Natal, Rio Grande do Norte (Zanluca *et al.* 2015). Em meados de 2016, o país já registrava 30.000 casos por ZIKV sendo 93% dos casos detectados no estado da Bahia (Faria *et al.* 2017), e para o final de 2016 (SE 52) um total de 130.701 casos foram confirmados, entre eles 11.052 casos pertenceram ao grupo de recém-nascidos e gestantes, e um total de oito óbitos por febre causada pelo vírus Zika foram reportados no estado do Rio de Janeiro (4), Espírito Santo (2), Maranhão (1), Paraíba (1) (Brasil, 2017).

As possíveis hipóteses da entrada ao Brasil se baseiam em eventos ocorridos no ano 2014, a entrada de turistas para a Copa do Mundo que ocorreu no período de junho-julho 2014 e o "campeonato de canoagem de 2014" na cidade do Rio de Janeiro no período de 12 a 17 de agosto 2014. Com o avanço no sequenciamento de pares de bases (Next Generation Sequencing-Molecular Clock) foi possível estimar que entre os meses junho-julho de 2013 o ZIKV teria chegado em território Brasileiro mediante a movimentação de pessoas infectadas da Polinésia Francesa (Faria *et al.* 2016). Dados do Centro de Prevenção e Controle de doenças (CDC) estimou que no ano de 2016 ocorreram aproximadamente um milhão de casos suspeitos no Brasil. A gravidade da situação, foi exponencialmente ampliada com a ocorrência de casos de ZIKV por transmissão vertical da Mãe-feto, determinando casos de microcefalia em recém-nascidos e Síndrome de Guillain Barré (WHO, 2018).

Países do Caribe e América Central começaram a apontar a ocorrência de casos de ZIKV, principalmente em Porto Rico. Com auxílio de análises filogenéticas e de sequência genômica foram identificadas duas linhagens (africana e asiática), de um sorotipo ZIKV. Porém, um novo estudo busca reconstruir as rotas das Arboviroses (ZIKV, DENV e CHIKV,) que ressurgiram nos últimos 50 anos no mundo. Através de estudos filogenéticos e análises de sequências genômicas de regiões conservadas reconstruíram a dinâmica evolutiva, demonstrando que os três arbovírus mantêm coincidência na forma de chegada às Américas (Campos *et al.* 2018).

O estudo indica que a chegada e dispersão dos três arbovírus estudados, compartilhavam a mesma rota de entrada na América: América Central-Região do Caribe, distribuindo-se para América do Sul e do Norte. As regiões conservadas das amostras analisadas colocam os genótipos asiático (ZIKV e CHIK, DENV-1-2-3), como as primeiras linhagens de rota de entrada (Campos *et al.* 2018).

4.4.3 Chikungunya Vírus (CHIKV)

O vírus Chikungunya (CHIKV), é um arbovírus que pertence ao gênero *Alphavirus* família *Togaviridae*, reconhecido como o agente etiológico da doença febre Chikungunya (Weaver, 2014). A palavra "*Chikungunya*" na língua makonde (Tanzânia), faz referência de "*aqueles que se dobram de dor*" (Ross, 1956). A estrutura genômica do CHIKV, compreende uma fita simples de RNA de polaridade positiva, com aproximadamente 11,8 Kb, que codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1-nsP4), de importância na replicação viral assim como três proteínas estruturais: Capsídeo (C), E1 e E2 (Griffin, 2007).

O CHIKV apresenta moléculas virais esféricas pequenas de aproximadamente 45 a 70 nm de diâmetro (Griffin, 2007). O nucleocapsídeo do tipo icosaédrico envolto por um envelope viral, onde encontram-se as glicoproteínas E1 e E2, interagindo com a proteína C; a proteína E1 junto com a E2 se encontram expostas na superfície do vírion formando um

receptor na superfície do vírus, com o objetivo de ligar-se nos receptores da superfície da célula hospedeira (Weaver, 2014). A proteína E2 participa no reconhecimento celular e na introdução viral. As proteínas nsP1-nsP4 se relacionam com a inibição da transcrição da célula hospedeira e na replicação das novas moléculas de RNA viral (Garmashova *et al.* 2007; Chen *et al.* 2013).

O período de incubação é de três a sete dias. Durante as primeiras 72 horas o número de cópias do RNA genômico aumenta subitamente, até 10⁹ de RNA viral por mililitro de sangue (Thiberville *et al.* 2013). A febre por Chikungunya na fase aguda apresenta sintomas como: febre, petéquias e dor generalizada nas articulações e ossos. A febre súbita coincide com aumento de cópias virais nas células do sangue (Schilte *et al.* 2013). Os sintomas desaparecem uma semana depois da infecção, quando a carga viral diminui e o sistema imunológico começa a produzir imunoglobulinas do tipo M (IgM) até desaparecer a doença (Staikowsky *et al.* 2009, Thiberville *et al.* 2013).

Originalmente na África (região Subsaariana), este vírus se mantinha através de ciclos silvestre entre mosquitos arbóreos do gênero *Aedes* (*Diceromyia*) *furcifer* (Edwards) 1913, *Aedes* (*Diceromyia*) *taylori* (Edwards) 1936, e *Aedes* (*Stegomyia*) *africanus* (Theobald) 1901; e primatas não humanos, atuando como hospedeiros (Powers *et al.* 2000). A transição de um ciclo silvestre/enzoótico a um ciclo urbano se deu pela presença de espécies de Culicidae com hábitos antropofílico, entre elas *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Volk *et al.* 2010). Este vírus foi primeiramente isolado num surto nos anos de 1952-1953 na Tanzânia (Sul-Leste da África) (Robinson, 1955). Entre 60-80% da população apresentava anticorpos anti-Chikungunya depois de três semanas do início do surto (Mason & Haddow, 1957).

O primeiro caso importado de CHIKV (linhagem Asiática) ocorreu no México em 2014 a partir da notificação de um caso no estado de Jalisco (região Norte-Oeste do México); de uma pessoa que havia viajado para as ilhas do Caribe (Ilha Antiga e Barbuda) (Rivera-Ávila, 2014). Casos

autóctones começaram a aparecer na região Sudeste do México, no estado do Chiapas; importante região de fronteira com a América Central (Guatemala). Foi confirmado o *Ae. aegypti* como vetor na transmissão do CHIKV Asiática (Díaz-González *et al.* 2015).

Em setembro 2014, apareceu o primeiro caso autóctone de febre Chikungunya no Brasil que foi registrado no Oiapoque, no estado do Amapá, com identificação do genótipo asiático (Nunes *et al.* 2015). Ainda em 2014 em Salvador no estado da Bahia, apareceu o primeiro surto com 107 casos suspeitos, dos quais 97 foram confirmados como febre Chikungunya. Quatro casos foram classificados como importados e os casos autóctones possivelmente de Feira de Santana e de Riachão do Jacuípe (na Bahia) foram os sítios prováveis de infecção, *Ae. aegypti* foi o vetor incriminado na transmissão (CIEVSSA, 2015). Ao contrário de outros países da América aonde os casos de CHIKV foram identificados com o genótipo asiático, na Bahia o responsável foi o genótipo Leste/Centro/África do Sul (ECSA) (Teixeira *et al.* 2015).

Para o final do ano 2015 (SE 52), o Brasil contabilizou 20.661 casos suspeitos de febre por CHIKV (Brasil, 2016); ressaltando que deles 17.971 casos foram confirmados e 14 óbitos registrados nos estados da Bahia (5), Sergipe (2), e Pernambuco (7); assim no ano de 2016 (SE 52), o país registrou 151.318 casos confirmados por febre Chikungunya e um total de 196 óbitos com uma média de idade (62 anos) dos óbitos por CHIKV (Brasil, 2017).

4.5 Transmissão vertical como via de circulação de arbovírus

No caso dos culicídeos vetores, os dois principais tipos de transmissão de arbovirus são: a transmissão vertical e horizontal (Higgs & Beaty 2004). A primeira acontece no momento que o patógeno é transmitido de uma fêmea infectada para os descendentes, através de duas vias: transovariana (o vírus se armazena no ovo) ou transovo (o vírus se localiza na superfície do ovo) (Lambrechts & Scott, 2009; Lequime *et al.* 2016).

A transmissão vertical do tipo transovariana ocorre quando o vírus invade o embrião. O mesmo cenário (de infecção) pode acontecer no momento que a fêmea ovipõe os ovos em áreas com criadouros, nesse caso o vírus é transferido para dentro dos ovos a partir da micrópila (abertura do ovo) no momento que os ovos ultrapassam o oviduto (Lequime *et al.* 2016).

Da mesma forma, na transmissão horizontal, uma fêmea de mosquito (não infectada) adquire o vírus de um hospedeiro infectado no momento da alimentação. Outra via de transmissão horizontal é a venérea, através de machos que estão infectados e transmitem o vírus para a fêmea mediante fluídos seminais infectados (Lambrechts & Scott, 2009).

Em Países subtropicais, a transmissão vertical é considerada um mecanismo de manutenção e circulação viral, no caso dos arbovírus que infectam aos mosquitos, estes conseguem-se manter na natureza mudando do hospedeiro no momento que uma fêmea se alimenta de uma fonte sanguínea com presença arboviral (Rosen, 1987). No entanto, o sangue ingerido favorece o desenvolvimento do ciclo gonotrófico assim como maturação dos ovos, revestindo de sangue aos oocitos (oogénese) possibilitando que a progénie mantenha-se infectada (Sánchez-Vargas *et al.* 2018).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

A detecção de atividade dos vetores *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foi levada a termo no município de Paranaguá, cidade de relevância econômica para o Estado do Paraná e palco nos anos de 2015 e 2016 (SE 31-30) de severa epidemia de dengue contabilizando 15.779 casos confirmados (241 importados e 15.538 casos autóctones) e 19.782 notificados com registro de 29 óbitos (Paraná, 2016b). O município de Paranaguá que em guarani significa “*Paranã*” - seio de mar e “*guá*” - baía, enseada, golfo, foi fundado em 29 de julho de 1648, sendo considerada a cidade mais antiga do estado do Paraná e a primeira do litoral Paranaense (Ferreira, 2006; IBGE, 2019).

O município de Paranaguá está localizado na região sul do Brasil território Sudeste do estado do Paraná com coordenadas geográficas: 25° 31' 12" Latitude Sul e 48° 30' 33" Longitude Oeste e dista 91 km da cidade de Curitiba, capital do estado assim como a uma distancia de 84 km do aeroporto mais próximo localizado no município de São José dos Pinhais (Figura 5) (Paranaguá, 2011). Tem uma extensão de 827,3 km² e 153.666 habitantes com uma densidade demográfica de 169,92 hab/km² (IBGE, 2018).

Dentro da área habitada do município, aproximadamente 94% dos imóveis se encontram definidos em área urbana, um 6% se encontram em área rural e um total de 86% dos imóveis contam com serviço básico de esgoto e captação de água potável (IPARDES, 2019), além disso, 98% dos imóveis possuem serviços de coleta de resíduos municipal (Paranaguá, 2018). No entanto, áreas irregulares se localizam na área urbana, mantendo baixa cobertura de serviços como por exemplo saneamento básico e um sistema de esgoto (Paranaguá, 2011) (ANEXO 2).

A planície litorânea Paranaense compreende sete municípios: Antonina, Matinhos, Morretes, Paranaguá, Pontal do Paraná, Guaraqueçaba

e Guaratuba. Paranaguá apresenta uma altitude média de cinco metros sobre o nível do mar com elevações que transcendem até os 1.000 m. A extensão da Serra do Mar influi nas características climáticas do litoral Paranaense (Vanonhi & Mendonça, 2008).

A maior parte do território de Paranaguá é constituído por planície aluvial de origem marinha além de apresentar recursos hídricos destacando-se a Bahia de Paranaguá, os rios Itiberê e Guaraguaçu (UFPR, 2007). A vegetação predominante é floresta ombrófila densa, que inclui dunas, restingas e manguezais (Bonaldi & Hasse, 2016). No município estão inseridas quatro unidades de conservação: Floresta Estadual do Palmito com uma superfície de 540 hectares de vegetação nativa localizado no Km 4,3 na beira da PR 407 (IAP, 2019), Parque Estadual da Ilha do Mel, Estação Ecológica da Ilha do Mel e a Estação Ecológica do Guaraguaçu. A Floresta Estadual do Palmito mantém contato com a parte rural da cidade de Paranaguá (UFPR, 2007).

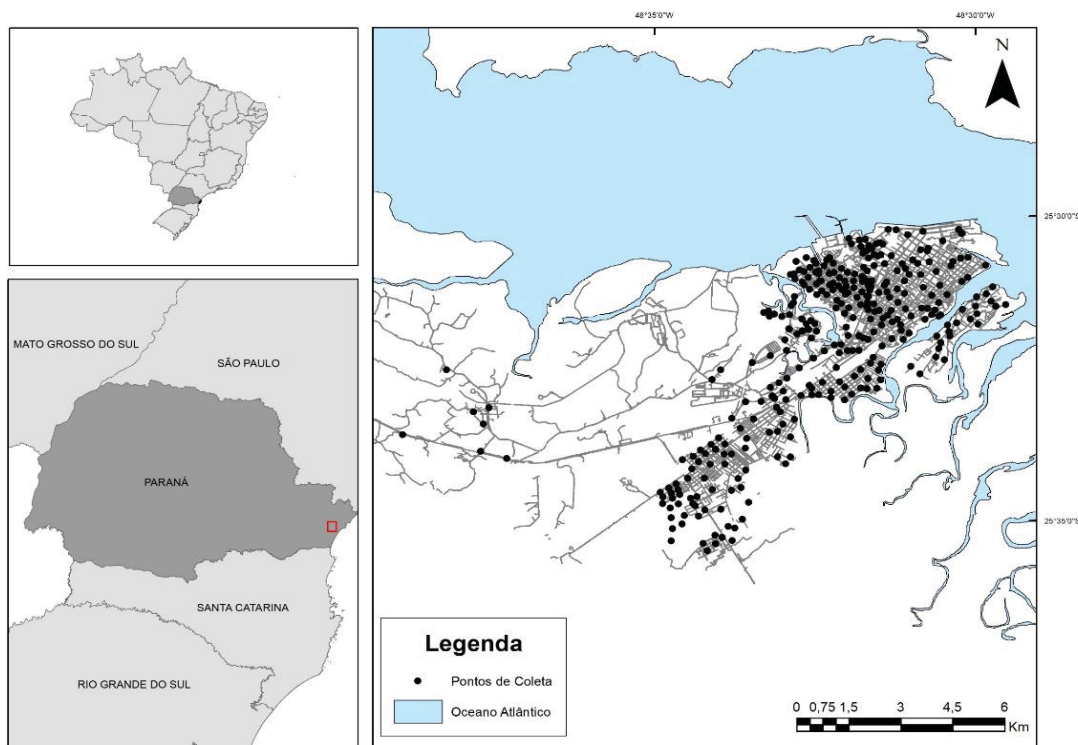


Figura 5. Localização geográfica do município de Paranaguá (área urbana e rural) na planície litorânea do Paraná. Arquivo LAMFIC²

No município de Paranaguá está instalado o Porto de Paranaguá inaugurado no dia 17 e março de 1935, nos registros o primeiro navio em atracar foi o Almirante Saldanha, da Marinha do Brasil (APPA, 2017). Com uma extensão de 171.500 m², o porto de Paranaguá é reconhecido como o maior porto graneleiro da América Latina, com embarque e desembarque de diversos produtos como: soja, milho, farelo, algodão, além de produtos químicos (Paranaguá, 2011). Com relação à economia da cidade, o setor de serviços corresponde por mais de 50% do Produto Interno Bruto municipal, seguido pela indústria, e pela agropecuária (Paranaguá, 2011).

O território de Paranaguá se encontra dentro da área de Mata Atlântica, apresenta uma altitude média de cinco metros sobre o nível do mar com elevações que transcendem até os 1.000 m. A localização e extensão da Serra do Mar tem influência nas características climáticas do litoral paranaense. A presença da Serra do Mar no relevo do litoral do Paraná é um fator fundamental na caracterização climática da região. A

Serra do Mar representa uma barreira orográfica para o avanço de massas de ar, e influencia diretamente na distribuição das precipitações (Silva *et al.* 2012). A dinâmica atmosférica em Paranaguá é controlada na maior parte do ano pelo anticiclone do Atlântico Sul, durante o inverno as massas polares são mais atuantes, enquanto que durante o verão a Massa Tropical Atlântica é mais atuante (Vanhoni & Mendoza, 2008).

De acordo com a classificação climática de Köppen, Paranaguá apresenta um clima Subtropical úmido–Mesotérmico (Cfa) predominante até os 700 metros de altitude na Serra do Mar, com média de temperatura no mês mais quente superior a 22°C, e no mês mais frio inferior a 18°C. Existe uma tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, porém sem estação seca definida (Vanhoni & Mendoza, 2008).

Em termos gerais, os meses mais quentes são dezembro, janeiro e fevereiro (verão), e os meses mais frios são junho, julho e agosto (inverno). Dados históricos dos últimos 33 anos mostraram uma média de temperatura de 21,4°C, com a menor média em 1987 (20,8 °C) e as maiores médias em 2014 e 2015 (22,5°C), representando uma variação de 1,7°C. As médias anuais superiores a 22°C ocorreram a partir de 2012, indicando uma possível tendência no aumento de temperatura na cidade. O processo de urbanização pode ter elevado a média de temperatura na região (Vanhoni & Mendoza, 2008).

Na região Sul do Brasil, onde a média pluviométrica anual é de 2.130 mm. A ocorrência de um intenso fenômeno de “El Niño” em 1998, causou a maior média de pluviosidade (3.171 mm) dos últimos 50 anos. Enquanto que os eventos de “La Niña” influenciam na diminuição dos valores totais pluviométricos na região como em 1974, a menor média anual registrada (1.971 mm) (Penalba & Rivera, 2016).

Em Paranaguá, o período mais chuvoso ocorre nos meses de verão (38,9%), com destaque para janeiro, com média de 310,5 mm, e o menos chuvoso no período de inverno (13,2%), com destaque para o mês de agosto (77,1 mm) (De Melo *et al.* 2017). Nos meses de verão, períodos de aquecimento da superfície terrestre ocorrem com maior durabilidade,

causando maior evaporação e consequentemente aumentando a formação de nuvens, levando ao aumento da frequência e intensidade das chuvas. Enquanto que, nos meses de inverno a presença da Massa polar é intensa, diminuindo a possibilidade de chuvas (Silva *et al.* 2012).

As frentes frias possuem um papel importante na precipitação em Paranaguá durante todo o ano. A Serra do Mar acaba por se antepor ao movimento da frente fria, causando seu estacionamento que ocasiona períodos de tempestade. Destaca-se também no verão e primavera a influência da Massa Equatorial Continental, que carrega umidade originária da Floresta Amazônica, o que acaba contribuindo com a pluviosidade neste período (De Mello *et al.* 2017).

Além disso, durante todo o ano ocorre a influência da brisa marítima e da Alta Subtropical do Atlântico Sul (ASAS), que favorecem os ventos dos quadrantes leste, os quais carregam umidade do oceano para o continente.

Uma análise da frequência dos acumulados mensais de precipitação mostra que predominam as precipitações entre 100,1 mm e 200 mm (38, 2%). Essa classe de pluviosidade (100,1 – 200 mm) é mais frequente nos meses de outono e primavera, se estendendo até o mês de dezembro, enquanto que entre os meses de janeiro-março podem ser registradas chuvas de até 200 mm em apenas 48 h (De Mello *et al.* 2017).

A direção dos ventos é predominante do quadrante sul durante quase todos os meses do ano, e em todas as estações do ano com exceção nos meses de verão, que em média os ventos do quadrante leste são mais frequentes. Os ventos de leste também possuem maior frequência na primavera. A velocidade média dos ventos (metros por segundo) varia de 1,4 m/s em meses do inverno, tais como junho e julho, a 2,3 m/s na primavera, como por exemplo em novembro. As velocidades médias máximas também são maiores em meses do verão (De Mello *et al.* 2017).

5.2 Delineamento experimental

5.2.1 Delimitação dos estratos e método de detecção de atividade de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

O delineamento experimental para definição do número de armadilhas e sua distribuição na área urbana foi planejado em conjunto com os gestores da 1ª Regional da Secretaria de Saúde (SESA) e Secretaria Municipal de Saúde de Paranaguá. As atividades de campo igualmente foram executadas em parcerias as Secretaria de Saúde. Na delimitação dos estratos, número de armadilhas a serem instaladas e sua distribuição no espaço urbano foram utilizadas as recomendações do Ministério da Saúde (Brasil, 2002; Brasil, 2005; Brasil, 2009; Brasil, 2013). Também foram observadas informações do recenseamento demográfico e de domicílios do município de Paranaguá de acordo com informações do IBGE, 2018 e IPARDES, 2019.

O município de Paranaguá foi dividido em 16 estratos, determinados em função da presença de barreiras que inviabilizam o fluxo dos vetores alados como: grandes avenidas, rios e ferrovia entre outras estruturas urbanas de acordo com diretrizes do MS e Secretaria Estadual de Saúde do Paraná (Figura 6). Após a delimitação dos estratos foi estruturado a logística de distribuição das armadilhas de acordo com sentido do fluxo dos veículos com objetivo de alcançar economia de tempo e distância percorrida gerando ainda economia no consumo de combustível.

5.2.2 Armadilha de oviposição

Como método de detecção da atividade de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* no município de Paranaguá foi utilizado armadilha de oviposição, denominada como “ovitrampa”. A armadilha oferece vantagens como baixo custo, ocupação, sazonalidade (Gomes, 2002; de Resende *et al.* 2013), partindo da disposição de fêmeas ovipor assim como sensibilidade na determinação de presença e dispersão geográfica de fêmeas de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. a partir da contagem de ovos em cada ovitrampa instalada em campo. A armadilha de oviposição utilizada foi à proposta por Fay & Eliason em 1966, composta de um recipiente de cor preto com capacidade

para 900 mL, contendo 250 mL de água da torneira e na parte interior uma palheta de madeira do tipo Eucatex (Duratree) de 14 × 3 cm que funciona como substrato para oviposição, sendo presa verticalmente ao vaso com auxílio de um clipe (Figura 7).

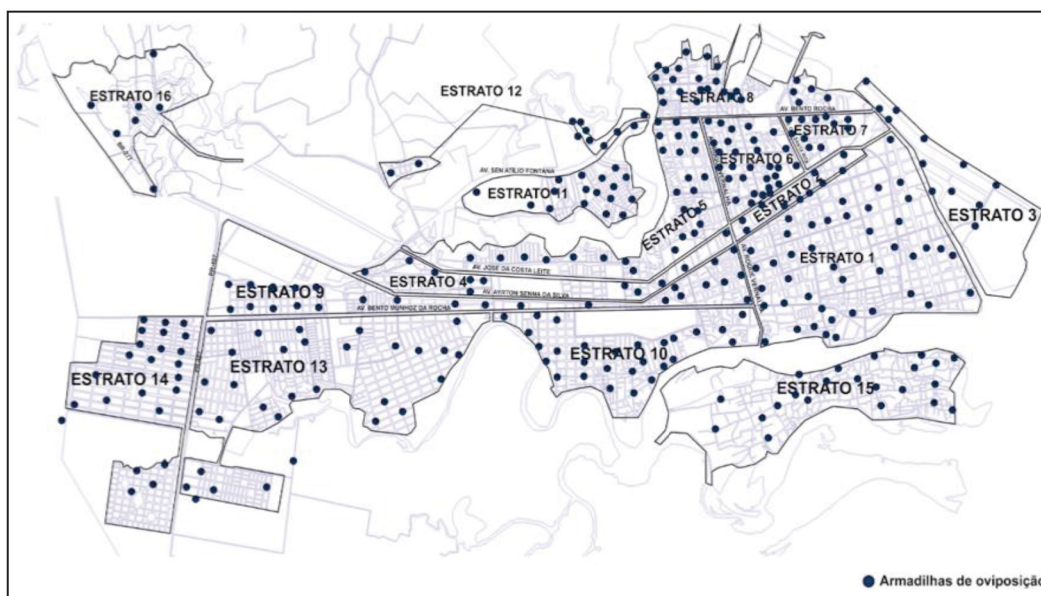


Figura 6. Estratificação por estratos do município de Paranaguá-PR. Em cada ponto (azul) representa a localização de cada uma das 331 ovitrampas instaladas. Arquivo LAMFIC².



Figura 7. Armadilha de oviposição (ovitrampa) utilizada na detecção da atividade adulta de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* no município de Paranaguá durante o período de junho de 2017 a novembro de 2018. Foto: arquivo LAMFIC².

Não foi acrescentado substância que tem por objetivo atrair fêmeas grávidas para armadilha de oviposição. Esta decisão levou em consideração a busca pela simplicidade operacional, redução de investimento na preparação ou aquisição de produtos que atuam como atraentes e reprodutibilidade das condições da armadilha no tempo. Em síntese o quantitativo de ovos observados pode ser comparável com levantamento de dados futuros e potencialmente com outras áreas urbanas que adotarem o igual procedimento.

As armadilhas para detecção de atividade de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foram instaladas no peridomicílio de imóveis, residenciais e instalações comerciais de caráter público e privado ao nível do solo (Serpa *et al.* 2013), previamente selecionados e que a entrada do imóvel contou com a permissão do proprietário o qual foi esclarecido da natureza, objetivo e período de execução do projeto de pesquisa. No momento da abordagem do responsável pelo imóvel foi realizada individualmente uma conscientização e explanação da importância e do funcionamento das armadilhas de oviposição para os moradores seguido da apresentação e assinatura de um documento no qual o morador autorizava à sua colocação (ANEXO 3).

Foram instaladas um total de 331 armadilhas de oviposição, na área urbana e rural, com distância aproximada entre as armadilhas de 200-300 m. O período de permanência das armadilhas nos imóveis foi de quatro dias consecutivos. Com isso, foram utilizados quatro dias no sentido de evitar a possibilidade das armadilhas se tornarem criadouros de imaturos de *Ae. aegypti* e ou *Ae. albopictus*. O total de armadilhas instaladas foi superior ao preconizado pelos manuais técnicos do MS (Brasil, 2009; Brasil, 2013; Brasil, 2015a), com o objetivo de ter uma maior representatividade espacial das áreas amostradas.

Durante todo o ciclo de avaliação foi priorizada a colocação da ovitrampa no mesmo endereço, com autorização prévia do proprietário do imóvel. Quando isto não foi possível a ovitrampa era instalada em um endereço próximo, do mesmo lado do quarteirão do ponto original. A

instalação das armadilhas ocorreu mensalmente durante o período de junho de 2017 e novembro de 2018, totalizando 14 meses de avaliação. A instalação e retirada das armadilhas foi desenvolvido em conjunto entre a UFPR, 1ª Regional da Secretaria de Saúde (SESA) e Secretaria Municipal de Saúde de Paranaguá. A tabela III apresenta o número de armadilhas instaladas em cada um dos 16 estratos.

Tabela III. Numeração consecutiva das armadilhas e número de armadilhas distribuídas em cada um dos estratos no município de Paranaguá-PR.

Estrato (n)	Número inicial	Número final	Número de armadilhas instaladas
1	1	42	42
2	43	53	11
3	54	65	12
4	66	76	11
5	77	102	26
6	103	131	29
7	132	142	11
8	143	167	25
9	168	192	25
10	193	219	27
11	220	237	18
12	238	247	10
13	248	278	31
14	279	302	24
15	303	324	22
16	325	331	7
Total			331

Após a permanência de quatro dias no campo as armadilhas foram recolhidas e imediatamente transportadas para o Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC²) no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná em Curitiba, onde foi realizada a contagem dos ovos e mantidos até a emergência da forma adulta.

O controle de instalação e retirada das armadilhas foi realizado mediante o uso de planilhas detalhando o endereço, local de instalação da

armadilha dentro da propriedade, coordenadas geográficas, data de instalação e responsáveis pela atividade dentro de cada estrato (ANEXO 4). A tabela IV apresenta as datas de instalação e retirada das ovitrampas durante os 14 meses de estudo. Durante o mês de maio de 2018 não foi possível continuar o trabalho de campo devido à greve dos Caminhoneiros que ocorreu entre 21 e 30 de maio nesse ano.

Tabela IV. Data de coletas com armadilha tipo ovitrampa durante o período junho-2017 a novembro-2018 e semana epidemiológica (SE) no município de Paranaguá-PR.

Coleta	*SE	Data de instalação	Data de retirada	Estação do ano
Ano	2017			
1	22-24	01 a 08 de junho	05 a 12 de junho	outono
2	27-29	06 a 13 de julho	10 a 17 de julho	inverno
3	31-32	03 a 07 de agosto	07 a 11 de agosto	inverno
4	35-36	01 a 02 de setembro	05 a 06 de setembro	inverno
5	40-41	05 a 06 de outubro	09 a 10 de outubro	primavera
6	45-46	09 a 10 de novembro	13 a 14 de novembro	primavera
7	49-50	07 a 08 de dezembro	11 a 12 de dezembro	primavera
Ano	2018			
8	03-04	18 a 19 de janeiro	22 a 23 de janeiro	verão
9	08-09	22 a 23 de fevereiro	26 a 27 de fevereiro	verão
10	11-12	15 a 16 de março	19 a 20 de março	verão
11	16-17	19 a 20 de abril	23 a 24 de abril	outono
12	23-24	08 a 09 de junho	11 a 12 de junho	outono
13	37-38	13 a 14 de setembro	17 a 18 de setembro	inverno
14	45-46	08 a 09 de novembro	12 a 13 de novembro	primavera

*SE= semana epidemiológica

5.3 Processamento e fase de laboratório

A tabela V sintetiza as atividades realizadas em cada etapa de análises dos ovos procedentes do município de Paranaguá no período de estudo.

Tabela V. Implementação das atividades dentro do LAMFIC² para o acompanhamento dos ovos coletados no município de Paranaguá-PR.

Chegada ao laboratório	Imersão dos ovos	Emergência de alados	Análise viral
- Contagem de Ovos utilizando estereoscópio. - Separação de palhetas por estrato. - Manutenção em sala de criação - Envio de relatório para os gestores da saúde.	- Colocação de água em copos. - Alimentação com ração triturada. - Disposição das armadilhas para emergência dos alados.	- Identificação dos adultos - Separação das espécies. -Acondicionamento em tubos de 1.5 mL - Armazenamento no freezer -75 °C.	- Extração de RNA total - Detecção de arbovírus - Envio de resultados para os gestores da saúde.

5.3.1 Triagem de armadilhas

As palhetas das armadilhas de oviposição foram mantidas no LAMFIC² em condições controladas de temperatura ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) até o momento de estimular a eclosão dos ovos quando submergidas em água.

5.3.2 Condições de eclosão das larvas

As palhetas contendo ovos foram mantidas em uma sala de criação em temperatura de $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo natural que variou em função do período do ano tendo no outono - inverno aproximadamente 11h de luz e durante a primavera - verão 14h luz.

As palhetas das armadilhas foram separadas por estratos e colocadas de maneira individual em copos de plástico de 700 mL contendo 500 mL de água corrente (figura 8) desclorada através de oxigenador. Cada copo foi provido com aproximadamente quatro gramas de ração triturada para alevinos. Depois de 72 horas foram retiradas as palhetas dos potes e foi realizada uma troca de 50% da água procurando manter as larvas que eclodissem ficassem dentro do copo. Novamente as palhetas foram introduzidas nos copos adicionando água desclorada até completar os 500 mL adicionando a mesma quantidade de ração proteica.

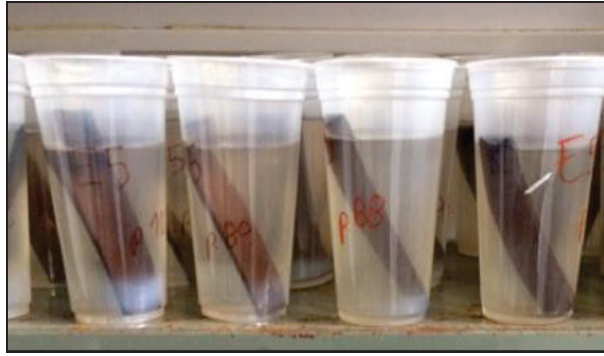


Figura 8. Palhetas tipo Eucatex (Duratree) submergidas dentro de copos de plástico com água e ração para a estimulação e desenvolvimento de ovos, separados individualmente e por estrato em Paranaguá-Pr. Foto: arquivo LAMFIC².

As palhetas retiradas dos potes foram lavadas com água corrente e com o auxílio de escova para depois serem secas em estufa. Após secagem, foi realizada uma inspeção na lupa para confirmar a inexistência de ovos na palheta e poder ser reutilizada na coleta seguinte. Para o controle e eficácia na logística, 48 horas antes de cada coleta mensal as palhetas foram novamente inspecionadas e separadas por estrato.

5.4 Criação e emergência dos adultos

Os copos que apresentavam pupas, eram acondicionados com uma armadilha de emergência para facilitar a retirada dos adultos. A armadilha de emergência apresenta um orifício lateral coberto com algodão, do mesmo diâmetro para a coleta de alados mediante o aspirador entomológico tipo Castro (Figura 9).



Figura 9. Armadilha de emergência retirando os alados com aspirador entomológico (modelo Castro) para sua identificação, processamento e armazenamento. Foto: Arquivo LAMFIC².

5.4.1 Identificação e armazenamento dos adultos

Os alados com um máximo de 48 horas de idade foram congelados vivos em nitrogênio líquido para sua pronta identificação. Os adultos identificados e sexados foram triados mediante pinças entomológicas e colocados em grupos de 25 indivíduos dentro de tubos tipo *ependorf* de 1,5 mL e rotulados com as seguintes informações: espécie, sexo, número de indivíduos, n° do estrato, n° da palheta, localidade e mês de coleta (figura 10). Os tubos *ependorf* foram separados e colocados dentro de caixas de papelão e armazenados no freezer a -75°C até sua utilização nas análises moleculares posteriores. Foram utilizadas as chaves de Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1998) para a identificação das espécies e separação dos machos e fêmeas.

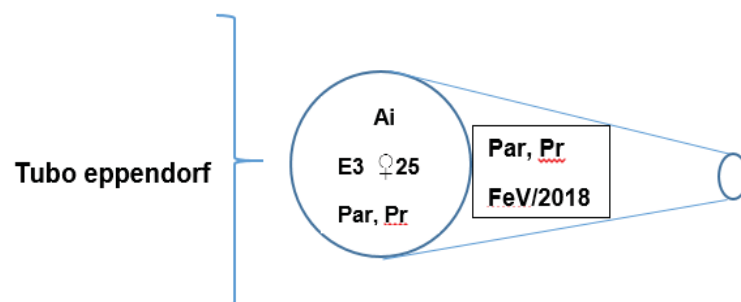


Figura 10. Esquema de rotulagem de cada tubo *eppendorf* para armazenamento e identificação dos adultos criados a partir de coletas de ovos com ovitrampa.

A simbologia de trabalho utilizada para a identificação dos tubos foi a seguinte:

Espécie

<i>Aedes aegypti</i> :	Ai
<i>Aedes albopictus</i> :	As
Outra espécie:	?

Número do estrato

Estrato 1:	E1
Estrato 2:	E2
Estrato 16:	E16

Gênero

Macho	♂
Fêmea	♀

Localidade

Paranaguá, Paraná	Par, Pr
-------------------	---------

Data

Janeiro	jan
Fevereiro	fev

5.5 Extração do RNA viral e detecção dos arbovírus mediante PCR em tempo real (RT-PCR)

Os ácidos nucleicos foram extraídos das fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* formando grupos contendo de 25 a 50 fêmeas de cada espécie em cada tubo *eppendorf*. As fêmeas de cada tubo foram maceradas em 140 µL de tampão-fosfato salino (PBS) com ajuda de um pistilo. O RNA viral foi extraído utilizando o kit *QIAamp Viral RNA mini kit* (Qiagen®)

seguindo as recomendações do fabricante. O RNA foi eluído da membrana num volume final de 40 µL e posteriormente quantificado utilizando o nanodrop. O RNA foi armazenado em freezer a -75°C até a determinação da presença dos arbovírus. O tubo foi etiquetado com a espécie, número de indivíduos, estrato e número da armadilha, cidade e data.

A detecção dos arbovírus da Dengue, Zika e Chikungunya foi realizada utilizando uma sonda multiplex do kit qPCR/TaqMan technology (XG-ZDC-MB, Biometrix-Mobius®, registro ANVISA: 80502070063) seguindo as recomendações do fabricante em PCR em tempo real usando um termociclador Rotor-Gene Q (Qiagen®). Foram empregados 15 µL de RNA viral para a determinação da presença de cada arbovírus. A detecção das amostras positivas para DENV foi realizada a 520 nm usando o fluoróforo FAM, para ZIKV e CHIKV foi usado o comprimento de onda de 550 nm e os fluoróforos JOE e VIC. Cada leitura incluiu um controle interno, analisado a 670 nm utilizando o fluoróforo CYS5. O controle interno tem o objetivo de 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 e um controle negativo.

Os resultados foram avaliados comparando a amplificação de cada amostra (presença-ausência) com a curva do controle positivo para cada arbovírus.

5.6 Apresentação dos resultados para as entidades públicas.

Resultados como número total de ovos avaliados, quantidade de armadilhas positivas, negativas e perdidas foram compilados em planilhas que posteriormente digitalizadas. Esses dados foram utilizados para estimar os índices de positividade de ovos (IPO) e de densidade de ovos (IDO). As informações estratégicas como número de armadilhas positivas, densidade de ovos e sua distribuição espacial na área urbana foram obtidos nas primeiras 48h após a chegada das palhetas ao laboratório.

Todas as informações foram apresentadas em formato de relatórios mensais com as especificações do trabalho feito em campo, sendo enviados

para a direção da 1ª Regional de Saúde de Paranaguá e a prefeitura de Paranaguá em até 48 horas após a finalização da retirada das armadilhas de oviposição de cada mês. A hierarquia das atividades de campo e laboratório são apresentadas na figura 11.

Os resultados incluíam gráficos e mapas (de 90 X 120 cm) para a identificação de pontos críticos e áreas prioritárias para o direcionamento da implementação de atividades de prevenção. Os mapas foram representados a partir dos resultados das Ovitampas positivas, e tomando em consideração que uma fêmea com pelo menos um repasto sanguíneo coloca na média 60 ovos (Goindin *et al.* 2015; Day, 2016), mediante este dado foi possível gerar o seguinte código padrão: Aquelas armadilhas positivas com até 60 ovos foram marcadas de cor amarelo, e a partir de 61 ovos os pontos foram marcados em vermelho. Junto com os relatórios mensais também foram realizadas reuniões interinstitucionais para discussão dos resultados (Figura 12).

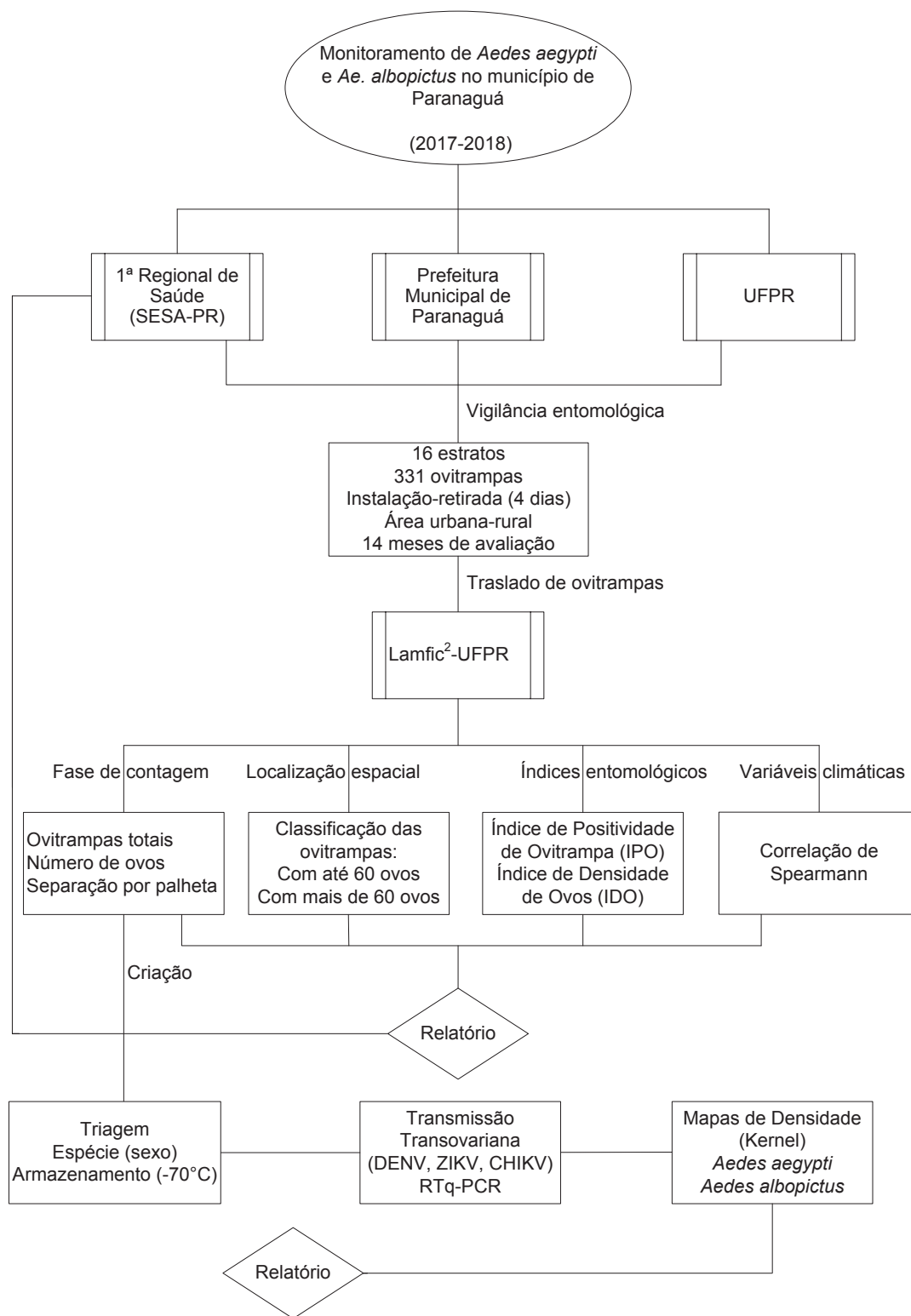


Figura 11. Fluxograma de atividades de monitoramento do *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* no município de Paranaguá-PR no período 2017-2018.

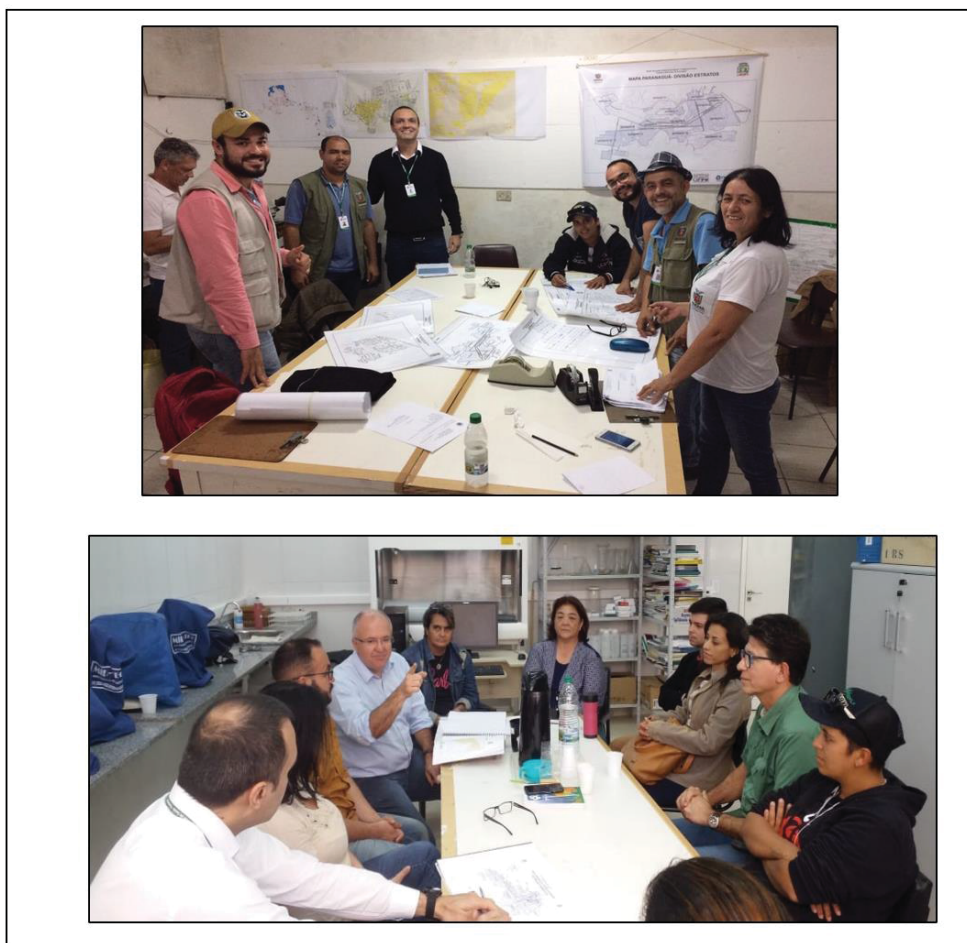


Figura 12. Reuniões com membros da SESA 1ª. RS Paranaguá, Prefeitura de Paranaguá-Saúde e LAMFIC²-UFPR para avaliação dos resultados durante o estudo no município de Paranaguá-PR.

5.7 Estimativa dos índices entomológicos de infestação.

O número de ovos presentes nas ovitrampas foram planilhados (mensalmente) e com esta informação foram estimados os índices estegômicos indicadores da presença e distribuição da atividade das fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Os índices entomológicos revelaram um panorama na detecção de novas infestações em áreas de distribuição no município de Paranaguá (Gomes, 1998; Gomes, 2002), assim como indiretamente o comportamento de reprodução relacionado com o ciclo gonotrófico das fêmeas grávidas de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. (Goidin *et al.* 2015; Day, 2016).

Os índices utilizados foram os seguintes:

- **Índice de Positividade de Ovitampa (IPO):** *porcentagem de armadilha positiva*

$$IPO = \frac{\text{No de armadilhas positivas}}{\text{No de armadilhas examinadas}} \times 100$$

- **Índice de Densidade de Ovos (IDO):** *número médio de ovos por armadilha positiva*

$$IDO = \frac{\text{No de ovos}}{\text{No de armadilhas positivas}}$$

5.8 Análises das variáveis climáticas e abundância espaciotemporal

A relação da atividade das fêmeas medida pelo número de ovos presentes nas palhetas com a temperatura (°C), umidade relativa (%), precipitação acumulada (mm) e velocidade do vento (m/s) de 10, 20 e 30 dias antes da data de instalação das armadilhas em cada mês, foi determinada mediante os valores de correlação de *Spearman*. A obtenção dos dados climatológicos foi providenciada pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), estação meteorológica de Paranaguá localizada na Av. Bento Munhoz da Rocha Neto, 1653 – Paranaguá – Paraná nas coordenadas geográficas: (-25.53780 S; -48.52960 O) e 19 m de altitude, através da solicitação encaminhada no dia 21 de julho 2017.

A abundância espaciotemporal foi avaliada mediante a elaboração de mapas de Kernell que permitem identificar as áreas de maior concentração de número de ovos acumulados que também podem ser comparados por sazonalidade. Foram utilizadas seis classes para o agrupamento de número de ovos de cada mapa de Kernel.

O desenho dos mapas de distribuição espaço-temporal dos ovos de *Aedes (Stegomyia)* spp. assim como dos alados de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* emergidos, foi realizado a partir dos dados de georreferenciamento das armadilhas instaladas (GPS garmin modelo: eTrex Touch 25/35) relacionando cada armadilha com o número de ovos que

obteve durante cada coleta. Os dados de número de ovos foram analisados espacialmente mediante frequências no programa ArcGis versão 10.5 Sistema de coordenadas UTM DATUM WGS84 código do EPSG: 31982.

5.9 Simulação de cenários hipotéticos comparativos da atividade de fêmeas de *Aedes (Stegomyia) spp.*

Os resultados de IPO e IDO foram calculados para cada um dos estratos para comparar as diferentes áreas urbanas e rurais do município de Paranaguá. Uma vez obtido os resultados de cada Índice, de cada mês foram selecionados dez pontos de cada estrato (exceto estrato 16 que teve sete pontos) randomizando a seleção desses resultados para a construção dos Índices IPO e IDO.

5.10 Análises dos dados

A distribuição normal de cada uma das variáveis foi avaliada utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. No caso dos índices entomológicos, foi realizada uma análise de variância não paramétrica utilizando o teste de *Kruskal-Wallis* seguido das provas de comparação múltipla posteriores entre as medianas utilizando o teste de *Dunn*, sendo que os valores de p foram ajustados pelo método de Benjamini-Hochberg. Para as análises foi utilizado o programa R (v.3.0.1) (R Core Team, 2017) e os pacotes “*FSA*”, “*dunn.test*” e “*rcompanion*”.

A intensidade da relação entre as variáveis climáticas foi medida utilizando o coeficiente de correlação de *Spearman*. A influência da temperatura, velocidade do vento, precipitação acumulada, número de dias secos e umidade relativa e os índices entomológicos foi explicada através dos resultados obtidos na análise de correlação. Uma vez que as variáveis não apresentavam uma distribuição normal, foi utilizada a correlação de ordem de posto de *Spearman* (ρ), que substituem os dados originais por postos ordenados (*ranks*). As análises foram realizadas usando os pacotes “*Hmisc*”, “*corrplot*”, e “*PerformanceAnalytics*” do programa R. Em todas as análises foi considerada uma significância estatística de $p < 0.05$.

6 RESULTADOS

6.1 Triagem das armadilhas procedentes de campo

Em cada um dos meses de avaliação no município de Paranaguá foi planejado instalar 331 armadilhas do tipo ovitrampa, porém o número flutuou entre 327 (junho-2017) e 331; totalizando 4.626 ovitrampas nos 14 meses de avaliação (tabela VI). Destas, examinaram-se 4.578 que representam a porcentagem de recuperação de 98,8%. No mês de julho de 2017 foi observada a menor porcentagem de recuperação (96,9%), enquanto nas coletas de novembro de 2017 e setembro de 2018 foram recuperadas 100% das ovitrampas (Gráfico 1 – ANEXO 5). O alto índice de recuperação das ovitrampas foi atribuído à autogerência das equipes de trabalho em campo, o georreferenciamento das armadilhas assim como a otimização do deslocamento veicular planejado em cada estrato.

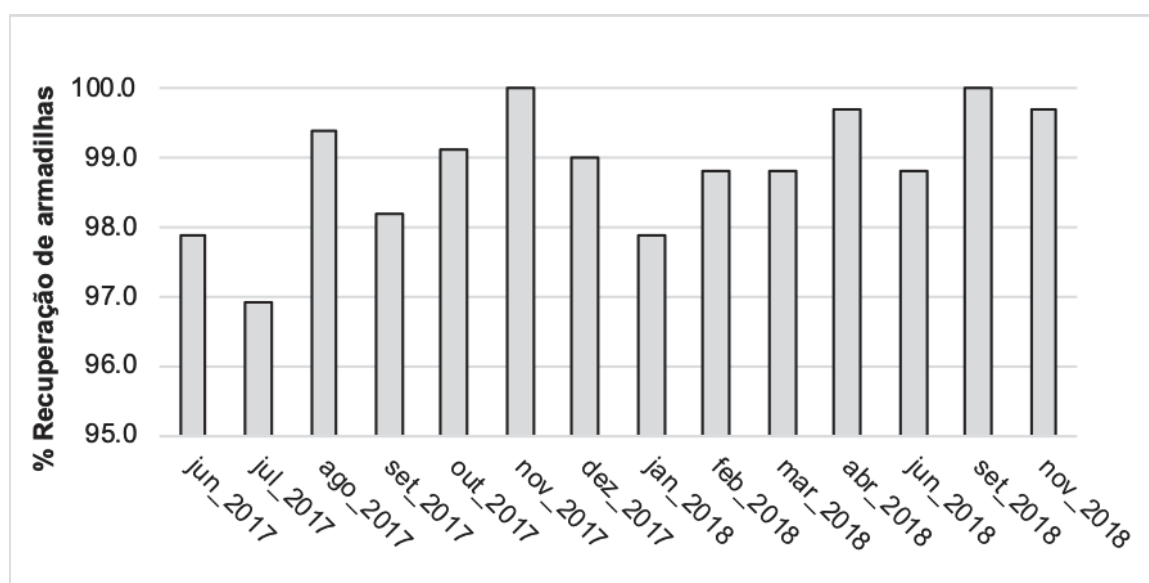


Gráfico 1. Porcentagem de recuperação de ovitrampas durante os 14 meses de coleta entre o período junho de 2017 e novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.

Tabela VI. Número de ovitrampas instaladas, número de ovitrampas examinadas, número de ovitrampas positivas e negativas para ovos de *Aedes (Stegomyia)* spp. e ovitrampas perdidas entre os meses de junho de 2017 e novembro 2018 no município de Paranaguá-PR.

Coleta (n)	Data	Ovitrampas instaladas	Ovitrampas examinadas	Ovitrampas positivas	Ovitrampas negativas	Ovitrampas perdidas
2017						
1	jun	327	324	95	229	3
2	jul	331	321	85	236	10
3	ago	331	329	76	253	2
4	set	329	323	44	279	6
5	out	331	328	52	276	3
6	nov	331	331	158	173	0
7	dez	330	327	193	134	3
2018						
8	jan	331	324	124	200	7
9	fev	331	327	185	142	4
10	mar	331	327	194	133	4
11	abr	331	330	175	155	1
12	jun	331	327	96	231	4
13	set	331	331	58	273	0
14	nov	330	329	127	202	1
Total		4.626	4.578	1.662	2.916	48

A porcentagem de ovitrampas positivas durante todo o período de avaliação foi de 36.3% que corresponde a 1.662 ovitrampas e a porcentagem de ovitrampas negativas foi de 63.7% que representa 2.916 ovitrampas (Tabela VI). Os meses com maior número de ovitrampas positivas foram dezembro de 2017 ($58,5\% \pm 6,3$) e março de 2018 ($58,6\% \pm 6,7$) (Gráfico 2) enquanto o mês com menor número de ovitrampas positivas foi setembro de 2017 ($13,6\% \pm 2,46$).

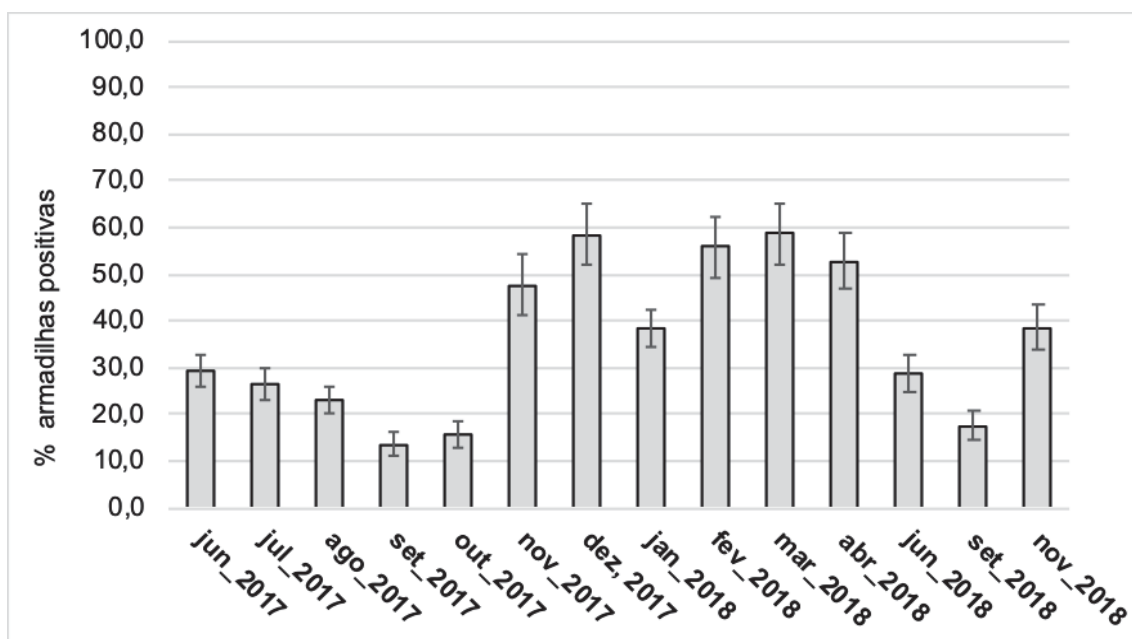


Gráfico 2. Porcentagem de ovitrampas positivas a ovos de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

6.2 Avaliação da atividade das fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* em função do número de ovos

Entre as 1.662 ovitrampas que resultaram positivas ao longo do estudo, a emergência de adultos de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. foi possível em 1.166 (70.1 %) ovitrampas, entre as quais 992 (85 %) pertenceram às espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, sendo que *Ae. aegypti* se manteve presente em 920 (92,7 %) e *Ae. albopictus* em 72 (7,3 %) ovitrampas, no entanto, ambas espécies foram encontradas em 174 (15 %) ovitrampas com emergência de adultos, indicando uma sobreposição espacial local naqueles pontos de coleta em que foram encontrados. Por outro lado, 496 ovitrampas positivas (29. 9 %) não apresentaram emergência de adultos (tabela VII).

O número total de ovos avaliados nos 14 meses foi 84.067. A maior quantidade de ovos de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. coletados foi observada no mês de dezembro de 2017, quando foram contabilizados 12.034 ovos. Já o menor número foi observado em outubro de 2017, sendo um total 1.978 ovos (Gráfico 3) podendo ser estimado um valor médio mensal de 6.005 ovos.

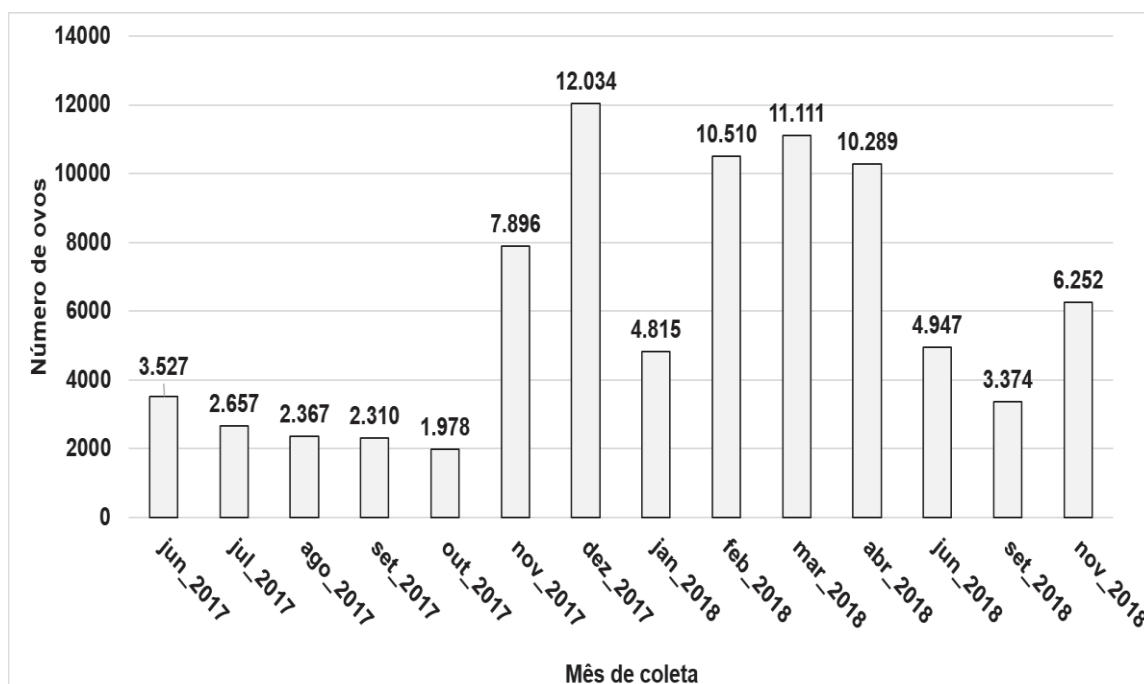


Gráfico 3. Número de ovos coletados com ovitrampa durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

Tabela VII. Número de ovitrampas viáveis, ovitrampas com presença de adultos de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e ovitrampas com ambas espécies durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

Coleta	Data	SE	Ovitrampas viáveis	Ovitrampas com <i>Ae. aegypti</i>	Ovitrampas com <i>Ae. albopictus</i>	Ovitrampas com ambas espécies
2017						
1	jun	22-24	30	27	1	2
2	jul	27-29	29	29	0	0
3	ago	31-32	27	27	0	0
4	set	35-36	32	28	2	2
5	out	40-41	50	43	6	1
6	nov	45-46	120	97	6	17
7	dez	49-50	176	133	10	33
2018						
8	jan	03-04	97	76	12	9
9	fev	08-09	146	118	10	18
10	mar	11-12	178	119	13	46
11	abr	16-17	156	114	5	37
12	jun	23-24	91	76	6	9
13	set	37-38	9	8	1	0
14	nov	45-46	25	25	0	0
Total			1.166	920	72	174

SE=semana epidemiológica.

A distribuição da frequência dos ovos presentes nas 331 armadilhas instaladas durante o todo o período de avaliação no município de Paranaguá mostrou que 47% das ovitrampas (153) tiveram entre 1 e 195 ovos; 30% das ovitrampas (94) apresentaram entre 196 e 390 ovos; 16% das ovitrampas (50) possuíam entre 391 e 585 ovos; 5% das ovitrampas (18) totalizaram de 586 a 780 ovos; e menos de 1% das ovitrampas (6) tiveram até 1.658 ovos em todo o período avaliado (Gráfico 4- ANEXO 10).

Da área amostrada, dez pontos de coleta não apresentaram positividade e/ou presença de ovos de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. durante os 14 meses de avaliação.

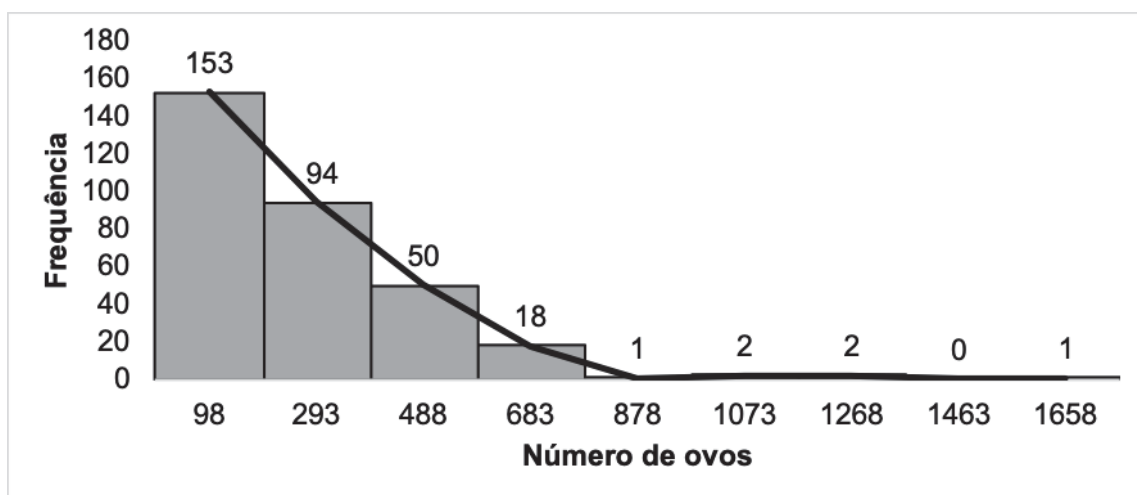


Gráfico 4. Distribuição da frequência acumulada de ovos no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

6.3 Emergência de adultos

A porcentagem de eclosão de larvas-alados variou entre 31 e 66%. Os meses de setembro, outubro, novembro e dezembro de 2017 e abril e junho de 2018 apresentaram valores maiores de 50%, enquanto os meses de setembro e novembro de 2018 uma porcentagem de eclosão menor que 5% (Gráfico 5); a colocação das palhetas para emergência de alados durante as coletas de junho-novembro de 2017 teve uma média de 16 dias, o material coletado nos meses de Dezembro de 2017, janeiro-abril e junho

de 2018 uma média de 56 dias e durante os meses de setembro e novembro de 2018 uma média de 176 dias para colocação da emergência do material coletado.

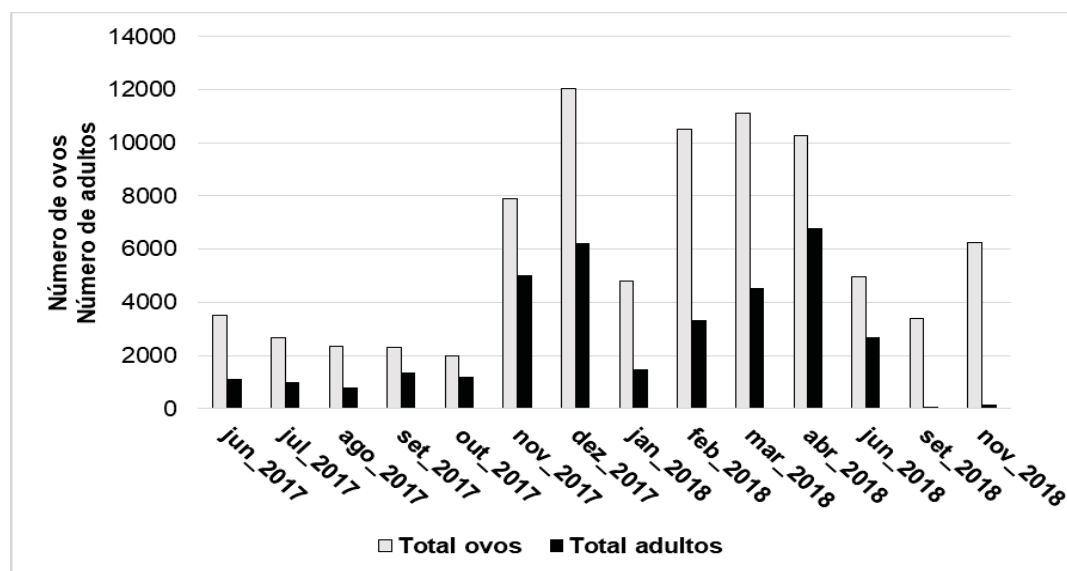


Gráfico 5. Número de ovos e total de adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* emergidos durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

Foram identificados 35.570 adultos, dos quais 89,8% eram *Aedes aegypti* representados por 31.943 alados (16.651 machos e 15.292 fêmeas) e 10,2% que correspondem a 3.627 alados identificados como *Ae. albopictus* (1.668 machos e 1.959 fêmeas). *Aedes aegypti* teve presença durante todos os meses avaliados, porém se manteve com maior abundância durante os meses de novembro, dezembro de 2017, março e abril de 2018 (Tabela VIII). *Aedes albopictus* teve maior presença nos meses de dezembro de 2017, março e abril de 2018, e não foi detectado durante os meses de julho e agosto de 2017 assim como em novembro de 2018.

A presença das duas espécies em cada um dos estratos variou ao longo do período de avaliação sendo notória a presença de uma maior quantidade de adultos de *Ae. aegypti* em áreas com maior número de imóveis, áreas com uma maior cobertura vegetal a quantidade de adultos de *Ae. albopictus* foi mais elevada (Figura 13), observado principalmente nos estratos 16 e 13, sendo este último distanciado a 200 metros da área do Parque Estadual do palmito-PR.

Tabela VIII. Número de alados emergidos e espécies de culicídeos identificadas durante 14 meses de coleta no período compreendido entre junho-2017 e novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

Coleta	Data	Ae. <i>aegypti</i> ♂	Ae. <i>aegypti</i> ♀	Total Ae. <i>aegypti</i>	Ae. <i>albopictus</i> ♂	Ae. <i>albopictus</i> ♀	Total Ae. <i>albopictus</i>	Total adultos
2017								
1	jun	553	486	1.039	40	39	79	1.118
2	jul	519	475	994	0	0	0	994
3	ago	409	370	779	0	0	0	779
4	set	650	602	1.252	45	43	88	1.340
5	out	571	530	1.101	32	41	73	1.174
6	nov	2.377	2.247	4.624	169	198	367	4.991
7	dez	2.727	2.626	5.353	376	499	875	6.228
2018								
8	jan	687	661	1.348	51	81	132	1.480
9	fev	1.600	1.417	3.017	127	174	301	3.318
10	mar	2.038	1.738	3.776	356	370	726	4.502
11	abr	3.104	2.819	5.923	421	426	847	6.770
12	jun	1.305	1.237	2.542	47	81	128	2.670
13	set	35	20	55	4	7	11	66
14	nov	76	64	140	0	0	0	140
Total		16.651	15.292	31.943	1.668	1.959	3.627	35.570

♂: macho, ♀: fêmea.

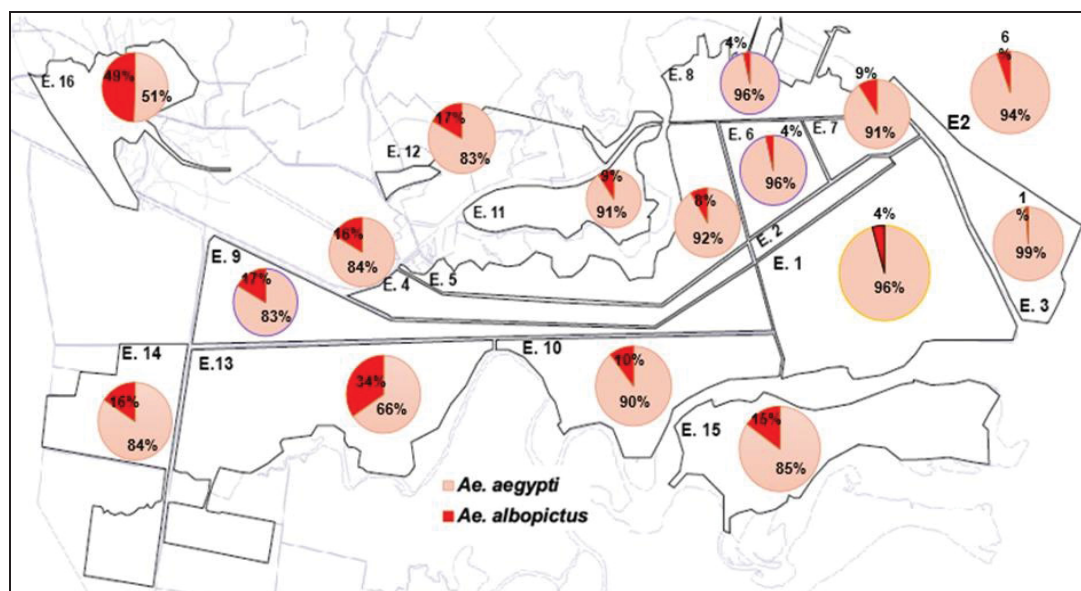


Figura 13. Porcentagem média da emergência de adultos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos 16 estratos durante 14 meses de coleta entre os meses junho de 2017 e novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR. E.1=Estrato 1; E.2 =Estrato 2; E.3=Estrato 3; E.4=Estrato 4; E.5=Estrato 5; E.6=Estrato 6; E.7=Estrato 7; E.8=Estrato 8; E.9=Estrato 9; E.10=Estrato 10; E.11=Estrato 11; E.12=Estrato 12; E.13=Estrato 13; E.14=Estrato 14; E.15=Estrato 15; E.16=Estrato 16.

6.4 Detecção da transmissão vertical dos arbovírus dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV) em fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*

Foram avaliadas 6.615 fêmeas de *Ae. aegypti* que representam 43,2 % das fêmeas emergidas e 1.402 fêmeas de *Ae. albopictus* que equivalem a 71,5 % das fêmeas emergidas. Para realizar a extração do RNA viral as fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* foram agrupadas em 196 e 91 *pools* respectivamente (Tabela IX).

Tabela IX. Número de *pools* e número de fêmeas por espécie avaliados para transmissão vertical de DENV, CHIKV, ZIKV através de RT-PCR durante 14 meses da cidade de Paranaguá-PR.

Coleta	Data	<i>Ae. aegypti</i> ♀	<i>Ae. albopictus</i> ♀	Total Fêmeas	Pools <i>Ae. aegypti</i> ♀	Pools <i>Ae. albopictus</i> ♀	Total <i>pools</i> ♀
2017							
1	jun	259	39	298	8	2	10
2	jul	232	0	232	5	0	5
3	ago	256	0	256	7	0	7
4	set	440	43	483	14	3	17
5	out	378	41	419	16	5	21
6	nov	295	120	415	13	9	22
7	dez	765	330	1.095	25	12	37
2018							
8	jan	305	59	364	15	10	25
9	fev	947	125	1.072	27	13	40
10	mar	647	310	957	14	15	29
11	abr	1.503	261	1.764	31	13	44
12	jun	588	74	662	21	9	30
13	set	0	0	0	0	0	0
14	nov	0	0	0	0	0	0
Total		6.615	1.402	8.017	196	91	287

SE: semana epidemiológica, ♀: fêmea

No presente estudo não foi confirmada a amplificação de RNA dos vírus DENV, CHIKV ou ZIKV nos 287 *pools* analisados. A validação das análises foi realizada pela confirmação da amplificação dos controles internos. Igualmente foi constatada a amplificação do controle positivo de cada um dos arbovírus nas diferentes rodadas das análises no qPCR (Figura 14).

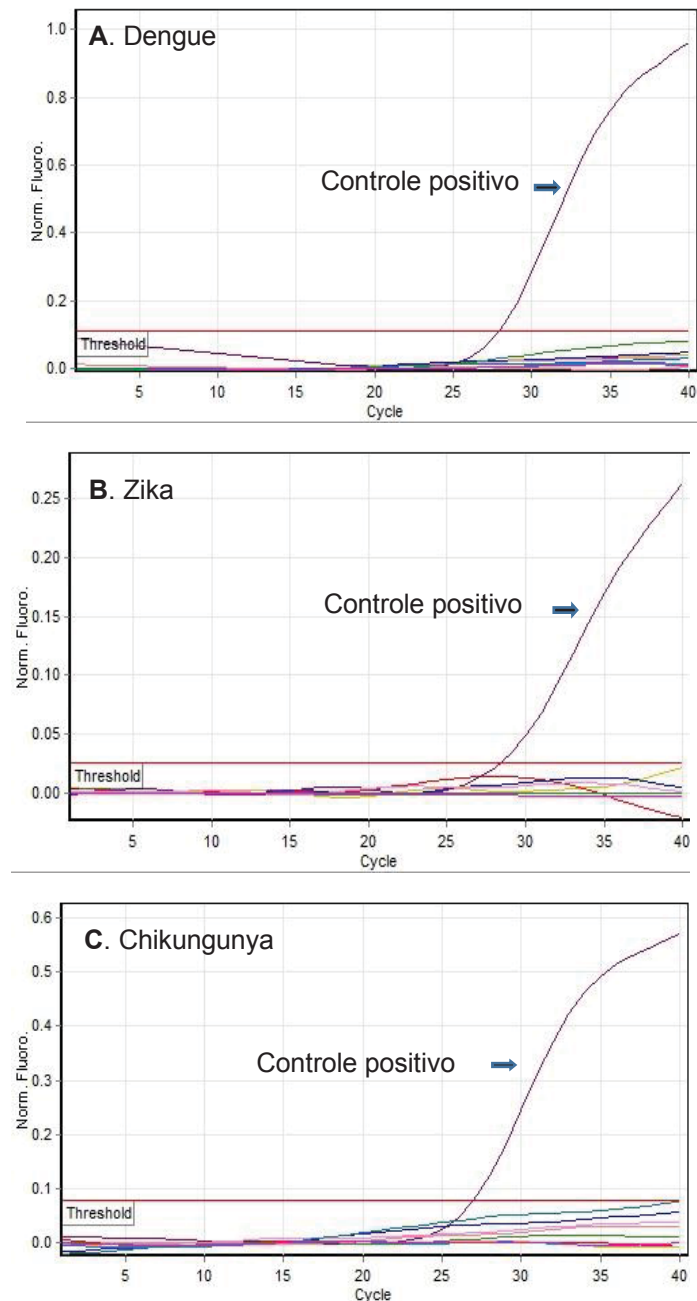


Figura 14. Curvas de amplificação em tempo real de RNA viral extraído de fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*. **A.** Curva de amplificação para o controle positivo de dengue no canal FAM, **B.** Curva de amplificação para o controle positivo de Zika no canal JOE, **C.** Curva de amplificação para o controle positivo de chikungunya no canal VIC.

O número de fêmeas avaliadas de *Ae. aegypti* nos estratos um, seis e oito foi maior que 700 enquanto nos estratos três e 16 foram avaliadas 33 e 50 fêmeas, respectivamente (Gráfico 6). No caso de *Ae. albopictus*, o estrato 13 teve o maior número de fêmeas avaliadas: 226; nos outros estratos o

número de fêmeas avaliadas variou entre 32 a 154, com exceção do estrato três que não teve fêmeas analisadas (Gráfico 7).

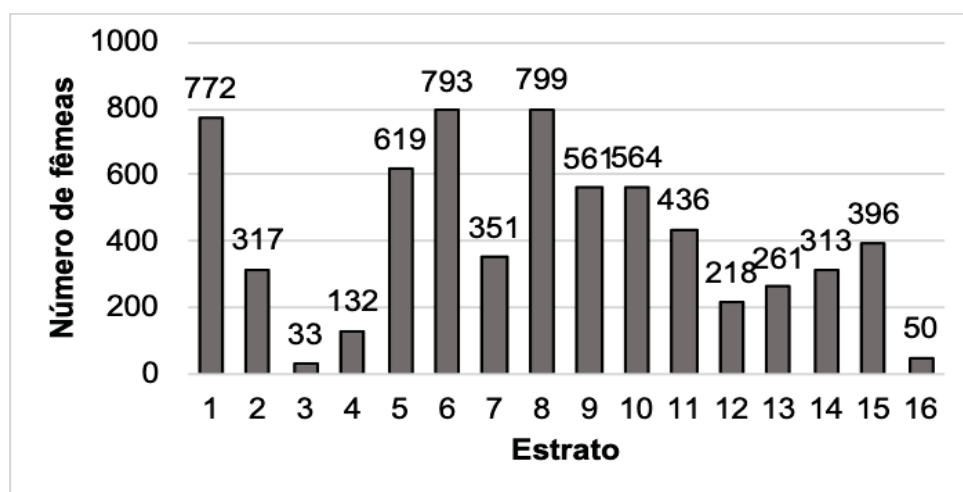


Gráfico 6. Fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas na detecção de transmissão vertical (DENV, CHIKV e ZIKV) de junho 2017 a junho 2018 no município de Paranaguá-PR.

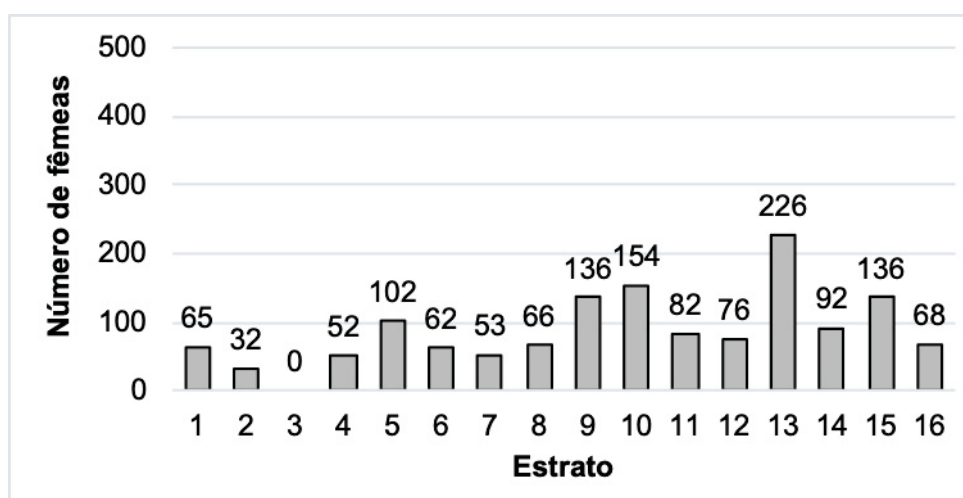


Gráfico 7. Fêmeas de *Aedes albopictus* avaliadas na detecção de transmissão vertical (DENV, CHIKV e ZIKV) de junho 2017 a junho 2018 no município de Paranaguá-PR.

A porcentagem de fêmeas avaliadas de *Ae. aegypti* na maioria dos meses de coleta foi próxima de 50%, com exceção das coletas de novembro e dezembro de 2017 e março de 2018 quando foram avaliadas menos de 37% das fêmeas emergidas (Gráfico 8).

Considerando o total de fêmeas de *Ae. albopictus* emergiram no período de avaliação, 71% delas foram destinadas para a identificação da

transmissão vertical dos arbovírus, chegando em alguns casos a usar 100% das fêmeas disponíveis como foi nos meses de junho, setembro e outubro de 2017. Nos meses de julho e agosto de 2017 não teve emergência de fêmeas de *Ae. albopictus* (Gráfico 8).

A variação do número de fêmeas avaliadas deve-se ao número de ovos coletados, à porcentagem de eclosão desde larva-adulto e à emergência dos alados. Isso resultou em uma ampla variação nas porcentagens de cada período de avaliação para as duas espécies. Os meses de setembro e novembro de 2018 (coleta 13 e 14) não foram avaliados para detecção de RNA viral (DENV, CHIKV ou ZIKV).

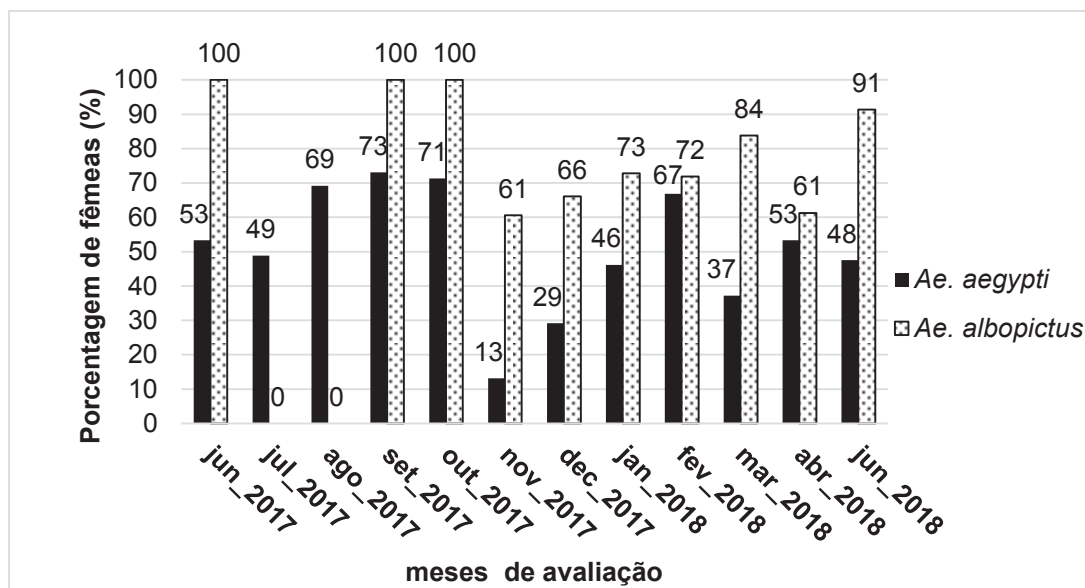


Gráfico 8. Porcentagem de fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* avaliadas na transmissão vertical de arbovírus (DENV, CHIKV, ZIKV) durante 12 meses no município de Paranaguá-PR.

6.5 Elaboração e envio dos relatórios mensais às entidades públicas.

A variação da positividade das armadilhas instaladas em cada estrato durante os meses avaliados de 2017 está ilustrada na figura 15 e a variação nos meses avaliados de 2018 é apresentada na figura 16.

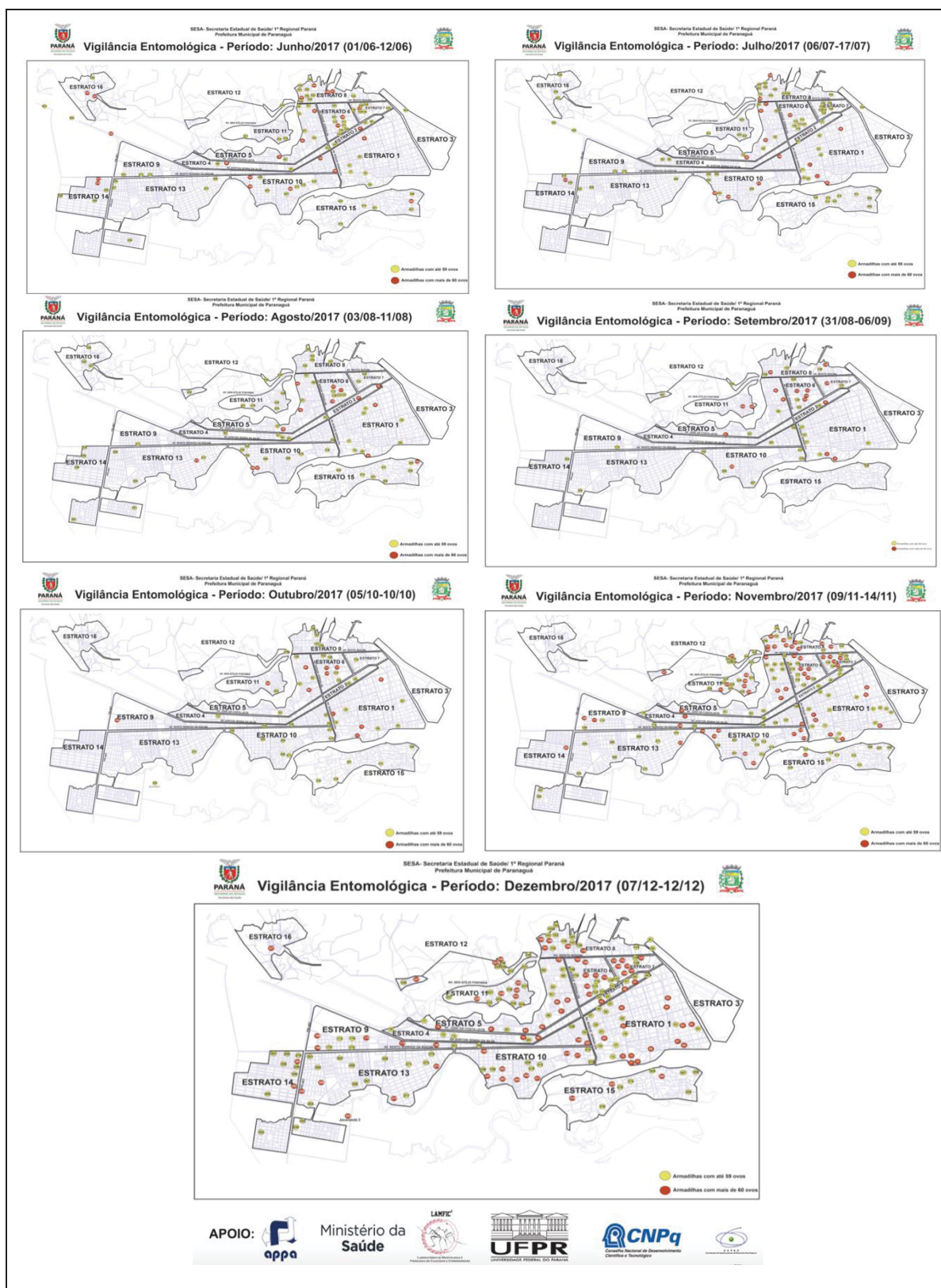


Figura 15. Mapas de Paranaguá referentes às coletas dos meses de 2017 apresentando as armadilhas do tipo ovitrampas dos 16 estratos positivas.
● : ovitrampas com até 60 ovos: ● ovitrampas com mais de 60 ovos.

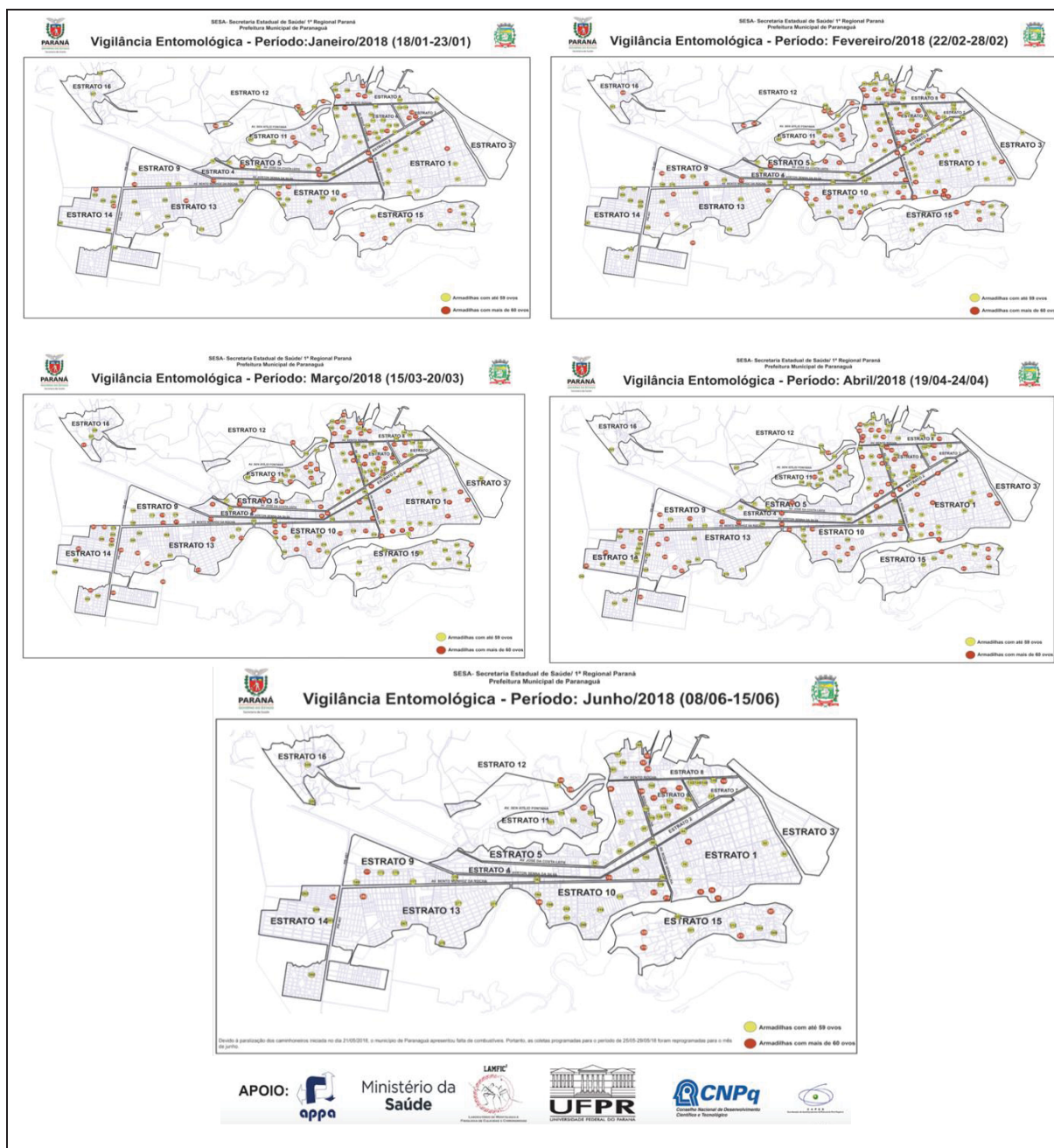


Figura 16. Mapas de Paranaguá referentes às coletas dos meses de 2018 apresentando as armadilhas do tipo ovitrampas dos 16 estratos positivas.
 ● : ovitrampas com até 60 ovos: ● ovitrampas com mais de 60 ovos.

Com dados concretos referentes à presença e distribuição dos ovos de *Aedes (Stegomyia)* spp. compilados durante os 14 meses de avaliação, foi possível estabelecer de forma imediata áreas que representavam risco como focos do vetor. Com esta informação foram direcionadas diversas ações pelo governo e a prefeitura como remoção de criadouros, aplicação direcionada de inseticida o que explicaria a diminuição no número de

armadilhas positivas e de ovos durante o mês de janeiro de 2018 (Gráfico 2 e 3).

A flutuação e distribuição do número de ovos também são apresentados nos mapas de densidade de *Kernel* (Figura 17). É possível observar que nos meses de junho-agosto existe atividade de fêmeas, porém reduzida ao comparar a amplitude das classes de cada mês (Fig. 17 A-C). No mapa da coleta de novembro de 2017 (Figura 17-F) é representado o primeiro acréscimo importante na densidade de ovos (intervalo de 1-216 ovos); na coleta de dezembro de 2017 a densidade de ovos prosseguiu aumentando (intervalo de 1-544 ovos) (Figura 17-G). A densidade de ovos em janeiro 2018 diminuiu drasticamente (Figura 17-H), mas teve aumento nas coletas de fevereiro, março e abril de 2018 podendo ser observado pela amplitude de valores em cada intervalo de cada classe (Figura 17-I, - J e K).

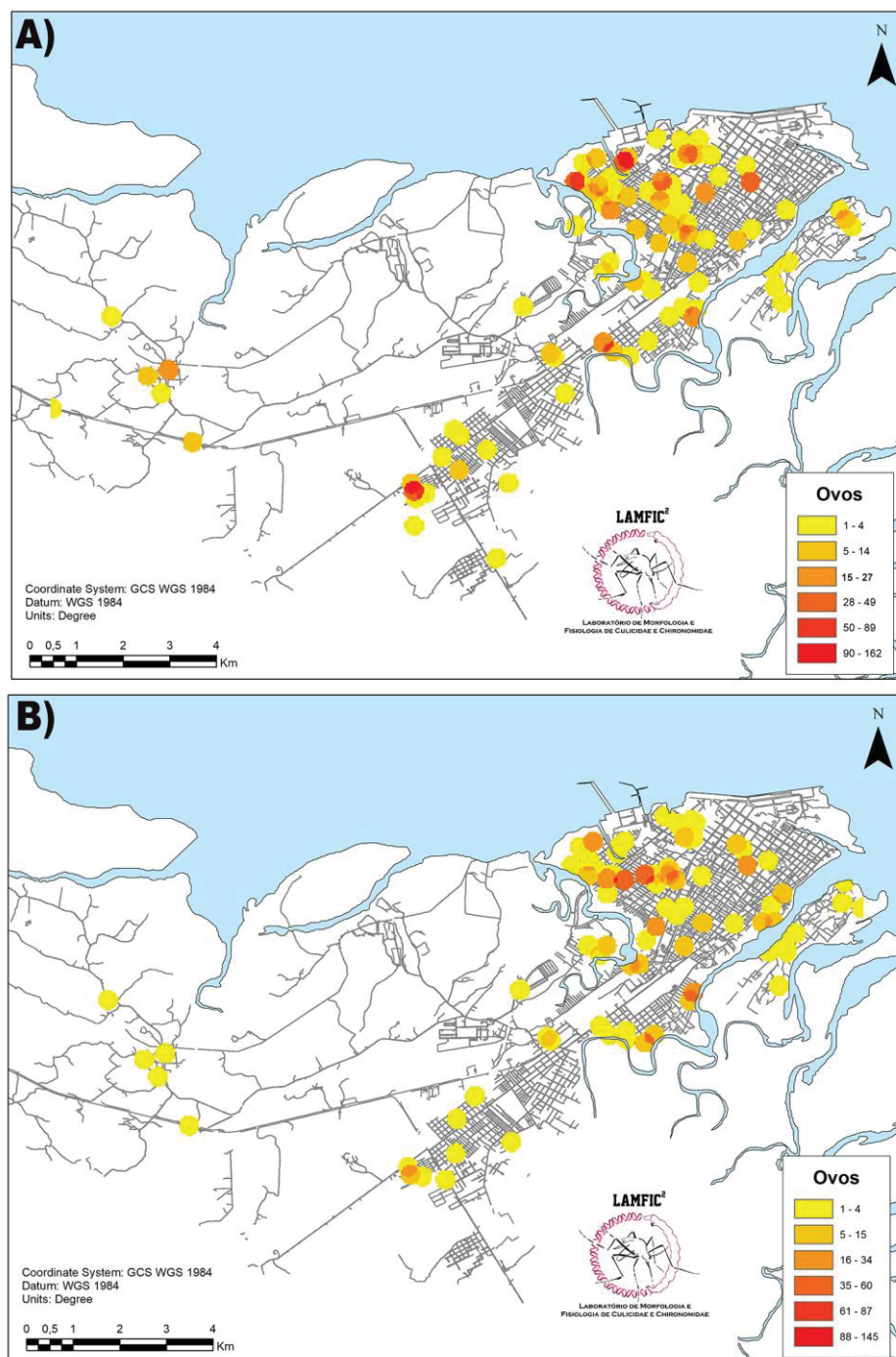


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2017 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. **A.** junho, **B.** julho.

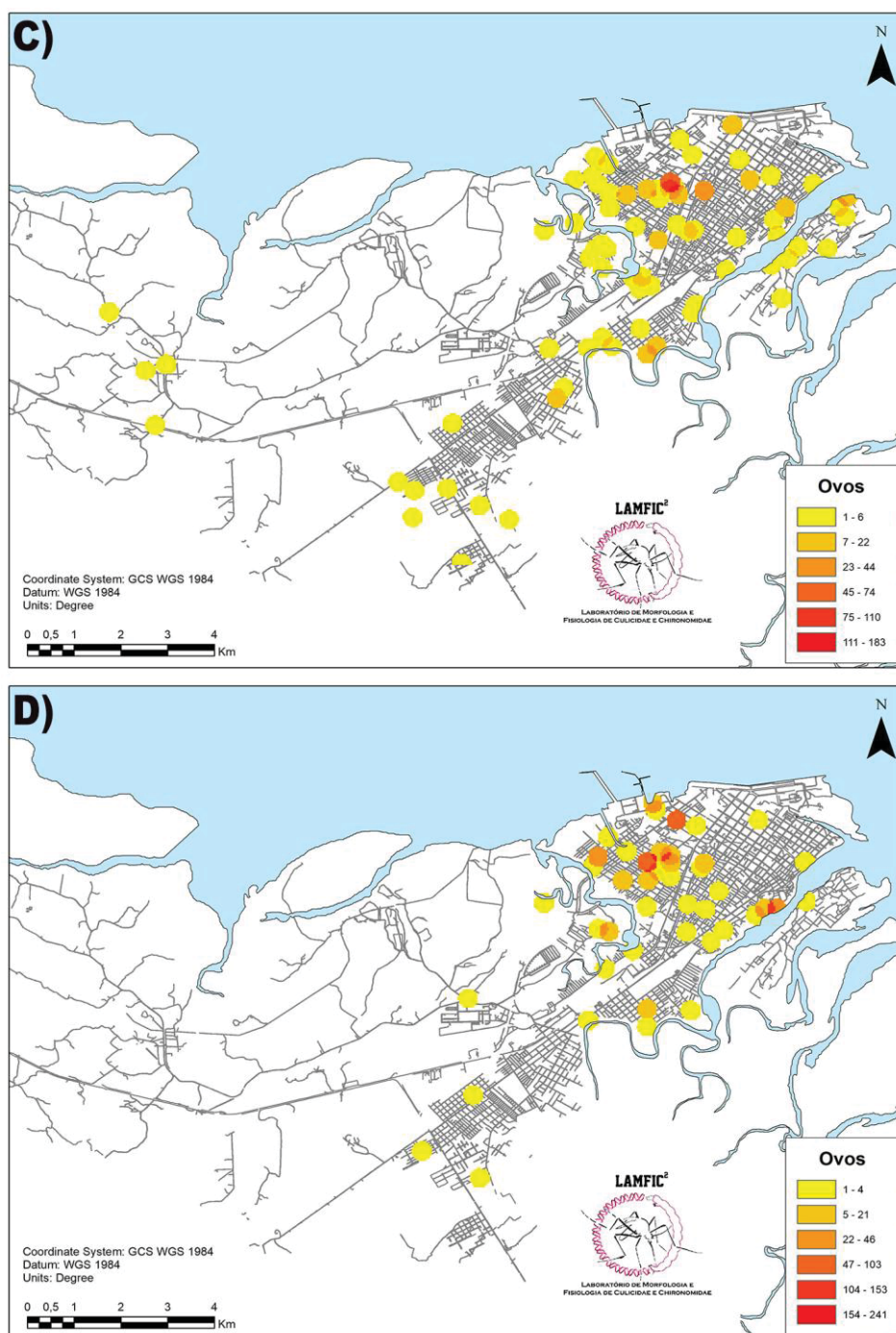


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2017 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. **C.** agosto, **D.** setembro.

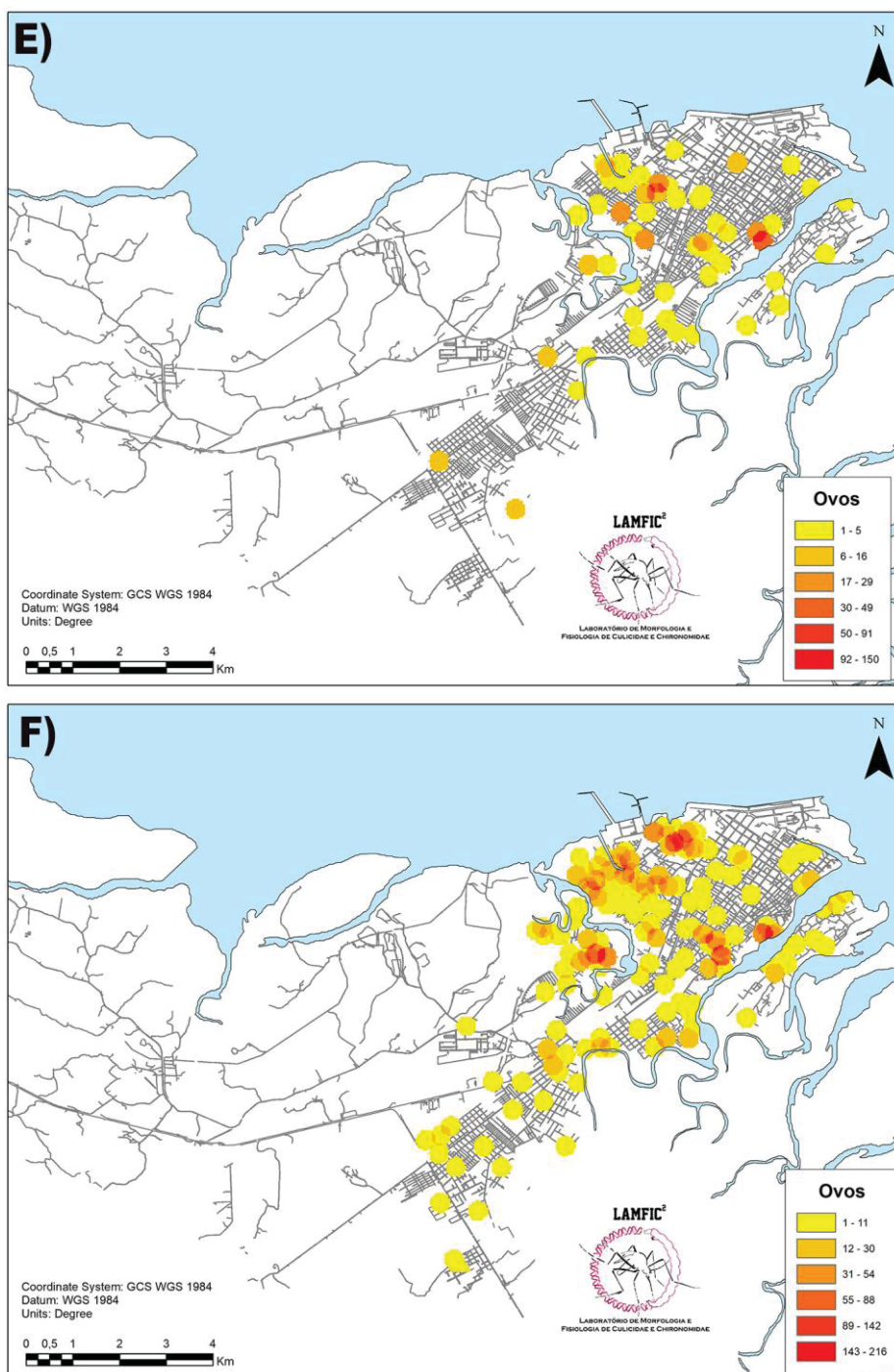


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2017 usando armadilhas tipo ovitrapa no município de Paranaguá-PR. **E.** outubro, **F.** novembro.

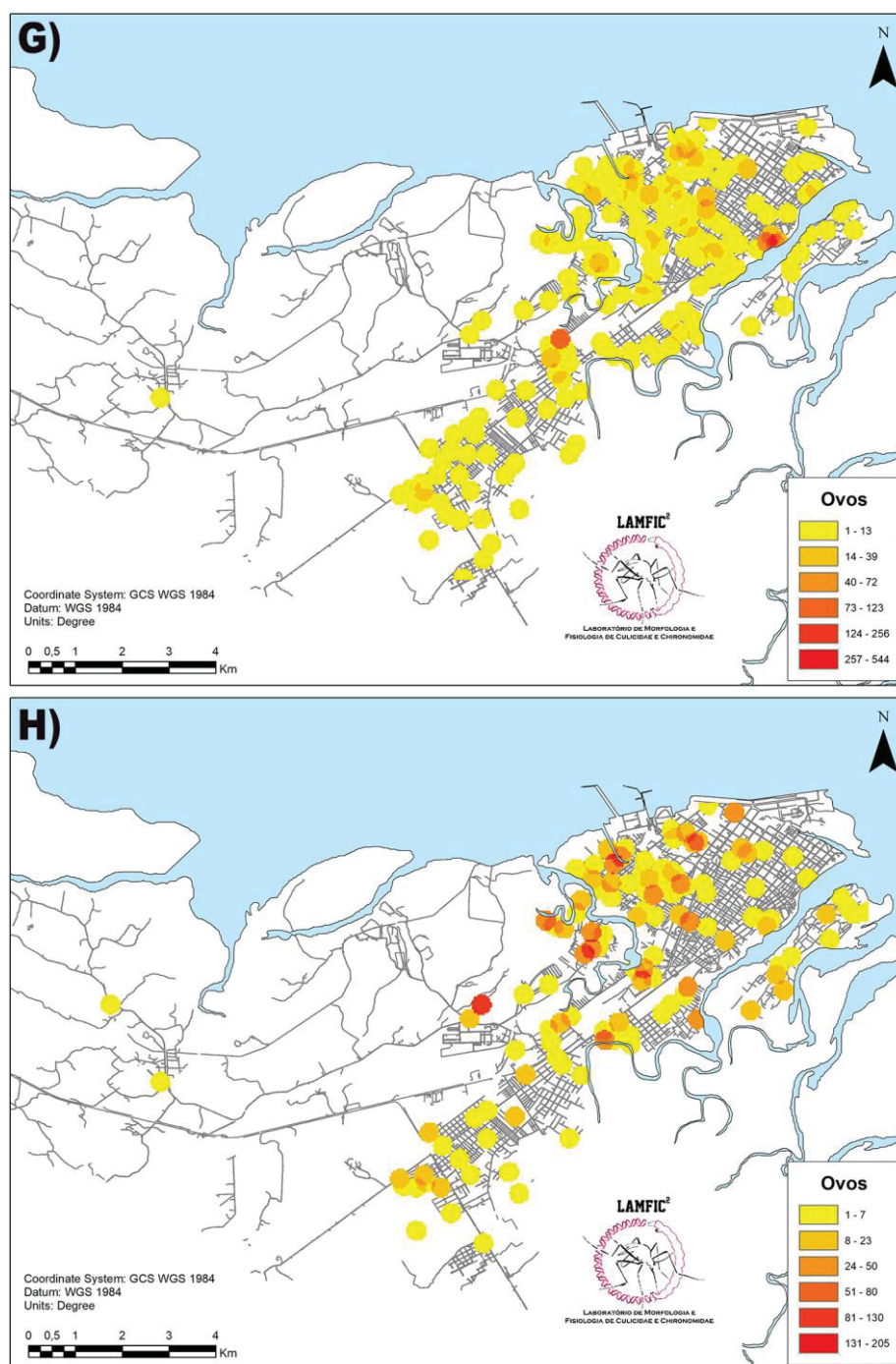


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2017 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. **G.** dezembro, **H.** janeiro de 2018.

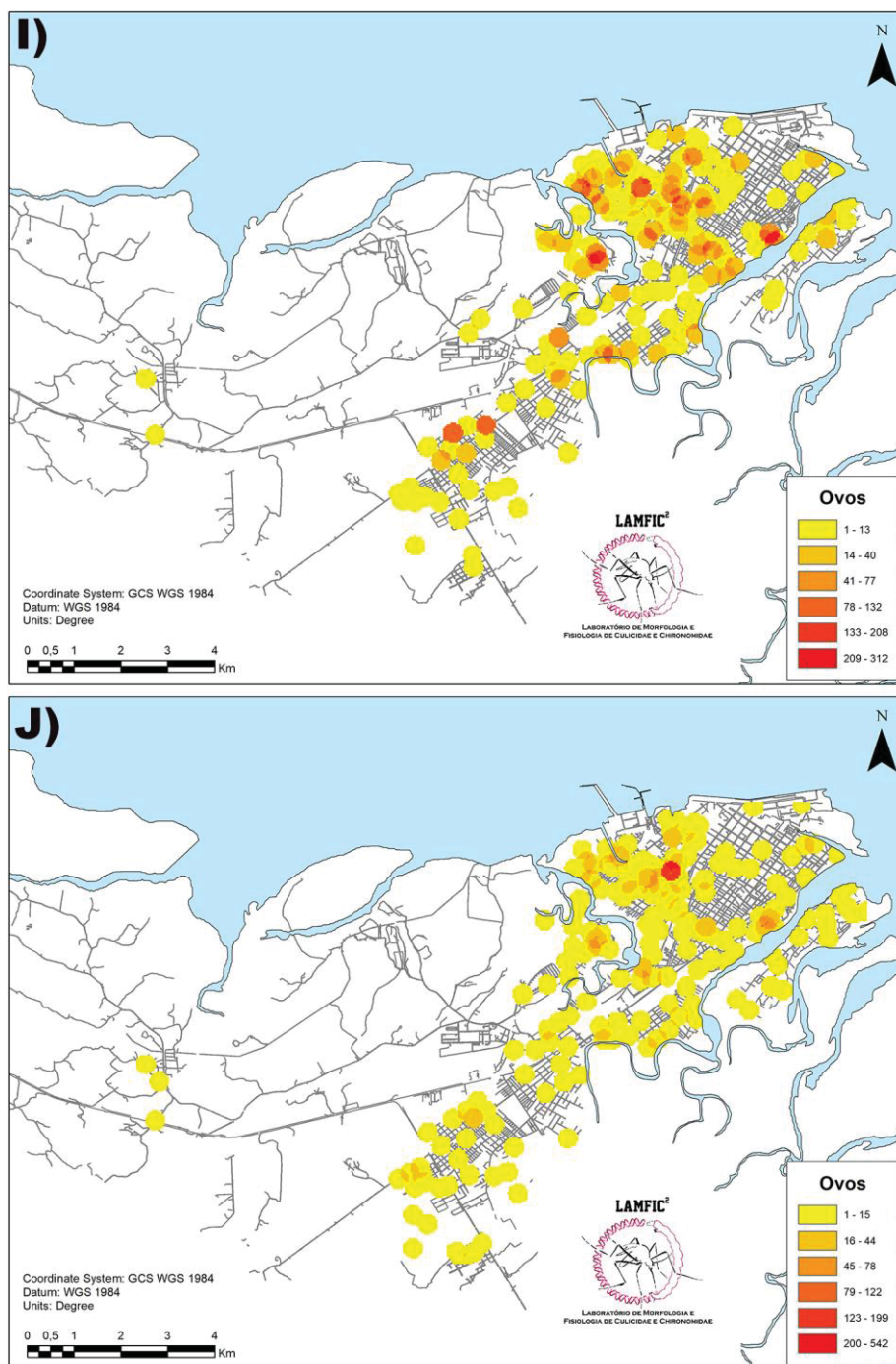


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2018 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. I. fevereiro, J. março.

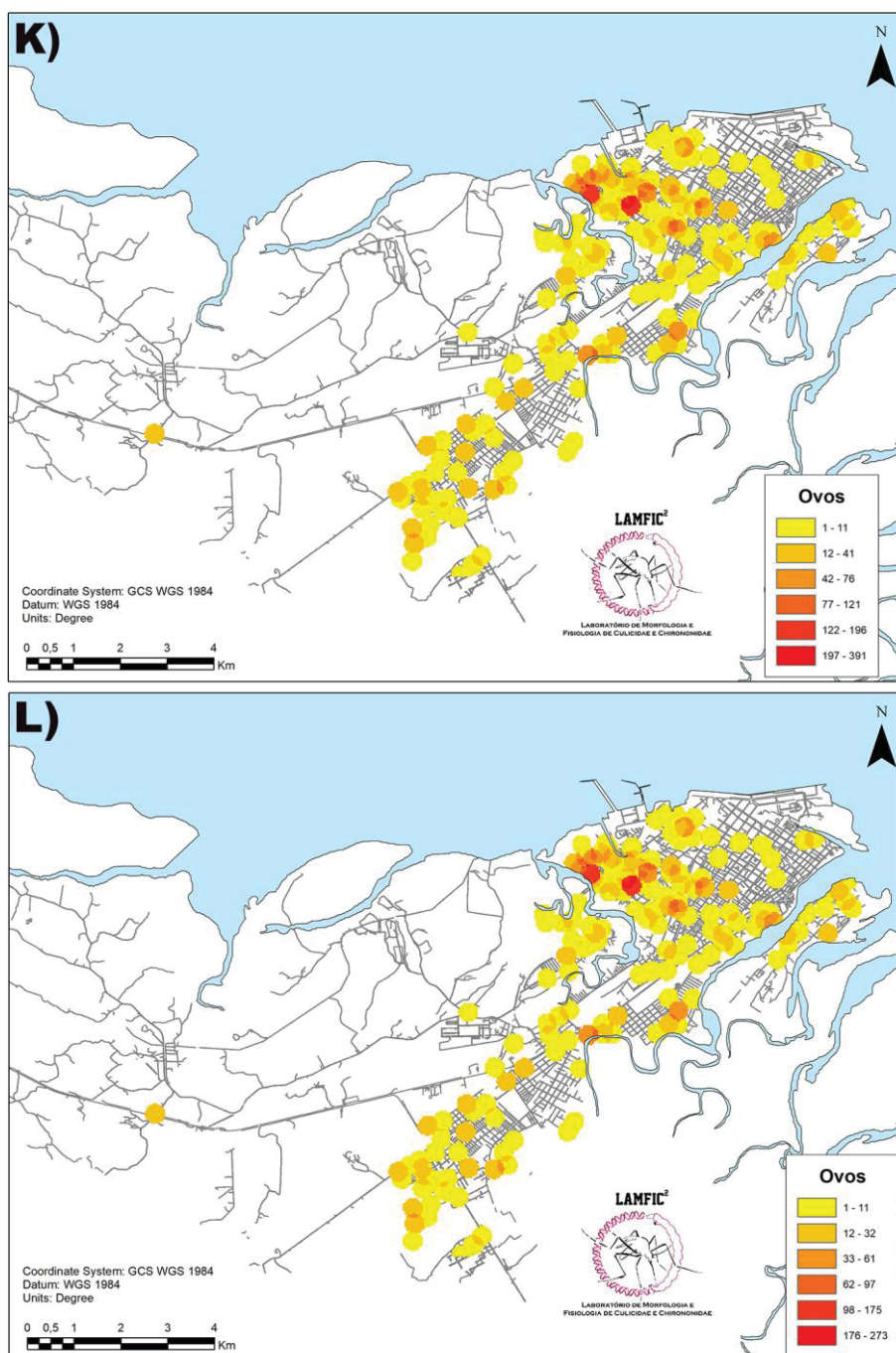


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2018 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. **K.** abril, **L.** junho.

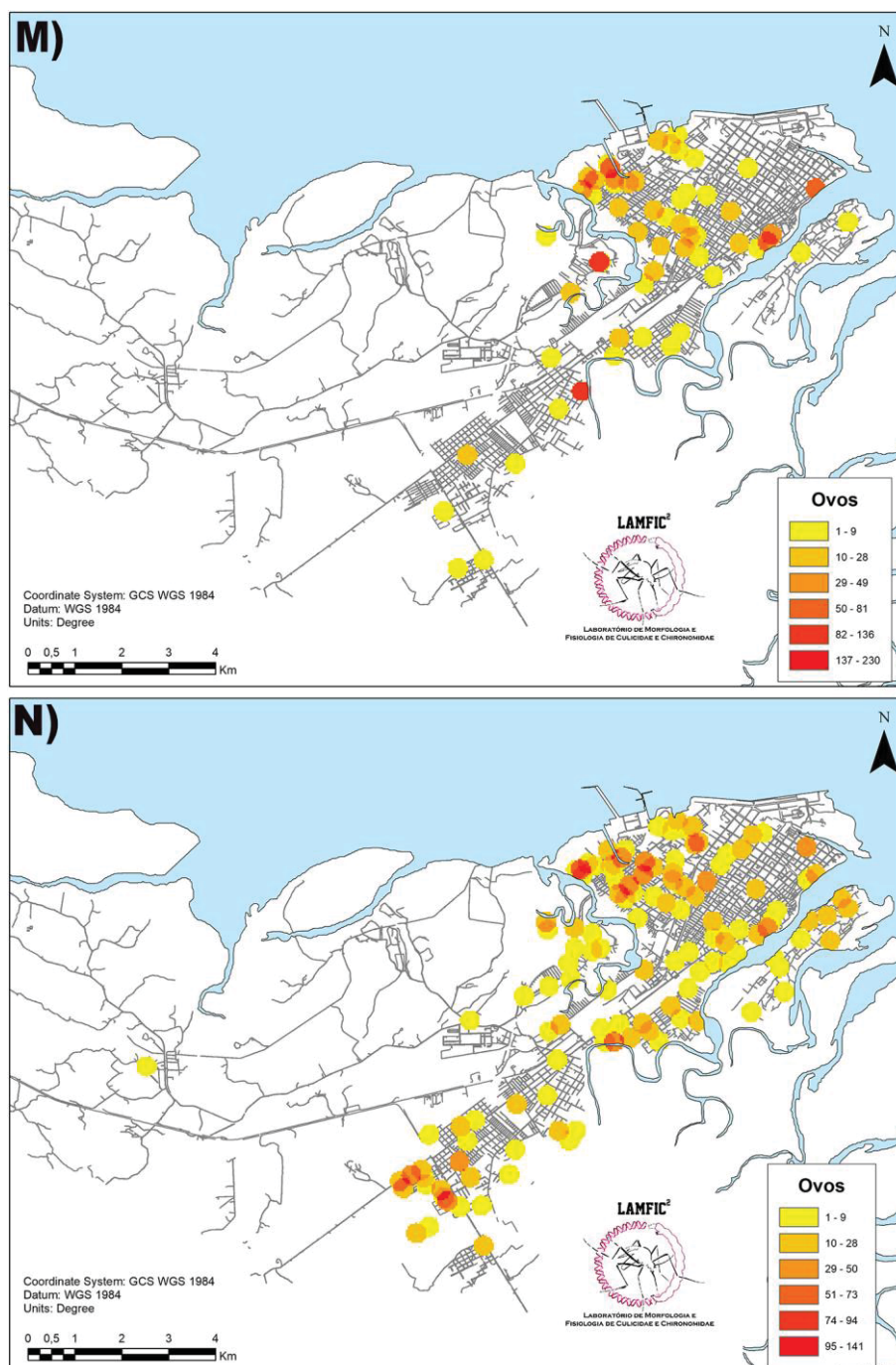


Figura 17. Distribuição espacial e densidade de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* nos meses de monitoramento de 2018 usando armadilhas tipo ovitrampa no município de Paranaguá-PR. **M.** setembro, **N.** novembro.

Tendo em consideração todos os ovos coletados nos 14 meses de estudo, foram identificadas as áreas de maior densidade de ovos consideradas pontos críticos no município. Esses pontos estão localizados nos estratos um, cinco, seis e sete (Figura 18).

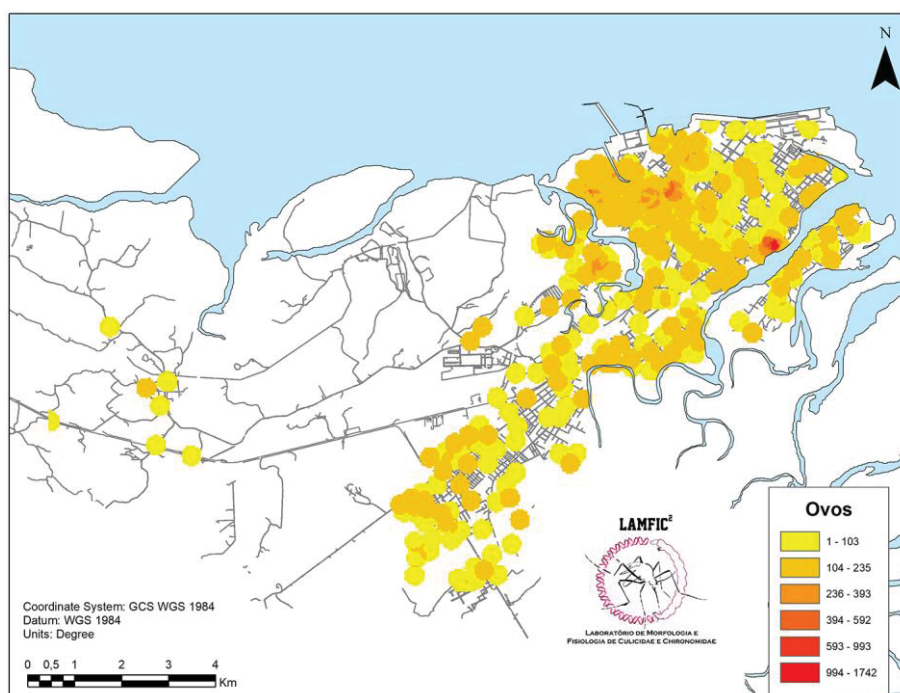


Figura 18. Distribuição espacial e densidade total de ovos de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* mediante o monitoramento implementado com armadilhas tipo “ovitrapa” durante o período junho 2017 a novembro 2018 no município de Paranaguá-PR.

A presença de adultos de *Aedes aegypti* nos 16 estratos é representada na figura 19-A, confirmando a maior abundância e concentração nas áreas mais urbanizadas do município. A concentração de adultos de *Ae. albopictus* foi maior nas áreas rurais do município que correspondem a áreas com uma maior cobertura vegetal como por exemplo nos observado nos estratos 16 e 13, sendo este último distanciado a 200 metros da área do Parque Estadual do palmito-PR (Figura 19-B). Áreas de transição e limites (sub-urbana-rural) é possível encontrar ambas espécies, porém maiormente abundante *Ae. aegypti*.

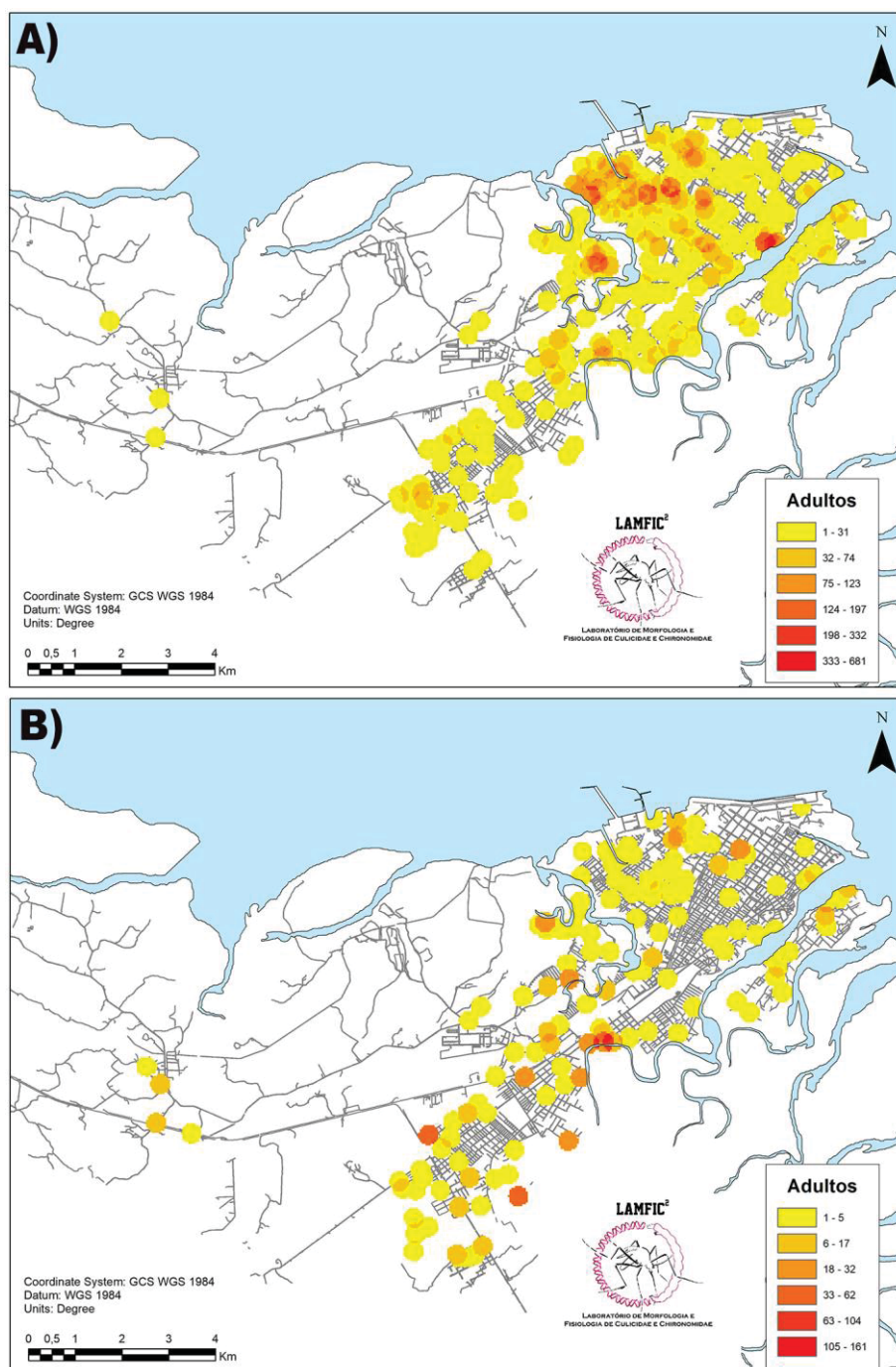


Figura 19. Distribuição espacial e densidade de adultos obtido do monitoramento realizado com armadilhas tipo ovitrampa durante junho-2017 a novembro 2018 no município de Paranaguá-PR. **A.** *Aedes aegypti* e **B.** *Ae. albopictus*

6.6 Índices entomológicos de infestação IPO e IDO

O índice de positividade de ovitrampas (IPO) e o índice de densidade de ovitrampas (IDO) estimados em cada mês são apresentados na tabela IX. Considerando a prova de *Kruskal-Wallis* foi possível afirmar que existiu

diferença entre os valores médios de IPO ($X^2=105,7$; $p<0.0001$) e IDO ($X^2=48,6$; $p<0.0001$) de cada mês. Posteriormente mediante o teste de comparação múltipla de *Dunn* foi estabelecida a diferencia entre os IPO e o IDO obtidos em cada mês de avaliação (tabela X).

Tabela X. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) com desvio padrão (DP) e valores do teste de comparação múltipla de *Dunn* durante 14 meses de coleta no período de junho de 2017 a novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.

Coleta	Data	SE	IPO (%)	Desvio Padrão (DP)	Teste de Dunn	IDO (n)	Desvio Padrão (DP)	Teste de Dunn
2017								
1	jun	22-24	34,55	18,20	ab	30,58	13,44	ab
2	jul	27-29	23,39	18,88	abc	23,71	17,31	a
3	ago	31-32	22,38	13,11	abc	23,70	30,57	ab
4	set	35-36	15,00	9,15	c	30,42	33,52	abcde
5	out	40-41	13,89	9,23	bc	26,54	20,89	abe
6	nov	45-46	49,14	27,82	de	39,39	21,95	abcde
7	dez	49-50	60,00	20,93	d	57,23	17,26	c
2018								
8	jan	03-04	37,44	14,09	ade	38,61	17,12	abde
9	fev	08-09	55,05	21,08	de	55,46	17,79	cde
10	mar	11-12	58,75	17,28	d	53,53	14,11	cde
11	abr	16-17	54,20	18,87	de	54,91	22,24	cd
12	jun	23-24	28,29	16,14	abc	40,39	26,59	abcde
13	set	37-38	16,40	10,69	bc	40,25	31,47	bcde
14	nov	45-46	40,00	15,24	ae	49,09	19,37	bcde

SE= Semana epidemiológica.

Os valores de IPO médios dos meses de novembro e dezembro de 2017 e janeiro, fevereiro, março e abril de 2018 foram semelhantes entre sim. O IPO nesses meses variou entre 37,4% e 60,0%. Igualmente as coletas dos meses de junho, julho e agosto de 2017 e junho de 2018 apresentaram IPO semelhantes variando entre 22% e 34%. O menor IPO estimado nos 14 meses de coleta foi observado no mês de outubro de 2017 ($13,8\% \pm 9,2$) e o maior valor no mês de dezembro de 2017 ($60\% \pm 20,9$) (Gráfico 9 – Tabela X). A média do IPO depois de 14 meses de coleta foi estimado em: 36,3%.

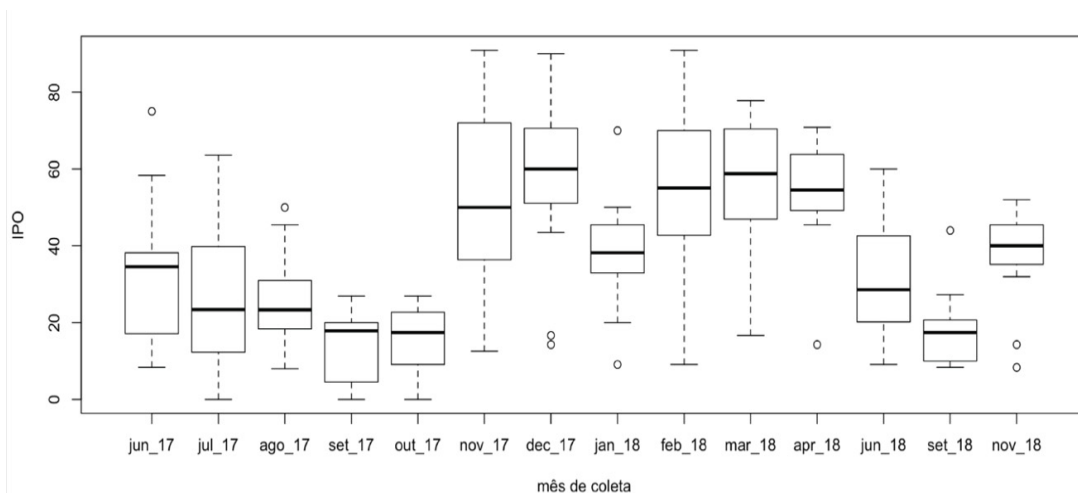


Gráfico 9. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 do município de Paranaguá-PR.

Os valores médios estimados de IDO nos 14 meses de coleta variaram entre 23,7 e 57,2 sendo que os menores valores foram observados nos meses de julho ($23,7 \pm 17,3$) e agosto ($23,7 \pm 30,5$), enquanto o maior valor foi observado em dezembro de 2017 ($57,2 \pm 17,26$). O teste de comparação múltipla de *Dunn* mostrou que o IDO de dezembro de 2017 ($57,23 \pm 17,2$) foi diferente dos IDO obtidos nos meses e junho ($30,58 \pm 13,44$), julho ($23,71 \pm 17,31$), agosto ($23,70 \pm 30,57$) e outubro ($26,54 \pm 20,89$) de 2017 e janeiro ($38,61 \pm 17,12$) de 2018 (Gráfico 10 – Tabela IX). A média do IDO depois de 14 meses de coleta foi de 50.5 ovos.

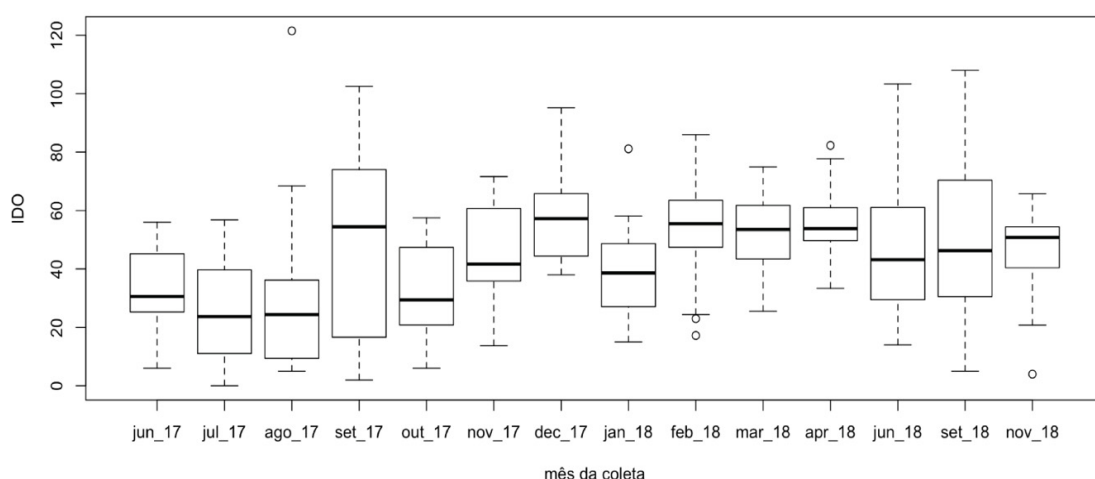


Gráfico 10. Índice de densidade de ovos (IDO) durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018 do município de Paranaguá-PR.

6.7 Influência das variáveis climáticas na atividade das fêmeas de *Aedes (Stegomyia)* spp.

A magnitude do efeito da correlação foi representada pelos coeficientes de correlação obtidos entre as variáveis relacionadas ao número de ovos e armadilhas positivas com as variáveis climáticas (dias secos, temperaturas, precipitação, umidade relativa e velocidade do vento). Considerando a regra de Hinkle e colaboradores (2003) para interpretar os valores de correlação, observou-se que as variáveis tiveram correlações entre si fracas (valores entre 0.3 e 0.5 ou -0.3 e -0.5), moderadas (valores entre 0.51 e 0.7 ou -0.51 e -0.7) e fortes (valores entre 0.71 e 0.9 e -0.71 e -0.9) (tabela XI).

O número total de ovos teve uma correlação moderada com os valores das temperaturas mínimas registradas 10, 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas, assim como as temperaturas máximas reportadas nos 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas. Por outro lado, o número de dias secos 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas apresentaram coeficientes de correlação negativo moderados com o número de ovos (Gráfico 11).

O IPO apresentou valores do coeficiente de correlação fortes com a temperatura mínima 10 dias antes da instalação das ovitrampas, com a temperatura média 20 dias antes de instalação das ovitrampas e uma correlação inversa forte com o número de dias secos 30 dias antes da instalação das ovitrampas (Gráfico 11). As temperaturas máximas registradas 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas, as temperaturas mínimas 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas e a temperatura média 30 dias antes da instalação das ovitrampas apresentaram uma correlação moderada com o IPO.

O IDO teve correlações moderadas com as temperaturas mínimas registradas 10, 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampas e com as temperaturas médias dos 10 e 20 dias antes da instalação das ovitrampas. O número de dias secos 30 dias antes da instalação das ovitrampas apresentou uma correlação negativa inversa com o IDO (Gráfico 11).

Tabela XI. Coeficientes de correlação de *Spearman* do número de ovos, índices entomológicos (IDO e IPO) e armadilhas positivas com variáveis climáticas do município de Paranaguá desfasadas 10, 20 e 30 dias antes da instalação das ovitrampa. DSecos: dias secos, TM: temperatura máxima, Tm: mínima e Tp: médias; ppt: precipitação, URM: umidade relativa máxima, URM: mínima e URp: média, vM: velocidade do vento máxima, vm: mínima e vp: média.

	Ovos	IDO (n)	IPO (%)	*Ov_ positivas	DSecos10	DSecos20	DSecos30	TM10	TM20					
Ovos	1.00	0.90	0.97	0.97	-0.49	-0.57	-0.65	0.42	0.56					
IDO (n)	0.90	1.00	0.82	0.82	-0.51	-0.46	-0.53	0.34	0.45					
IPO (%)	0.97	0.82	1.00	0.99	-0.50	-0.64	-0.72	0.52	0.66					
*Ov_ positivas	0.97	0.82	0.99	1.00	-0.54	-0.58	-0.67	0.52	0.68					
	TM30	Tm10	Tm20	Tm30	Tp10	Tp20	Tp30	ppt10	ppt20	ppt30	URm10	URm20	URm30	
Ovos	0.57	0.74	0.62	0.64	0.63	0.66	0.61	0.30	0.14	0.17	0.13	0.01	-0.03	
IDO (n)	0.42	0.56	0.55	0.53	0.56	0.57	0.49	0.16	-0.12	-0.17	-0.01	-0.17	-0.07	
IPO (%)	0.68	0.83	0.68	0.70	0.69	0.71	0.70	0.36	0.25	0.28	0.10	0.05	-0.04	
*Ov_ positivas	0.70	0.84	0.72	0.73	0.72	0.75	0.73	0.44	0.30	0.31	0.15	0.07	-0.04	
	URM10	URM20	URM30	URp10	URp20	URp30		vM10	vM20	vM30	vm10	vm20	vm30	
Ovos	0.31	0.28	0.38	0.16	0.13	0.03		0.50	0.49	0.46	0.51	0.49	0.25	0.51
IDO (n)	0.26	0.08	0.21	0.12	0.01	0.01		0.48	0.46	0.44	0.52	0.54	0.21	0.50
IPO (%)	0.32	0.38	0.45	0.16	0.20	0.09		0.52	0.52	0.49	0.49	0.49	0.32	0.50
*Ov_ positivas	0.36	0.40	0.49	0.16	0.18	0.05		0.54	0.53	0.49	0.53	0.53	0.35	0.52
	vp20	vp30												
Ovos	0.39	0.53												
IDO (n)	0.41	0.52												
IPO (%)	0.42	0.53												
*Ov_ positivas	0.43	0.53												

***Ovitrapas positivas**

A precipitação, umidade relativa e velocidade do vento não influenciaram a atividade das fêmeas de *Aedes (Stegomyia)* spp. de forma significativas considerando o número de ovos e os índices entomológicos.

As variáveis com maiores coeficientes de correlação foram selecionadas para construir uma nova matriz (Gráfico 11); os valores de significância das correlações entre essas variáveis são apresentados na tabela XII (ANEXO 6).

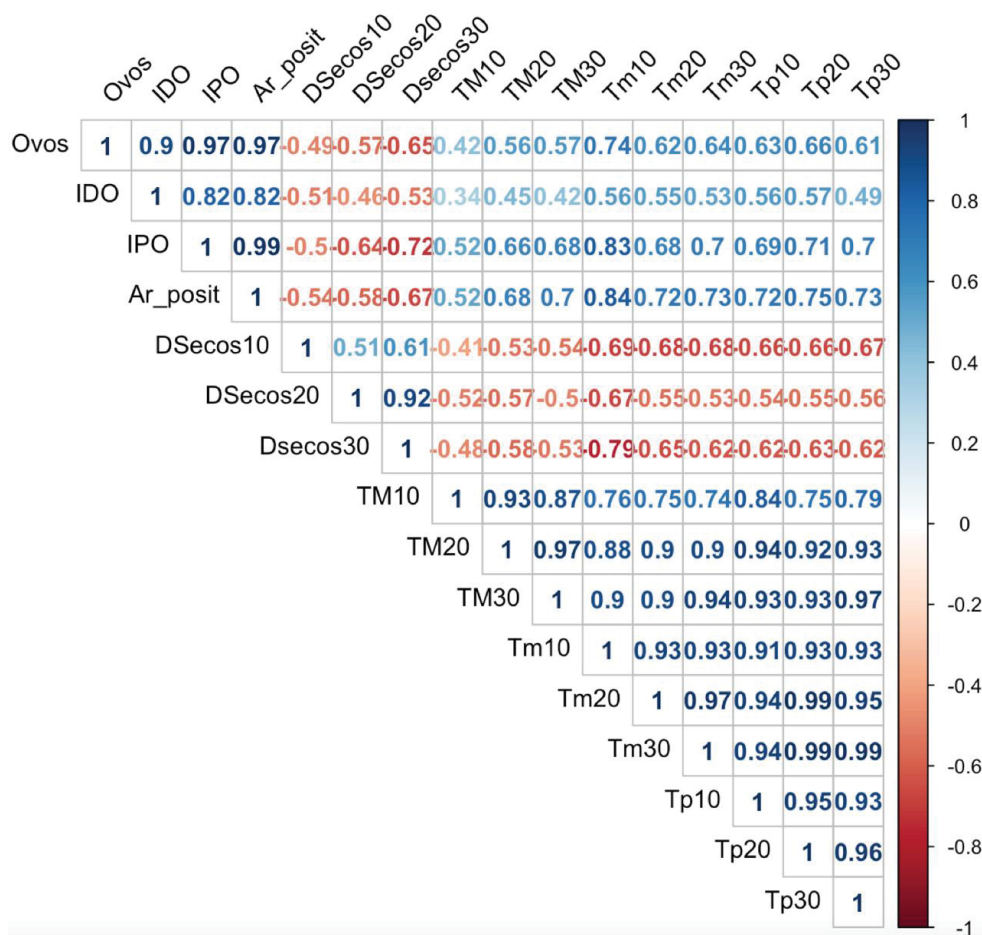


Gráfico 11. Matriz dos coeficientes de correlação de *Spearman* (ρ) do número de ovos totais, número de armadilhas positivas (Ar_posit), índices entomológicos (IDO e IPO) e as variáveis climáticas: temperatura máxima (TM), mínima (Tm) e média (Tp) e dias secos (DSecos) 10, 20, e 30 dias antes da instalação das armadilhas no município de Paranaguá-PR.

Considerando a flutuação do número de ovos ao longo do período avaliado, foi observado que nos períodos com registro das maiores temperaturas máximas e mínimas defasadas 30 dias antes da coleta foram registrados o maior número de ovos (Gráfico 12). Essa observação é referente às avaliações de novembro e dezembro de 2017 e fevereiro, março e abril de 2018. O mês de janeiro de 2018 teve um resultado atípico do número de ovos para as temperaturas registradas.

Tabela XII. Coeficientes de correlação de (ρ) e valor de p do número de ovos, índice de positividade de ovitrampa IPO e índice de densidade de ovos IDO com os dias secos (DSec), temperatura máxima (TM), mínima (Tm) e média (Tm) 10, 20 e 30 dias desfasados antes da instalação das ovitrapas no município de Paranaguá-PR.

<i>Spearman</i>				<i>Spearman</i>			
(ρ)				(ρ)			
Valor de <i>p</i>				Valor de <i>p</i>			
Ovos	DSec20	-0.57	0.035	IPO	DSec20	-0.64	0.01
	DSec30	-0.65	0.011		DSec30	-0.72	0.03
	TM20	0.56	0.035		TM20	0.66	0.01
	TM30	0.57	0.031		TM30	0.68	0.008
	Tm10	0.74	0.002		Tm10	0.83	0.0003
	Tm20	0.62	0.017		Tm20	0.68	0.007
	Tm30	0.64	0.014		Tm30	0.70	0.005
	Tp10	0.63	0.015		Tp10	0.69	0.006
	Tp20	0.66	0.010		Tp20	0.71	0.004
	Tp30	0.61	0.019		Tp30	0.70	0.0056
IDO	DSec30	-0.53	0.048				
	Tm10	0.56	0.035				
	Tm20	0.55	0.040				
	Tm30	0.53	0.049				
	Tp10	0.56	0.037				
	Tp20	0.57	0.03				

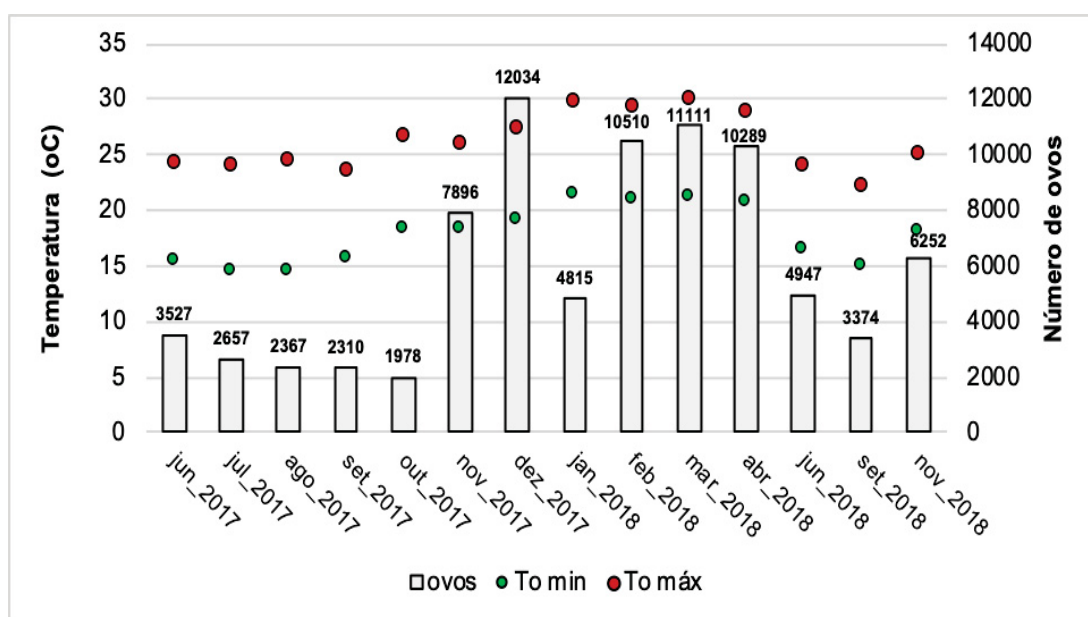


Gráfico 12. Total de número de ovos e temperaturas máximas (T° max) e mínimas (T° min) desfasadas 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

Os meses com maior precipitação acumulada 30 dias antes da instalação das ovitrampas, foram: dezembro (341 mm) de 2017, janeiro (315 mm) e fevereiro (429 mm); e março de 2018 com (258 mm) (Gráfico 13). Esses períodos coincidem com as coletas em que foram contabilizados o maior número de ovos. Não obstante, o mês de janeiro apresentou uma queda no número de ovos coletados (Gráfico 13).

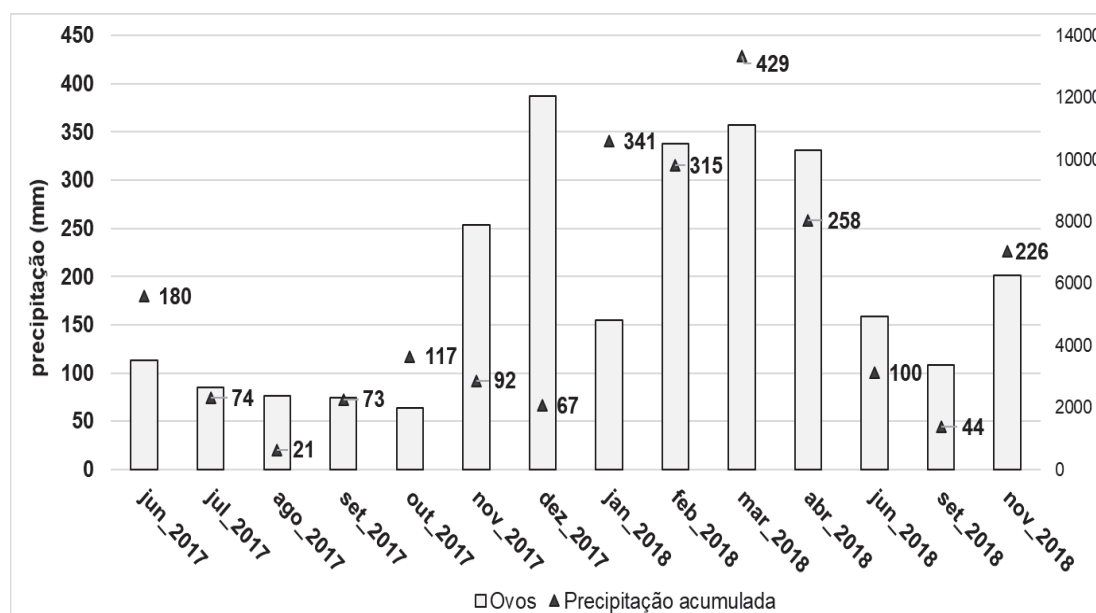


Gráfico 13. Total de número de ovos comparado com a precipitação acumulada desfasada 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

A relação entre o número de ovos com o número de dias secos ou sem chuva indicou a existência de uma associação inversa, assim quanto maior número de dias secos, menor foi o número de ovos (Gráfico 14). O mês de janeiro de 2018 apresentou uma redução no número de ovos, havendo poucos dias secos durante esse mês. Os gráficos de número total de ovos com a distribuição da umidade relativa e velocidade do vento estão disponibilizados no Anexo 7 e 7.1.

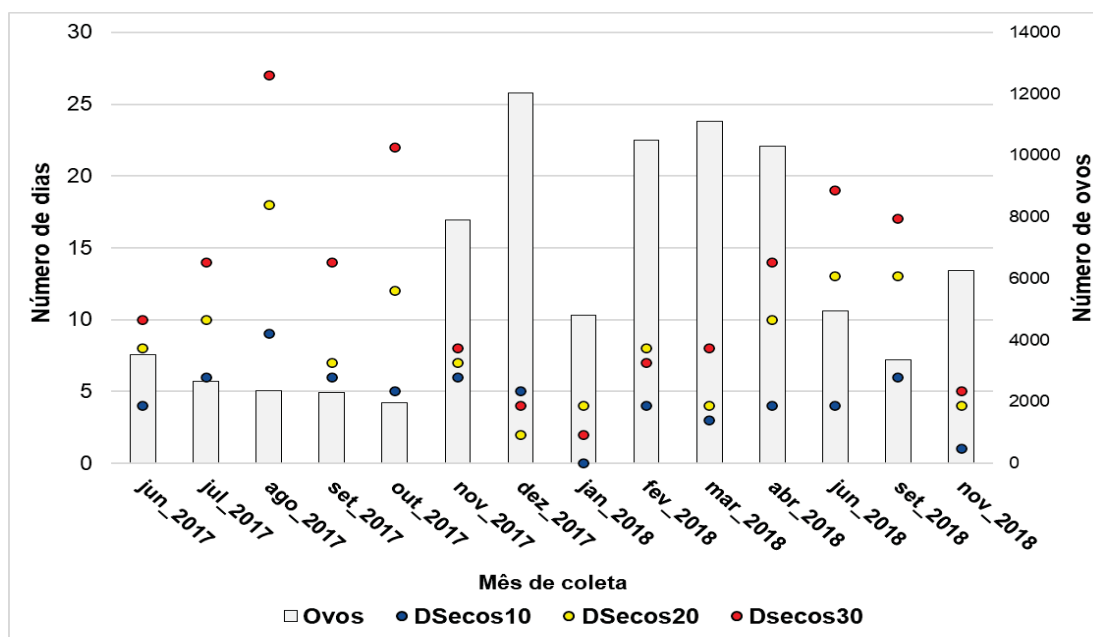


Gráfico 14. Total de número de ovos de *Aedes (Stegomyia)* spp. e o número de dias secos (10, 20 e 30 dias) antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR

6.8 Logística do transporte na instalação e retirada das ovitrampas

Foi necessário percorrer em cada mês de avaliação 263 km ao longo da cidade, para instalar e retirar as ovitrampas em cada um dos imóveis. Atendendo aos 14 meses de avaliação foram percorridos 3.685 km (Tabela XIII). A instalação das ovitrampas por estrato significou percorrer aproximadamente 5 km que foi o menor estrato (7) e mais de 30 km nos estratos 1 e 13 (Tabela XIII). Em termos gerais, no interior de cada estrato as ovitrampas ficaram posicionadas a uma distância média entre elas de 384,9 m. As ovitrampas dispostas a maior distância foi uma característica do estrato 16, sendo que a distância média foi de 617,1 m devido as condições de menor urbanização. Já as ovitrampas dispostas a mais próximas entre si foi uma característica dos estratos seis e sete (240,1 m e 203,9 m) (Tabela XIII). O número médio de ovitrampas por km² em cada estrato foi de 12,48 sendo que o estrato sete teve maior número de ovitrampas por km² (23,9) enquanto o estrato 13 teve em média 6,50 ovitrampas por km².

Enquanto ao consumo de combustível para percorrer os 3.685 km nos 16 estratos durante os 14 meses de avaliação, teve uma inversão

aproximada em combustível de R\$ 1.056,32. Este valor foi estimado considerando a utilização do veículo oficial marca Volkswagen Voyage 2017 trendline (rendimento de gasolina 12 km/litro) (Tabela XIII). O valor inicial do preço de gasolina (etanol) por litro no mês de junho de 2017 foi de \$3,09 reais, este valor passou para \$3,79 por litro para o mês de novembro de 2018. Para os cálculos de combustível utilizamos o valor de \$3,44 reais por litro de gasolina como a média do valor de junho de 2017 e novembro de 2018.

Tabela XIII. Áreas dos estratos e distâncias percorridas e consumo de combustível durante as avaliações de vigilância entomológica no período de junho de 2017 a novembro de 2018 no município de Paranaguá-PR.

Estrato	No. de ovitrampas	Área do estrato (km ²)	Distância entre ovitrampas (m)	No. de ovitrampas/km ²	Distância percorrida/estrato (km)	*Distancia total percorrida (km)	Gasto gasolina (Reais)
1	42	4,25	438,62	9,88	36,84	516	147,92
2	11	1,18	364,91	9,32	8,03	112	32,10
3	12	1,52	448,33	7,89	10,76	151	43,28
4	11	1,39	464,45	7,91	10,22	143	40,99
5	26	1,99	333,88	13,07	17,36	243	69,66
6	29	1,29	240,14	22,48	13,93	195	55,90
7	11	0,46	203,91	23,91	4,49	63	18,06
8	25	1,47	306,84	17,01	15,34	215	61,63
9	25	2,35	442,04	10,64	22,10	309	88,58
10	27	2,19	379,44	12,33	20,49	287	82,27
11	18	1,14	364,17	15,79	13,11	184	52,74
12	10	0,62	288,50	16,13	5,77	81	23,22
13	31	4,72	526,90	6,57	32,67	457	131,00
14	24	2,27	349,63	10,67	16,78	235	67,36
15	22	2,59	389,86	8,49	17,15	240	68,80
16	7	0,91	617,14	7,69	18,14	254	72,81
Total	331	30,34	6.158,76	199,78	263,18	3.685	1.056,3

*Distância percorrida ao final dos 14 meses de monitoramento entre os 16 estratos.

6.9 Simulação de cenários hipotéticos comparativos de fêmeas de *Aedes (Stegomyia) spp.*

O IDO e IPO obtidos para cada um dos 16 estratos não apresentaram uma distribuição normal segundo o teste de *Shapiro Wilk* (IPO: $W= 0.91266$ e $p= 1.902e-06$; IDO: $W= 0.96097$ e $p= 0.0023$). Por tanto a comparação dos valores foi realizada pela prova de *Kruskal Wallis* indicando que pelo menos

um dos valores dos índices estimados por estrato foi diferente dos outros (IPO: $X^2=30.659$ e $p=0.0097$; IDO: $X^2=30.786$ e $p=0.0093$). O estrato que apresentou o valor de IPO mais alto foi o sete (54,55 % $\pm$ 25,40) e o valor mais baixo foi o estrato três (4,17 % $\pm$ 6,24) que corresponde a uma área industrial portuária (Gráfico 15).

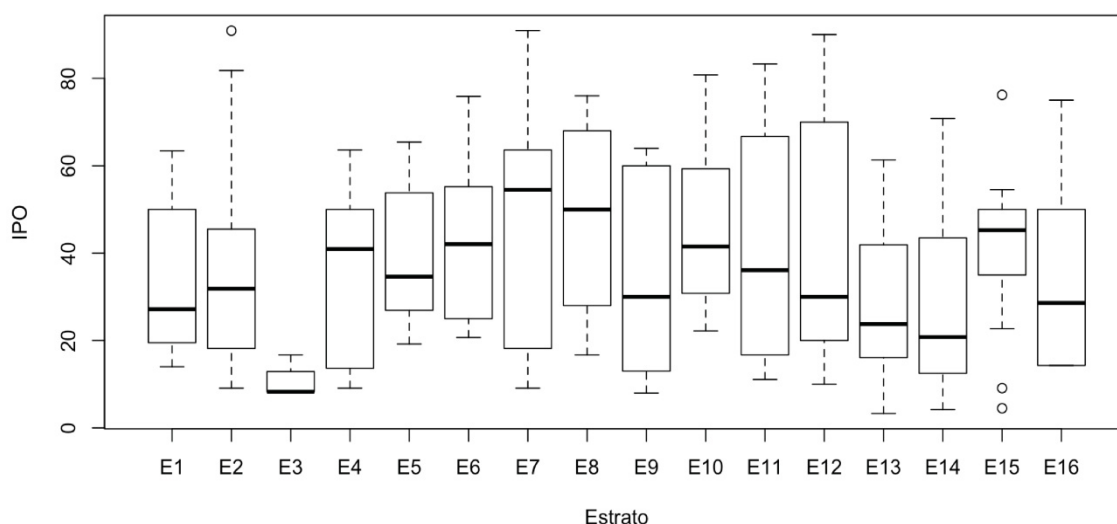


Gráfico 15. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR. E= estrato.

Conforme os resultados do IDO, o estrato um obteve o valor mais alto (55,91 $\pm$ 19,52). O valor mais baixo do IDO ocorreu no estrato três (2,00 $\pm$ 12,88 (Gráfico 16).

Mediante o teste de *Dunn* foi possível identificar a semelhança dos valores dos índices de cada um dos estratos (Tabela XIV). O IPO teve pouca variação dos valores médios, mas foi observada um leve agrupamento dos valores apresentados pelos estratos 4, 9, 10, 13, 14 e 16. Igualmente os valores do IDO, foram semelhantes entre si com exceção dos estratos um e três (Tabela XIV).

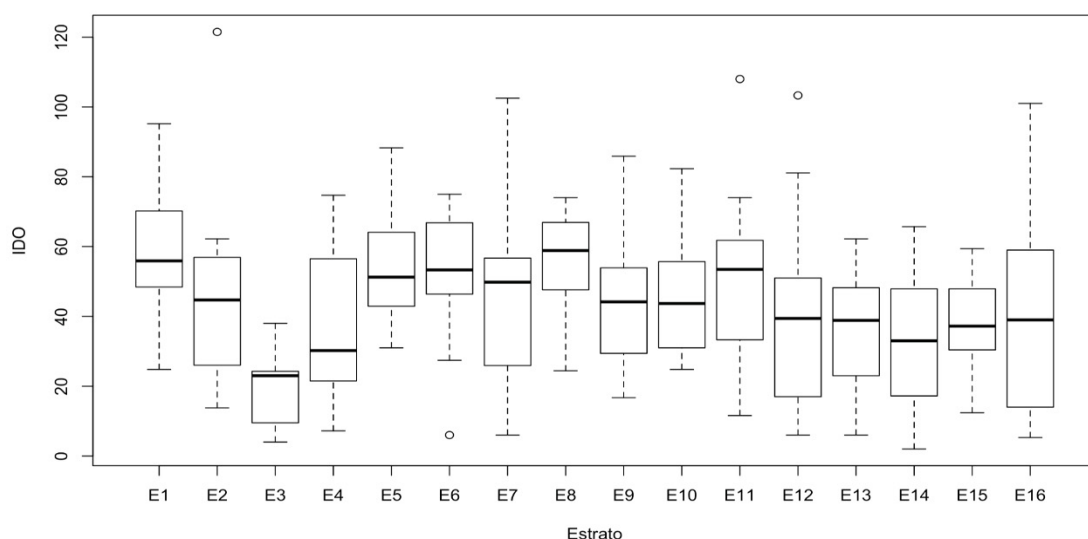


Gráfico 16. Índice de densidade de ovos (IDO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR. E= estrato.

Tabela XIV. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.

Estrato	IPO (%)	Desvio Padrão (DP)	Teste de Dunn	IDO (n)	Desvio Padrão (DP)	Teste de Dunn
1	16,16	27,10	a	55,91	19,52	a
2	24,15	31,82	a	44,70	26,75	abc
3	6,24	4,17	b	2,00	12,88	c
4	22,10	31,82	ab	23,70	24,08	abc
5	16,71	34,62	a	51,25	16,24	ab
6	16,83	42,06	a	55,51	14,82	ab
7	25,40	54,55	a	49,82	26,56	abc
8	20,68	50,00	a	55,07	17,62	ab
9	21,75	30,00	ab	41,80	18,24	abc
10	17,31	41,52	ab	45,73	15,24	ab
11	26,27	36,11	a	53,15	25,27	ab
12	29,73	30,00	a	37,66	31,06	abc
13	17,76	23,78	ab	38,83	17,47	bc
14	21,09	20,83	ab	30,50	21,91	bc
15	18,40	45,23	a	37,18	13,23	abc
16	24,38	21,43	ab	18,00	30,99	abc

A partir dos resultados gerados durante as coletas, foram selecionados 10 pontos por estrato de forma aleatória para realizar uma nova interpretação dos índices IPO e IDO. Para o estrato 16, foram assinaladas sete armadilhas por mês devido ao número reduzido de prédios na área urbanizada delimitada que apresenta (Tabela XV - ANEXO 8).

Tabela XV. Índice de positividade de ovitrampa (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) gerado a partir da randomização dos dados de campo de cada estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.

Estrato	IPO (%)	Desvio padrão (DP)	IDO (n)	Desvio padrão (DP)
1	35,00	18,99	62,00	35,36
2	35,00	25,34	42,01	31,77
3	0,00	7,56	0,00	13,05
4	30,00	23,16	22,50	22,52
5	40,00	18,29	55,17	36,28
6	35,00	25,63	35,50	24,75
7	55,00	24,33	49,60	28,57
8	40,00	23,86	52,50	21,32
9	30,00	20,98	41,38	25,94
10	40,00	20,16	52,00	29,86
11	40,00	30,43	47,38	30,12
12	30,00	30,35	37,66	30,63
13	25,00	23,03	36,06	27,87
14	25,00	20,91	34,85	32,84
15	40,00	17,37	43,60	11,64
16	21,43	27,71	18,00	23,20

Conforme os dados randomizados, o estrato com o valor do IPO mais alto ocorreu no estrato sete (55,00 % $\pm$ 24,33) (Gráfico 17), e o estrato um apresentou o maior valor do IDO (62,00 $\pm$ 35,36), coincidindo em ambos casos (IPO e IDO) com os resultados obtidos de campo que mostram ao estrato 7 e estrato um com os maiores valores em cada índice (Gráfico 15 e 16).

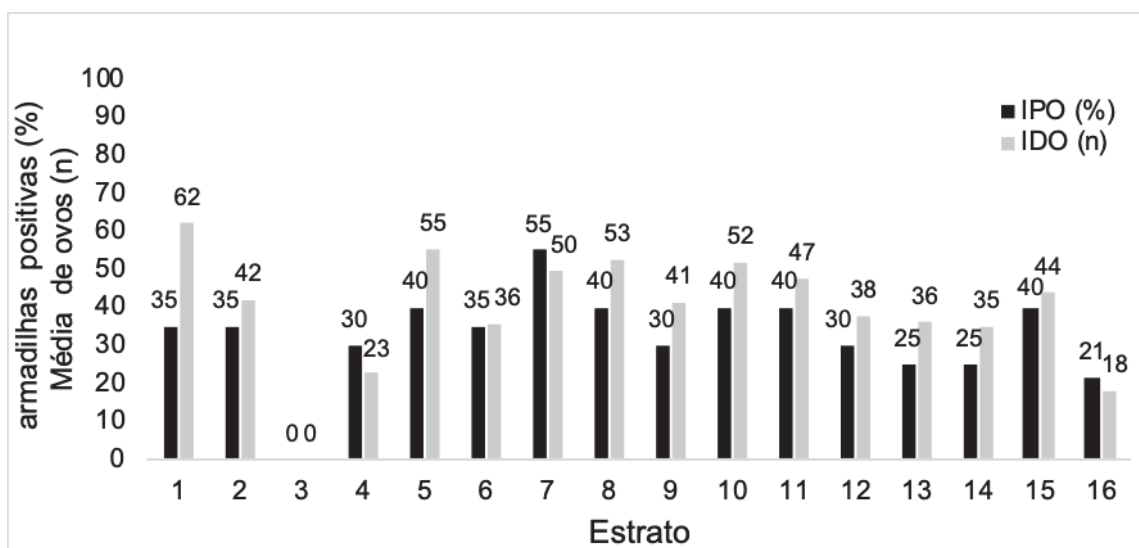


Gráfico 17. Índice de positividade de ovitrampas (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO) por estrato a partir de dados randomizados durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR.

Conforme as diferentes dimensões demográficas que existem no município de Paranaguá, a partir da informação de distância delimitada entre cada armadilha (200-300 metros aprox. dois quarteirões) realizou-se uma apreciação sobre o número de quarteirões, imóveis existentes e habitantes que se encontram em cada estrato (Tabela XVI). Segundo informes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2018 em Paranaguá, existe uma população de 153.666 pessoas, registrando 46.578 imóveis oficiais dentre os quais 40.492 correspondem a domicílios, contabilizando um total de 40.137 famílias (3,8 pessoas por família) (IBGE, 2018). Dados oficiais da Prefeitura de Paranaguá reportaram que existem cadastrados cerca de 70.000 imóveis (Paraná, 2019). Considerando a densidade demográfica, os estratos seis e sete apresentam maior número de pessoas por área (10.251 e 10.904 hab/km²), sendo um dado relevante considerando maior chance de fonte de alimentação de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Tabela XVI).

Tabela XVI. Estimativa do número de quarteirões, número de imóveis, e habitantes localizados em cada um dos 16 estratos que foi dividido o município de Paranaguá-PR.

Estrato	Área do estrato (km ²)	Número de Quarteirões*	Número de imóveis*	Número de habitantes**	Habitantes/km ²
1	4,25	126	5.040	19.152	4.506
2	1,18	33	1.320	5.016	4.250
3	1,52	36	1.440	5.472	3.600
4	1,39	33	1.320	5.016	3.600
5	1,99	78	3.120	11.856	5.957
6	1,29	87	3.480	13.224	10.251
7	0,46	33	1.320	5.016	10.904
8	1,47	75	3.000	11.400	7.755
9	2,35	75	3.000	11.400	4.851
10	2,19	81	3.240	12.312	5.621
11	1,14	54	2.160	8.208	7.200
12	0,62	30	1.200	4.560	7.354
13	4,72	93	3.720	14.136	2.994
14	2,27	72	2.880	10.944	4.843
15	2,59	66	2.640	10.032	3.873
16	0,91	21	840	3.192	3.507
Total	30,34	993	39.720	150.936***	2.992

* Valores obtidos a partir da relação do número de armadilhas que foram instaladas, a distância entre cada uma delas (200-300 metros).

** Valores obtidos a partir da relação do número de armadilhas que foram instaladas, a média de prédios que existem dentro de um quarteirão (33), o número de pessoas por família (3,8), o número de famílias (40.137), e número de imóveis recenseados (46.578) que existem no município de Paranaguá
<http://www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=83200>.
<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/paranagua/pesquisa/23/24304>

*** O número de habitantes registrados em Paranaguá é de 153.666 com uma densidade demográfica de 169,92 hab/km² (IBGE, 2018).

7 DISCUSSÃO

O Programa nacional de controle de dengue (PNCD) disponibiliza diferentes metodologias para o monitoramento de infestação de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* em cada uma de suas fases de desenvolvimento, destacando-se a Pesquisa Entomológica que visa identificar áreas com maior infestação em diferentes momentos do ano, permitindo ações de intervenção preventivas (controle mecânico/ambiental) ou de ação imediata (controle químico ou biológico) durante épocas do ano com maior abundância vetorial, que antecedem a períodos epidêmicos por alguma arbovirose (Brasil, 2009; OPAS, 2019).

Neste estudo, a detecção de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foi realizado mediante o uso de armadilha de oviposição tipo “ovitampa” durante catorze meses no período de junho de 2017 e novembro de 2018 em Paranaguá, Paraná. Com isso, foi estimado o nível de infestação mediante índices entomológicos (IDO e IPO) considerando a atividade da população das fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e a colocação de ovos como o resultado da hematofagia em locais adequados para o desenvolvimento das formas imaturas, considerando a influência de variáveis climáticas na distribuição dos vetores.

Diversos trabalhos enfatizam que um programa de monitoramento vetorial efetivo deve incluir mais de um método que permita a geração de dados históricos comparativos, e que ademais devem ser adequadas à realidade local para serem executadas de forma integrada e seletiva (Honório *et al.* 2009; Regis *et al.* 2013; Codeço *et al.* 2015; Barrera *et al.* 2018).

Dibo e colaboradores em 2008, avaliaram o uso de ovitrampas na detecção de *Ae. aegypti* no município de Mirassol, São Paulo. Os autores mencionaram que a ovitampa mostrou especificidade na detecção de *Ae. aegypti*, sendo que, o aumento dos índices entomológicos teve relação com a maior incidência de casos de dengue a partir da segunda semana de janeiro até o final de fevereiro.

Honório e colaboradores em 2009, caracterizaram a densidade populacional de *Ae. aegypti* mediante o uso de ovitrampas e armadilhas para alados em três regiões do Rio de Janeiro. Os autores mencionam que a ovitrampa foi o método mais sensível na detecção do nível de infestação de *Ae. aegypti*. Os índices entomológicos apresentaram os valores mais altos (IPO=90%) durante os meses de início e final do verão. de Melo e colaboradores em 2012, compararam três tipos de metodologias (ovitrampas, pesquisa larval e captura de alados) na detecção e abundância de *Ae. aegypti* em áreas urbanas de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Os resultados apontaram que a ovitrampa apresentou maior sensibilidade na detecção de áreas de infestação de *Ae. aegypti* quase seis meses antes da ocorrência de casos por dengue. Temperaturas acima de 25°C tiveram relação com maiores níveis de abundância de *Ae. aegypti* assim como de número de casos por dengue durante o verão.

O Ministério da Saúde (MS) do Brasil, recomenda o levantamento do Índice Amostral (LIA) através do método do *LIRAA* para estimar o grau de infestação de *Ae. aegypti* mediante a obtenção do Índice de infestação predial (IIP), o Índice do Tipo de Recipiente (ITR) e Breteau (IB) de *Aedes aegypti* (Brasil, 2009; Brasil, 2013). O método de pesquisa larvária (LIA-*LIRAA*) implementado pelos serviços de saúde em Paranaguá contempla uma amostragem a cada dois meses ao longo do ano. Um dos aspectos relevantes das atividades de Pesquisa larvária (*LIRAA*) é o fornecimento da classificação e tipo de criadouros de *Aedes* spp. encontrados em cada um dos imóveis amostrados (Focks, 2003; Codeço *et al.* 2015). No entanto, esta metodologia está sujeita a problemas de estimação em áreas com grau de infestação por *Ae. aegypti* e / ou *Ae. albopictus* com relação ao número de criadouros analisados (de Resende *et al.* 2013). Os índices entomológicos utilizados para monitoramento de densidade vetorial têm que ser aplicados continuamente, acrescentando os dados históricos que permitam comparar retrospectivamente a realidade atual da área amostrada.

Estudos comparativos entre pesquisa larval (método tradicional) e armadilhas de oviposição em centros urbanos indicam que o monitoramento

vetorial realizado por meio da utilização de ovitrampas é mais específico, mesmo em áreas consideradas não infestadas (Codeço *et al.* 2009; de Resende *et al.* 2013; Regis *et al.* 2013).

Para as atividades de pesquisa larval, a Secretaria Municipal de Saúde de Paranaguá disponibiliza 56 Agentes de Controle de Endemias (ACEs) para os 70.000 imóveis cadastrados pelo município na área urbana e rural (Paranaguá, 2019). Por outro lado, o MS recomenda 1 ACEs para cada 900 imóveis destinados a atividades de detecção e controle larvário em municípios com grau de infestação por *Ae. aegypti* (Brasil, 2009). Com isso, o desenvolvimento de atividades relacionadas ao monitoramento e controle vetorial de *Ae. aegypti* em Paranaguá teria uma cobertura espacial de 50.400 imóveis, deixando sem cobertura um total 19.600 imóveis.

O Manejo Integrado de Vetores (MIV) implementado pelos ACEs evita que os níveis de infestação vetorial aumentem exponencialmente, as atividades realizadas pelos ACEs são relevantes já que podem ser consideradas como um fator de proteção para sociedade contra a transmissão de arboviroses (Chiaravalloti-Neto *et al.* 2006; Cazola *et al.* 2009; Sayono *et al.* 2019).

Neste trabalho a armadilha de oviposição foi utilizada como ferramenta para mensurar a atividade da população das fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* considerando a colocação de ovos como o resultado da hematofagia em locais adequados para o desenvolvimento das formas imaturas. O tempo de instalação e retirada das 331 ovitrampas foi de quatro dias. Entre os 70.000 imóveis cadastrados pela prefeitura de Paranaguá (Paranaguá, 2019), foi possível uma boa cobertura espacial de 211 imóveis por cada ovitampa instalada. O Ministério da Saúde (MS) recomenda o uso de 1 ovitampa para cada 225 imóveis (Brasil, 2009).

A porcentagem de recuperação das ovitrampas obtida durante os 14 meses de avaliação foi de 98,8%. Regis e colaboradores em 2008, reportaram 99% de efetividade na recuperação das 464 ovitrampas utilizadas durante 52 semanas no programa de monitoramento de *Ae. aegypti* em Recife, Brasil. O nosso resultado de porcentagem de

recuperação de ovitrampas pode ser considerado como eficiente originado pelo processo de acompanhamento das ovitrampas em campo e que contou com a participação de três equipes compostas por um motorista, um funcionário que leva o controle da planilha de campo e GPS e dois agentes responsáveis pela logística de instalação e retirada das armadilhas. A não recuperação das 48 armadilhas durante o período de estudo foi devido ao uso do recipiente ou da palheta Eucatex® para outras finalidades domésticas ou descarte da mesma pelos residentes.

Entre os nossos resultados de armadilhas positivas, em setembro (2017) foi detectado os menores números, enquanto que os valores mais altos foram encontrados durante os meses de dezembro (2017) e março de (2018), estimando uma média geral de 36,3% de ovitrampas positivas ao finalizar os 14 meses de coleta. Porém, o menor número de ovos ocorreu em outubro (2017) distribuído em número superior de armadilha, indicando ampliação da área de atividade dos vetores. A média dos índices (IPO e IDO) depois de 14 meses de coleta foi estimado em: 36,3% e 50.5 ovos respectivamente.

Dibo e colaboradores em 2008, reportaram uma média de 58% de ovitrampas positivas e uma média de 12.739 ovos ao finalizar 13 meses de amostragem em Mirassol, São Paulo, Brasil. Valores baixos na positividade de ovitrampas e número de ovos de *Ae. aegypti* foram observados durante os meses de junho-agosto. Serpa e colaboradores em 2013, encontraram uma média de 28,9% de ovitrampas positivas, com uma média 1.558 ovos coletados após de 13 meses de amostragem em São Sebastião, São Paulo, Brasil. Valores baixos de armadilhas positivas e número de ovos ocorreram durante os meses de junho-agosto (2017).

Regis e colaboradores em 2014, reportaram uma média de armadilhas positivas entre 60-80%, considerando uma média de 13.469 ovos durante 28 meses de coleta em Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. Níveis baixos de armadilhas positivas e ovos coletados de *Ae. aegypti* ocorreram durante os meses de novembro-fevereiro. Diferentes estudos sugerem que a distribuição e abundância de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. se

predispõe por fatores abióticos relacionados com a variabilidade climática, e o padrão da sazonalidade local (Dibo *et al.* 2008; Regis *et al.* 2013; Serpa *et al.* 2013).

Neste trabalho, foram retirados 84.067 ovos no município de Paranaguá durante os 14 meses de avaliação, refletindo uma retirada de 17.251 fêmeas de *Aedes* spp. O valor mais alto de número de ovos coletados (12.034) foi encontrado em dezembro (2017) considerando uma média mensal de 6.005 ovos ao finalizar os 14 meses de monitoramento.

Em nossos resultados, os ovos provenientes de campo tiveram um valor médio da porcentagem de eclosão de 40%, com exceção dos meses de setembro e novembro de 2018 quando a porcentagem foi de 2%. Esta redução pode ser devida à permanência (5 meses) das palhetas (Eucatex®) em condições controladas até o momento de induzir a emergência dos ovos. A porcentagem de eclosão dos ovos obtidos nos outros períodos está de acordo com a descrita por diversos autores para estas e outras espécies de culicídeos (Byttebier *et al.* 2014). Trabalhos comparativos demonstraram que existe uma queda importante na porcentagem de eclosão de ovos 120 dias após a coleta e submersão em água (Silva & Silva, 1999; Soares-Pinheiro *et al.* 2017).

Dibo e colaboradores em 2008, estimaram uma taxa de emergência larval de 29% (15.631 larvas) a partir de 54.245 ovos coletados mediante ovitrampas em uma área urbana de Mirassol, São Paulo. Entre as larvas identificadas (L3), 99,2% pertenciam a *Ae. aegypti* e o 0,8% a *Ae. albopictus*. Serpa e colaboradores em 2013, encontraram uma taxa de emergência de larvas de 59,5% (8.851) a partir de 14.868 (100%) ovos coletados mediante ovitrampas em áreas urbanas de São Sebastião, São Paulo. Entre as larvas identificadas, 91% (8.058) pertenciam a *Ae. aegypti* e 9% (793) a *Ae. albopictus*. Byttebier e colaboradores em 2014, calcularam uma porcentagem de eclosão de 48% em ovos coletados mediante ovitrampas em Buenos Aires, Argentina.

Entre os fatores abióticos que podem afetar a taxa de eclosão de ovos se encontra a temperatura, o estado de quiescência dos ovos, a

longevidade do tempo de colocação dos ovos no meio aquático, relacionado com a viabilidade no processo de embriogênese (Byttebier, *et al.* 2014).

Em nossos resultados, a avaliação das variáveis climáticas com o número de ovos, índices entomológicos e número de armadilhas positivas, apresentaram correlações principalmente moderadas em função das temperaturas assim como correlações inversas com o número de dias secos que antecederam as instalações das ovitrampas. Variáveis como a precipitação pluviométrica, a umidade relativa e a velocidade do vento não tiveram correlações significativas com o número de ovos, armadilhas positivas para imaturos de *Aedes* spp. e os índices entomológicos (IPO e IDO).

Honório e colaboradores em 2009, encontraram uma associação significativa entre a média de temperatura (22-24°C) desfasada uma semana (com relação na semana de cada coleta) com o aumento dos índices entomológicos (IDO e IPO) no Rio de Janeiro, Brasil. A precipitação acumulada com três a cinco semanas de desfasamento, mostrou baixa relação com o aumento dos índices. De Melo e colaboradores em 2012, relacionaram a temperatura máxima acima de 25 (°C) com a maior abundância de *Ae. aegypti* nos meses de verão em Belo Horizonte, Minas Gerais Brasil. de Resende e colaboradores em 2013, reportaram uma correlação positiva entre o aumento da temperatura média (22-25 °C) com o IPO, enquanto que a frequência de chuvas e a precipitação acumulada que mostraram uma correlação negativa durante os meses de verão no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais Brasil.

Em Paranaguá, nos últimos 35 anos o processo de urbanização e serviços industriais tem aumentado consideravelmente (Paranaguá, 2011; IPARDES, 2019). Dados históricos dos últimos 33 anos reportaram uma variabilidade atípica na temperatura de Paranaguá (Mello *et al.* 2017). As temperaturas médias anuais superiores a 22°C ocorreram a partir de 2012, indicando uma possível tendência no aumento de temperatura na cidade, principalmente em áreas urbanas (Mello *et al.* 2017). O processo de urbanização pode ter levado a um aumento na média de temperatura na

região (Vanhoni & Mendonça, 2008). Este fenômeno poderia explicar a maior atividade de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* durante os meses com temperaturas mais quentes.

A temperatura é um dos fatores abióticos que guardam maior relação com a biologia e comportamento dos vetores (Rowley & Graham, 1968). Em *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, a temperatura influencia a embriogênese, a durabilidade do estado de quiescência e na eclosão dos ovos, em estádios imaturos temperaturas menores podem comprometer o desenvolvimento larval atrasando o crescimento em cada estágio (L1-L4), o que condicionaria uma redução na taxa de sobrevivência de alados (Couret *et al.* 2014; Reinhold *et al.* 2018).

Em fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, a temperatura condiciona processos intrínsecos relacionados com o comportamento de busca e alimentação sanguínea, a durabilidade de cada ciclo gonotrófico (tempo que transcorre entre um primeiro repasto sanguíneo até a oviposição e busca de uma nova alimentação), a fertilidade, longevidade (Couret *et al.* 2014) e chance de dispersão mediante o voo, temperaturas entre 21-27°C refletiram uma otimização no voo de fêmeas de *Ae. aegypti* (Rowley & Graham, 1968).

Neto & Navarro-Silva em 2004, encontraram uma duração de 3,9 dias do primeiro ciclo gonotrófico em fêmeas de *Ae. albopictus* alimentadas com sangue num padrão de temperatura de 20-27°C, dando a 33 ovos durante o primeiro ciclo gonotrófico. Baak-Baak e colaboradores em trabalho realizado no México em 2017, encontraram que a durabilidade do ciclo gonotrófico em fêmeas de *Ae. aegypti* foi de três dias durante épocas de secas, em época de chuvas com uma temperatura de 26°C o tempo de duração foi de quatro dias.

Em Paranaguá, existe uma tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, porém sem uma estação seca definida (Vanhoni & Mendonça, 2008). No entanto, precipitações atípicas reportadas no ano de 1998, originadas por um intenso fenômeno de El Niño, causaram a maior média de pluviosidade (3.171 mm) dos últimos 50 anos (Penalba & Rivera, 2016). Enquanto que os eventos de La Niña influenciam na diminuição dos

valores totais pluviométricos na região (Penalba & Rivera, 2016). Trabalhos têm encontrado uma relação com o aumento da temperatura mínima (20-22 °C) e máxima (30-35°C), e a precipitação pluviométrica acumulada (acima de 100 mm) com um maior número de ovos de *Ae. aegypti*, assim como na incidência de casos de dengue concentrados durante os meses de verão (Dibo *et al.* 2008). Por outro lado, na região Sul do Brasil, fenômenos de precipitação excessivas anuais tem relação com a variabilidade climática (Penalba & Rivera, 2016).

Embora em nossos resultados e análises de correlação entre o número de ovos e a precipitação acumulada não tenham sido significantes, existem trabalhos que descrevem uma relação direta da chuva com o aumento da densidade de alados devido à influência na disponibilidade e manutenção de criadouros distribuídos espacialmente em áreas urbanas e rurais (Dibo *et al.* 2008; Regis *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.* 2015).

Considerando que a umidade relativa no ar durante a avaliação não influenciou a atividade das fêmeas, é uma condição importante para proteger os ovos da dessecação podendo manter a viabilidade dos mesmos por longos períodos tempo principalmente em presença de chuvas (Byttebier *et al.* 2014). A umidade relativa do ar em Paranaguá oscilou entre 56% nos meses com temperaturas baixas, aumentando até 95% durante os meses com temperaturas elevadas. A velocidade do vento em Paranaguá teve pouca variação durante o período avaliado (1,3-2,2 m/s).

Os mapas de densidade de ovos gerados a cada mês de trabalho favoreceram a interpretação da análise espacial dos resultados principalmente no acréscimo do número de ovos e do IPO e IDO, nas estações da primavera 2017 e verão de 2018, assim como a sazonalidade com menor grau de infestação (inverno 2017). Regis e colaboradores em 2013, associaram áreas de maior infestação de *Ae. aegypti* com valores elevados de IPO mediante o uso de mapas de densidade de Kernel em Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. O uso de mapas de densidade vetorial mediante um SIG é considerado uma ferramenta de qualidade, que

permite observar ao longo do tempo as mudanças na distribuição espacial vetorial (Eisen & Lozano-Fuentes, 2009, Regis *et al.* 2014; Parra *et al.* 2018).

Segundo a WHO/WHOPES, recomenda-se a disponibilização aos programas de controle vetorial diferentes ingredientes ativos pertencentes aos grupos toxicológicos organofosforados (OP), carbamatos (CAR) e piretróides (PIR) para o controle vetorial de *Aedes* spp. (WHO,2006). O Ministério da Saúde (MS) no Brasil, providencia aos estados o uso de malathion (EA 44%) em aplicações espaciais a Ultra Baixo Volume para controle de adultos de *Ae. aegypti* (Brasil, 2019c). A Secretaria de Saúde do Paraná (SESA), até o 2019 disponibilizou para os municípios o uso de malathion para uso espacial (Ultra Baixo Volume) contra *Ae. aegypti* em situações específicas (bloqueio de casos por arbovirose) na diminuição de alados durante períodos epidêmicos (Brasil, 2009; Paraná, 2019).

No município de Paranaguá, entre os dias 11 de dezembro de 2017 até o 12/01/2018 a 1ª. Regional de Saúde (SESA-Paraná) realizou cinco ciclos de aplicação de malathion a “Ultra Baixo Volume” (Paraná, 2019) após a coleta de dezembro de 2017 quando teve o aumento exponencial do número de ovos coletados (12.034) e aumento da porcentagem de armadilhas positivas (>50 %). As atividades de aplicação espacial tiveram uma durabilidade de três dias contínuos, no total foram planejados cinco ciclos de aplicação espacial de malathion a Ultra Baixo Volumen (Brasil, 2009).

Segundo nossos resultados, é possível inferir que as atividades de controle mecânico (remoção de criadouros) e a utilização de inseticida (adulticida) malathion a Ultra Baixo volumen (aprox. 4,2 mil litros) iniciado entre os dias 11 de dezembro de 2017 até 12 de janeiro de 2018, evitaram que a densidade vetorial continuasse aumentando, refletindo-se na queda do número de ovos, do IPO e IDO de janeiro de 2018. Mesmo que as condições climáticas 30 dias antes da coleta de janeiro de 2018 (temperatura mínima acima de 20°C, temperatura máxima de 30°C, e 340, 6 mm de precipitação acumulada) fossem favoráveis para uma maior atividade de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

Sete veículos foram disponibilizados e acoplados com máquinas para o tratamento e nebulização espacial na cidade (folha do litoral, 2017). Cada veículo contou com uma máquina com capacidade de espargir 40 litros de malathion por jornada de trabalho por dia, estabelecido com os horários de comportamento de atividade de *Ae. aegypti* (Gazeta do povo, 2016). Foi possível estimar que aproximadamente 4,2 mil litros de malathion foram espargidos ao finalizar os cinco ciclos de aplicação espacial a Ultra Baixo Volume na cidade de Paranaguá. Por outro lado, foram promovidas atividades de remoção de criadouros e campanhas para conscientizar a população. As atividades foram realizadas em todo o município, mas priorizando o controle nos estratos seis, sete e oito onde teve maior densidade de ovos (1ª. Regional de Saúde - comunicação pessoal).

Em Paranaguá, foi possível detectar a presença de *Ae. aegypti* em maior frequência ao longo do ano, com menor grau de infestação durante os meses de julho-agosto (inverno) de 2017 acrescentando sua população entre os meses de setembro-dezembro (primavera) e alcançando o pico de infestação nos meses de fevereiro-março (verão) de 2018. A antropofilia em *Ae. aegypti* é uma das características que fazem deste o vetor principal de arbovirose na América Latina (Bhatt *et al.* 2013). A observação de atividade de fêmeas de *Ae. aegypti* (oviposição) durante os meses com baixas temperaturas e com precipitação pluviométrica acumulada menor a 75 mm (junho-agosto de 2017) estaria relacionado com a disponibilidade de armazenamento de água dentro dos imóveis, ou da presença de recipientes com água nos arredores dos imóveis. É sabido que *Ae. aegypti* mantém o seu desenvolvimento em criadouros intradomiciliares que armazenam água continuamente para atividades de consumo humano (Scott, *et al.*, 2000; Morrison *et al.*, 2004; Kraemer *et al.*, 2015). *Ae. aegypti* apresentou maior abundância (90%) em comparação com *Ae. albopictus* (10%) com diferença na sua distribuição em áreas urbanizadas e rurais.

Um dado relevante com nossos resultados, foi que a maior abundância de *Ae. albopictus* emergidos ocorreu durante os meses do verão de 2018, de fato, a precipitação acumulada de chuva se manteve maior

durante este período de tempo. Este comportamento estaria relacionado principalmente pelo comportamento exofílico de *Ae. albopictus*, a chuva constante durante essa época somado ao fator da disponibilidade de diferentes criadouros que podem armazenar água, tanto em áreas com maior cobertura vegetal, assim como em áreas da cidade mais urbanizadas (Tsuda *et al.* 2006). Trabalhos referem que a frequência na precipitação (por mínima que aconteça) influencia na disponibilidade de criadouros de *Ae. albopictus*, devido ao comportamento de colocar seus ovos em criadouros que possam existir no peridomicílio e áreas peri-urbanas e áreas com presença de cobertura vegetal (Scott, *et al.*, 2000; Morrison *et al.* 2004; Kraemer *et al.* 2015).

Se ponderarmos que cada fêmea de *Ae. aegypti* tem o potencial de colocar em média 200-300 ovos desenvolvendo quatro ciclos gonotróficos durante toda sua existência de aproximadamente 30 dias em condições normais (Reiter, 2007; Goidin *et al.* 2015; Day, 2016), está sendo evitado o aumento de aproximadamente 1'500.000 novos adultos na área de estudo. Assim, embora as ovitrampas sejam um método de monitoramento, também podem contribuir parcialmente com o controle dos vetores, principalmente em situações em que os arbovírus estão circulando.

Os baixos níveis de infestação num município dependem da frequência do armazenamento e descarte correto de lixo, uma vez que esses têm a possibilidade de se converterem em criadouros artificiais (retenção de água em época de chuvas); igualmente o sistema de fornecimento de água potável contínuo e gestão na implementação de rede de esgoto municipal estaria relacionado na diminuição de vetores (Honório *et al.* 2009; Regis *et al.* 2014). Apesar da cobertura de saneamento existente na cidade de Paranaguá, existem problemas em áreas irregulares que não possuem uma estrutura adequada de serviços (Paranaguá, 2011).

A transmissão vertical de arbovírus é uma condição que tem sido apresentada por diversos autores em campo (Rosen, 1987; Adam & Boost, 2010) e laboratório (Sánchez-Vargas *et al.*, 2018), mesmo assim, ocorre com baixa frequência (Bosio *et al.* 1992; Joshi, *et al.* 2002). Considerando

que foram avaliadas aproximadamente 50% das fêmeas procedentes dos ovos coletados no município de Paranaguá, podemos sugerir que a transmissão vertical dos arbovírus dengue, Zika e chikungunya não é o mecanismo de manutenção desses vírus na região de estudo, é importante e necessário indicar que durante o período de desenvolvimento do projeto (01 junho de 2017 a 13 novembro 2018), não foram confirmados casos dos arbovírus no município (ANEXO 9 e 9.1).

A transmissão vertical ocorre em dois momentos: transmissão transovariana partindo da presença de algum tipo de arbovírus através de uma alimentação sanguínea infectada, disseminando-se através dos ovários e tecido germinal (incluindo oócitos), chegando infectar o embrião das fêmeas ou durante a oviposição, devido aos ovos possuírem a micrópila (incisão nos ovos), o que permite o acesso viral; assim como por transmissão trans-ovo, na qual o arbovírus se encontra de maneira superficial nos ovos (Rosen, 1987, Higg & Beaty, 2004).

Considerando nossos resultados podemos indicar dois cenários: o primeiro deles foi durante os meses de junho-2017 até outubro 2017 onde a chance de identificar fêmeas infectadas com algum dos arbovírus de maneira natural (via transmissão vertical) era maior já que durante esse período foram avaliadas quase a totalidade das fêmeas de ambas as espécies, além de que esses meses de avaliação também correspondem ao que seria o período inter-epidêmico da dengue em Paranaguá (junho de 2017 até outubro 2017).

O segundo cenário obedece aos alados vindos do aumento dos ovos coletados de novembro de 2017 a junho de 2018 causando uma redução na avaliação de transmissão vertical em fêmeas de *Ae. aegypti*. No caso de *Ae. albopictus*, a avaliação se manteve em cerca de 70% das fêmeas que emergiram durante o período de novembro 2017 a junho 2018.

Pode ser mencionado como antecedente a presença dos arbovírus no município de Paranaguá no período compreendido entre julho de 2009 e junho de 2020 (SE 31-30), quando foram confirmados 17.620 casos de dengue, assim como no período de julho de 2015 e maio de 2017 (SE 31-

22) foram diagnosticados 15 casos de chikungunya e 10 casos Zika (ANEXO 9 e 9.1).

Alguns dos fatores que podem estar associados à ausência de fêmeas infetadas são o período de incubação extrínseca de fêmeas de campo (DENV 7-10 dias), as poucas chances do vírus se espalhar em ovários durante os primeiros dias de idade das fêmeas em campo, o ciclo gonotrófico das fêmeas e a diversidade de cada um dos arbovírus (DENV sorótipo 1-4) (Grunnil & Boost, 2016). Trabalhos demonstraram que, sob condições de laboratório a taxa de infecção de transmissão vertical por DENV-2 em machos e fêmeas de *Ae. aegypti* (F₁) é de 14% (Sánchez-Vargas, *et al.* 2014). Por outro lado, os resultados deste estudo apontaram que os ovos de um segundo e terceiro ciclo gonotrófico (17 e 21 dias post-infecção) tiveram partículas virais depois de uma segunda e terceira alimentação sanguínea sem partículas virais. Os adultos avaliados da F₁ do primeiro ciclo gonotrófico não apresentaram carga viral.

Em outros estudos de laboratório, avaliaram a taxa de transmissão vertical de DENV, sendo reportado entre 1-4% da progênie de espécies de *Aedes* spp. (Bosio *et al.* 1992; Joshi, *et al.* 2002). Através de modelos matemáticos é possível estabelecer quais seriam as condições ambientais que favorecem a manutenção de DENV a partir da transmissão vertical, não obstante, para que a transmissão vertical de DENV seja efetiva e com capacidade de se manter como mecanismo de circulação natural é preciso uma taxa de transmissão entre 20-30% da progênie, sem necessidade de hospedeiros que amplifiquem o vírus (Adams & Boots, 2010).

Uma fêmea de *Aedes* spp. infectada por algum dos sorotipos de DENV1-4 se mantém assim ao longo da sua vida, porém, alimentações posteriores da infecção de sangue (sem presença viral) coadjuvam a uma maior disseminação viral em órgãos secundários (Molina-Cruz *et al.* 2005), esta condição se observa em fêmeas de *Ae. albopictus* infetadas por ZIKV (Armstrong *et al.* 2018).

No presente estudo foi possível delimitar e identificar as regiões com positividade consecutiva de ovitrampas e acompanhar a variação da quantidade de ovos mensalmente no município. Detalhes considerados no momento da instalação das ovitrampas como endereço do imóvel, local de colocação no imóvel e contato telefônico do morador foram fundamentais para garantir a coleta da ovitrampa por qualquer um dos membros da equipe de trabalho. A importância da apresentação dos resultados e discussão dos mesmos quatro dias após a retirada das armadilhas foi um elemento fundamental para comprovar a efetividade do processo de monitoramento vetorial, uma vez que eram fornecidos dados concretos para que os profissionais envolvidos com a saúde pudessem definir as áreas estratégicas para intervenção e avaliar em tempo real o impacto da atividade vetorial e das ações levadas a termo para redução da presença do vetor.

Um programa de controle vetorial deve ter a capacidade de estimar o momento em que o conjunto dos fatores que intervêm na dinâmica das DTVs convergiram (arbovírus, hospedeiro vertebrado e vetor), isto representa uma complexidade não só no tempo e espaço, mas também na incerteza de que em algum momento esta interação poderá desencadear um surto ou no pior dos casos uma epidemia.

Por outro lado, as atividades de detecção e controle de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* devem contar com um sistema de monitoramento altamente eficiente, com mais de um método de monitoramento, considerando a influência de variáveis climáticas na abundância vetorial antes, durante e depois de começar o período epidêmico de arbovirose, e primordialmente contar com pessoal qualificado ao longo do território brasileiro necessárias na obtenção de dados, permitiram a geração de dados históricos comparativos ano a ano. Atividades de monitoramento vetorial são parte do nosso dia a dia, vale lembrar que é melhor investir na prevenção da saúde de nossa sociedade.

A interrupção parcial ou total dos programas de monitoramento e detecção vetorial devido a aspectos orçamentários (limitação de recursos humanos) ou políticos podem ser a causa da falta de registros históricos que

respaldam a evolução da presença do vetor dificultando a eficiência no controle do mesmo. Adicionalmente a população deve ter acesso à situação real do município em relação à densidade de vetores para incentivar a conscientização através da implementação de medidas preventivas como remoção de criadouros.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de pesquisa entomológica como método para avaliar a atividade das fêmeas de *Aedes* (*Stegomyia*) spp. no município de Paranaguá a través da instalação de ovitrampas, foi eficiente para inferir a presença e distribuição em cada estrato avaliado. Foi constatado que a densidade populacional de *Ae. (Stegomyia) aegypti* se manteve presente ao longo do ano, aumentando no começo das estações com temperaturas mais elevadas e no início das precipitações pluviométricas

O uso de ovitrampas teve uma boa relação custo benefício além de garantir segurança na manipulação uma vez que não gera riscos à saúde das pessoas e organismos.

Considerando os resultados negativos para transmissão vertical de arbovírus na área de estudo, podemos indicar que este mecanismo não é relevante para manutenção do arbovírus na população do vetor.

Frente a ausência de uma vacina específica para cada tipo de arbovírus (linhagem, genótipo-sorotipo) evidencia a necessidade e importância de estudos que levem a termo a identificação tanto das espécies vetoras como os arbovírus. Assim como devem ser tomadas medidas de prevenção, direcionada na obtenção da dimensão e espécie da população potencialmente vetora de arbovírus.

REFERÊNCIAS

- Acha, PN; Szyfres, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. Preface to the second edition. In: PAHO-Pan American Health Organization. 3rd. Ed. Washington, D.C. 2003.
- Acosta-Bass, C; Gomez-Cordeiro, I. **Biología y métodos diagnósticos del dengue**. *Revista Biomédica*. V: 16. 113-137 pp. 2005. DOI: 10.32776/revbiomed.v16i2.408
- Adams, B; Boots, M. **How important is vertical transmission in mosquitoes for the persistence of dengue? Insights from a mathematical model**. 2010. *Epidemics*. V: 2. (1). 1-10 pp. DOI: 10.1016/j.epidem.2010.01.001.
- Administração dos Portos de Paranaguá e Antonina (APPA). Fundação de Ensino de Engenharia de Santa Catarina. Laboratório de Transportes e Logística. **Plano de Desenvolvimento e Zoneamento do Porto de Paranaguá-PDZPO**. 2017. 390 P. Disponível em: https://docs.ufpr.br/~edugeo/Planos_Litoral/PDZPO/PDZ_Paranagu%C3%A1_1_2017.pdf
- Aguiar, DB; Fontão, A; Rufino, P; Macedo, VA; Ríos-Velásquez, CM; Castro, MG; Honório, NA. 2008. **Primeiro registro de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em Roraima, Brasil**. *Acta Amazonica*. V: 38. (2). 357-359 pp. DOI: 10.1590/S0044-59672008000200021
- Alonso, C; Borca, M; Dixon, L; Revilla, Y; Rodriguez, F; Escribano, JM. 2018. **ICTV Taxonomy profile: Asfaviridae**. *Journal of General Virology*. V: 99. (5). 613-614 pp. DOI: 10.1099/jgv.0.001049
- Anderson, CR; Spence, L; Downs, WG; Aitken, THG. 1961. **Oropouche virus: a new human disease agent from Trinidad. West Indies**. *American Journal Tropical of Medicine and Hygiene*. V: 10. (4). 574-578 pp. DOI: 10.4269/ajtmh.1961.10.574
- Armstrong, PM; Ehrlich, H; Bransfield, A; Warren, JL; Pitzer, VE; Brackney, DE. 2020. **Successive bloodmeals enhance virus dissemination within mosquitoes and increase transmission potential**. *Nature Microbiology*. V: 5. (2). 239-247 pp. DOI: 10.1038/s41564-019-0619-y.
- Azil, AH; Long, SA; Ritchie, SA; Williams, CR. 2010. **The development of predictive tools for pre-emptive dengue vector control: a study of *Aedes aegypti* abundance and meteorological variables in North Queensland, Australia**. *Tropical Medicine & International Health*. V: 15. (10). 1190-1197 pp. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2010.02592.x
- Baak-Baak, CM; Ulloa-Garcia, A; Cigarroa-Toledo, N; Tzuc Dzul, JC; Garcia-Rejon, J. E et al. 2017. **Blood Feeding Status, Gonotrophic Cycle and Survivorship of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae)**

- Caught in Churches from Merida, Yucatan, Mexico.** *Neotropical Entomology*. V: 46. (6). 622-630 pp. DOI: 10.1007/s13744-017-0499-x
- Baldacchino, F; Caputo, B; Chandre, F; Drago, A; della Torre, A; Montarsi, F; Rizzoli, A. 2015. **Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: A review.** *Pest Management Science*. V: 71. (11). 1471-1485 pp. DOI: 10.1002/ps.4044
- Balestra, RA; Pereira, RK; Ribeiro, MJ; Silva, JS; Alencar, J. 2008. **Ocorrência de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) em área urbana do Estado do Tocantins.** *Neotropical Entomology*. V: 37. (2). 233-235 pp. DOI: 10.1590/S1519-566X2008000200020
- Barrera, R; Amador, M; Acevedo, V; Beltran, M; Muñoz, J.L. 2018. **A comparison of mosquito densities, weather and infection rates of *Aedes aegypti* during the first epidemics of Chikungunya (2014) and Zika (2016) in areas with and without vector control in Puerto Rico.** *Medical and Veterinary Entomology*. V: 33. (1). 68-77 pp. DOI: 10.1111/mve.12338.
- Bhatt, S; Gething, PW; Brady, OJ; Messina, JP; Farlow, AW; Moyes, CL; Drake, JM; Brownstein, JS; Hoen, AG; Sankoh, O; Myers, MF; George, DB; Jaenisch, T; Wint, GRW; Simmon, CP; Farrar, JJ; Hay, SI. 2013. **The global distribution and burden of dengue.** *Nature*. V: 496. (7446). 504-507 pp. DOI: 10.1038/nature12060.The.
- Bonaldi, RA; Hasse, I. 2016. **Flora Arbórea da Urbanização Urbana da Cidade de Paranaguá, Paraná, Brasil.** *Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana*. V: (4). 1-17 pp. DOI: 10.5380/revsbau.v11i4.63474
- Bonizzoni, M; Gasperi, G; Chen, X; James AA. 2013. **The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives.** *Trends in Parasitology*. V: 29. (9). 460-468 pp. DOI: 10.1016/j.pt.2013.07.003
- Bosio, CF; Thomas, RE; Grimstad, PR; Rai, KS. 1992. **Variation in the efficiency of vertical transmission of dengue-1 virus by strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae).** *Journal of Medical Entomology*. V: 29. (6). 985-989 pp. DOI: 10.1093/jmedent/29.6.985.
- Braga, IA; Valle, D. 2007. ***Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil.** *Epidemiol. serv. Saúde*. V: 16. (2). 113-118 pp. DOI: 10.5123/S1679-49742007000200006
- Brasil, 2020. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, Chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52.** V: 51. (24). 1-13 pp. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-02-1-.pdf>

- Brasil, 2020b. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes aegypti* (dengue, Chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 14, 2020**. V: 51. (24). 1-13 pp. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/13/Boletim-epidemiologico-SVS-15.pdf>
- Brasil, 2019a. Ministério da Saúde. Gerência de Dengue, Febre Amarela e Chikungunya. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Protocolo de Dengue**. 2019. 31 p. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/249341/>. (Acesso no dia 05/01/2020).
- Brasil, 2019b. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até Semana Epidemiológica 52 de 2018**. V: 50. (4). 1-14 pp. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>
- Brasil, 2019c. Ministério da Saúde. **Recomendações sobre o uso de Malathion Emulsão Aquosa – EA 44% para o controle de *Aedes aegypti* em aplicações espaciais a Ultra Baixo Volume (UBV)**. Disponível em: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/02/Recomenda-es-para-o-uso-de-malathion-EW.pdf>
- Brasil, 2018. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até Semana Epidemiológica 52, 2017**. V: 49. (2). 1-13 pp. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/23/Boletim-2018-001-Dengue.pdf>
- Brasil, 2017. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até Semana Epidemiológica 52, 2016**. V: 48. (3). 1-11 pp. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/06/2017-002-Monitoramento-dos-casos-de-dengue-febre-de-chikungunya-e-febre-pelo-virus-Zika-ate-a-Semana-Epidemiologica-52--2016.pdf>
- Brasil, 2016. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até Semana Epidemiológica 52, 2015**. V: 47. (3). 1-10 pp. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/15/svs2016-be003-dengue-se52.pdf>
- Brasil, 2015a. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Levantamento Rápido de índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) para Vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil**. Brasília: Distrito Federal, 2015. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/levantamiento_rapido_indices_aedes_aegypti_liraa.pdf. (Consultado o dia 15/03/ 2019).

- Brasil, 2015b. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até Semana Epidemiológica 53 de 2014.** V: 46. (3). 1-7 pp. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/images/pdf/2015/janeiro/19/2015-002---BE-at---SE-53.pdf>
- Brasil, 2013. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Levantamento Rápido de índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) para Vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil.** Brasília: Distrito Federal, 2013. Disponível em http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/levantamento_rapido_indices_aedes_aegypti.pdf. (Consultado o dia 13 mar. 2019).
- Brasil, 2009. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em 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
- Brasil, 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria Técnica de Gestão. **Diagnóstico rápido nos municípios para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil – LIRAA: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial.** Brasília. 2005. 60 p. Disponível em http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/profissionais/manual_dengue_liraa_2.pdf. (Acesso no dia 12/03/ 2019).
- Brasil, 2002. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD).** Brasília, 2002. 32 p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pncd_2002.pdf. (Acesso no dia 11/03/ 2018).
- Brasil, 2001. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas.** 3. Ed. Brasília. 2001. 84 p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf.
- Brasil, 1999. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela.** Brasília, 1999. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_epidemiologica_febre_amarela.pdf. (Acesso no dia 13/03/ 2018).
- Brito, M; Marques, GR; Marques, CC; Tubaki, RM. 1986. **Primeiro encontro de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Estado de São Paulo (Brasil).** *Revista de Saúde Pública.* V:20. (6). 489 pp. DOI: 10.1590/S0034-89101986000600011
- Brown, JE; McBride, CS; Johnson, P; Ritchie, S; Paupy, C; Bossin, H; Lutomiah, J; Fernandez-Salas, I; Ponlawat, A; Cornel, AJ; Black IV, WC; Gorrochotegui

- Escalante, N; Urdaneta-Marquez, L; Sylla, M; Slotman, M; Murray, KO; Walker, C; Powell, JR. 2011. **Worldwide patterns of genetic differentiation imply multiple 'domestications' of *Aedes aegypti*, a major vector of human diseases.** *Proceedings. Biological Sciences*. V: 278. (1717). 2446-2454 pp. DOI: 10.1098/rspb.2010.2469
- Brown, JE; Evans, BR; Zheng, W; Obas, V; Barrera-Martinez, L; Egizi, A; Zhao, H; Caccone, A; Powell, JR. 2014. **Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, the dengue and yellow fever mosquito.** *Evolutions*. V: 68. (2). 514-525 pp. DOI: 10.1111/evo.12281
- Byttebier, B De Majo, M S Fischer, S. 2014. **Hatching Response of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Eggs at Low Temperatures: Effects of Hatching Media and Storage Conditions.** *POPULATION AND COMMUNITY ECOLOGY Journal of Medical Entomology*. V: 51. 97-103 pp. DOI: 10.1603/ME13066
- Campos, TL; Durães-Carvalho, R; Rezende, AM; Carvalho, OV; Kohl, A; Wallau, GL; Pena, LJ. 2018. **Revisiting Key Routes of Human Epidemic Arboviruses into Mainland Americas through Large-Scale Phylogenomics.** *International Journal of Genomics*. V: 2018. 1-9 pp. DOI: 10.1155/2018/6941735
- Cao-Lormeau, VM; Roche, C; Teissier, A; Robin, E; Berry, AL; Mallet, HP; Sall, AA; Musso, D. 2014. **Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013.** *Emerging Infectious Disease*. V: 20. (6). 1085-1086 pp. DOI: 10.3201/eid2006.140138
- Carvalho, RG; Lourenço-De-Oliveira, Ricardo; Braga, IA. **Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas.** *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. V:109: (6). 787-796 pp. DOI: 10.1590/0074-0276140304
- Carvalho-Leandro, D; Ayres, CFJ; Guedes, DRD; Suesdek, L; Melo-Santos, MAV; Oliveira, CF; Cordeiro, MT; Regis, LN; Marques, ET; Gil, LH; Magalhaes, T. 2012. **Immune transcript variations among *Aedes aegypti* populations with distinct susceptibility to dengue virus serotype 2.** *Acta Tropica*. V: 124. (2). 113-119 pp. DOI: 10.1016/j.actatropica.2012.07.006.
- Cazola, LH; Tamaki, EM; Pontes, ER; de Andrade, SM. 2014. **Incorporação das atividades de controle da dengue pelo agente comunitário de saúde.** *Revista de Saúde Pública*. V: 48. (1). 113-122 pp. DOI: 1590/S0034-8910.2014048004687
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2011. **West Nile Virus Disease and Other Arboviral Diseases-United States, 2010.** *Morbidity and mortality weekly report (MMWR)*. V: 60. (30): 1009-13 p.

- Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde (CIEVSSA). 2015. **Boletim Epidemiológico. Chikungunya Vírus na Bahia. Secretaria de Saúde do Estado da Bahia.** http://www.saude.salvador.ba.gov.br/dengue/arquivo/boletim_febre_chikungunya_n1_2015_28_01.pdf.
- Chen, R; Wang, E; Tsetsarkin, A; Weaver, SC. 2013. **Chikungunya Virus 3' Untranslated Region: Adaptation to Mosquitoes and a Population Bottleneck as Major Evolutionary Forces.** *PLoS pathogens*. V: 9 (8). 1-11 pp. DOI: 10.1371/journal.ppat10035591.
- Chiaravalloti-Neto, F; Pereira, M; Fávaro, EA; Dibo, MR; Mondini, A; Rodrigues Junior, AL; Chierotti, AP; Nogueira, ML. 2015. **Assessment of the relationship between entomologic indicators of *Aedes aegypti* and the epidemic occurrence of dengue virus 3 in a susceptible population, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.** *Acta Tropica*. V: 142. 167-177 pp. Doi: 10.1016/j.actatropica.2014.11.017.
- Chiaravalloti-Neto, F; Barbosa, AA; Cesarino, MB; Favaro, EA; Mondini, A; Ferraz, AA; Dibo, MR; Vicentini, ME. 2006. **Controle do dengue em uma área urbana do Brasil: avaliação do impacto do Programa Saúde da Família com relação ao programa tradicional de controle.** *Cadernos de Saúde Pública*. V: 22 (5). 987-997 pp. DOI: 10.1590/S0102-311X2006000500011
- Chiaravalloti-Neto, F; Dibo, MR; Barbosa, AA; Battigaglia, Marcos. 2002. ***Aedes albopictus* (S) na região de São José do Rio Preto, SP: estudo da sua infestação em área já ocupada pelo *Aedes aegypti* e discussão de seu papel como possível vetor de dengue e febre amarela.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. V: 35. (4). 351-357 pp. DOI: 10.1590/s0037-86822002000400012
- Chouin-Carneiro, T; Vega-Rua, A; Vazeille, M; Yebakima, A; Girod, R; Goindin, D; Dupont-Rouzerol, M; Lourenco-de-Oliveira, R; Anna-Bella F. 2016. **Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 10. (3). 1-11 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004543
- Codeço, CT; Lima, AWS; Araújo, SC; Lima, JBP; Maciel-de-Freitas, R; Honório, NA; Galardo, A; Braga, I; Coelho, G; Valle, D. 2015. **Surveillance of *Aedes aegypti*: Comparison of House Index with Four Alternative Traps.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 9. (2). 1-23 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003475.
- Consoli, RAGB; Oliveira, RL. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** Ed. Fiocruz. 1994. 228 p.
- Costa, ZG; Elkhory, AN; Romano, AP; Flannery, B. 2011. **Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil.** *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. V: 2. (1). 11-26 pp. DOI: 10.5123/S2176-62232011000100002

- Couret, J; Dotson, E; Benedict, MQ. **Temperature, larval diet, and density effects on development rate and survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).** *PLoS ONE*. V: 9. (2). 1-9 pp. DOI: 10.1371/journal.pone.0087468.
- Cunha, RV; Trinta, KS; Montalbano, CA; Sucupira, MV; Lima, MM; Marques, E; Romanholi, IH; Croda, J. 2017. **Seroprevalence of Chikungunya Virus in a Rural Community in Brazil.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 11. (1): 1-11 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005319
- Day, JF. 2016. **Mosquito oviposition behavior and vector control.** *Insects*. V: 7. (4). 1-22 pp. DOI: 10.3390/insects7040065
- da Cruz Ferreira, DA; Degener, CM; Marques-Toledo, CD; Bendati, MM; Fetzer, LO; Teixeira, CP; Eiras, ÁE. 2017. **Meteorological variables and mosquito monitoring are good predictors for infestation trends of *Aedes aegypti*, the vector of dengue, chikungunya and Zika.** *Parasites and Vectors*. V: 10. (1). 1-10 pp. DOI: 10.1186/s13071-017-2025-8
- Del Piero, F; Wilkins, PA; Dubovi, EJ; Biolatti, B; Cantile, C. 2001. **Clinical, Pathologic, immunohistochemical, and virologic findings of Eastern Equine Encephalomyelitis in the horses.** *Veterinary Pathology*. V: 38. (4). 451-456 pp. DOI: 10.1354/vp.38-4-451
- Delatte, H; Gimonneau, G; Triboire, A; Fontenille, D. 2009. **Influence of Temperature on Immature Development, Survival, Longevity, Fecundity, and Gonotrophic Cycles of *Aedes albopictus*, Vector of Chikungunya and Dengue in the Indian Ocean.** *Journal Medical of Entomology*. V: 46. (1). 33-41 pp. DOI: 10.1603/033.046.0105.
- Delatte H, Toty C, Boyer S, Bouetard A, Bastien F. 2013. **Evidence of Habitat Structuring *Aedes albopictus* Populations in Réunion Island.** *PLoS Negl Trop Dis*. V:7. (3). 2111. DOI:10.1371/journal.pntd.0002111
- de Melo, DPO; Scherrer, LR; Eiras ÁE. 2012. **Dengue fever occurrence and vector detection by larval survey, ovitrap and MosquiTRAP: A space-time clusters analysis.** *PLoS ONE*. V: 7. (7). 1-14 pp. DOI: 10.1371/journal.pone.0042125.
- De Mello, YR; Lopes, FC; Roseguini, W. 2017. **Características climáticas e análise rítmica aplicada a episódios extremos de precipitação e temperatura no município de Paranaguá-PR.** *Revista Brasileira de Climatologia*. V. 20. (13). P. 313-336. DOI: 10.5380/abclima.v20i0.48594
- de Resende, MC; Silva, IM; Ellis, BR; Eiras, AE. 2013. **A comparison of larval, ovitrap and MosquiTRAP surveillance for *Aedes (Stegomyia) aegypti*.** *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. V: 108. (8). 1024-1030 pp. DOI: 10.1590/0074-0276130128.
- de Thoisy, B; Gardon, J; Salas, RA; Morvan, J; Kazanji, MM. 2003. **Mayaro virus in wild mammals, French Guiana.** *Emerging Infectious Disease*. V: 9. (10). 1326-1329. DOI: [10.3201/eid0910.030161](https://doi.org/10.3201/eid0910.030161)
- Diagnostico rápido nos municípios para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil – LIRAA. **Metodologia para avaliação dos Índices de Breteau e Predial.** LIRAA, 2005. Brasília – DF. 2005. Disponível em:

http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/profissionais/manual_dengue_liraa_2.pdf. Acesso: 04 abr. 2019.

- Díaz-González; EE; Kautz, TF; Dorantes-Delgado, A; Malo-García, IR; Laguna-Aguilar, M; Langsjoen, RM; Chen, R; Auguste, DI; Sánchez-Casas, RM; Danis-Lozano, R; Weaver, SC; Fernández-Salas, I. 2015. **First Report of *Aedes aegypti* Transmission of Chikungunya Virus in the Americas.** *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 93. (6). 1325-1329 pp. DOI: 10.4269/ajtmh.15-0450
- Dibo, M. R; Chierotti, A. P; Ferrari, M. S; Mendonça, A. L; Neto, F.C. 2008. **Study of the relationship between *Aedes (Stegomyia) aegypti* egg and adult densities, dengue fever and climate in Mirassol, state of São Paulo, Brazil.** *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. V: 103. (6). 554-560 pp. DOI: 10.1590/S0074-02762008000600008
- Dibo, M; Chiaravalloti-Neto, F; Battigaglia, M; Mondini, A; Favaro, EA; Barbosa, AA; Glasser, CM. 2005. **Identification of the best ovitrap installation sites for gravid *Aedes (Stegomyia) aegypti* in residences in Mirassol, state of São Paulo, Brazil.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*. V: 100. (4). 339-343 pp. DOI: 10.1590/S0074-02762005000400001
- Dick, GWA; Kitchen, SF; Haddow, AJ.1952. **Zika Virus: Isolations and Serological Specificity.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 46. (5). 509-20.
- Dickson, LB; Sanchez-Vargas, I; Sylla, M; Fleming, K; Black, WC IV. 2014. **Vector Competence in West African *Aedes aegypti* Is Flavivirus Species and Genotype Dependent.** *PLoS Negl Trop Dis*. V: 8. (10). 1-11 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003153
- Dorigatti, I; Donnelly, C.A; Laydon, DJ; Small, R; Jackson, N; Coudeville, L; Ferguson, NM. 2018. **Refined efficacy estimates of the Sanofi Pasteur dengue vaccine CYD-TDV using machine learning.** *Nature communications*. V: 9. (1). DOI: 10.1038/s41467-018-06006-6
- Duffy, MR; Chen, T; Hancock, WT; Powers, AM; Kool, JL; Lanciotti, RS; Pretrick, BS; Marfel, M; Holzbauer, S; Dubray, C; Guillaumot, L; Griggs, A; Bel, M; Lambert, AJ; Laven, J; Kosoy, O; Panella, A; Biggerstaff, BJ; Fischer, M; Hayes, EB. 2009. **Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia.** *The New England Journal of Medicine*. V: 360. (24), 2536-43 pp. DOI: 10.1056/NEJMoa0805715
- Dupont-Rouzeyrol, M; Connor, O; Calvez, E; Daurés, M; John, M; Grangeon, JP; Gourinat, AC. 2015. **Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014.** *Emerging Infectious Disease*. 21, 381-382 pp. DOI: 10.3201/eid2102.141553
- Duque, JE; Da Silva, RV; Kuwabara, EF; Navarro-Silva, MA. 2010. **Dengue no estado do Paraná, Brasil: distribuição temporal e espacial no período 1995-2007.** *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*. V: 42. (2). 113-122 pp.

- Eisen, L; Lozano-Fuentes, S. **Use of mapping and spatial and space-time modeling approaches in operational control of *Aedes aegypti* and dengue**. 2009. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 3. (4). DOI: 10.1371/journal.pntd.0000411.
- Evans, BR; Gloria-Soria, A; Hou, L; McBride, C; Bonizzoni, M; Zhao, H; Powell, JR. 2015. **A Multipurpose, High-Throughput Single-Nucleotide Polymorphism Chip for the Dengue and Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti***. *Genes/Genomes/Genetics (G3)*. V: 5. (5). 711-718 pp. DOI: 10.1534/g3.114.016196.
- Fall, G; Diallo, M; Loucoubar, C; Faye, O; Sall, AA. 2014. **Vector competence of *Culex neavei* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Senegal for lineages 1, 2 KoutAngo and a putative new lineage of West Nile vírus**. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 90. (4). 747-754 pp. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0405
- Fantinatti, EC; Duque, JE; Silva, AM; Navarro-Silva, MA. **Abundância e agregação de ovos de *Aedes aegypti* L. e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) no norte e noroeste do Paraná**. *Neotropical Entomology*. V: 36. (6). 960-965 pp. DOI: 10.1590/S1519-566X2007000600020
- Faria, NR; Azevedo, RD; Kraemer, MU; et al. 2016. **Zika Virus in the Americas: Early epidemiological and Genetic findings**. *Science*. V: 352 (6283). 345-349 pp. DOI: 10.1126/science. aaf5036
- Faria, NR; Quick, J; Claro, IM; et al. 2017. **Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and Americas**. *Nature*. V: 546. (15). 406-413 pp. DOI: 10.1038/nature22401.
- Ferraz, L. M. R. e Mello, I. M. de A. 2012. **Construction of the discourse on dengue fever in the media**. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. V. 15. (1). 63-74 pp. DOI: 10.1590/S1415-790X2012000100006
- Ferreira, JCV. **Municípios Paranaenses: origens e significados de seus nomes**. P-222. Secretaria de Estado da Cultura. Curitiba. Cadernos Paraná da Gente. 2006. 340 p.
- Ferreira-Neto, JA; Lima, MM; Aragão, MB. 1987. **Primeiras observações sobre o *Aedes albopictus* no Estado do Espírito Santo, Brasil**. *Cadernos de Saúde Pública*. V: 3. (1). 56-61 pp. DOI: 10.1590/s0102-311x1987000100006
- Focks, DA. **A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors**. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). UNICEF/UNDP/WORLD BANK/WHO. 2003. Geneva, Switzerland. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68575/TDR_IDE_DEN_03.1.pdf?sequence=1
- Forattini, OP. 1986. **Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil**. *Revista de Saúde Pública*. V: 20. (3). 244-245 pp. DOI: 10.1590/S0034-89101986000300009

- Forattini, OP. 1996. **Culicidologia Médica – Princípios Gerais, Morfologia, Glossário Taxonômico**. Capítulo 6. Família Culicidae. Morfologia. São Paulo. Edusp. 548 pp.
- Forattini, OP. 2002. **Culicidologia Médica**. Capítulo 2. Família Culicidae biologia das formas imaturas. São Paulo: Edusp. V: 2. 548 pp.
- França, E.; Abreu, D. & Siqueira, Márcia. 2004. Epidemias de dengue e divulgação de informações pela imprensa. *Cadernos de Saúde Pública*. V.20.(5). 1334- 1341 pp. DOI: **10.1590/S0102-311X2004000500028**
- Gaffigan, TV; Wilderson, RC; Pecor, JE; Stoffer, JA; Anderson, T. 2015. **Systematic Catalog of Culicidae - The Walter Reed Biosystematics Unit. (WRBU)**. Washington, DC, USA. Disponível em: http://www.wrbu.org/VeclD_MQ.html. (<http://vectormap.si.edu/StatPlanet.htm>) (Acesso no dia 30/07/2018).
- Gardner, CL; & Ryman, KD. 2010. **Yellow Fever: A Reemerging Threat**. *Clinics and Laboratory Medicine*. V: 30. (1). 237-260 pp. DOI: 10.1016/j.cll.2010.01.001. Yellow
- Garmashova, N; Gorchakov, R; Volkova, E; Paessler, S; Frolova, E; Frolov, I. 2007. **The Old World and New World Alphaviruses Use Different Virus-Specific Proteins for Induction of Transcriptional Shutoff**. *Journal of Virology*. V: 81. (5). 2472-2484 pp. DOI: 10.1128/JVI.02073-06.
- Glasser, CM; Gomes, AC. 2000. **Infestação do Estado de São Paulo por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus***. *Revista de Saude Publica*. V: 34. (6). 570-577 pp. DOI: 10.1590/s0034-89102000000600002
- Goindin, D; Delannay, Christelle; Ramdini, Cédric; Gustave, J; Fouque, F. 2015. **Parity and longevity of *Aedes aegypti* according to temperatures in controlled conditions and consequences on dengue transmission risks**. *PLoS ONE*. V: 10. (8). 1-21 pp. DOI: 10.1371/journal.pone.0135489
- Gomes, AC. 2002. **Vigilância Entomológica**. Informe epidemiológico do SUS. V: 11. (2). 79-92 pp. DOI: org/10.5123/S0104-16732002000200004.
- Gomes, AC; Bitencourt, MD; Natal, D; Pinto, PL; Mucci, LF; De Paula, MB; Urbinatti, PR; Barata, JM. 1999. ***Aedes albopictus* em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre**. *Revista de Saude Publica*. V: 33. (1). 95-97 pp. DOI: 10.1590/s0034-89101999000100012
- Gomes, AC. 1998. **Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (stegomyia) aegypti* e *Aedes (stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica**. *Informe Epidemiológico do Sus*. V: 7. (3). 49-57 pp. DOI: 10.5123/s0104-16731998000300006.
- Gomes, AC; Marques, GR. 1988. **Encontro de criadouro natural de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), Estado de São Paulo, Brasil**. *Revista de Saude Publica*. V: 22. (3). 245 pp. DOI: 0.1590/s0034-89101988000300013
- Griffin, DE. **Alphaviruses**. In: Knipe, DM; Howley, PM; Griffin, DE; Lamb, RA; Martin, MA; Roizman, B; Straus, SE (editores). **Fields Virology**. 5th edition.

- Volume 1. Philadelphia, 2007. Lippincott Williams & Wilkins. 1550. Chapter 31.
- Gubler, DJ. 2004. **The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1990 to 2003: full circle? 2004.** *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. V: 27. (5). 319-330 pp. DOI: 10.1016/j.cimid.2004.03.013.
- Gubler, DJ. 2001. **Human arbovirus infections worldwide.** *Annals of the New York of Sciences*. V: 951: 13-24 pp. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb02681.x
- Gubler, DJ. 1996. **The global resurgence of arboviral diseases.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 90. (5). 449-451. DOI: 10.1016/s0035-9203(96)90286-2
- Gubler, DJ and Clarck, GG. 1995. **Dengue/Dengue hemorrhagic fever: emergence of a global health problem.** *Emerging Infectious Diseases*. (2). 55-57 pp. DOI: 10.3201/eid0102.952004
- Grunill, M; Boots, M. 2016. **How Important is Vertical Transmission of Dengue Viruses by Mosquitoes (Diptera: Culicidae)?** *Journal of Medical Entomology*. V: 53. (1). 1-19 pp. DOI: 10.1093/jme/tjv168.
- Halstead, SB. 2017. **Dengvaxia sensitizes seronegatives to vaccine enhanced disease regardless of age.** *Vaccine*. V: 35. (47). 6355-6358 pp. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.09.089.
- Harbach, RE. 2007. **The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny.** *ZOOTAXA*. V: 1668. 591-688 pp. DOI: 10.11646/zootaxa.1668.1.28
- Heerden, J; Malan, K; Gadaga, BM; Spargo, RM. 2017. **Reemergence of African Swine Fever in Zimbabwe, 2015.** *Emerging Infectious Diseases*. V: 23. (5). 860-861 pp. DOI: 10.3201/eid2305.161195
- Higgs, S; Beaty, BJ. **Natural cycles of vector-borne pathogens.** In: MARQUARDT, WC. (Ed). *Biology of disease vectors*. Burlington: Elsevier Academic Press, 2004.
- Hinkle DE, Wiersma W, Jurs SG. **Applied Statistics for the Behavioral Sciences**. 5th ed. Boston: Houghton Mifflin; 2003.
- Honório, NA; Codeço, C.T; Alves, FC; Magalhães, MA; Lourenço-de-Oliveira, R. 2009. **Temporal Distribution of *Aedes aegypti* in Different Districts of Rio De Janeiro, Brazil, Measured by Two Types of Traps.** *Journal of Medical Entomology*. V: 46; (5). 1001: 1014 pp. DOI: 10.1603/033.046.0505
- Ibañez-Bernal, S; Martínez-Campos, C. 1994. ***Aedes albopictus* in Mexico.** *Journal of the American Mosquito Control Association*. V: 10. 231-232 pp.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).** 2017. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (Acesso no dia 01/08/2018).

- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).** Biblioteca. 2019. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/biblioteca-catalogo.html?id=31663&view=detalhes>
- Instituto Ambiental do Paraná (IAP).** Disponível em: <http://www.iap.pr.gov.br/modules/ucps/aviso.php?codigo=70>. (Acesso no dia 06/05/2019)
- Instituto Paranaense de Desenvolvimento Económico e Social (IPARDES).** **Caderno estatístico-município de Paranaguá. Novembro 2019.** 46 p. Disponível em: <http://www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=83200>. (Acesso no dia 07/05/2019).
- Jonhson, B.J; Ritchie, S.A; Fonseca, D.M. 2017. **The state of the art of lethal oviposition trap-based mass interventions for arboviral control.** *Insects*. V: 8. (5). 1-16 pp. DOI: 10.3390/insects8010005
- Joshi, V; Mourya, DT; Sharma, RC. 2002. **Persistence of dengue-3 virus through transovarial transmission passage in successive generations of *Aedes aegypti* mosquitoes.** *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 67. (2). 158-161 pp. DOI: 10.4269/ajtmh.2002.67.158.
- Karabatsos, N. **International catalogue of arthropod-borne viruses:** including certain other viruses of vertebrates. 3rd ed. San Antonio: *American Society for Tropical Medicine and Hygiene*, 1147 p. 1985.
- Kotsakiozi, P; Gloria-Soria, A; Schaffner, F; Robert, V; Powell, JR. 2018. ***Aedes aegypti* in the Black Sea: recent introduction or ancient remnant?** *Parasites & Vectors*. V: 11. 396. 1-13 pp. DOI: [10.1186/s13071-018-2933-2](https://doi.org/10.1186/s13071-018-2933-2)
- Kraemer, MU; Sinka, ME; Duda, KA; Mylne, AQ; Shearer, FM; Barker, CM; Moore, CG; Carvalho, RG; Coelho, GE; Van Bortel, W; Hendrickx, G; Schaffner, F; Elyazar, IRF; Teng, HJ; Brady, OJ; Messina, JP; Pigott, DM; Scott, TW; Smith, DL; Wint, GRW; Golding, N; Hay, SI. 2015. **The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*.** *Elife*. V: 4. 1-18 pp. DOI: 10.7554/eLife.08347
- Lambkin, CL; Sinclair, BJ; Pape, T; Courtney, GW; Skevington, JH; Meier, R; Yeates, DK. 2013. **The Phylogenetic relationships among infraorders and superfamilies of Diptera based on morphological evidence.** *Systematic Entomology*. V. 38. (1).164-179 pp. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2012.00652.x
- Lambrechts, L; Scott, TW; Gubler, DJ. 2010. **Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission.** *PLoS neglected Tropical Disease*. V: 4. (5). e646. 1-9 pp. DOI: [10.1371/journal.pntd.0000646](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000646)
- Lambrechts, L., & Scott, T. W. 2009. **Mode of transmission and the evolution of arbovirus virulence in mosquito vectors.** *Proceedings. Biological sciences*. V: 276. (1660). 1369–1378. DOI: 10.1098/rspb.2008.1709

- Lambrechts, L; Scott, TW; Gubler, DJ. 2010. **Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission.** *PLoS neglected Tropical Disease*. 4(5), e646.1-9.
- Lanciotti, RS; Roehrig, JT. Arboviruses. Em: Detrick, BSJ; Hamilton, R. (Eds). **Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology**. 2016. ASM Press, Washington, 648- 657 pp. DOI: 10.1128/9781555818722.ch67.
- Lequime, S; Paul, RE; Lambbrechts, L. 2016. **Determinants of Arbovirus Vertical Transmission in Mosquitoes.** *PLoS Pathogens*. V: 12. (5). 1-14 pp. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005548.
- Lima, JT. 1985. **Risco de urbanização da febre amarela no Brasil.** *Cadernos de Saúde Pública*. V: 1. (3). 377-384 pp. DOI: 10.1590/s0102-311x1985000300010
- Lindenbach, BD; Rice, CM. **Molecular biology of flavivirus.** *Advances in Virus Research*. 2003. V: 59. 23-61 pp. DOI: 10.1016/s0065-3527(03)59002-9
- Lindenbach, BD; Thiel, HJ; Rice, CM. **Flaviviridae: The Viruses and Their Replication** In: Knipe, DM; Howley, PM; Griffin, DE; Lamb, RA; Martin, MA; Roizman, B; Straus, SE (editores). *Fields Virology*. 5th edition. Volume 1. Philadelphia, 2007. Lippincott Williams & Wilkins. 1550. Capítulo 33.
- Lopes, J; Borsato, AM; Pires, MA. 1987. **Entomofauna da mata Godoy. I. Culicidae (Diptera) procriando-se em criadouros artificiais introduzido na Mata.** *Semina*. V: 8. (2). 67-69 pp.
- Löwenber Neto, P; Navarro-Silva, MA. 2002. **Primeiro registro de *Aedes albopictus* no Estado de Santa Catarina, Brasil.** *Revista de Saúde Pública*. V: 36. (2). 246-247 pp. DOI: 10.1590/s0034-89102002000200019
- Martins, VE; Martins, MG; de Araújo, JM; Silva, LO; Monteiro, HA; et al. Guedes, MI. 2006. **First report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in the state of Ceará, Brazil.** *Rev Saúde Pública*. V: 40. (4). 1-3 pp. DOI: 10.1590/s0034-89102006000500027
- Mason, PJ and Haddow, AJ. 1957. **An epidemic of virus disease in Southern province, Tanganyika territory, in 1952-53.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 51. (3). 238-240 pp. DOI: [10.1016/0035-9203\(57\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0035-9203(57)90022-6)
- Mattingly, PF. 1967. ***Aedes aegypti* e Other Mosquitos in Relation to Dengue Syndrome.** *Bulletin of the World Health Organization*. V: 36. (4) 533-535 pp.
- McBride, CS; Baier, F; Omondi, AB; Spitzer, SA; Lutomiah, J; Sang, R; Ignell, R; Voss hall, LB. 2014. **Evolution of Mosquito preference for humans linked to an odorant receptor.** *Nature*. V: 515. (13). 222-227 pp. DOI: 10.1038/nature13964.
- McCrae, AW; Kirga, BG. 1982. **Yellow fever and Zika virus epizootics and enzootics in Uganda.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 76. (4): 552-562 pp. DOI: 10.1016/0035-9203(82)90161-4.

- McDonald, E; Martin, SW; Landry, K; et al. NP. 2019. **West Nile Virus and other Domestic Nationally Notifiable Arboviral Diseases – United States, 2018.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* V: 68. (31). 673-678 pp. DOI: 10.15585/mmwr.mm6831a1
- McLean, RG; Frier, G; Parham, GL; Francy, DB; Monath, TP; Campos, EG; Therrien, A; Kerschner, J; Calisher, CH. 1985. **Investigations of the vertebrate hosts of eastern equine encephalitis during and epizootic in Michigan, 1980.** *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 34(6). 1190-1202. DOI: [10.4269/ajtmh.1985.34.1190](https://doi.org/10.4269/ajtmh.1985.34.1190)
- Morrison, AC; Gray, K; Getis, A; Astete, H; Sihuincha, M; Focks, D; Watts, D; Stancil, JD; Olson, JG; Blair, P; Scott, TW. 2004. **Temporal and Geographic Patterns of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Production in Iquitos, Peru.** *Journal of Medical Entomology.* V: 41. (6). 1123-1142 pp. DOI: 10.1603/0022-2585-41.6.1123.
- Mosquito Taxonomic Inventory (MTI). Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/valid-species-list>. (Acesso no dia 27/07/2018).
- Navarro, DMA; De Oliveira, PES; Potting, RPJ; Brito, AC; Fital, SJF, Goulart Sant`Ana, AE. 2003. **The potential attractant or repelente effects of diferente water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).** *Journal of Applied Entomology.* V: 127. (1). 46-50 pp. DOI: 10.1046/j.1439-0418.2003.00690.x
- Neto, PL; Navarro-Silva, MA. 2004. **Development, Longevity, Gonotrophic Cycle and Oviposition of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) under Cyclic Temperatures.** *SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY.* V: 33. 29-33 pp. DOI: 10.1590/S1519-566X2004000100006
- Nunes, MRT; Faria, NR; Vasconcelos, JM; Golding, N; Kraemer, MUG; Oliveira, LF; Azevedo, RSS; Silva, DEA; Silva, EVP; Silva, SP; Carvalho, VL; Coelho, GE; Cruz, ACR; Rodrigues, SG; Vianez, JLS; Nunes, BTB; Cardoso, JF; Tesh, RB; Hay, SI; Pybus, OG; Vasconcelos, PFC. 2015. **Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil.** *BMC Medicine.* V: 13. (102). 1-10 pp. DOI: 10.1186/s12916-015-0348-x.
- Oliva, LO; Correia, JC; Albuquerque, CM. 2014. **How Mosquito Age and the Type and Color of Oviposition Sites Modify Skip-Oviposition Behavior in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)?** *Journal of Insect Behavior.* V: 27. (1). DOI: 10.1007/s10905-013-9407-3
- Ong, J; Liu, Xu; Rajarethinam, J; Yap, G; Ho, D; Ching, LN. 2019. **A novel entomological index, *Aedes aegypti* Breeding Percentage, reveals the geographical spread of the dengue vector in Singapore and serves as a spatial risk indicator for dengue.** *Parasites and Vectors.* V: 12. (1). 1-17 pp. DOI: 10.1186/s13071-018-3281-y
- OPAS. 2019. Organização Pan-Americana da Saúde. **Documento operacional para a execução do manejo integrado de Vetores adaptado ao contexto das Américas.** Washington, D.C.: 53 p. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51762/9789275720998_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Paraná, 2020. Secretaria da Saúde. Diretoria de Atenção e Vigilância em Saúde. Coordenadoria de Vigilância Ambiental. Coordenadoria de Vigilância Epidemiológica. **Situação da Dengue, Chikungunya e Zika Vírus no Paraná - 2019/2020**. Informe técnico 43 – Semana Epidemiológica 31/2019 a 28/2020. Disponível em: http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/BoletimDengue43_2020.pdf
- Paraná, 2019. Secretaria da Saúde. Diretoria de Atenção e Vigilância em Saúde. Nota técnica nº. 07/CVIA/DAV/SESA. Inseticidas destinados ao controle de *Aedes aegypti*. Disponível em: https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-03/07CVIADAVSESA.pdf
- Paraná, 2018b. Secretaria de estado da Saúde – SVS. Centro de Epidemiologia - CEPI. Divisão de Vigilância do Programa de Imunização (DVVPI). **Campanha da vacina tetravalente contra a Dengue 3ª dose – 2018**. Disponível em: https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-05/vacina_dengue_plenaria_cib_02_2018.pdf
- Paraná. 2017. Secretaria de Estado da Saúde (SESA). Superintendência de Vigilância em Saúde. **Situação da Dengue, Chikungunya e Zika Vírus no Paraná – 2016/2017**. Informe técnico 37 – Período 2016/2017. Disponível em: http://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos_restritos/files/documento/2020-11/dengueinformetecnico36_2015_2016atse30201_zika_chikungunya_novatabelachikun_zika_2016_09_08divulgado.pdf (Acesso no dia 09/02/2018).
- Paraná. 2016a. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Vigilância em Saúde - SVS. Centro de Vigilância Ambiental - CEVA. Centro de Epidemiologia - CEPI. Centro de Vigilância Sanitária - CEVS. **Manual de Normas e Procedimentos para vacinação - Dengue**. Disponível em: https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-04/manual_vacina_dengue_final.pdf
- Paraná. 2016b. Secretaria de Estado da Saúde (SESA). Superintendência de Vigilância em Saúde. **Situação da Dengue, Chikungunya e Zika no Paraná-2015/2016**. Informe técnico 36. Disponível em: http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/DengueInformeTcnico36_2015_2016atSE30201_ZIKA_CHIKUNGUNYA_novatabelaCHIKUN_ZIKA_2016_09_08divulgado.pdf. (Acesso no dia: 09/02/2018).
- Paranaguá, 2019. Secretaria Municipal de Saúde de Paranaguá. **Plano Municipal de contingência de doenças transmissíveis por vetores tropicais-Zika Febre Chikungunya Febre amarela e dengue**. Disponível em: http://www.paranagua.pr.gov.br/imgbank2/file/semsa/PLANO%20MUN.%20DE%20CONTING%20ANCIA%20DE%20DOEN%20AS%20TRANS%20MISS%20DVEIS%20POR%20VETORES%20TROPICAIS%20ZIKA%20FEBRE%20CHIKUNGUNYA%20FEBRE%20AMARELA%20E%20DENGUE-2019%20ATUALIZADO_compressed.pdf. (Acesso no dia: 20/08/2019).

- Paranaguá, 2016. Prefeitura de Paranaguá. 2016. <http://www.paranagua.pr.gov.br/imgbank2/file/Plano%20de%20Mobilidade%20Munic%C3>
- Paranaguá, 2011. Prefeitura do Município de Paranaguá. **Plano Municipal de Saneamento Básico de Paranaguá – PR**. Volume II. 334 P. Disponível em: https://www.paranagua.pr.gov.br/imgbank2/file/meio_ambiente/PMSB%20-%20VOLUME%20II.pdf
- Parra, MC; Favaro, EA; Dibo, MR; Mondini, A; Eiras, AE; Kroon, EG; Teixeira, MM; Nogueira, ML; Chiaravalloti-Neto, F. 2018. **Using adult *Aedes aegypti* females to predict áreas at risk for dengue transmission: A spatial case-control study.** *Acta Tropica*. V: 182. 43-53 pp. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.02.018.
- Paupy, C; Delatte, H; Bagny, L; Corbel, V; Fontenille, D. 2009. ***Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light.** *Microbes and Infection*. V: 11. (14). 1177-1185 pp. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.05.005
- Penalba, OC; Rivera, JA. 2016. **Precipitation response to El Niño/La Niña events in Sothern South America – emphasis in regional drought ocurrences.** *Adv. Geosci. EGU*. (42). 1-4 pp. DOI: 10.5194/adgeo-42-1-2016
- Ponnusamy, L; Xu, N; Böröczky, K; Wesson, DM; Ayyash, LA; Schal, C; Apperson, CS. K. 2010. **Oviposition responses mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to experimental plant infusions in laboratory bioassays.** *Journal Chemical Ecology*. V: 36. (7). 709-719 pp. DOI: 10.1007/s10886-010-9806-2
- Powell, JR; Gloria-Soria, A; Kotsakiozi, P. 2018. **Recent history of *Aedes aegypti*: Vector genomics and epidemiology records.** *BioScience*. V: 68. (11). 854-860 pp. DOI: 10.1093/biosci/biy119
- Powers, AM; Brault, AC; Tesh, RB; Weaver, SC. 2000. **Re-emergence of chikungunya and o'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships.** *Journal of General Virology*. V: 81. (2). 471-479 pp. DOI: 10.1099/0022-1317-81-2-471
- Pyke, AT; Daly, MT; Cameron, JN; Moore, PR; Taylor, CT; Hewitson, GR; Humphreys, JL; Gair, R. 2014. **Imported zika virus infection from the cook island into Australia, 2014.** *PLOS Currents Outbreaks*. 1-7 pp. DOI: [10.1371/currents.outbreaks.4635a54dbffba2156fb2fd76dc49f65e](https://doi.org/10.1371/currents.outbreaks.4635a54dbffba2156fb2fd76dc49f65e)
- Regis, L; Monteiro, AM; De Melo-Santos, MA; Silveira, JC; Furtado, AF; Acioli, RV; Santos, GM; Nakazawa, M; Carvalho, MS; Ribeiro, PJ; De Souza, WV. 2008. **Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: Basis for surveillance, alert and control system.** *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. V: 103. (1). 50-59 pp. DOI: 10.1590/S0074-02762008000100008
- Regis, LN; Acioli RV, Silveira JC Jr, Melo-Santos MAV, Souza WV, Ribeiro CMN, et al. 2013. **Sustained Reduction of the Dengue Vector Population**

- Resulting from an Integrated Control Strategy Applied in Two Brazilian Cities.** *PLoS ONE*. V: 8. (7): e67682. DOI: 10.1371/journal.pone.0067682
- Regis, LN; Acioli, RV; Silveira, JC; de Melo-Santos, MA; da Cunha, MC; Souza, F; Batista, CA; Barbosa, RM; Oliveira, CM; Ayres, CF; Monteiro, AM; Souza, WV. 2014. **Characterization of the spatial and temporal dynamics of the dengue vector population established in urban areas of Fernando de Noronha, a Brazilian oceanic island.** *Acta Tropica*. V: 137. 80-87 pp. DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.04.010
- Reidenbach, KR; Cook, S; Bertone, MA; Harbach, RE; Wiegmann, BM; Besansky, NJ. 2009. **Phylogenetic analysis and temporal diversification of mosquitos (Diptera: Culicidae) based on nuclear genes and morphology.** *BioMed Central (BMC) Evolutionary Biology*. V: 9. (298). 1-14 pp. DOI: 10.1186/1471-2148-9-298.
- Reinert, JF; Harbach, RE; Kitching, IJ. 2009. **Phylogeny and classification of tribe Aedini (Diptera: Culicidae).** *Zoological Journal of the Linnean Society*. V. 157. (4). 700-794 pp. DOI: 10.1111/j.1096-3642.2009.00570.x
- Reinhold, JM; Lazzari, CR; Lahondère, C. **Effects of the environmental temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes: A review.** *Insects*. V: 9. (4). 1-17 pp. DOI: 10.3390/insects9040158
- Reiter, P. 2007. **Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: Implications for the efficacy of control strategies.** *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. V: 7. (2). 261-273 pp. DOI: 10.1089/vbz.2006.0630
- Reinert, JF. 2001. **Revised List of Abbreviations for Genera and Subgenera of Culicidae (Diptera) and notes of generic and Subgeneric Changes.** *Journal of the American Mosquito Control Association*. V: 17. (1). 51-55 pp.
- Rivera-Ávila, RC. 2014. **Chikungunya fever in Mexico: confirmed case and notes on the epidemiologic response.** *Salud Pública de México*. V: 56. (4). 402-404 pp.
- Robinson, MC. 1955. **An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952-1953.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 49. (1). 28-32 pp. DOI: 10.1016/0035-9203(57)90022-6
- Rodrigues, MDM; Marques, GR; Serpa, LL; Arduino, MD; Voltolini, JC; Barbosa, GL; Andrade, VR; De Lima, VL. 2015. **Density of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and its association with number of residents and meteorological variables in the home environment of dengue endemic area, São Paulo, Brazil.** *Parasites and Vectors*. V: 8. (1). 1-9 pp. DOI: 10.1186/s13071-015-0703-y
- Rosen, L. 1987. **On the mechanism of vertical transmission of dengue virus in mosquitos.** *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie III-Sciences De La Vie-Life Sciences*. V: 304. (13): 347-350 pp.
- Rosen, L; Roseboom, LE; Gubler, DJ; Lien, JC; Chaniotis, BN. 1985. **Comparative susceptibility of mosquito species and strain to oral and parenteral infection with dengue and Japanese encephalitis viruses.** *American*

- Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 34. (3). 603-615 pp. DOI: 10.4269/ajtmh.1985.34.603.
- Ross, 1956. The Newala epidemic: III. **The Virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic**. *The Journal of Hygiene*. V: 54. (2): 177-191 pp. DOI: 10.1017/s0022172400044442.
- Rowley, WA; Graham, CL. 1968. **The effect of temperature and relative humidity on the flight performance of female *Aedes aegypti***. *Journal of Insect Physiology*. V: 14. (9). 1251-1257 pp. 10.1016/0022-1910(68)90018-8
- Rozilawati, H; Tanaselvi, K; Nazni, WA; Mohd Masri, S; Zairi, J; Adanan, CR; Lee HL. 2015. **Surveillance of *Aedes albopictus* Skuse breeding preference in selected dengue outbreak localities, peninsular Malaysia**. *Tropical medicine*. V. 32. (1). 49-64 pp.
- Rueda, L. 2008. **Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater**. *Hydrobiologia*. V: 595. (1). 477-487 pp. DOI: 10.1007/s10750-007-9037-x
- Salazar, MI; Richardson, JH; Sánchez-Vargas, I; Olson, KE; Beaty, BJ. **Dengue virus type 2: Replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes**. 2007. *BMC Microbiology*. V: 7. (9). 1-13 pp. DOI: 10.1186/1471-2180-7-9.
- Sanchez-Vargas, I; Harrington, LC; Doty, JB; Black, WC; Olson, KE. 2018. **Demonstration of efficient vertical and venereal transmission of dengue virus type-2 in a genetically diverse laboratory strain of *Aedes aegypti***. *PLoS neglected tropical diseases*. V:12. (8). 1-19 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006754
- Santos, R.L. 2003. **Atualização da distribuição de *Aedes albopictus* no Brasil (1997-2002)**. *Revista de Saude Publica*. V: 37. (5). 6721-673 pp. DOI: /10.1590/S0034-89102003000500019
- Sayono, S; Widoyono, W; Sumanto, D; Rokhani, R. 2019. **Impact of Dengue Surveillance Workers on Community Participation and Satisfaction of Dengue Virus Control Measures in Semarang Municipality, Indonesia: A Policy Breakthrough in Public Health Action**. *Osong Public Health and Research Perspectives*. V: 10. (6). 376-384 pp. DOI: 10.24171/j.phrp.2019.10.6.08
- Schilte, C; Staikowsky, F; Couderc, T; Madec, Y; Carpentier, F; Kassab, S; Albert, ML; Lecuit, M; Michault, A. 2013. **Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study**. *PLoS Neglected Tropical Disease*. V: 7. (3). 1-11 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002137
- Scott, TW; & Takken, W. 2012. **Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission**. *Trends in Parasitology*. V: 28. (3). 114-121 pp. DOI: 10.1016/j.pt.2012.01.001
- Scott, TW; Amerasinghe, PH; Morrison, AC; Lorenz, LH; Clark, GG; Strickman, D; Kittayapong, P; Edman, JD. 2000. **Longitudinal Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: Blood Feeding**

- Frequency.** *Journal of Medical Entomology*. V: 37. (1). 89-101 pp. DOI: 10.1603/0022-2585-37.1.89
- Scott, TW; Chow, E; Strickman, D; Kittayapong, P; Wirtz, RA; Lorenz, LH. Edman, JD. 1993. **Blood-Feeding Patterns of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Collected in a Rural Thai Village.** *Journal of Medical Entomology* V: 30. (5). 922-927 pp. DOI: 10.1093/jmedent/30.5.922.
- Serpa, LL; Marques, GR; De Lima, AP; Voltolini, JC; Arduino, MB; Barbosa, GL; Andrade, VR; De Lima, VL. 2013. **Study of the distribution and abundance of the eggs of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* according to the habitat and meteorological variables, municipality of São Sebastião, São Paulo State, Brazil.** *Parasites and Vectors*. V: 6. (1). 1-11 pp. DOI: 10.1186/1756-3305-6-321
- Simpson, DIH. **Zika Virus Infection in Man.** 1964. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. V: 58. (4). 335-338 pp. DOI: [10.1016/0035-9203\(64\)90201-9](https://doi.org/10.1016/0035-9203(64)90201-9)
- Shearer, FM; Moyes, CL; Pigott, DM; Brady, OJ; Marinho, F; et al. 2017. **Global yellow fever vaccination coverage from 1970 to 2016: an adjusted retrospective analysis.** *The Lancet Infectious Diseases*. V: 17. (11). DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30419-X
- Shope, RE; Causey, OR; Andrade, AHP; Theiler, M. 1964. **The Venezuelan equine encephalitis complex of group A arthropod-borne viruses, including Mucambo and Pixuna from the Amazon Region of Brazil.** *American Journal of Tropical of Medicine Hygiene*. V: 13. 723-727 pp. DOI: [10.4269/ajtmh.1964.13.723](https://doi.org/10.4269/ajtmh.1964.13.723)
- Skuse, FA. 1895. **The Banded Mosquito of Bengal.** *Indian Museum Notes*. V: 3. (5). 1-20 pp.
- Straatman, A; Santos-Torres, S; Vasconcelos, PFC; Travassos da Rosa, APA; Rodrigues, SG; Tavares-Neto, J. 1997. **Evidências sorológicas da circulação do Arbovirus rocio (Flaviviridae) na Bahía.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. V: 30. (6):511-515 pp. DOI: [10.1590/s0037-86821997000600012](https://doi.org/10.1590/s0037-86821997000600012).
- Silva, AM; Oliveira, G; Loezer, TL; Souza, RM. 2012. **Avaliação do comportamento da precipitação entre o primeiro Planalto Paranaense e o Litoral do Paraná no ano hidrológico 2010/2011.** *REVISTA GEONORTE*. V: 2. (5). 967-975 pp.
- Silva, AM. 2002. **Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural no Norte do estado do Paraná.** *Environments*. V: 92. (4). 31-36 pp. DOI: [10.1590/S0073-47212002000400005](https://doi.org/10.1590/S0073-47212002000400005)
- Silva, HG; Silva, IG. 1999. **The effect of the period of egg quiescence on the life cycle of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. V: 32. (4). 349-355 pp. DOI: 10.1590/S0037-86821999000400003.

- Silva, MAN; Lopes. J. 1985. **Dados sobre potencialidade criadoura de Culicidae (Diptera) do Cemitério São Pedro-Londrina, Paraná.** *Semina*. V: 6. (3). 133-139 pp.
- Sivagnaname, N; Gunasekaran, K. 2012. **Need for an efficient adult trap for the surveillance of dengue vectors.** *Indian Journal of Medical Research*. V: 136. (5). 739-749 pp.
- Soares-Pinheiro, VC; Dasso-Pinheiro, W; Trindade-Bezerra, JM; Tadei, WP. 2017. **Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil.** *Brazilian Journal of Biology*. V: 77. (2). 396-401 pp. DOI: 10.1590/1519-6984.19815.
- Sprenger, D; Wuithiranyagool, T. 1986. **The discovery and distribution of *Aedes albopictus* (Skuse) in Harris Country, Texas.** *Journal of the American Mosquito Control Association*. V: 2. (2). 217-219 pp.
- Staikowsky, F; Talarmin, F; Grivard, P; Souab, A; Schuffenecker, I; Roux, KL; Lecuit, M; Michault, A. 2009. **Prospective Study of Chikungunya Virus Acute Infection in the Island of La Réunion during the 2005-2006.** *PLoS One*. V:4. (10). e7603. 1-9 pp. DOI: 10.1371/journal.pone.0007603.
- Teixeira, MG; Barreto, LM; Guerra, Z. 1999. **Epidemiologia e Medidas de Prevenção do Dengue.** *Informe Epidemiológico do SUS*. V: 8 (4). 5-33 pp. DOI: 10.5123/S0104-16731999000400002
- Teixeira, MG; Andrade, M; Costa, MC; Castro, JS; Oliveira, FL; Goes, CS; Maia, M; Santana, EB; Nunes, BT; Vasconcelos, PFC. 2015. **East/ Central / South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014.** *Emerging Infectious Diseases*. V: 21. (5). 906-907 pp. DOI: 10.3201/eid2105.141727
- Tesh, RB; Watts, DM; Russell, KL; Damodaram, C alampa, C; Cabezas, C; Ramírez, G; Vazquez, B; Hayes, CG; Rossi, CA; Powers, AM; Hice, CL; Chandler, LJ; Cropp, BC; Karabatsos, N; Rhoering, JT; Gubler, DJ. 1999. **Mayaro virus disease: an emerging mosquito-borne zoonosis in tropical South America.** *Clinical Infectious Diseases*. V: 28. 67-73 pp. DOI: 10.1086/515070
- Thiverville, SD; Boisson, V; Gaudart, J; Simon, F; Flahault, A, Lamballerie, X. 2013. **Chikungunya Fever: A Clinical and Virological Investigation of Outpatients on Reunion Island, South-west Indian Ocean.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 7. (1). 1-13 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002004
- Traore-Lamizana, M; Zeller, HG; Mondo, M; Hervy, JP; Adam, F; Digoutte, JP. 1994. **Isolations of West Nile and Bagaza viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central Senegal.** *Journal of Medical Entomology*. V: 31. (6). 934-938 pp. DOI: 10.1093/jmedent/31.6.934
- Tsuda, Y; Suwonkerd, W; Chawprom, S; Prajakwong, S; Takagi, M. 2006. **Different spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* along an urban-rural gradient and the relating environmental factors examined in three villages in northern Thailand.** *Journal of the American*

Mosquito Control Association. V:22. (2). 222-228 pp. DOI: 10.2987/8756-971X(2006)22[222:DSDOAA]2.0.CO;2

Universidade Federal do Paraná (UFPR). Fundação da Universidade Federal do Paraná. **Plano Diretor de Desenvolvimento Integrado de Paranaguá (PDDI Paranaguá). Volume I Análise e Temáticas e Diagnóstico-Contexto municipal**. Paranaguá, 2007. 406 p. Disponível em: http://www.paranagua.pr.gov.br/plano_diretor/+%20PLANO%20DIRETOR/PDF/PDDI%20%20Volume%20I%20An%C3%A1lise%20e%20Diagn%C3%B3stico.pdf

Vanonhi, F; Mendonça, F. 2008. **O clima do litoral do estado do Paraná**. *Revista Brasileira de Climatologia*. V. 3. 49-63 pp. DOI: 10.5380/abclima.v3i0.25423

Vasconcelos, HB; Nunes, MRT; Casseb, LMN; Carvalho, VL; Silva, EVP; Silva, M; Casseb, SMM; Vasconcelos, PFC. 2011. **Molecular Epidemiology of Oropouche Virus, Brazil**. *Emerging Infectious Diseases*. V: 17. (5). 800-806 pp. DOI: 10.3201/eid1705.101333.

Vasconcelos, PF; Travassos, RJFS; Rosa, APAT; Dégallier, N; Pinheiro, FP; Filho, GC. 1991. **Epidemiologia das Encefalites por Arbovirus na Amazônia Brasileira**. *Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo*. V: 33. (6). 465-476 pp. DOI: [10.1590/S0036-46651991000600007](https://doi.org/10.1590/S0036-46651991000600007)

Vasilakis, N; Lambert, A; MacLachlan, J; Brault, AC. **Genomic Organization of Arboviral Families**. In: Arboviruses, Molecular Biology, Evolution and Control. Vasilakis, N and Gubler, DJ (editores). *Caister Academic Press. Norfolk, UK*. (Chapter III). 2016. 31-44.

Virus Pathogen Resource (VIPR). 2009. <https://www.viprbrc.org/brc/home.spg?decorator=toga> (Acesso o dia 13/04/2018).

Volk, SM; Chen, R; Tsetsarkin, KA; Adams, AP; Garcia, TI; Sall, AA; Nasar, F; Schuh, AJ; Holmes, EC; Higgs, S; Maharaj, PD; Brault, AC; Weaver, SC. 2010. **Genome-Scale Phylogenetic Analyses of Chikungunya Virus Reveal Independent Emergences of Recent Epidemics and Various Evolutionary Rates**. *Journal of Virology*. V: 84. (13). 6497-6504. DOI: 10.1128/JVI.01603-09

Volk, SM; Chen, R; Tsetsarkin, KA; Adams, AP; Garcia, TI; Sall, AA; Nasar, F; Schuh, AJ; Holmes, EC; Higgs, S; Maharaj, PD; Brault, AC; Weaver, SC. 2010. **Genome-Scale Phylogenetic Analyses of Chikungunya Virus Reveal Independent Emergences of Recent Epidemics and Various Evolutionary Rates**. *Journal of Virology*. V: 84. (13). 6497-6504 pp. DOI: 10.1128/JVI.01603-09

Waehre, T; Maagard, A; Tappe, D; Cadar, D; Schmidt-Chanasit, J. 2014. **Zika virus infection after travel to Tahiti, December 2013**. *Emerging Infectious Disease*. V: 20. (8).1412-1414 pp. DOI: 10.3201/eid2008.140302

- Weaver, SC. 2014. **Arrival of Chikungunya Virus in the new World: Prospects for Spread and Impact in Public Health.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 8. (6). 1-4 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002921
- Weaver, S; Lecuit, M. 2015. **Chikungunya Virus and the Global Spread of a Mosquito-Borne Disease.** *The New England Journal of Medicine*. V: 372. (13). 1231-1239 pp. DOI: 10.1056/NEJMra1406035
- Weaver, Sc and Vasilakis, N. 2013. **Molecular Evolution of Dengue Viruses: Contributions of Phylogenetics to Understanding the History and Epidemiology of the Preeminent Arboviral Disease.** *Infectious Genetic Evolution*. 2009. V: 9. (4). 523-540 pp. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.02.003
- Wiegmann, BM; Trautwein, MD; Winkler, IS; Barr, NB; Kim, JW; Lambkin, C; et al Yeates, DK. 2011. **Episodic radiations in the fly tree of life.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. V: 108. (14). 5690-5695 pp. DOI: 10.1073/pnas.1012675108.
- Williams, CR; Bader, CA; Kearney, MR; Ritchie, SA; Russell, RC. 2010. **The Extinction of Dengue through Natural Vulnerability of Its Vectors.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*. V: 4 (12). 1-7 pp. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000922
- Wilkerson, RC; Linton, YM; Fonseca, DM; Schultz, TR; Price, DC; Strickman, DA. 2015. **Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships.** *PLoS ONE*. V. 10. (7).1-26 pp. DOI: 10.1371/journal.pone.0133602
- World Health Organization (WHO). 2020. **Dengue and severe Dengue.** <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. (Acesso o dia 09/01/2020).
- World Health Organization (WHO). 2018. **Zika Virus.** <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>. (Acesso o dia 10/01/2020).
- World Health Organization (WHO). 2017. **Vector-Borne disease.** <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>. (Acesso o dia 31/06/2018).
- World Health Organization. (WHO). Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). **Pesticides and their Application for the Control of Vectors and Pets of Public Health importance (WHO/CDS/STD/WHOPES/GCDPP/ 2006.1).** World Health Organization: Geneva, 2006. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69223/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Acesso páginas webs de jornais locais.

<https://folhadolitoral.com.br/ciencia-e-saude/sete-carros-fumace-voltam-a-atuar-em-paranaqua>

<https://www.gazetadopovo.com.br/vida-e-cidadania/por-falta-de-inseticida-parana-restringe-uso-de-fumace-1bw7129zyt3zgo2dy9rqbbx4u/>

ANEXOS

Anexo 1. Resultado do Índice de infestação predial – IIP (LIA- LIRAA) no município de Paranaguá, durante os anos 2014-2019.

IIP (%)	Mês do resultado	Fonte da informação
Ano	2014	
Sem informação	-	-
2015		-
Sem informação	-	
2016		
0,96	novembro	http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/24/Tabela---LIRAA-Nacional-2016.pdf
2017		
2,42	janeiro	https://agorallitoral.com.br/noticias/fumace-volta-ser-aplicado-em-paranagua-nesta-sexta-feira-05/
3,6	setembro	Prefeitura Municipal de Paranaguá – Secretaria Municipal de Saúde.
8,90	novembro	http://www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=96444&tit=92-dos-municipios-tem-levantamento-sobre-a-dengue
2018		
14,80	junho	http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/junho/07/Municipios-LIRAA-.pdf
2,10	outubro	http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/43520-espirito-santo-registra-40-municipios-em-situacao-de-alerta-ou-risco-para-dengue-zika-e-chikungunya
2019		
3,7	janeiro	https://folhadolitoral.com.br/ciencia-e-saude/levantamento-recente-aponta-que-paranagua-possui-de-medio-a-alto-risco-para-epidemia-de-dengue/#.XjL43GhKjIU
4	novembro	https://g1.globo.com/pr/parana/noticia/2019/12/03/14-municipios-do-parana-tem-criadouros-suficientes-para-gerar-epidemia-de-dengue-diz-secretaria.ghtml

IIP (%) = Índice de infestação predial (Imóveis positivos /Imóveis pesquisados X 100).

Satisfatório – IIP < 1,0

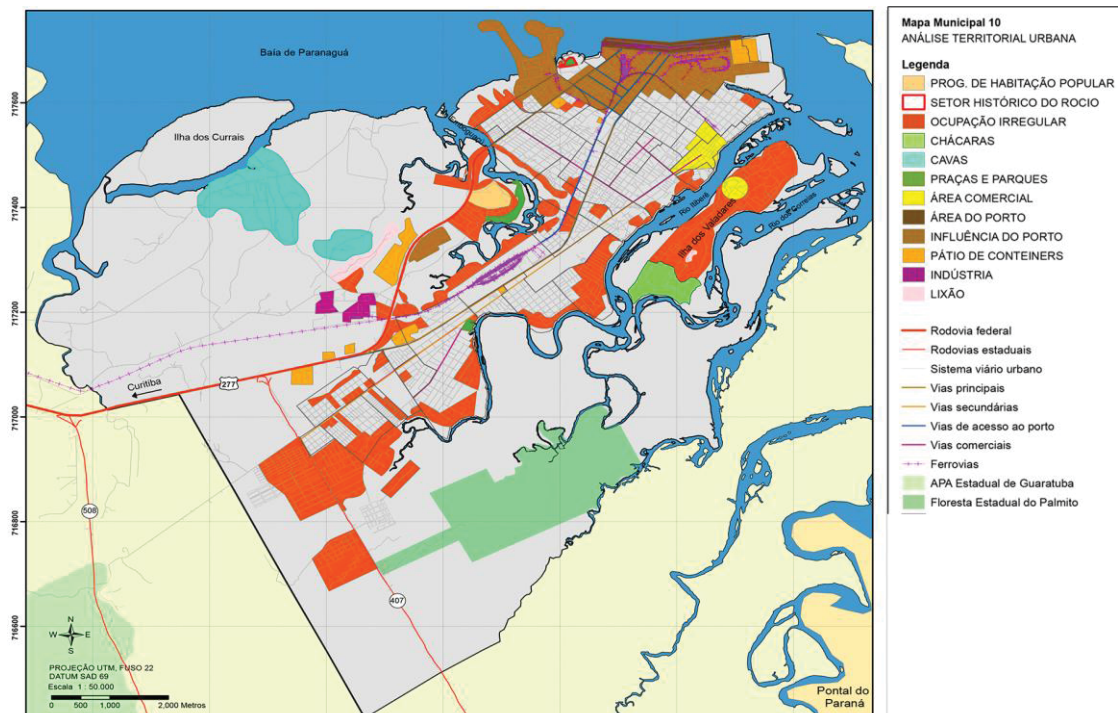
Alerta – 1,0 IIP < 3,99

Risco - >4,0 I

(Fonte: Brasil,2009)

Anexo 2.

Ocupações irregulares (vermelho) no município de Paranaguá (2005).



Fonte:

https://www.paranagua.pr.gov.br/plano_diretor/+/+20PLANO%20DIRETOR/WORD/Mapas%20Volume%20I%20-%20Parte%202%20-%20An%3%a1lise%20Tem%3%a1tica%20e%20Diagn%3%b3stico%20-%20Contexto%20Municipal/Mapa%2010%20-%20Analise%20territorial%20urbana.pdf

Anexo 3.

Termo de autorização entregue para os moradores dos imóveis visitados para instalação-retirada de armadilha ovitampa no município de Paranaguá – Paraná.



Secretaria de Estado da Saúde – SESA 1ª Regional de Saúde - Divisão de Vigilância em Saúde

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Prezado munícipe, convidamos você para participar do processo de vigilância entomológica. Essa ação é uma parceria entre a Secretária de Estado da Saúde do Paraná (SESA-PR), o município de Paranaguá e a Universidade Federal do Paraná. O principal objetivo desse trabalho é a vigilância da infestação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no litoral do Paraná entre maio de 2017 a abril de 2018 (12 meses). Para isso, solicitamos a sua autorização para a instalação da armadilha para a pesquisa dos mosquitos. A armadilha permanecerá no imóvel pelo período de quatro dias, sendo retirada posteriormente por um agente de saúde. A operação se repetirá mensalmente até abril de 2018. O proprietário do imóvel poderá solicitar a retirada da armadilha ou negar sua reinstalação no mês seguinte a qualquer momento. A armadilha será instalada no peridomicílio sem nenhum custo. Cabe ressaltar que a função dessa armadilha é exclusivamente de vigilância, não eliminando os mosquitos presentes no imóvel. Assim, recomenda-se que o proprietário mantenha o imóvel livre de criadouros, utilize repelentes e demais medidas para proteger-se dos mosquitos.

Atenciosamente.

Chefe da SCVSAT

Diretoria da 1ª Regional de Saúde

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

1ª Regional de Saúde- Litoral

Av. Cel. José Lobo, 574 - Paranaguá/PR - CEP: 83203-340

E-mail: scvsat01rs@sesa.pr.gov.br

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Autorizo a SESA-PR a instalar no meu imóvel a armadilha para pesquisa de mosquitos conforme descrito no texto explicativo.

Nome e assinatura do morador: _____ Data: _____

Nº ARM.		TIPO DE ARM.	
LOGRADOURO		Nº	
BAIRRO		CIDADE	Paranaguá
ESTRATO		TELEFONE	

Anexo 4.

Planilha de controle da instalação e retirada das ovitrampas em campo.



SESA- Secretaria Estadual de Saúde/1º Regional Paranaguá



Vigilância Entomológica - ESTRATO 16

Data de instalação da ovitrampa: _____

Data de retirada da ovitrampa: _____

Equipe responsável instalação _____

Equipe responsável retirada _____

Palheta nº	Endereço	Local de instalação no imóvel	Instalação		Retirada		Observações	Coord. Geográ- ficas
			Sim	Não	Sim	Não		
325	Endereço. Número _____ Nome do morador: Telefone:							
326	Endereço. Número _____ Nome do morador: Telefone:							
327	Endereço. Número _____ Nome do morador: Telefone:							
328	Endereço. Número _____ Nome do morador: Telefone:							

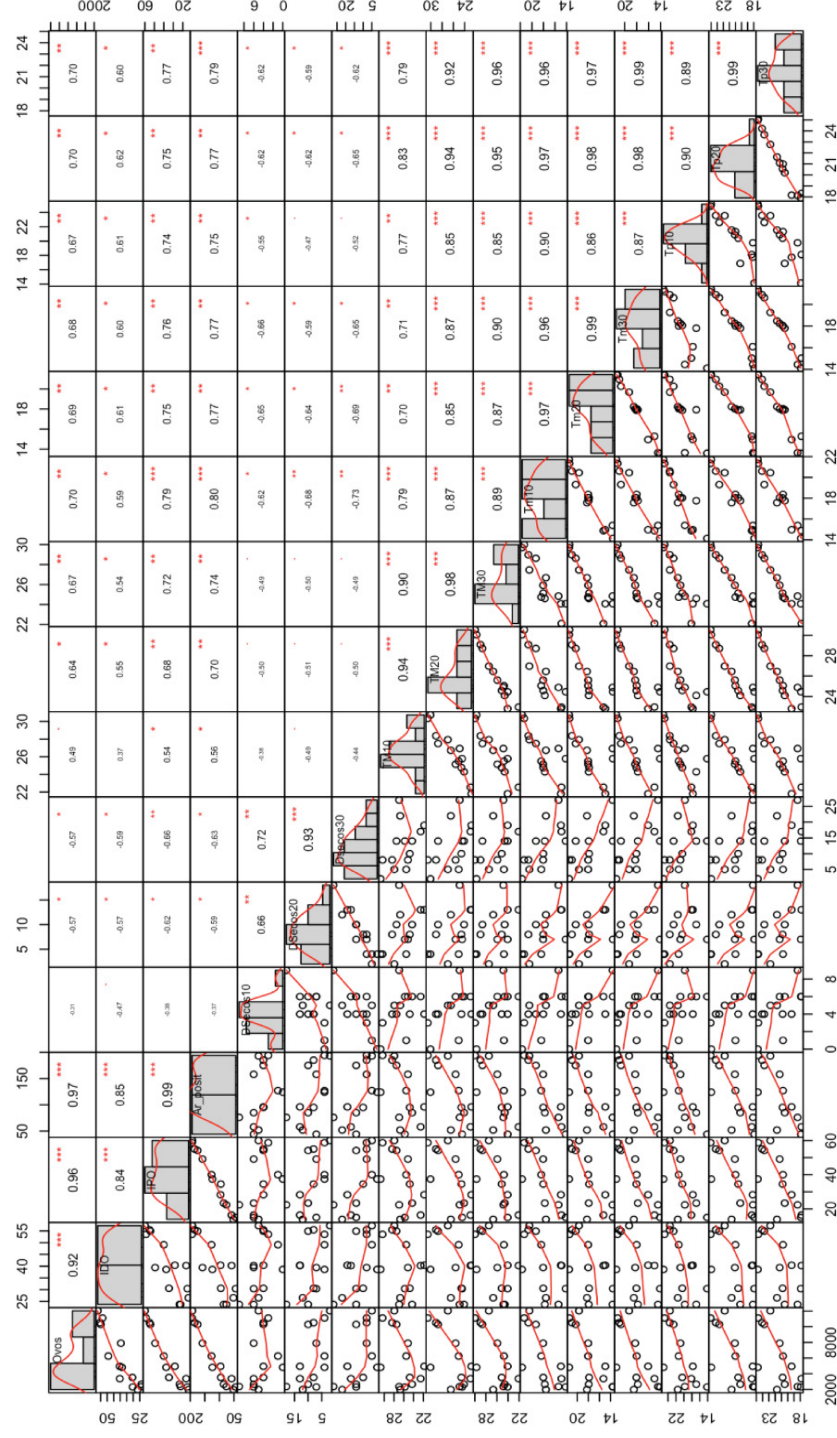
Anexo 5.

Armadilhas perdidas por estrato durante 14 meses de coleta no período junho-2017 a novembro-2018, no município de Paranaguá-PR

Coleta (n)	Mês	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5	E 6	E 7	E 8	E 9	E 10	E 11	E 12	E 13	E 14	E 15	E 16
Ano		2017															
1	jun	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2	jul	0	2	0	0	0	1	1	0	2	1	2	0	1	0	0	0
3	ago	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	set	0	0	0	0	0	3	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
5	out	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
6	nov	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	dez	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Ano		2018															
8	jan	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
9	fev	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
10	mar	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
11	abr	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	jun	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
13	Set	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	nov	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		7	4	3	0	0	7	3	3	3	6	2	0	4	2	3	1
E=Estrato																	

Anexo 6.

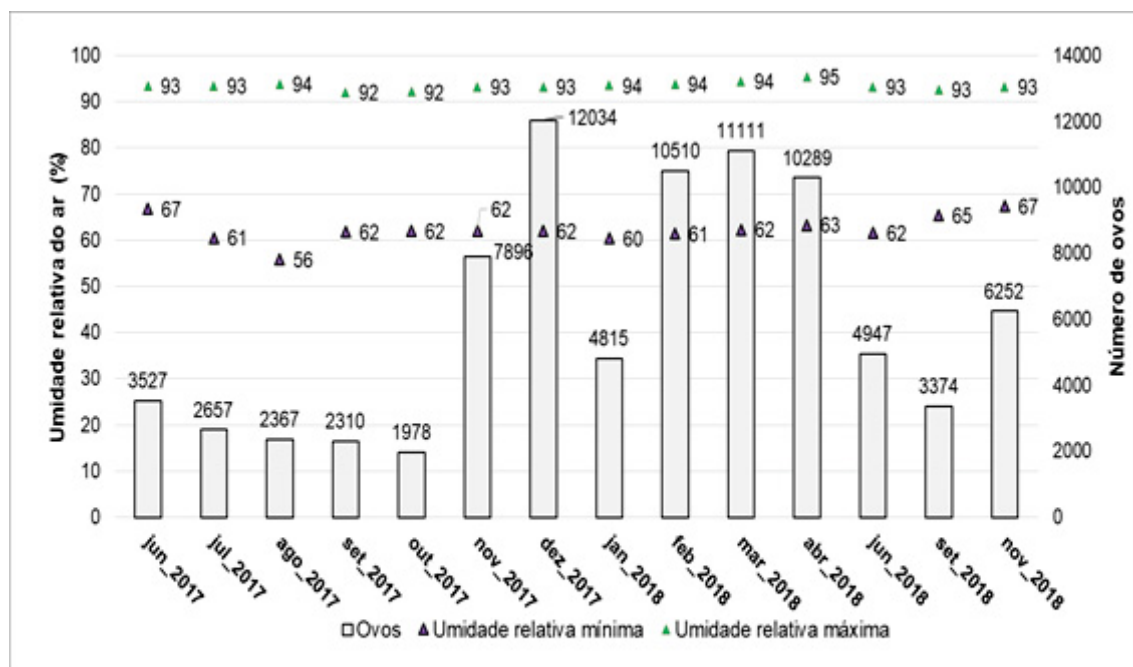
Matriz dos coeficientes de correlação de Spearman (ρ) incluindo a dispersão entre as variáveis, a distribuição e os valores de significância.



A diagonal do gráfico apresenta a distribuição de cada variável. A parte inferior da diagonal apresenta a dispersão e a parte superior da diagonal apresenta os valores da correlação e o nível de significância. $p = \text{***} 0.001$; $** 0.01$; $* 0.05$

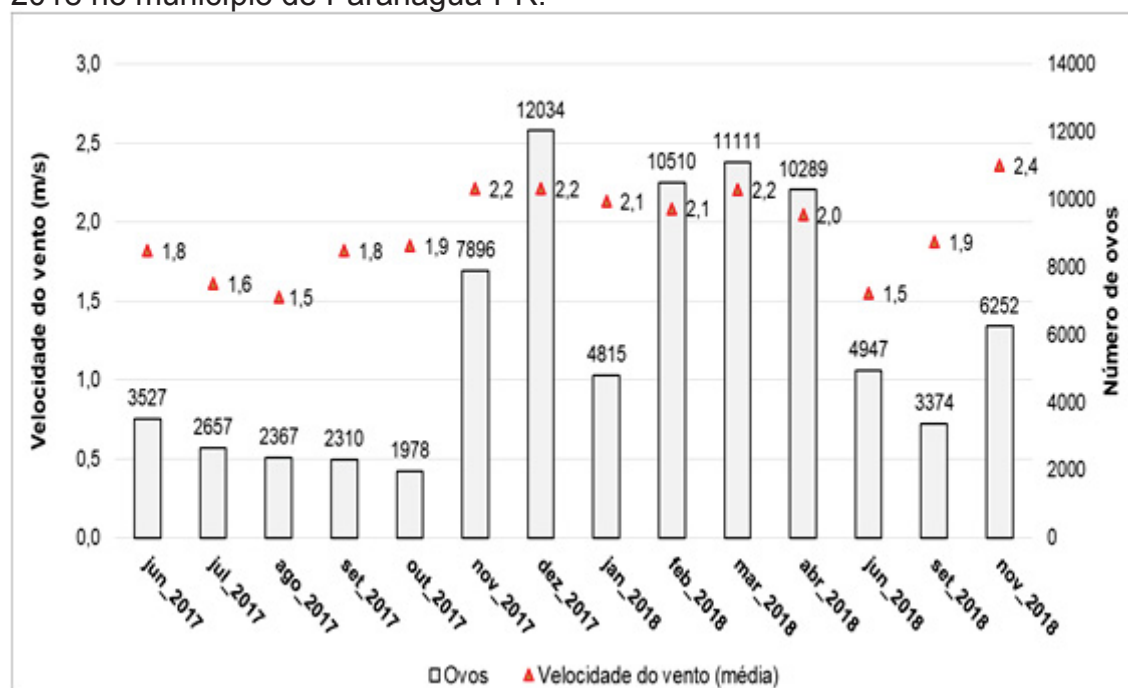
Anexo 7

Total de número de ovos comparado com a umidade relativa (mínima e máxima) desfasada 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.



Anexo 7.1

Total de número de ovos comparado com a velocidade do vento (média) desfasada 30 dias antes de cada coleta no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.



Anexo 8.

Dados selecionados para a criação dos índices (IPO) e (IDO) randomizados a partir dos dados coletados em campo durante o período Junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

	E1*	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16
Armadilhas	2	43	54	66	78	103	132	144	168	193	221	238	248	279	304	325
	7	45	55	67	81	109	133	148	171	197	222	239	253	280	306	326
	12	46	56	69	82	110	134	150	173	200	223	240	258	283	308	327
	15	47	58	70	86	113	136	156	176	205	225	241	261	284	310	328
	19	48	59	71	88	114	137	157	177	208	228	242	262	289	312	329
	22	49	60	72	92	118	138	158	181	210	230	243	264	290	314	330
	28	50	61	73	95	119	139	161	184	211	232	244	265	292	317	331
	33	51	62	74	98	124	140	163	186	215	233	245	269	296	319	-
	37	52	63	75	99	129	141	166	187	217	235	246	272	300	321	-
	38	53	65	76	101	130	142	167	190	219	236	247	273	302	324	-
Total de Armadilhas	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7

*Fórmula utilizada no Excel para a seleção dos dados: =ALEATÓRIOENTRE (1;42) E=Estrato

Anexo 9

Número de casos de dengue nos municípios do litoral do Paraná nos últimos onze anos reportados por período e semana epidemiológica (SE)

	*31/2009- *30/2010	31/2010- 30/2011	31/2011- 30/2012	31/2012- 30/2013	31/2013- 30/2014	31/2014- 30/2015	31/2015- 30/2016	31/2016- 30/2017	31/2017- 30/2018	31/2018- 30/2019	31/2019- 28/2020
Paranaguá	6	5	4	6	2	43	15.779	35	0	34	1.706
Antonina	0	0	0	0	0	1	167	0	0	0	1
Guaraqueçaba	0	0	0	0	0	0	134	0	0	0	1
Guaratuba	1	3	0	1	0	0	23	1	0	11	93
Matinhos	1	0	1	0	0	0	122	0	0	116	71
Morretes	1	0	0	1	0	0	116	0	0	0	35
Pontal do Paraná	0	0	0	1	0	1	51	0	0	0	88
Total	9	8	5	9	2	45	16.392	36	0	161	1.995

* Semana epidemiológica

Fonte:

http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/DengueInformeTcnico36_2015_2016atSE30201_ZIKA_CHIKUNGUNYA_novatabelaCHIKUN_ZIKA_2016_09_08divulgado.pdf

http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/BoletimDengue39_202

Anexo 9.1

Número de casos de Chikungunya e ZIKA nos municípios do litoral do Paraná nos últimos dez anos reportados por período de ano e semana epidemiológica (SE).

	*31/2009- *30/2010	31/2010- 30/2011	31/2011- 30/2012	31/2012- 30/2013	31/2013- 30/2014	31/2014- 30/2015	31/2015- 30/2016	31/2016- 30/2017	31/2017- 30/2018	31/2018- 30/2019	31/2019- 20/2020
	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK	CHIK/ZIK
Paranaguá	-	-	-	-	-	-	5/9	10/1	0/0	0/0	0/0
Antonina	-	-	-	-	-	-	0/0	0/0	0/0	0/0	-
Guaraqueçaba	-	-	-	-	-	-	0/1	0/0	0/0	0/0	-
Guaratuba	-	-	-	-	-	-	1/6	0/0	0/0	0/0	-
Matinhos	-	-	-	-	-	-	0/1	0/0	0/0	1/0	-
Morretes	-	-	-	-	-	-	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Pontal do Paraná	-	-	-	-	-	-	0/4	1/0	0/0	0/0	-
Total	0	0	0	0	0	0	6/21	11/1	0/0	1/0	0

* Semana epidemiológica

CHIK: Chikungunya, ZIK: Zika, - sem existência de casos

Fonte: http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/DengueInformeTcnico36_2015_2016atSE30201_ZIKA_CHIKUNGUNYA_novatabelaCHIKUN_ZIKA_201609_08divulgado.pdf

http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/BoletimDengue39_2020.pdf

ANEXO 10. Distribuição da frequência de ovos por mês no período junho-2017 a novembro-2018 no município de Paranaguá-PR.

