



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ  
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS – SVSA/MS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA PARASITÁRIA NA  
AMAZÔNIA

**ESTUDO DA DIVERSIDADE E ENTOMOVIROLÓGIA DA FAUNA DE  
CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DA COMUNIDADE  
QUILOMBOLA ABACATAL, ANANINDEUA, PARÁ, BRASIL.**

HANNA CAROLINA FARIAS REIS

BELÉM/PARÁ

2024



HANNA CAROLINA FARIAS REIS

**ESTUDO DA DIVERSIDADE E ENTOMOVIROLOGIA DA FAUNA DE  
CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DA COMUNIDADE  
QUILOMBOLA ABACATAL, ANANINDEUA, PARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia da Universidade do Estado do Pará/Instituto Evandro Chagas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Parasitária na Amazônia.

Orientador (a): Prof. Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto

BELÉM/PARÁ

2024



HANNA CAROLINA FARIAS REIS

**ESTUDO DA DIVERSIDADE E ENTOMOVIROLOGIA DA FAUNA DE  
CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DA COMUNIDADE  
QUILOMBOLA ABACATAL, ANANINDEUA, PARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia da Universidade do Estado do Pará/Instituto Evandro Chagas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Parasitária na Amazônia.

Orientador:

Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto

Laboratório de Entomologia Médica SEARB/IEC.

Banca examinadora:

Dra. Ana Cecília Ribeiro Cruz  
Instituto Evandro Chagas (IEC)/ Universidade do  
Estado do Pará (UEPA)

Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho  
Universidade do Estado do Pará (UEPA)

Dra. Valéria Lima Carvalho  
Instituto Evandro Chagas (IEC)

Dra. Ana Lúcia Monteiro Wanzeller  
Instituto Evandro Chagas (IEC)

## AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo o que tens feito em minha vida, por me conceder força e sabedoria para chegar até onde cheguei;

Agradeço a minha Família por todo o apoio durante essa caminhada, em especial aos meus pais Paulo Troades e Rakeel Alfaia, eu sei que vocês abriram mão de muitas coisas pelos meus estudos, vocês torceram e oraram por mim, eu amo vocês. Aos meus avós Manoel Paixão, Irene Alfaia, Antônia Lisboa e Pedro Alcantara (*In memorian*), eu sei que estive em suas orações, obrigada por compreender a minha ausência eu amo vocês, ao meu irmão Paulo Matheus e primos por terem paciência por me ouvirem falar sobre mosquitos, vocês foram essenciais, obrigada pelas caronas e disposição;

Agradeço ao meu marido Mateus Menezes por todo o suporte e compreensão, por segurar minha mão e me acalmar, enxugar minhas lágrimas, pelas conversas de madrugada todas as vezes que eu quis desistir, obrigada pela paciência;

Agradeço ao meu orientador Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto, um grande professor e amigo, foi a pessoa que creditou em mim quando eu mesma não acreditava, ele sempre mostrava que era possível, obrigada por cada conversa, por todo o ensinamento e conselhos e principalmente paciência, minha eterna gratidão;

Agradeço aos servidores Durval Bertram Rodrigues Vieira, Roberto Carlos Feitosa Bradão, Daniel Damous Dias por todo o apoio em campo, pela amizade. A Dra. Bruna Laís Sena do Nascimento pelo apoio nas identificações taxonômicas dos mosquitos, cada um de vocês trouxeram contribuições para que fosse possível a conclusão desse trabalho. Agradeço a excelente equipe do Laboratório de Entomologia Médica da SEARB- IEC;

Agradeço aos meus amigos e alunos do Laboratório de Entomologia Médica da SEARB-IEC que ao longo dessa jornada dividiram experiências para encaminhar com o projeto Fábio Silva, Lucas Silva, Bárbara Garcia um prazer ter conhecido vocês;

Aos profissionais e servidores do Laboratório de Isolamento Viral, Dra. Eliana Pinto da Silva pelos ensinamentos sobre as células, Landerson Barros, Maíssa Maia e Ercília Gonçalves pelo apoio e contribuição.

Aos profissionais e servidores do Laboratório de Biologia Molecular, Dra. Ana Cecília Ribeiro Cruz e Dr. Sandro Patroca pela ajuda e contribuição nas análises moleculares, a Ivy Tsuya e Juliana Abreu por dividir comigo experiências e ensinamentos;

A banca avaliadora Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho, Dra. Ana Cecília Ribeiro Cruz, Dra. Valéria Lima Carvalho pelo aceite do convite para contribuição muito importante em meu trabalho e formação.

A chefia do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) Igor Holanda e a equipe da secretaria Andréa Santos e Regina Oliveira que compreenderam minha ausência, organizaram minha rotina no trabalho para que eu pudesse conseguir conciliar com os estudos. Minha eterna gratidão!

Agradeço aos meus amigos que tive a honra de conhecer no CCZ, Ingrid Luiza, Paloma Paiva, Adriano Nery e Adison Teixeira com muitas risadas e conversas vocês fizeram com que essa jornada fosse leve. Ao Jean Figueiredo, obrigada por desde do início, ler o projeto comigo, corrigir a pontuação de mestrado e torcer para eu passar, por todas as vezes que eu precisei me ausentar do laboratório e você me substituiu. Eu amo vocês!

As minhas amigas e irmãs Débora Dias, Emilly Freitas, Jéssica Santiago, Ana Sarmento que muitas vezes tiveram a paciência de me ouvir falar sobre mosquitos e obrigada por cada conversa. Em especial Lucia Aline Moura Reis por sua dedicação e paciência, por meu auxiliar no trabalho, ensinar passo a passo da vida acadêmica, estando ao meu lado nessa jornada. Eu amo vocês!

Ao programa de pós graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (UEPA/IEC), por todo suporte nessa caminhada;

Enfim, a todos, muito obrigada!

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1.	GENERALIDADES E CARACTERISTICAS DOS VÍRUS.....	13
1.2.	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ARBOVÍRUS.....	13
<b>1.2.1.</b>	<b>Ciclo de manutenção e transmissão.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2.2.</b>	<b>Importância médica-epidemiológica de arbovírus.....</b>	<b>17</b>
1.3.	GENERALIDADE E CARACTERISTICAS DA FAMILIA CULICIDAE	19
<b>1.3.1</b>	<b>Aspectos biológicos de culicídeos.....</b>	<b>21</b>
<b>1.3.2.</b>	<b>Interação entre culicídeos e arbovírus.....</b>	<b>24</b>
1.4.	VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA.....	26
1.5.	COMUNIDADE QUILOMBOLA ABACATAL.....	27
1.6.	PROCESSOS ANTRÓPICOS E SUA RELAÇÃO COM OS CULICÍDEOS	29
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>31</b>
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	31
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
3.1.	CONSENTIMENTO ÉTICO.....	32
3.2.	ÁREA DE ESTUDO.....	32
3.3.	MÉTODOS DE COLETA DE CULICÍDEOS .....	33
<b>3.3.1.</b>	<b>Coleta com atração humana protegida e esclarecida .....</b>	<b>34</b>
<b>3.3.2.</b>	<b>Armadilha tipo CDC.....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.3.</b>	<b>Larvitampas .....</b>	<b>36</b>
3.4.	IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CULICÍDEOS.....	38
3.5.	CONSTÂNCIA E DOMINÂNCIA DAS ESPÉCIES .....	39
3.6.	ANÁLISE DA DIVERSIDADE.....	39
3.7.	ISOLAMENTO VIRAL EM CULTIVO CELULAR.....	39
<b>3.7.1.</b>	<b>Cultivo e manutenção das linhagens celulares (VERO E C6/36) .....</b>	<b>39</b>
<b>3.7.2.</b>	<b>Preparo de suspensão de artrópodes .....</b>	<b>40</b>
<b>3.7.3.</b>	<b>Inoculação em células VERO e C6/36.....</b>	<b>41</b>
<b>3.7.4.</b>	<b>Imunofluorescência indireta (IFI) .....</b>	<b>42</b>

3.8.	BIOLOGIA MOLECULAR .....	42
3.8.1.	Extração de RNA .....	42
3.8.2.	Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) .....	43
4.	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>45</b>
4.1.	LEVANTAMENTO DE ENTOMOFAUNA, CONSTÂNCIA E DOMINÂNCIA DAS ESPÉCIES.....	45
4.2.	ISOLAMENTO VIRAL E TESTE DE IFI .....	53
4.3.	DETECÇÃO DO GENOMA VIRAL POR RT-qPCR.....	57
5.	<b>DISCURSSÃO</b> .....	<b>58</b>
6.	<b>CONCLUSSÃO</b> .....	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 –</b>	Representação esquemática do ciclo de transmissão dos arbovírus.....	16
<b>Figura 2</b>	Características morfológicas de Culicidae.....	20
<b>Figura 3 –</b>	Ciclo biológico dos culicídeos.....	22
<b>Figura 4 –</b>	Representação esquemática da rota de infecção, replicação e disseminação de arbovírus.....	26
<b>Figura 5 –</b>	Características de mata secundária na Comunidade Quilombola Abacatal.....	28
<b>Figura 6 –</b>	Ponto inclusa no estudo para trabalhar nas execuções.....	33
<b>Figura 7 –</b>	Coleta em copa de árvore (A) e coleta em solo (B).....	34
<b>Figura 8 –</b>	Capturador de sucção oral (A) Puçá para coleta de culicídeos (B) e tubos de ensaio para acondicionamento (C).....	35
<b>Figura 9 –</b>	Armadilha de CDC copa (A), CDC em solo (B) e artrópodes coletados pela CDC (C).....	36
<b>Figura 10 –</b>	Larvitampa de vaso de plástico com palheta de Eucatex (A), larvitampa de ouriço (B) ambas em solo. Larvitampa de vaso de plástico (C) e larvitampa de Bambu (D) ambas em copa.....	37
<b>Figura 11 –</b>	Representação esquemática dos instrumentos utilizados na identificação dos artrópodes .....	38
<b>Figura 12 –</b>	Representação esquemática da preparação de suspensão de artrópodes .....	41
<b>Figura 13-</b>	Gráfico de diversidade das espécies coletadas.....	50
<b>Figura 14-</b>	Abundância de espécie do período chuvoso na Comunidade Quilombola Abacatal .....	51
<b>Figura 15-</b>	Abundância de espécie do período chuvoso na Comunidade Quilombola Abacatal .....	52
<b>Figura 16 -</b>	ECP em C6/36 (A) e ECP em VERO (B) proveniente da mesma amostra de AR 889093 <i>Cx. (Mel.) portesi</i> .....	53

## LISTA DE QUADROS E TABELA

<b>Tabela 1</b> –	Espécies de culicídeos coletados no período chuvoso e seco por método ATHPE e CDC tanto em solo quanto em copa.....	46
<b>Tabela 2</b> –	Espécies de culicídeos coletados no período chuvoso e seco por método de larvitampa tanto em solo quanto em copa.....	49
<b>Quadro 1</b> –	Principais arbovírus emergentes e reemergentes no Brasil.....	15
<b>Quadro 2</b> –	Subfamília Culicinae dos principais mosquitos neotropicais.....	20
<b>Quadro 3</b> –	Classificação dos tipos de ambiente larval de Culicidae.....	23
<b>Quadro 4</b> –	Artrópodes coletados que demonstraram efeito citopático no isolamento viral e seus respectivos resultados no teste de imunofluorescência indireta no período chuvoso.....	54
<b>Quadro 5</b> –	Artrópodes coletados que demonstraram efeito citopático no isolamento viral e seus respectivos resultados no teste de imunofluorescência indireta no período seco .....	55
<b>Quadro 6</b> –	Resultado das amostras de artrópodes testado por RT-qPCR.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASFV	<i>African swine fever virus</i>
ATHPE	Atração humana protegida e esclarecida
BUSV	<i>Orthoflavivirus aroaense</i>
CACV	<i>Orthoflavivirus cacipacoreense</i>
CDC	<i>Center on Disease Control</i>
CHIKV	<i>Chikungunya virus</i>
CPCV	<i>Cacipacoreense</i>
DENV	<i>Orthoflavivirus denguei</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECP	Efeito Citopático
EEEV	<i>Eastern equine encephalitis</i>
FAV	<i>Orthoflavivirus flavi</i>
GPS	<i>Global Positioning System</i>
HZ	<i>Hertz</i>
ICTV	Comitê internacional de taxonomia viral
IFI	Imunofluorescência Indireta
ILHV	<i>Orthoflavivirus ilheusense</i>
MAYV	<i>Mayarovirus</i>
MS	Ministério da saúde
OROV	<i>Orthobunyavirus oropoucheense</i>
ROCV	<i>Rocio virus</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	rotações por minuto
RT-PCR	Transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase
SBF	Soro bovino fetal
SLEV	<i>Orthoflavivirus louisense</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
WEEV	<i>Western equine encephalitis virus</i>
WNV	<i>Orthoflavivirus nilense</i>
ZIKV	<i>Orthoflavivirus zikaense</i>

## RESUMO

O estudo da fauna dos culicídeos na comunidade Quilombola Abacatal, concentra-se em vigilância em saúde pública, pois a família Culicidae possui representante que atuam como vetores que correspondem as possíveis implicações epidemiológicas, visto que, a área apresenta características favoráveis a disseminação de artrópodes, nesse estudo investigou-se pesquisa de arbovírus e suas diretrizes para a vigilância de doenças em áreas de preservação ambiental. Os principais pontos incluem os ciclos de transmissão de patógenos zoonóticos, avaliação de risco de reemergência de arbovírus devido a urbanização e efeitos das mudanças climáticas. O presente estudo consistiu em uma investigação entomoviológica, identificou a fauna de culicídeos e investigou a circulação de arbovírus a partir das espécies coletadas na comunidade Quilombola Abacatal. Os mosquitos foram coletados em uma excursão de 10 dias em período seco e chuvoso pelos métodos de atração humana protegida e esclarecida (ATHPE) e armadilhas luminosas CDC (*Center on Disease Control*) nos estratos de copa arbórea e solo, enquanto que as formas imaturas foram coletadas por meio de larvitampas. Após as coletas em campo as amostras foram armazenadas em lotes até a etapa de isolamento viral, na cultura de células foi utilizada os cultivos de células clone da linhagem VERO (Oriundo de células renais de macaco verde africano *Chlorocebus sabaues*) e C6/36 (proveniente de epitélio celular do intestino médio de *Aedes albopictus*) e as confirmações através da Imunofluorescência indiretas (IFI) e encaminhadas para o laboratório de Biologia Molecular para pesquisa de arbovírus através de RT-qPCR. Os resultados obtidos após a identificação taxonômica das amostras coletadas demonstraram que espécies como *Cq.(Rhy.) venezuelensis* e *Cx.(Mel.) portesi* foram eudominantes na área investigada. Além disso, espécies como *Cx.(Car.) infoliatu*s, e *Cx.(Car.) urichii/anduzei* foram predominantes em coleta utilizando armadilhas ovitrampas. Após a identificação taxonômica, 189 *pools* de artrópodes hematófagos foram encaminhados ao laboratório de Cultura de Células, onde 15 amostras demonstraram alterações morfológicas e destas 3 amostras resultaram em reações inespecíficas e outras 3 resultaram em reação mesmo sem efeito citopático (ECP). As 18 amostras que obtiveram ECP e reações inespecíficas foram encaminhadas ao laboratório de Biologia Molecular e a análise não detectou nenhum dos arbovírus testados. Conclui-se que estudos metagenômicos são de grande importância para a investigação e precisam ser realizados.

Palavra-chave: Culicídeos, vigilância epidemiológica, Quilombola

## ABSTRACT

The study of the culicid fauna in the Abacatal Quilombola community focuses on public health surveillance, since the Culicidae family has representatives that act as vectors that correspond to possible epidemiological implications, since the area has characteristics favorable to the spread of arthropods. This study investigated arbovirus research and its guidelines for disease surveillance in environmental preservation areas. The main points include the transmission cycles of zoonotic pathogens, assessment of the risk of reemergence of arboviruses due to urbanization and the effects of climate change. The present study consisted of an entomovirological investigation, identified the culicid fauna and investigated the circulation of arboviruses from the species collected in the Abacatal Quilombola community. Mosquitoes were collected during a 10-day dry and rainy season field trip using the ATHPE method and CDC (*Center on Disease Control*) light traps in tree canopy and soil strata, while immature forms were collected using larvitrap. After field collection, samples were stored in batches until the viral isolation stage. Cell cultures were performed using clone cells of the VERO lineage (derived from kidney cells of the African green monkey *Chlorocebus sabaues*) and C6/36 (derived from the cellular epithelium of the midgut of *Aedes albopictus*). Confirmations were performed using indirect immunofluorescence (IIF) and sent to the Molecular Biology laboratory for arbovirus testing using RT-qPCR. The results obtained after the taxonomic identification of the collected samples demonstrated that species such as *Cq.(Rhy.)venezuelensis* and *Cx.(Mel.) portesi* were eudominant in the investigated area. In addition, species such as *Cx.(Car.) infoliatius*, and *Cx.(Car.)urichii/anduzei* were predominant in collection using ovitraps. After taxonomic identification, 189 pools of hematophagous arthropods were sent to the Cell Culture laboratory, where 15 samples showed morphological alterations and of these 3 samples resulted in nonspecific reactions and another 3 resulted in reaction even without cytopathic effect (ECP). The 18 samples that obtained DBS and nonspecific reactions were sent to the Molecular Biology laboratory and the analysis did not detect any of the arboviruses tested. It is concluded that metagenomic studies are of great importance for the investigation and need to be carried out.

Keyword: Culicidae, epidemiological surveillance, Quilombola

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. GENERALIDADES E CARACTERÍSTICAS DOS VÍRUS

Dentre os microorganismos, os vírus têm grande destaque como causadores de diversas doenças infecciosas tanto em humanos quanto em animais, sejam domesticados ou de vida livre (FLINT *et al.*, 2015). Eles são agentes infecciosos acelulares, dependem de células hospedeiras vivas para se replicarem; são parasitas obrigatoriamente intracelulares. Em termos de tamanho, os vírus variam bastante: podem ser extremamente pequenos, medindo desde 10 nanômetros (nm) até mais de 1 micrômetro (µm) (STEPHENS *et al.*, 2017; KORSMAN *et al.*, 2014).

Uma partícula viral completa, conhecida como vírion, refere-se a um conjunto de estruturas organizadas, compostas por múltiplas cópias de uma ou mais proteínas específicas. Essas partículas contêm apenas um tipo de ácido nucleico, que pode ser ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), embora existam casos em que ambos os tipos de ácidos nucleicos estão presentes. O genoma viral é protegido por uma estrutura proteica chamada capsídeo, e o conjunto formado pelo ácido nucleico e é denominado nucleocapsídeo. A principal função do vírion é proteger e manter o genoma viral íntegro até que ele possa ser transportado e entregue às células hospedeiras, onde ocorrerá o processo de replicação (STEPHENS *et al.*, 2017; KORSMAN *et al.*, 2014).

O genoma do vírus pode ser constituído de segmentos de fita simples ou múltiplas, circular ou linear, com senso positivo ou negativos sendo essas características pertinentes ao material genético estando relacionadas ao ciclo infeccioso. O ciclo de replicação viral em um hospedeiro consiste nas etapas de adsorção, penetração, desnudamento, síntese e montagem e maturação e liberação. Essas etapas são fundamentais para a perpetuação dos vírus e estão intimamente relacionadas às características de seu material genético e à sua interação com o ambiente intracelular do hospedeiro (LOUTEN, 2016; FLINT *et al.*, 2015).

A transmissão viral pode ocorrer diretamente entre hospedeiros, indiretamente via fômites, e por transmissão vetorial através de picadas de artrópodes. Porém, como mencionando anteriormente, os vírus infectam todos os organismos vivos, o que destaca o envolvimento de artrópodes nas condições de hospedeiro e sua transmissão de agentes infecciosos virais denominados arbovírus (FLINT *et al.*, 2015; STEPHENS *et al.*, 2017).

## 1.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ARBOVÍRUS

O termo "arbovírus" é derivado da expressão inglesa *Arthropod-borne virus*, proposta em 1942. Ele abrange um extenso grupo de vírus que se replicam em artrópodes hematófagos e são transmitidos aos hospedeiros vertebrados durante o processo de alimentação sanguínea desses artrópodes (TRAVASSOS DA ROSA *et al.*, 1997).

Atualmente, os arbovírus constituem o maior grupo de vírus conhecidos e estão taxonomicamente classificados conforme o Comitê Internacional de Taxonomia de vírus (ICTV), considerada referência padrão para a taxonomia viral (MEDEIROS, VASCONCELOS, 2019). De acordo com as diretrizes propostas pelo ICTV os arbovírus, estão inseridos principalmente em sete famílias: *Asfarviridae* (dsDNA), *Flaviviridae* (+ssRNA), *Rhabdoviridae* (-ssRNA), *Sedoreoviridae* (dsRNA), *Togaviridae* (+ssRNA), *Peribunyaviridae* (-ssRNA) e *Phenuiviridae* (-ssRNA) (ICTV, 2024).

A maioria dos arbovírus possui genoma de RNA, exibindo grandes variedades genéticas, salvo uma única exceção, a família *Asfarviridae* o único constituído de DNA, e possui como representante o *African swine fever virus* (ASFV). As famílias *Flaviviridae* e *Togaviridae* são caracterizadas por possuir genomas não segmentados de fita simples e com senso positivo. A família *Rhabdoviridae*, possui genoma não segmentado ou bissegmentado de RNA de fita simples com senso negativo (ICTV, 2024).

Os arbovírus apresentam uma distribuição global e são transmitidos por vetores comuns nas regiões tropicais e subtropicais, que oferecem condições ecológicas favoráveis. Os principais vetores pertencem aos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Haemagogus*. Esses vetores têm características zoonóticas, pois são responsáveis pela transmissão de doenças entre animais e humanos. Essa característica os torna motivo de preocupação em saúde pública, uma vez que são responsáveis pela maior parte dos arbovírus de relevância médica (DONALISIO, FREITAS, ZUBEN, 2017).

Em geral, os arbovírus podem ser transmitidos por diversas espécies de vetores, causando doenças em humanos de maneira esporádica, endêmica e até epidêmica no Brasil. Os principais arbovírus emergentes e reemergentes no país pertencem, em sua maioria, às famílias *Flaviviridae* e *Togaviridae*. (Quadro 1) (MEDEIROS, VASCONCELO, 2019; LOPES, LINHARES, NOZAWA, 2014).

Quadro 1 – Principais arbovírus emergentes e reemergentes no Brasil.

Família	Vírus	Sigla	Doença
<i>Flaviviridae</i>	<i>Orthoflavivirus denguei</i>	DENV	Febre hemorrágica
	<i>Orthoflavivirus flavi</i>	YFA	Febre hemorrágica
	<i>Orthoflavivirus zikaense</i>	ZIKV	Febril e doença neurológica
	<i>Orthoflavivirus louisense</i>	SLEV	Menigite e encefalite
	<i>Rocio</i>	ROCV	Encefalite
	<i>Orthoflavivirus nilense</i>	WNV	Menigite e encefalite
	<i>Orthoflavivirus cacipacoreense</i>	CPCV	Compreensão limitada, doença febril e hemorrágicaeicterícia.
	<i>Orthoflavivirus ilheusense</i>	ILHV	Doença febril, encefalite
	<i>Bussuquara</i>	BUSV	Doença febril
	<i>Iguape</i>	VIGU	-
<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus mayaro</i>	MAYV	Doença febril e artralgias
	<i>Eastern equine encephalitis</i>	EEEV	Doença neurológica
	<i>Chikungunya virus</i>	CHIKV	Doenças febris e artralgia
	<i>Western equine encephalitis</i>	WEEV	Encefalite
<i>Peribunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus oropoucheense</i>	OROV	Febre hemorrágica, doença neurológica

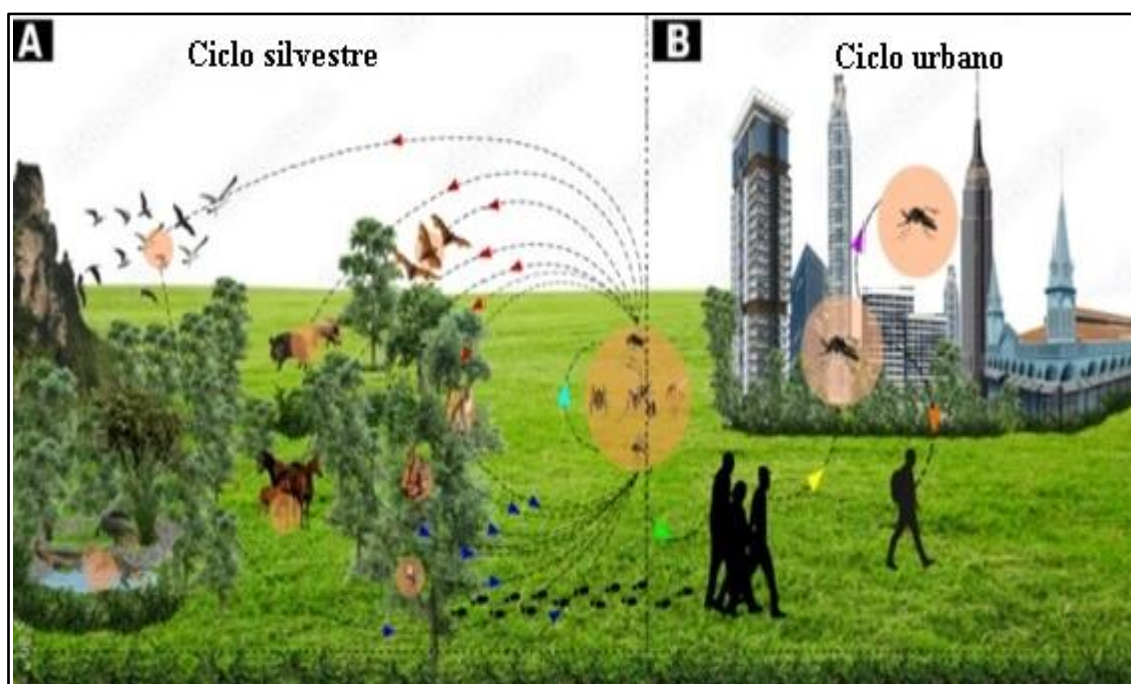
**Fonte:** Adaptado de Lopes, Linhares e Nozawa, 2017.

Em termos de saúde pública, os arbovírus mais relevantes são aqueles que conseguem circular em ambientes urbanos e possuem potencial epidêmico. Os seres humanos podem atuar como hospedeiros de amplificação e dispersão de alguns desses arbovírus. As manifestações clínicas podem variar desde formas assintomáticas até quadros mais graves, que se caracterizam por hemorragias e/ou alterações neurológicas (GO, BALASURIYA, LEE, 2014).

### 1.2.1. Ciclo de manutenção e transmissão

Os ciclos ocorrem em diferentes contextos, tanto em ambientes silvestre, quanto em regiões periurbanas e urbanas (Figura 01); possuem um ciclo enzoótico e requer interação com o hospedeiro de viremia suficiente para atuar como fonte de infecção, para facilitar a transmissão para um vetor suscetível, que prossegue com a replicação do vírus no organismo até suas glândulas salivares e transmitir para outros animais (DONALISIO, FREITAS, ZUBEN, 2017; LOPES, LINHARES, NOZAWA, 2014).

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo de transmissão dos arbovírus



**Legenda:** (A) (▶) - Transmissão de invertebrados para vertebrados; (◀) - Transmissão de vertebrados para invertebrados; (▶) - Transmissão entre invertebrados de forma vertical e/ou venérea. (B) (▶) humanos infectados de forma acidental (▶) transmissão entre invertebrados pelas vias vertical e/ou venérea (▶) transmissão de novos hospedeiros humanos.

**Fonte:** Dias, 2022.

Os mecanismos de replicação dos arbovírus ocorrem de forma horizontal, entre invertebrados e vertebrados. Nesse processo, a fêmea não infectada se alimenta de um hospedeiro virêmico e, após um período de incubação extrínseca, torna-se infectada, permanecendo assim por toda a vida. Além disso, o ciclo pode ser mantido entre invertebrados por meio da transmissão venérea e transovariana (MAVALE, *et al*, 2010).

Há fatores que desempenham um papel importante como a susceptibilidade do hospedeiro (CONWAY, COLPITTS, FIKRIG, 2014). Visto que, ao longo do tempo, mutações adquiridas incluindo determinantes genéticos e imunológicos, possibilitaram a transmissão em hospedeiros humanos, estes são considerados hospedeiros acidentais ao entrarem em contato com o ciclo enzoóticos (MAVALE, *et al*, 2010).

A maioria dos arbovírus são enzoóticos, ou seja, ocorrem em ciclos silvestres e são mantidos na natureza por animais vertebrados, também classificados como hospedeiros de amplificação (roedores, aves, répteis, primatas, equinos, entre outros). E os invertebrados, também denominados como vetores (mosquitos, carrapatos, flebotomíneos, maruins e simulídeos) (CASSEB *et al.*, 2013).

Alguns arbovírus evoluíram a ponto de não necessitar de um hospedeiro enzoótico intermediário, estabelecendo-se em ambientes urbanos onde os humanos atuam como hospedeiros naturais neste ciclo. Isto inclui arbovírus importantes como DENV, OROV, ZIKV, CHIKV e FAV no Brasil (DONALISIO, FREITAS, ZUBEN, 2017).

### **1.2.2. Importância médica- epidemiológica dos arbovírus**

Os arbovírus têm uma ampla distribuição geográfica, abrangendo os continentes americano, africano, asiático, europeu e oceânico, estando ausentes apenas nos continentes permanentemente congelados, como a Antártida. Esses vírus são responsáveis por elevada morbidade e letalidade em seres humanos. Inúmeras epidemias causadas por vetores são registradas em centros urbanos da região Amazônica. Embora esses vetores sejam comuns nas regiões tropicais e subtropicais, eles possuem a capacidade de se adaptar ao meio ambiente e manter seu ciclo de replicação viral. (LIMA-CAMARA, 2016; CASSEB *et al.*, 2013).

Em 1955, foi registrado o primeiro surto de MAYV no Brasil, às margens do rio Guamá, próximo à capital Belém-PA. Esse arbovírus é transmitido por mosquitos do gênero *Haemagogus*, que são predominantemente silvestres. Casos esporádicos de surtos têm sido registrados e, segundo o Ministério da Saúde, é provável que outros gêneros, como *Culex*, *Sabethes*, *Psorophora*, *Coquillettidia* e *Aedes*, também participem do ciclo de manutenção (MS, 2023).

Nas últimas duas décadas, o *Orthoflavivirus flavi* se expandiu além da região Amazônica, afetando as regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. Assim, pessoas não vacinadas que têm contato mais próximo com áreas florestais e rurais apresentam

maior probabilidade de se infectar. Os maiores surtos da história da febre amarela silvestre no Brasil, desde que esse ciclo de transmissão foi descrito na década de 1930, ocorreram durante os anos de monitoramento de 2016/2017 e 2017/2018, quando foram registrados cerca de 2,1 mil casos e mais de 700 óbitos pela doença (MS, 2023). Desde o século XX, medidas sistemáticas e intensificadas têm sido adotadas no Brasil com o objetivo de reduzir o número de casos, e os primatas não-humanos atuam como indicadores de alerta para a circulação desses arbovírus (ROCHA, SVOBODA, GOMES, 2014).

O *Orthobunyavirus oropoucheense* foi isolado pela primeira vez no Brasil em 1960, em sangue de preguiça. Ao longo daquele ano, a febre do Oropouche gerou uma epidemia em Belém, com aproximadamente 11.000 casos, ocorrendo tanto em ciclos silvestres quanto urbanos (ZHANG et al., 2024). Em 2024, o Vírus Oropouche é considerado um arbovírus reemergente, com mais de 7 mil casos registrados no Brasil, sendo 92,3% deles na região Norte (MS, 2024). O vetor principal, *Culicoides paraensis*, é considerado o principal transmissor; no entanto, outros vetores, como *Coquillettidia venezuelensis* e *Aedes serratus*, também podem hospedar o vírus. No ciclo silvestre, o mosquito *Culex quinquefasciatus* desempenha o papel de vetor secundário no ciclo urbano (MOREIRA et al., 2024). O recente surto no Amazonas, entre dezembro de 2023 e janeiro de 2024, gerou um alerta epidemiológico pela Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas, onde foram detectados 199 casos de Oropouche em 675 amostras, conforme os dados do Laboratório Central de Saúde Pública do Amazonas.

O *Orthoflavivirus nilense* é transmitido principalmente pelo gênero *Culex*, considerado o vetor primário. Aves silvestres atuam como hospedeiros naturais de amplificação, e a infecção também pode ser encontrada em cavalos, primatas e humanos no Brasil (SILVA, 2016).

O DENV é um dos *Orthoflavivirus* mais importantes no Brasil, apresentando uma ampla distribuição geográfica (LOPES, NOZAWA, LINHARES, 2014). Segundo o Ministério da Saúde (MS), até a semana epidemiológica (SE) 51 de 2022, foram notificados 1.423.614 casos prováveis de dengue no país, com uma taxa de 667,4 por 100 mil habitantes. As infecções pelo DENV afetam pessoas de todas as idades e podem resultar em formas severas, como a dengue hemorrágica e a síndrome do choque (MS, 2023). Nesse contexto, a notificação compulsória é fundamental para o controle da doença, que é complexo, principalmente devido à rápida transmissão (MARQUES, SIQUEIRA, PORTUGAL, 2020). Em 2024, o número de casos prováveis de dengue no

Brasil é de 4,7 milhões, com 2,5 mil óbitos registrados. Observa-se que a SE 09 atingiu o pico máximo em comparação ao ano de 2023, que teve seu pico na SE 15. Em dezembro de 2023, o Brasil se tornou o primeiro país a incorporar a vacina contra a dengue no sistema único de saúde (SUS) (MS, 2023).

No Brasil, a transmissão autóctone do CHIKV foi detectada em 2014, no Amapá e na Bahia, com potencial para grandes epidemias devido a diversos fatores socioambientais. O CHIKV, originário da África, possui um ciclo silvestre que envolve mosquitos do gênero *Aedes* e primatas não humanos. Desde 2006, uma epidemia se intensificou nas ilhas de Reunião e em Madagascar, levando a mutações que aumentaram a transmissibilidade no *Aedes albopictus* (DONALISIO, FREITAS, 2015). Até a SE 51 (02/01/2022), foram registrados 173.258 casos prováveis de febre do Chikungunya no país, com uma incidência de 81,2 casos por 100 mil habitantes. Desses, 26,6 casos por 100 mil habitantes foram notificados na região Norte (MS, 2023).

O ZIKV foi reconhecido no Brasil em 2015 e, em 2016, a Organização Mundial da Saúde declarou emergência em saúde pública devido à notificação de alterações neurológicas, como a síndrome de Guillain-Barré, e surtos de microcefalia (MANIERO *et al.*, 2016).

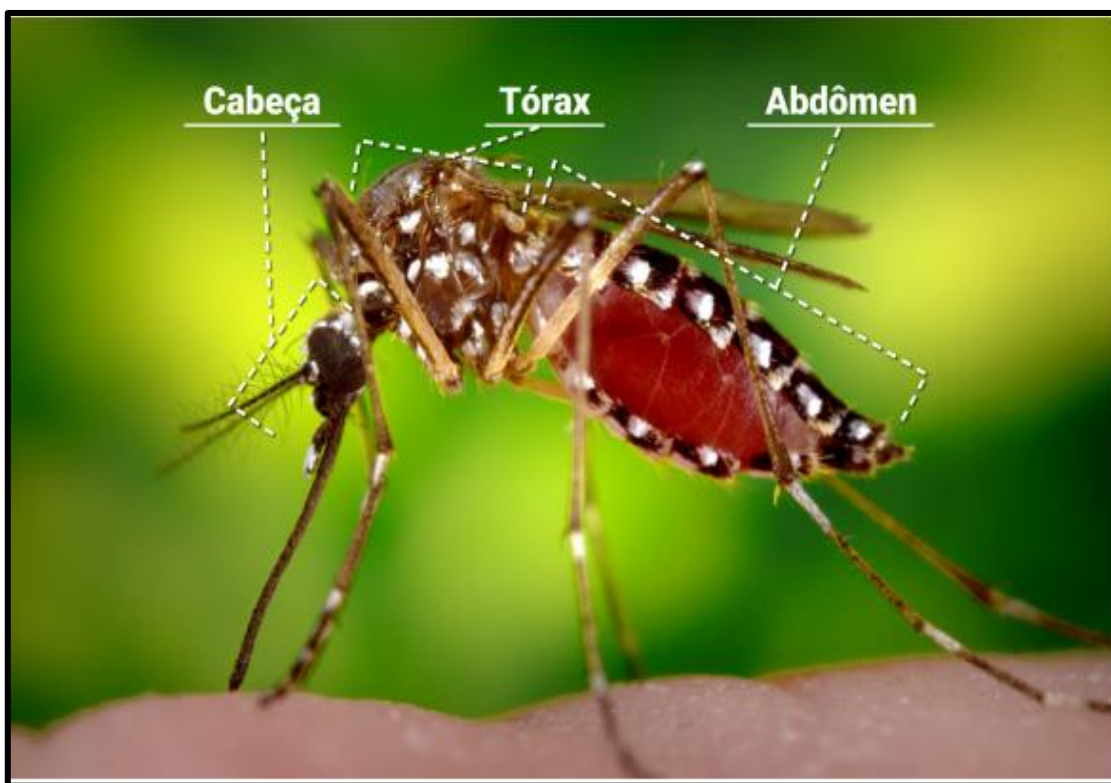
A maioria das doenças infecciosas apresenta características zoonóticas, definidas como doenças transmitidas entre animais e humanos, com predominância em condições ecologicamente favoráveis. Sua dispersão está relacionada à distribuição geográfica dos vetores, e a incidência de casos de arbovírus tem aumentado exponencialmente a cada ano, especialmente nas últimas duas décadas. (ROCHA, SVOBODA, GOMES, 2014; MANIERO *et al.*, 2016).

### 1.3. GENERALIDADES E CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA CULICIDAE

A família Culicidae Meigen, 1818, pertence à ordem Diptera e à infraordem Culicomorpha. Esses artrópodes de pequeno porte medem cerca de 3 a 9 mm e possuem um corpo delgado, coberto por um exoesqueleto. Eles apresentam um par de asas e uma pequena estrutura chamada balancins ou halteres, que é responsável pelo equilíbrio durante o voo. Os representantes dessa família são vulgarmente conhecidos como muriçocas, pernilongos, mosquitos ou carapanãs. (FORATTINI, 2002; SANTOS, 2017).

As características externas dos adultos são divididas em cabeça, tórax e abdômen. Na cabeça, destaca-se um par de antenas, que são plumosas nos machos e pilosas nas fêmeas. Os palpos maxilares, importantes para a identificação taxonômica já no nível de subfamília, desempenham funções sensoriais. Além disso, há um aparelho bucal do tipo picador-sugador, conhecido como probóscide, responsável pela alimentação. No tórax, estão presentes as estruturas locomotoras, que incluem um par de asas e pernas articuladas. Por fim, no abdômen, localizam-se as estruturas reprodutivas. (Figura02) (FORATTINI, 2002).

Figura 02–Característica morfológicas de Culicidae



**Fonte:** Adaptado do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC).

A família Culicidae inclui duas subfamílias: Anophelinae, que possui três subgêneros, e Culicinae, que contém onze tribos, conforme mostrado no Quadro 2. Essas subfamílias abrangem mais de 3.000 espécies e 110 gêneros.

Quadro 2: Subfamília Culicinae dos principais mosquitos neotropicais

TRIBOS	GENÊROS
Aedeomyiini	<i>Aedeomyia</i>
Aedini	<i>Aedes, Armigeres, Eretmapodites, Psorophora, Haemagogus, Heizmannia, Opifex, Udaya, Verrallina, Zeugomyia.</i> <b>Nota: Apenas esses 10 gêneros são reconhecidos na classificação tradicional de Aedini</b>
Culicini	<i>Culex, Deinocerites, Galindomyia, Lutzia</i>
Culisetini	<i>Culiseta</i>
Ficalbiini	<i>Ficalbia, Mimomyia</i>
Hodgesiini	<i>Hodgesia</i>
Mansoniini	<i>Coquillettidia, Mansonia</i>
Mansoniini	<i>Orthopodomyia</i>
Sabethini	<i>Isostomyia, Johnbelkinia, Kimia, Limatus, Malaya, Maorigoeldia, Onirion, Runchomyia, Sabethes, Shannoniana, Topomyia, Trichoprosopon, Tripteroides, Wyeomyia</i>
Toxorhynchitini	<i>Toxorhynchites</i>
Uranotaeniini	<i>Uranotaenia</i>

Fonte: <https://mosquito-taxonomic-inventory.myspecies.info/simpletaxonomy/term/6060>

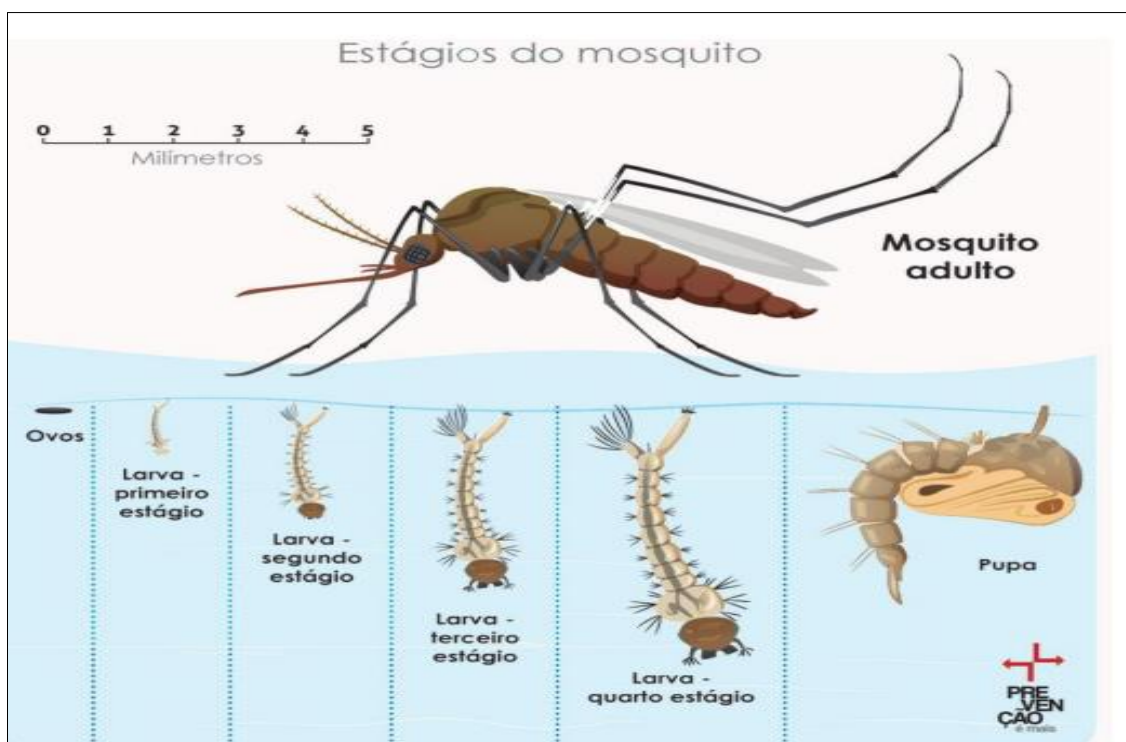
As regiões tropicais e subtropicais concentram a maior endemicidade, com 31% das espécies conhecidas, evidenciando *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Psorophora ferox*, *Haemagogus janthinomys* e *Anopheles darlingi* (SANTOS, 2017).

As pesquisas envolvendo culicídeos são de grande relevância, pois esses insetos têm uma notável capacidade vetorial na transmissão de agentes infecciosos e parasitários entre artrópodes (FORATTINI, 2002). Os culicídeos podem ser utilizados como marcadores de qualidade ambiental, sendo sua presença ou ausência indicativa de determinadas condições. A variação na fauna de culicídeos pode estar relacionada à temperatura e aos níveis de pluviosidade, que influenciam seu ciclo biológico. Por outro lado, as ações antrópicas desencadearam um cenário preocupante em relação aos impactos ambientais, especialmente com o crescimento populacional, que favorece a proliferação de algumas espécies (FORATTINI, 2002; LIMA-CAMARA *et al.*, 2016; PAULA; GALVÃO, 2014).

### 1.3.1. Aspectos biológicos de Culicídeos

Os culicídeos são insetos holometábolos, apresentando um ciclo de desenvolvimento com metamorfose completa, dividido em quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos. Grande parte de seu ciclo ocorre em ambientes aquáticos, onde são encontrados em diversos locais da natureza, denominados criadouros naturais. Após a eclosão dos ovos, as larvas alimentam-se de detritos orgânicos até atingirem a fase de pupa, quando, em seguida, ocorre a eclosão da forma adulta. (Figura 3) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Figura 03–Ciclo biológico dos culicídeos.



Fonte: <http://prevencaoemais.com/campanhas>

Devido aos mecanismos adaptativos dos artrópodes, eles têm a capacidade de se desenvolver em diferentes ambientes larvais. Embora o período de desenvolvimento larval normalmente varie de 10 a 30 dias, estudos indicam que esse tempo pode ser encurtado para apenas 7 dias em temperaturas mais elevadas (FORATTINI, 2002).

Os ovos possuem formato oval ou elíptico, na maioria das vezes achatadas, é revertido pelo cório e tem cor pálida no momento da oviposição, tornando-se escuros após alguns minutos, a fêmea pode depositar de 50 a 500 ovos sobre diretamente a água, que podem ser colocados em conjunto denominado jangada (*Culex*) ou isoladas (*Aedes*

ou *Anopheles*), vários fatores influenciam a eclosão dos ovos como temperatura e a composição química da água podendo até mesmo ocorrer a inibição do desenvolvimento da larva (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

A fase larval dos culicídeos é obrigatoriamente aquática, e essas larvas se alimentam de microrganismos presentes na água do criadouro, apresentando um aspecto vermiforme. As larvas são eucéfalas e ápodas, com o corpo claramente dividido em cabeça, que possui um par de antenas e olhos; tórax, onde os segmentos são identificáveis apenas pelos conjuntos de cerdas de cada um (protórax, mesotórax e metatórax); e abdômen. É importante ressaltar que, entre os oito segmentos abdominais, encontra-se o sifão respiratório, que é relevante na taxonomia. Por exemplo, na subfamília Culicinae, esse sifão é protuberante (CAMPOS, 2021).

A fase da pupa é anterior à fase adulta, fase em que está formando o cefalotórax e abdome. Na fase de pupa é a fase onde ocorre a metamorfose no mosquito e possuem formato de vírgula (FORATTINI, 2002).

Na fase adulta, tanto os machos quanto as fêmeas se alimentam de substâncias açucaradas, geralmente encontradas em plantas, como flores, frutos e seiva. No entanto, apenas as fêmeas são hematófagas, o que contribui para a maturação de seus ovos. Elas detectam fontes alimentares por meio da presença de CO<sub>2</sub> e outros atrativos químicos. A sobrevivência das fêmeas varia de acordo com a região, podendo ultrapassar um mês em zonas temperadas e tropicais (HARBACH, 2017).

Alguns estudos demonstram que determinados gêneros de mosquitos têm predileção por ambientes larvais específicos para a oviposição, pois fatores de interação são importantes para os estádios larvais. Por exemplo, os mosquitos do gênero *Aedes* garantem sua reprodutibilidade ao distribuir seus ovos em diversos criadouros que contenham água parada, limpa e com baixo teor de matéria orgânica. Além disso, é conhecido que os ovos de *Aedes* podem permanecer viáveis por meses fora da água. (BESERRA *et al.*, 2006).

Por sua vez, o gênero *Culex* tem preferência de oviposição em águas que contém matéria orgânica, ambiente larval ao nível de solo, em razão disso se adaptou fácil às cidades por não fazer diferenciação do ambiente larval ou qualidade da água. Os principais ambientes larvais em relação ao meio natural e artificial para o desenvolvimento da larva são demonstrados no quadro abaixo (Quadro 3), um dos tipos de ambiente larval em específico são os gêneros *Deinocerites* que ovipõem em tocas de caranguejos (FORATTINI, 2002; CAMPOS, 2021).

Quadro 3: Classificação dos tipos de ambiente larval de Culicidae

AMBIENTE LARVAL			
NATURAIS			
NO SOLO		EM RECIPIENTES	
Permanentes ou Semipermanentes	Transitórios	Permanentes ou semipermanentes	Transitórios
Lagoas, pântanos, alagadiços, remansos.	Enchentes, várzeas inundáveis, tocas de animais, buracos de caranguejos etc.	Bambus, bromélias etc.	Cocos, conchas, folhas caídas etc.
ARTIFICIAIS			
NO SOLO		EM RECIPIENTES	
Permanentes ou Semipermanentes	Transitórios	Permanentes ou semipermanentes	Transitórios
Represas, açudes, poços, piscinas etc.	Marcas de pneu, acúmulo de pedras, pegadas etc.	Tanques, caixas d'água, esgotos.	Latas, vidros, pneus, barris etc.

**Fonte:** CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994.

Alguns fatores ambientais podem influenciar a fase de desenvolvimento dos culicídeos, variando entre as diferentes espécies. A temperatura ideal para a maioria dos mosquitos tropicais está entre 24 °C e 28 °C. Vetores de relevância urbana, como *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, podem se desenvolver em ambientes com ausência de luz. Além disso, é importante ressaltar que, quando ocorrem chuvas em períodos de temperaturas elevadas, há um aumento significativo na população de mosquitos. O conhecimento desse ciclo de vida é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de vigilância e controle (BESERRA *et al.*, 2006).

### 1.3.2. Interação entre culicídeos e arbovírus

O metabolismo dos mosquitos depende da ingestão de carboidratos para sustentar sua atividade e longevidade. Os açúcares ingeridos são armazenados no divertículo ventral, onde transitam lentamente para o estômago, permitindo que a fêmea mantenha o estômago vazio para seu repasto sanguíneo. Essa ingestão sanguínea é essencial para o desenvolvimento dos ovos. (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

As fêmeas selecionam o local da picada no hospedeiro utilizando os órgãos sensoriais chamados quimiorreceptores, que estão localizados na labela da probóscide. É importante destacar os atributos necessários para classificar um mosquito como vetor biológico, especialmente sua competência vetorial, que é a capacidade de transmitir arbovírus. O vírus se replica no vetor em diferentes órgãos até alcançar a glândula salivar, de onde é transmitido através da picada. Além disso, os mosquitos possuem mecanismos de neutralização da resposta do hospedeiro. Eles secretam moléculas que afetam a coagulação sanguínea, a agregação plaquetária e a inflamação (BARROS, 2016).

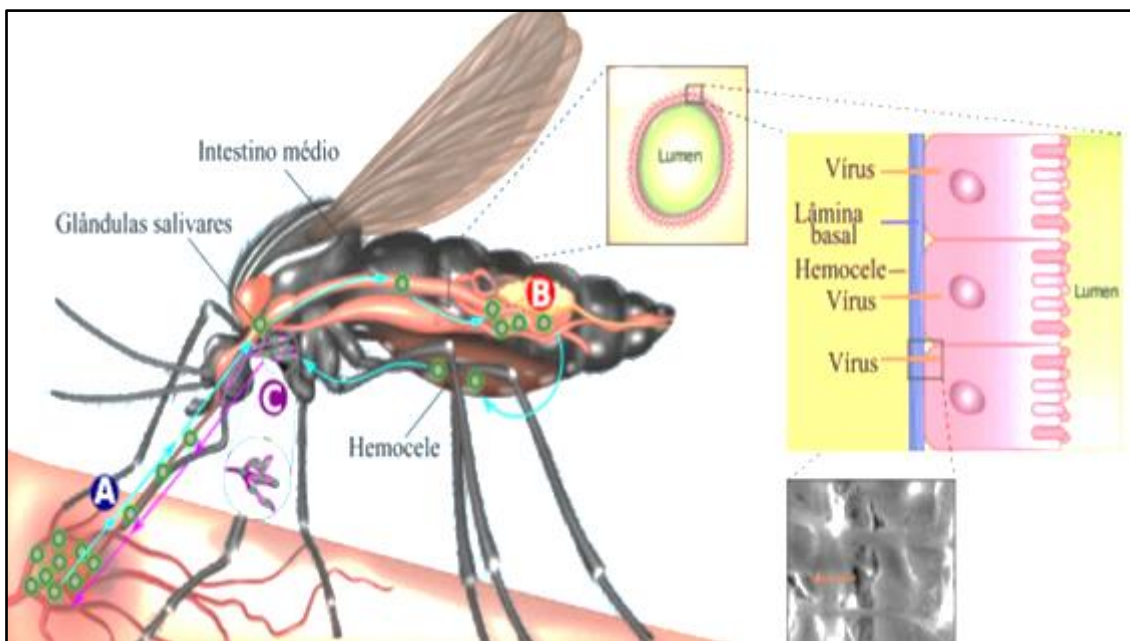
Os culicídeos apresentam um esôfago de tubo estreito que termina em um esfíncter. O estômago é elástico e contém um importante esfíncter, a válvula pilórica, que se conecta aos tubos de Malpighi, essenciais para a excreção e a absorção de água. A digestão ocorre de forma rápida e envolve uma membrana peritrófica, cuja formação apresenta variações em relação à suscetibilidade. Essa membrana é permeável às enzimas proteolíticas secretadas pelas células estomacais (LOPES, NOZAWA, LINHARES, 2014; SCHNEIDER, HIGGS, 2008).

A longevidade dos culicídeos depende de fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos incluem o metabolismo e a idade fisiológica, que podem ser avaliados por medidas de desgaste das estruturas. Já os fatores extrínsecos envolvem condições ambientais, como temperatura, umidade e disponibilidade de carboidratos para a nutrição. A oviposição é um aspecto crucial para a distribuição das espécies, ocorrendo após a fertilização durante a passagem do ovo pelo oviduto. Vale destacar que a fêmea pode reter seus ovos por muitos dias na ausência de condições adequadas (Figura 04) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

No entanto, infecção, manutenção e transmissão de arbovírus, envolvem complexos atributos sobre o conhecimento dos vírus que sobrevivem a diversas barreiras, por exemplo, a ingestão de arbovírus durante a alimentação sanguínea, com conteúdo infeccioso sendo direcionado para o intestino médio (IM) e ao chegarem ao IM ocorrerá a infecção das células epiteliais, atravessando a barreira de infecção do intestino médio (MIB) e escapando a barreira do intestino médio (MEB) pela lâmina basal circundante e chegando até a hemocele, para disseminar-se por vários órgãos e tecidos. Como resultado da disseminação, as partículas virais infectam e disseminam-se nas glândulas salivares. Após um período de incubação extrínseca, o arbovírus poderá

ser transmitido durante a hematofagia em um hospedeiro vertebrado (Figura 4) (CONWAY, COLPITTS, FIKRIG, 2014; WEAVER,2010).

Figura 04– Representação esquemática da rota de infecção, replicação e disseminação de arbovírus em um mosquito.



**Legenda:** (04-A) -Ingestão de arbovírus durante a alimentação sanguínea; (04-B)– Infecção das células epiteliais, atravessando a barreira de infecção do IM (MIB) e escapando a barreira IM (MEB); (04 -C) – Partículas virais infectam a glândula salivar.

**Fonte:** Adaptado de WEAVER ,2020.

#### 1.4. VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA

A vigilância relacionada aos artrópodes tem como finalidade o mapeamento de áreas, visando investigar características biológicas e ecológicas dos principais casos suspeitos de arbovírus. Essa vigilância considera tanto a interação com hospedeiros humanos quanto com animais reservatórios (BRAGA, VALE, 2007).

Distingue-se em: vigilância passiva (investigação entomológica), que é desenvolvida a partir de uma notificação de um caso suspeito, de casos humanos ou epizootias em primatas não humano, por sua vez, a vigilância ativa (monitoramento entomológico), visa detectar precocemente em áreas estratégicas a circulação viral para medidas preventivas e controle (MS, 2022).

No âmbito da entomologia, ao planejar um sistema de vigilância, deve-se considerar a alta densidade e diversidade de mosquitos para a avaliação e investigação

tanto de vetores exóticos quanto autóctones. O conhecimento das condições ambientais das regiões e dos períodos propícios para a proliferação de diversas espécies é fundamental (GOMES, 2002).

Um dos objetivos da vigilância é a identificação das espécies por características morfológicas. Além disso, identificar espécies com capacidade de domiciliação nos permite desenvolver intervenções adequadas para eliminar ou reduzir os vetores (MS, 2023).

Os métodos de coleta são determinados pelo objetivo da investigação. Por exemplo, para a coleta de ovos, utilizam-se ovitrampas, que são armadilhas que permitem avaliar a densidade de ovos detectados. Os estágios larvais são observados em criadouros, tanto naturais quanto artificiais, assim como as pupas, que indicam uma maior produtividade de mosquitos e permitem a diferenciação entre espécies (MS, 2019).

Na coleta de adultos, podem ser utilizadas armadilhas do tipo CDC (*Center on Disease Control*), que possuem fontes luminosas. Essas armadilhas são indicadas para o monitoramento de informações qualitativas e quantitativas. Além disso, o método de atração humana protegida e esclarecida (ATHPE) (GOMES, 2002).

### 1.5. COMUNIDADE QUILOMBOLA DO ABACATAL

A palavra "quilombo" origina-se do termo "kilombo" e refere-se a povos remanescentes formados por escravos fugitivos durante a época da escravidão no Brasil. Atualmente, essas comunidades estão presentes em todo o território brasileiro e são organizadas em unidades político-administrativas reconhecidas oficialmente pela Constituição Federal de 1988 (ARAÚJO *et al.*, 2017).

O modo de vida nas comunidades quilombolas é predominantemente rural, refletindo valores étnicos e culturais. No entanto, essas comunidades frequentemente enfrentam isolamento geográfico, o que implica restrições de acesso. A comunidade Quilombola Abacatal, foi ocupada no final do século XIX, a área situa-se no município de Ananindeua, considerado o segundo município mais populoso da região metropolitana de Belém (PA) (SOUSA, RIBEIRO, & SANCHES, 2020).

São comunidades em que na maioria o seu limite é entre zona urbana e rural a distância entre elas são cerca de 3,5 km, havendo mais 4 km de estrada de terra para a chegada na comunidade, segundo a Comissão Pro-Índio atualizada em setembro de

2023 sua extensão territorial é de aproximadamente 583,2838 hectares, acolhendo aproximadamente 368 pessoas; 53 famílias, que vivem da agricultura familiar na comunidade (SARRAF, 2018).

A comunidade Abacatal apresenta características de mata secundária, resultantes da prática agrícola. A cobertura florística é diversificada, e a comunidade está localizada às margens do rio Uribóca, em áreas de matas de várzea e florestas permanentes inundadas (igapós). Essas áreas mantêm sua preservação como fontes de recursos, tornando-se propícias para investigações entomológicas (Figura 5) (FREITAS., *et al*, 2018).

Figura 5- Características de mata secundária na Comunidade Quilombola Abacatal.



**Fonte:** Autor, 2023.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2022, o município de Ananindeua registrou 478.778 habitantes. Com a expansão urbana, houve valorização das terras e de outros interesses econômicos, que se tornaram instrumentos para a construção civil. Isso resultou na construção de residenciais do programa do Governo Federal “Minha Casa Minha Vida” nas proximidades da comunidade, muitas

vezes sem condições adequadas de saneamento, o que contribui para a contaminação de rios e igarapés (SOUSA, RIBEIRO, SANCHES, 2020).

A maioria dos moradores da comunidade, apesar da influência urbana, vive da prática da agricultura como fonte de renda, mantendo suas tradições e costumes. Segundo relatos dos moradores, diversas espécies de fauna estão desaparecendo devido ao desmatamento intensificado, resultante da exploração de recursos naturais, como a busca de madeira para carvão, entre outros, que são importantes para a geração de renda das famílias. Essas atividades provocam modificações na composição botânica. Além disso, outro fator que impacta o meio ambiente é a construção civil (GOMES, 2005).

O projeto intitulado “Rodovia da Liberdade” pelo Governo do Estado do Pará podem trazer impactos ambientais como abertura de grandes crateras e a consequente perda de cobertura vegetal, ligando Belém a Castanhal prejudicando os lençóis freáticos e trazendo preocupações as comunidades afetadas, é um fator que facilitam a emergência de disseminação de arbovírus, além da precariedade das condições sanitárias e as circunstâncias de saneamento da comunidade e os impactos de resíduos sólidos que a comunidade também enfrenta é com a central de processamento e tratamento de resíduos Guamá, o aterro sanitário criado para atender Belém, Ananindeua e outros municípios metropolitanos (SOUSA,2018).

A comunidade Quilombola de maneira geral tem buscados meios para se autopreservar e resistir ao modo de vida urbano, que reflete sobre o capitalismo, ainda sim é evidenciada suas tradições observando os hábitos da agricultura, dos artesanatos, festas típicas para afirmar sua identidade (SOUSA, 2018).

## 1.6. PROCESSOS ANTRÓPICOS E SUA RELAÇÃO COM OS CULICÍDEOS

A Região Amazônica ocupa 45% do território nacional e é conhecida por abrigar a maior biodiversidade do mundo, caracterizada pela floresta latifoliada equatorial. Essa rica biodiversidade é essencial para a manutenção do equilíbrio ambiental, incluindo vegetações densas e uma fauna e flora diversificadas, o que torna a sua preservação fundamental (SOUZA *et al.*, 2014).

Nos últimos anos, a degradação desenfreada, especialmente o desmatamento, tem causado grandes impactos na região. Essas atividades resultam em alterações na temperatura, umidade e precipitação pluviométrica, levando à migração de espécies para ambientes antropizados (ANJOS, SILVA, 2023; WU *et al.*, 2016).

Em geral, ambientes preservados apresentam uma maior abundância na composição da fauna de mosquitos. Por outro lado, os efeitos da urbanização podem impactar significativamente a dinâmica desses vetores, influenciando a taxa de sobrevivência e a distribuição das espécies. Dependendo das espécies, alguns mosquitos podem ser favorecidos pelo processo de antropização, o que gera preocupação pelo contato entre animais silvestres e seres humanos (FERRAGUTI *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2016).

Enfatizando uma das principais preocupações com o desmatamento para a construção Estrada da Liberdade, como já mencionado anteriormente, o governo do Pará promoveu audiência pública de construção da avenida. (SOUZA *et al.*, 2014; FERRAGUATI *et al.*, 2016). A área em questão se torna um foco de atenção por suas características que favorecem a disseminação de artrópodes. Isso nos proporciona uma melhor compreensão da biodiversidade das espécies que habitam a região e permite a verificação do papel ecológico dos artrópodes identificados, incluindo a predileção por seus reservatórios e seu comportamento hematófago, entre outros fatores que caracterizam seu estado de conservação (VASCONCELOS *et al.*, 2001).

Muitos arbovírus têm emergido e reemergido, sendo a maioria deles encontrada em ambientes silvestres (LOPES, NOZAWA, LINHARES, 2014). Diversos representantes da família Culicidae atuam como vetores com possíveis implicações epidemiológicas, uma vez que são sensíveis a mudanças abruptas no ambiente. Observa-se sua predominância em áreas tropicais, o que torna essas regiões relevantes para o monitoramento e a pesquisa de arbovírus (WILK-DA-SILVA *et al.*, 2020; SANTOS, 2017).

## 2. OBJETIVO

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar o levantamento da fauna de culicidae e investigar a circulação de arbovírus a partir de espécimes coletados na comunidade quilombola Abacatal, Ananindeua, Pará, Brasil.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar e descrever a composição faunística de Culicidae nos estratos florestais de copa arbórea e solo e pelos métodos de coleta atração humana protegida e esclarecida (ATHPE), Armadilhas luminosas CDC (*Center on Disease Control*) e Larvitampas instaladas tanto em copa quanto em solo;
- Avaliar as categorias de dominâncias das espécies;
- Realizar isolamento viral em cultivos celulares nos espécimes coletados;
- Investigar a presença de arbovírus dos gêneros *Orthoflavivirus* e *Alphavirus* RT-qPCR.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. ASPECTOS ÉTICOS

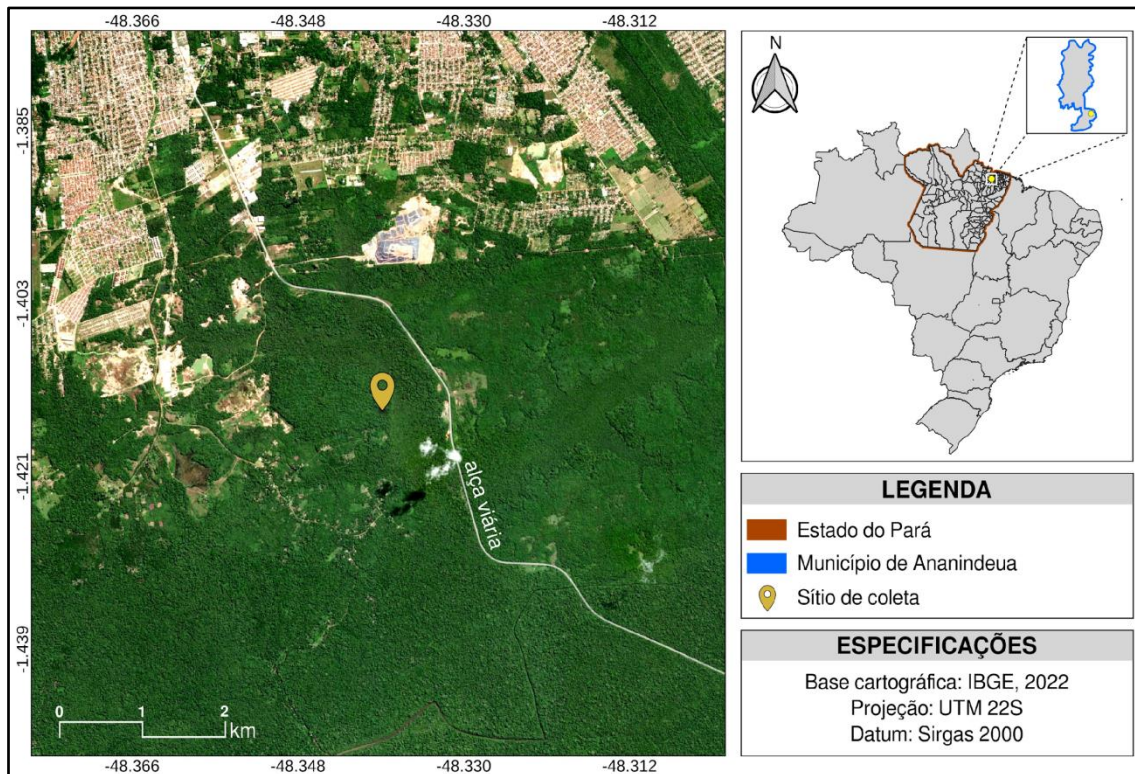
Para a realização das atividades científicas permitindo as coletas de artrópodes foi solicitado um documento prévio para acesso ao território quilombola Abacatal para a realização da pesquisa na comunidade, que foi concedida sob o ofício nº 3/ 2023 (Anexo I). Do mesmo modo, foi solicitado liberação do sistema de autorização e informação em biodiversidade do instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade (SISBIO- ICMBio), sob o número de aprovação 82230-1 (Anexo II).

#### 3.2. ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado na comunidade quilombola Abacatal, situada em uma área de proteção ambiental que abriga uma cobertura florística remanescente composta por mata secundária. Essa mata é caracterizada pela presença de grandes árvores e uma alta diversidade de fauna, incluindo invertebrados e mamíferos (SOUSA, RIBEIRO, SANCHES, 2020). A comunidade localiza-se às margens do Rio Uribóca, afluente do Rio Guamá, a 8 km da cidade de Ananindeua e a 16 km da capital, Belém. A área é delimitada pela Alça Viária, no estado do Pará, com coordenadas geográficas de 01° 24' 54.2" S e 048° 20' 22.2" W, a uma elevação de 27 metros (Figura 06).

A escolha dessa área para estudo justifica-se pelo avanço da urbanização, incluindo projetos de infraestrutura que podem gerar impactos ambientais, resultando em desequilíbrio ou na adaptação de vírus a hospedeiros suscetíveis. Assim, ressalta-se a importância de realizar levantamentos da entomofauna em áreas de preservação ambiental. A região em questão permanece inexplorada no que diz respeito à sua fauna de culicídeos e, conseqüentemente, à manutenção dos ciclos de arbovírus.

Figura 06 - Ponto incluído no estudo para trabalhar nas execuções



**Legenda:** O mapa foi constituído usando QGIS e SHAPEFILE do instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022) com aproximação de satélite Google Earth.

**Fonte:** Autor, 2023.

### 3.3. MÉTODOS DE COLETA DE CULICÍDEOS

Em zonas tropicais, a distribuição de culicídeos está relacionada à sazonalidade, apresentando variações populacionais ao longo do ano, fortemente influenciadas por níveis de temperatura e precipitações, especialmente ao se estimar a riqueza de espécies de artrópodes (FORATTINI, 2002).

O estudo foi realizado durante dois períodos: a estação chuvosa (abril/maio) e a estação seca (agosto/setembro) de 2023, com uma excursão de 10 dias consecutivos ao campo. As coletas foram efetuadas por três métodos: atração humana protegida e esclarecida, armadilhas CDC e larvitrapas, realizadas pela equipe do laboratório de Entomologia Médica da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas, com o apoio de alunos para o desenvolvimento do trabalho. Esses métodos foram escolhidos para coletar o maior número amostral de mosquitos,

considerando suas diferentes bioecologias, como atividades diurnas e noturnas, atração luminosa e por odores.

Para a realização das atividades, foi necessário que as vacinações da equipe estivessem em dia. Além disso, a utilização de equipamentos de proteção individual é essencial, incluindo botas de cano longo, calças, blusas de mangas compridas e capacetes, a fim de reduzir a exposição ao risco de contrair doenças potencialmente transmitidas por insetos e prevenir acidentes mecânicos durante as coletas de campo. A equipe responsável era composta por três pessoas: um na copa e dois no solo, com revezamento entre os coletores (Figura 7) (BRASIL, 2019).

Figura 07: Coletador em copa de árvore (A) e coletador em solo (B).



Fonte: Autor, 2023.

### 3.3.1. Coleta por atração humana protegida e esclarecida

Preconizado pelo Instituto Evandro Chagas (IEC, 2019) e pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2014; 2019), o método de ATHPE visa a adoção de medidas de proteção individuais e coletivas. A técnica consiste em coletar mosquitos com hábitos diurnos, que são atraídos pelo odor, temperatura e transpiração humana ao buscarem realizar repasto sanguíneo.

As coletas ocorreram em dois estratos florestais: copa arbórea e solo. Um coletor ficou posicionado na copa e os outros dois no solo. Os mosquitos foram coletados por

meio de uma rede entomológica de mão (puçá), constituída por um cabo de PVC, aro de metal com 20 cm de diâmetro, no qual é costurado um tecido denominado *Voil*, formando um cone, construído pela equipe de pesquisa, e um dispositivo de sucção oral do tipo armazenamento (Figura 8).

As coletas foram realizadas em período diurno, entre 09:00 e 12:00. Ao término das coletas, os culicídeos foram transferidos para tubos criogênicos, rotulados com informações sobre o local, método de coleta e data, e prontamente congelados em nitrogênio líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foram transportados para o Laboratório de Entomologia Médica da SEARB/IEC, onde foram armazenados em freezer a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a identificação taxonômica

Figura 08 – Capturador de sucção oral (A) Puçá para coleta de culicídeos (B) e tubos de ensaio para acondicionamento (C).



Fonte: Autor, 2023.

### 3.3.2. Coleta com armadilha tipo CDC

As armadilhas luminosas do tipo CDC desenvolvida por Sudia & Chamberlain (1962) (Figura 9) foram utilizadas para amostrar os espécimes que possuem atividade crepuscular/noturna. Quando aproximados a luz são sugados para o interior das armadilhas através de uma ventilação e retirados no outro dia pela equipe ao chegar no local.

Foram utilizadas duas armadilhas, uma à nível de copa e outra no solo, com esforço amostral das 12:00 às 09:00h do dia seguinte no período de 10 dias da excursão. Deste modo são armazenados em nitrogênio líquido e transportado ao laboratório de

Entomologia Médica da Secção de Arbovirologia e Febres hemorrágicas (SEARB) do Instituto Evandro Chagas (IEC), onde foram colocados em *freezer* e mantidos a  $-70^{\circ}\text{C}$  até sua identificação taxonômica e posteriormente, a tentativa de isolamento viral.

Figura 9 – Armadilha de CDC copa (A), CDC em solo (B) e artrópodes coletados pela CDC (C).



Fonte: Autor, 2023.

### 3.3.3. Larvitrapas

Foram utilizadas larvitrapas confeccionadas a partir de vaso plástico preto com palhetas de *eucatex*, ouriço de Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*) e internódios de bambu (*Bambusa vulgaris*). As armadilhas foram implantadas nos estratos florestais de solo (0,5 m) e copa arbórea (10m) para assim poder ser observados a atratividade e predileção das espécies (Figura 10). Após 10 dias de esforço amostral, o conteúdo de cada armadilha foi transferido para um recipiente devidamente rotulado com informações do local, estrato, tipo de armadilha e data e levados ao insetário do Laboratório de Entomologia Médica, onde os insetos imaturos foram criados até a forma adulta, transferidos individualmente para tubos tipo falcon e armazenados em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento da identificação taxonômica

Figura 10- Larvitrapas de vaso de plástico com palheta de Eucatex (A), larvitrapas de ouriço (B) ambas em solo. Larvitrapas de vaso de plástico (C) e larvitrapas de Bambu (D) ambas em copa.

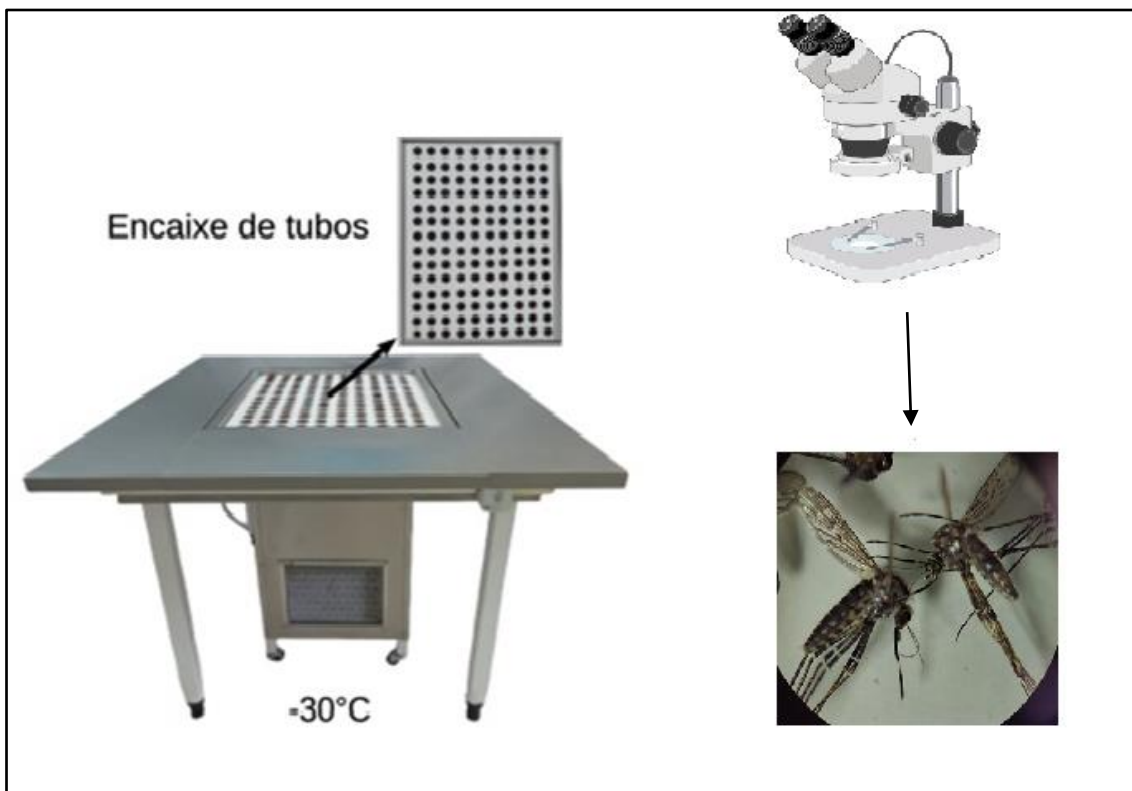


Fonte: Autor, 2023.

### 3.4. IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA

A identificação taxonômica teve como base a morfologia externa dos espécimes, e foi realizada em uma mesa refrigerada a aproximadamente  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Eletrohospitalar, Brasília, Distrito Federal, Brasil) sob um microscópio estereoscópico Zeiss stemi 2000-C (Carl Zeiss, Alemanha) (Figura 11). E com auxílio de chave dicotômicas específicas, baseado nas referências de LANE (1953), FORATTINI (1965A, 1965B), CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA (1994), FORATTINI (2002). As abreviaturas de gênero e subgênero foram adotadas conforme proposto por REINERT (2009). Após os procedimentos de identificação taxonômica, os espécimes foram agrupados em lotes (microtubos *Eppendorf* de 2 mL) contendo a mesma espécie, sendo devidamente identificados por meio de número de registro interno para amostras de artrópodes (AR). Por fim, estes lotes foram armazenados em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  até a etapa das tentativas de isolamento viral.

Figura 11: Representação esquemática dos instrumentos utilizados na identificação dos artrópodes



Fonte: Autor, 2024.

### 3.5. CONSTÂNCIA E DOMINÂNCIA DAS ESPÉCIES

Para determinar as categorias de dominância, foi utilizada a classificação estabelecida por Fribe (1983), onde:  $D\% = (i / t) \cdot 100$ , onde  $i$  = total de indivíduos de uma espécie e  $t$  = total de indivíduos coletados sendo:  $D > 10\%$  Eudominante,  $5 < D < 10\%$  Dominante,  $2 < D < 5\%$  Subdominante,  $D = 1 < 2\%$  Eventual e  $D < 1\%$  Rara.

### 3.6. ANÁLISE DA DIVERSIDADE

Os índices de Shannon (H) e Simpson (1-D) foram utilizados para avaliar as diferenças na diversidade. O índice de Shannon considera tanto a riqueza de espécies quanto a uniformidade, atribuindo maior peso às espécies com base na proporção de suas frequências. A fórmula calcula o somatório de cada proporção ( $\pi_i$ ) multiplicado pelo logaritmo dessa mesma proporção ( $\pi_i$ ) (Magurran & Megill, 2010).

Por outro lado, o índice de Simpson é uma medida mais focada na dominância das espécies: quanto maior o valor de D, menor a diversidade, indicando uma maior probabilidade de indivíduos pertencentes à mesma espécie (Uramoto *et al.*, 2015).

A variação na riqueza de espécies entre os períodos de coleta seca e chuvosa foi avaliada pelo método proposto por Chao *et al.* (2014), com base nos números de Hill (1973), utilizando curvas de rarefação (interpolação) e predição (extrapolação).

### 3.7. ISOLAMENTO VIRAL EM CULTIVO CELULAR

#### 3.7.1. Cultivo e Manutenção das linhagens celulares (Vero E C6/36)

Para a tentativa de isolamento viral em culturas de células, foram utilizados os cultivos das linhagens C6/36 (proveniente do epitélio celular do intestino médio de *Aedes albopictus*) e VERO (oriundo de células renais do macaco verde africano *Chlorocebus sabaues*). Os cultivos foram mantidos em laboratório por meio de repique celular semanal, sob temperatura aproximada de 28°C.

Para a manutenção das células, utilizou-se o meio Leibowitz L-15 para C6/36, composto por: 1.000 mL de meio que inclui 100 mL de triptose fosfato, 10 mL de solução de aminoácidos, 1 mL de penicilina/estreptomicina, 1 mL de fungizona e 50 mL de soro bovino fetal (SBF). Para o cultivo VERO, o meio é preparado com 199, onde 1 frasco equivale a 2,2 g/L de bicarbonato de sódio, 10 mL/L de

penicilina/estreptomicina, 1 mL/L de fungizona, 50 mL de SBF para meio de crescimento, ou 20 mL de meio de manutenção/L, além de 1.000 mL de água destilada autoclavada, utilizando tripsina para o repique.

As placas possuem dimensões de 8 cm x 13 cm e contêm 24 poços de aproximadamente 3 mL. Tanto as placas VERO quanto C6/36 são cultivadas para experimentos, sendo realizadas no mínimo três dias antes da inoculação. Os artrópodes identificados são armazenados em *eppendorfs*, com a numeração correspondente ao seu protocolo de acompanhamento, para posterior maceração.

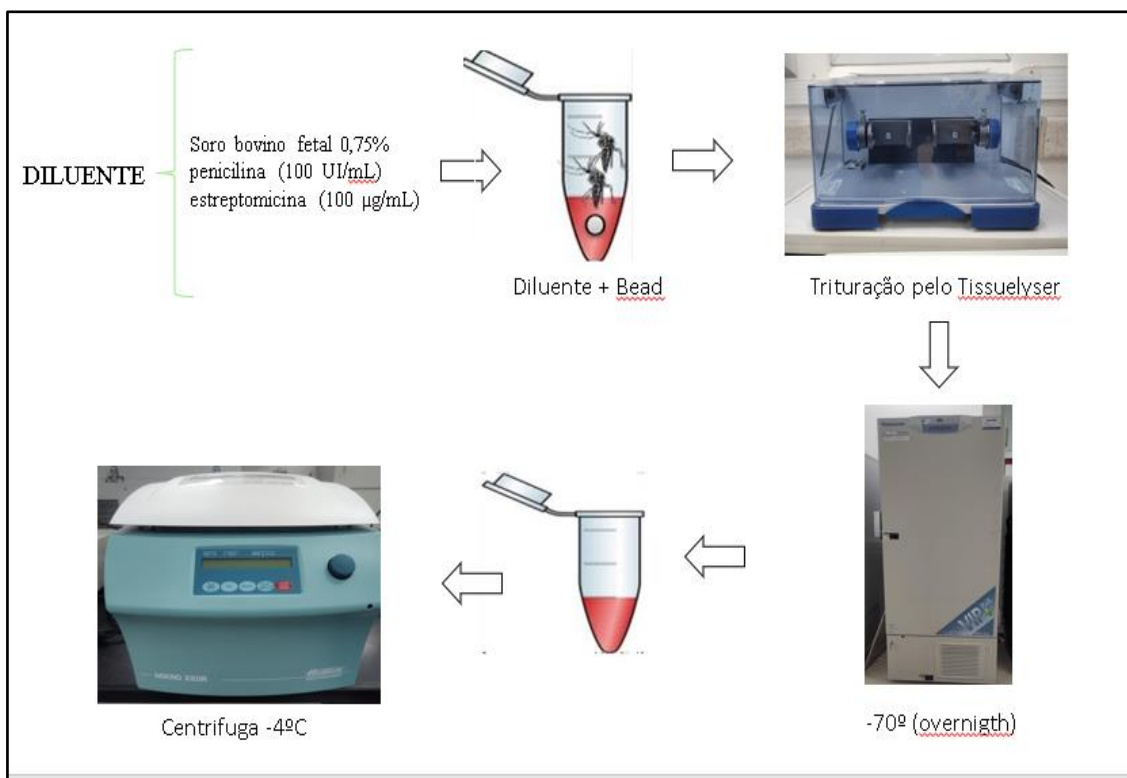
### **3.7.2. Preparo de suspensão de artrópodes**

Ao iniciar o procedimento, foi feita a solicitação dos artrópodes identificados nos *eppendorfs* na sala de registros. No dia anterior, as amostras foram preparadas para serem transferidas para um suporte, dando início ao processamento. Em seguida, foram adicionados 1.000 µL (1 mL) de soro bovino fetal a 0,75%, penicilina (100 UI/mL), estreptomicina (100 µg/mL) e fungizona em cada *eppendorf*, juntamente com uma *bead* de tungstênio de 3 mm.

Os *eppendorfs* foram colocados no equipamento *Tissuelyser II (Qiagen)* por 60 segundos, utilizando uma frequência de 25 Hz. Após a trituração, os *eppendorfs* contendo os macerados foram retirados e armazenados a -70 °C (*overnight*) por um período mínimo de 24 horas; o esquema de preparo da suspensão de artrópodes pode ser observado na Figura 12.

No momento da inoculação em cultivo celular, as amostras foram descongeladas e centrifugadas a -4 °C em uma centrífuga com rotação de 10.000 rpm durante 10 minutos, visando a obtenção do sobrenadante das suspensões dos macerados.

Figura 12: Representação esquemática da preparação de suspensão de artrópodes



Fonte: Autor, 2024.

### 3.7.3. Inoculação em células VERO e C6/36

Os cultivos de células C6/36 e VERO foram inoculados simultaneamente com 100 µL da suspensão de espécimes previamente preparados. No dia anterior à inoculação, cada poço das placas VERO e C6/36 foi identificado com a numeração das amostras, incluindo controle positivo para os grupos A, B, Oropouche e controle negativo.

As amostras foram retiradas do freezer a -70 °C, descongeladas e centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. Em seguida, as suspensões foram mantidas em banho de gelo. Em seguida, as placas de células VERO foram levadas para incubação em estufa a 37 °C durante 1 hora, enquanto as placas com células C6/36 foram incubadas a 28 °C pelo mesmo período, movimentando cuidadosamente as placas a cada 15 minutos para favorecer a adsorção da suspensão na monocamada.

Após 1 hora de incubação, foi adicionado 1,5 mL de meio L-15 em cada poço da placa C6/36 e 1,5 mL de meio 199 nos poços de VERO. As placas foram então retornadas à estufa para uma nova incubação, desta vez por 7 dias. Durante esse

período, as placas foram observadas diariamente em microscópio invertido para verificar possíveis efeitos citopáticos (ECP) e outras anormalidades na monocamada.

Após o período de incubação, as células foram coletadas em lâminas para a realização do teste de Imunofluorescência Indireta, utilizando anticorpos policlonais para *Orthoflavivirus*, *Alphavirus* e *Orthobunyavirus*.

#### 3.7.4. Imunofluorescência indireta (IFI)

O teste de imunofluorescência indireta, conforme o método proposto por (Glauber *et al.*, 1984, com adaptações), tem como finalidade a confirmação da infecção celular. Todas as amostras foram coletadas em lâminas, incluindo aquelas que não apresentaram efeitos citopáticos (ECP). As lâminas foram fixadas em acetona a -20 °C por 10 minutos.

Foi realizado um teste em triplicata: uma lâmina para o grupo A (*Alphavirus*), outra para o grupo B (*Orthoflavivirus*) e uma terceira para o grupo C (*pool*): *Orthobunyavirus* (incluindo Simbú, Guamá, Capim, Bunyawera e Phlebotomus). Os anticorpos policlonais foram diluídos em 1:20 em PBS 1x para triagem, enquanto os anticorpos monoclonais anti-DENV (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) foram diluídos a 1:600 e anti-FAV a 1:800 em PBS 1x.

Após a adição dos anticorpos primários, as lâminas foram colocadas em uma câmara úmida dentro da estufa a 37 °C, onde foram incubadas por 30 minutos. Após esse período, as lâminas foram lavadas em PBS, permanecendo mergulhadas por 10 minutos em uma cuba de vidro de 26x36 cm, para remover os anticorpos não ligados. Em seguida, foi feita uma rápida lavagem em água destilada e as lâminas foram deixadas secar à temperatura ambiente.

Após a secagem, foram adicionados 10 µL de anticorpo conjugado *anti-mouse* (Capel), com Azul de Evans, fabricado em San Luis, Missouri, EUA, pela marca Sigma-Aldrich, diluído a 1:900 em PBS 1x, repetindo os passos de incubação e lavagem. Após a secagem final das lâminas, elas foram montadas com glicerina tamponada e observadas ao microscópio de fluorescência.

Nos casos positivos para o grupo B, seriam utilizados anticorpos monoclonais disponíveis no laboratório de Isolamento Viral da SEARB para *Orthoflavivirus* VFA e DENV (DENV-1 a DENV-4). As demais identificações foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular.

### 3.8. BIOLOGIA MOLECULAR

#### 3.8.1. Extração de RNA.

A extração do RNA, foi realizada dos cultivos de células positivos na IFI ou com ECP, utilizando o kit *QIAamp Viral RNA Mini Kit*® (*Qiagen*®), seguindo as orientações do fabricante. Para o procedimento da extração, foram utilizados 560 µL de tampão de lise preparado conforme a fórmula ( $n$ : número de amostra +1 x 0,56 =  $y$  mL: volume de tampão AVL) em tubo *eppendorf* de 1,5 mL e adicionando 140 µL da amostra ao tubo, submetidas à agitação vigorosa em vortex e incubada por 10 minutos a temperatura ambiente. Foram adicionados 560 µL de etanol absoluto (96 a 100%), submetidas a agitação vigorosa em vórtex e centrifugadas rapidamente. Um volume de 630 µL do lisado foi transferido para uma coluna já identificada e centrifugada à 6.000g por 1 minuto, repetindo o passo anterior. Após a coluna ser transferida para um novo tubo coletor, foram adicionados 500 µL do tampão AW1 na coluna e centrifugada a 6.000g por 1 minuto. Após isso, foi realizado o descarte do tubo coletor. Foram adicionados 500 µL do tampão AW2 no tubo, sendo centrifugada à velocidade máxima por 3 minutos. A coluna foi transferida para um tubo *eppendorf* de 1,5 mL. Adicionou 60 µL de tampão AVE e incubou-se por aproximadamente 1 minuto à temperatura ambiente de acordo com o fabricante do kit. Em seguida, o RNA extraído e devidamente identificado foi armazenado em ultra-freezer -80°C.

#### 3.8.2. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR)

No preparo da reação RT-qPCR, foi utilizado o kit *Super Script®III Platinum® One-Step Quantitative qRT-PCR*, com o uso dos alvos utilizados para pesquisa de arbovírus disponível no Laboratório de Biologia Molecular foram do gênero *Alphavirus* (MAYV, CHIKV) e *Orthoflavivirus* (DENV, FVA, SLEV, ZIKV, VNO) utilizando primer e sondas para cada alvo testado.

Em uma microplaca do kit *MicroAmp™ EnduraPlate™ Optical 96-Well Fast Blue Reaction Plates with Barcode* (Applied Biosystems™), de 96 micropoços, foram adicionados 20 µL da mistura e reagentes (Água livre de nucleases, primers, sondas, 2X *ReactionMix*, ROX e enzima *SuperScript III RT/Platinum Taq*) como mostra o quadro 4 abaixo, em cada poço foi utilizado um controle positivo para o respectivo vírus a ser

analisado. O gene *rps17* foi utilizado como controle endógeno. Cada amostra e controles foram aplicados em duplicatas. Logo após, foram acrescentados 5  $\mu$ L do RNA extraído, obtendo assim um volume final de 25  $\mu$ L para amplificação RT-qPCR.

Os parâmetros de ciclagem recomendados, 50 °C por 30 minutos para a transcrição reversa, 95 °C por 2 minutos para inativação da RT / desnaturação inicial, seguido por 45 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto. O termociclador para amplificação foi equipamento *AriaMx Real-time PCR System (Agilent)*.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. LEVANTAMENTO DE ENTOMOFAUNA CONSTÂNCIA E DOMINÂNCIA DAS ESPÉCIES

Durante as coletas realizadas em dois períodos distintos, de (Abril/Maio) e de (Agosto/Setembro) de 2023, em excursão de 10 dias, correspondendo às estações seca e chuvosa, respectivamente, foram coletados um total de 3.266 espécimes da família Culicidae. As coletas de mosquitos adultos foram realizadas utilizando os métodos ATHPE e armadilha luminosa tipo CDC, resultando na coleta de 1.793 espécimes pelo método de atração humana e 1.409 pelo método CDC.

Além disso, foram coletados 64 espécimes em sua forma imatura (larvas ou pupas) utilizando larvitampas. É relevante destacar que somente as larvitampas utilizadas durante o período chuvoso apresentaram positividade; no período seco, todas as larvitampas foram negativas.

As coletas totalizaram 60 horas de esforço amostral pelo método ATHPE e 240 horas pelo método CDC, somando um total de 300 horas. A diversidade obtida revelou a presença de 13 gêneros, com 57 táxons identificados ao nível de espécie. Os gêneros mais abundantes foram *Culex*, com 1.519 indivíduos, representando 47,44% do total, e *Coquillettidia*, com 1.061 indivíduos, representando 33,14%. Ambos os gêneros foram considerados eudominantes no estudo, conforme demonstrado na Tabela 1.

Esses resultados destacam a importância das diferentes metodologias de coleta e as variações sazonais na abundância de mosquitos. O reconhecimento dos gêneros predominantes também é crucial para direcionar estratégias de controle e prevenção de doenças transmitidas por mosquitos.

Tabela 1– Espécies de culicídeos coletados no período chuvoso e seco por método ATHE e CDC tanto em solo quanto em copa.

	Chuvoso				Seco				total	fre %	Dominância
	ATPHE		CDC		ATPHE		CDC				
	solo	copa	solo	Copa	solo	copa	solo	copa			
<i>Ae. (How.) fulvithorax</i>	6	0	0	0	3	0	0	0	9	0,28	rara
<i>Ae. (Och.) fulvus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0,06	rara
<i>Ae. (Och.) serratus</i>	8	0	1	0	18	0	1	0	28	0,87	rara
<i>Ae. (Pro.) argyrothorax</i>	9	0	0	0	0	0	0	0	9	0,28	rara
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	rara
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♂	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>An. (Ano.) mediopunctatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,03	rara
<i>An. (Ano.) species</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0,06	rara
<i>An. (Ste.) nimbus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Cq. (Rhy.) arribalzagae</i>	198	0	1	0	0	0	2	2	203	6,34	dominante
<i>Cq. (Rhy.) nigricans</i>	8	0	0	0	1	0	0	0	9	0,28	rara
<i>Cq. (Rhy.) species</i>	11	0	0	0	0	0	0	0	11	0,34	rara
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i>	491	1	51	5	221	1	59	9	838	26,17	eudominante
<i>Cx. (Car.) infoliatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	rara
<i>Cx. (Car.) urichii/anduzei</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Cx. (Cux.) declarator</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0,03	rara
<i>Cx. (Cux.) species</i>	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0,19	rara
<i>Cx. (Mel.) faurani</i>	19	0	0	0	0	0	0	0	19	0,59	rara
<i>Cx. (Mel.) gnomatos</i>	0	0	8	0	0	0	0	0	8	0,25	rara
<i>Cx. (Mel.) Grupo Atratus</i>	0	0	1	0	0	2	0	1	4	0,12	rara
<i>Cx. (Mel.) Grupo Intricatus</i>	180	0	76	35	0	0	0	0	291	9,09	dominante
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	0	0	14	0	1	0	4	0	19	0,59	rara
<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	19	0	61	1	19	0	834	21	955	29,83	eudominante

<i>Cx. (Mel.)</i> species	11	0	13	33	5	0	31	25	118	3,69	subdominante
<i>Cx. (Mel.) spissipes</i>	2	0	23	0	1	0	33	0	59	1,84	eventual
<i>Cx. (Mel.) vomerifer</i>	0	0	0	0	0	0	38	0	38	1,19	eventual
<i>Hg. (Mel.) janthinomys</i>	4	27	0	1	2	2	0	0	36	1,12	eventual
<i>Jn. longipes</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Li. durhamii</i>	5	0	1	0	3	0	0	0	9	0,28	rara
<i>Li. flavisetosus</i>	10	0	0	0	6	0	0	0	16	0,50	rara
<i>Limatus</i> species	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0,16	rara
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0,06	rara
<i>Ma. (Man.) pseudotitillans</i>	0	0	2	1	0	0	0	0	3	0,09	rara
<i>Ma. (Man.)</i> species	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Ma. (Man.) titillans</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,03	rara
<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0,06	rara
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	4	1	0	0	0	0	0	0	5	0,16	rara
<i>Sa. (Sab.) tarsopus</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0,06	rara
<i>Sa. (Sab.) amazonicus</i>	0	7	0	0	0	0	0	0	7	0,22	rara
<i>Sa. (Sab.) belisarioi</i>	0	15	0	0	1	2	0	0	18	0,56	rara
<i>Sa. (Sab.) cyaneus</i>	0	7	0	0	3	0	0	0	10	0,31	rara
<i>Sa. (Sab.) foratinii</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Sa. (Sab.) quasicyaneus</i>	0	1	0	0	2	0	0	0	3	0,09	rara
<i>Sa. (Sab.) chloropterus</i>	0	12	0	0	0	11	0	0	23	0,72	rara
<i>Sa. (Sab.) glaucodaemon</i>	0	13	0	0	1	2	0	0	16	0,50	rara
<i>Sabethes</i> sp.	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Tr. (Trc.) digitatum</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0,16	rara
<i>Ur. (Ura.) geometrica</i>	0	0	5	0	0	3	0	1	9	0,28	rara
<i>Ur. (Ura.) hystera</i>	0	0	0	0	0	11	0	2	13	0,41	rara
<i>Ur. (Ura.) natalie</i>	0	0	0	0	0	9	0	0	9	0,28	rara
<i>Uranotaenia (Ura.)</i> species	0	0	2	0	0	1	0	0	3	0,09	rara

<i>Wy. (Cru.) dyari</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Wy. (Den.) complosa</i>	12	0	0	0	0	0	0	0	12	0,37	rara
<i>Wy. (Den.) luteoventralis</i>	30	0	0	0	0	0	0	0	30	0,94	rara
<i>Wy. (Den.) ypsipola</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0,09	rara
<i>Wy. (Pho.) species</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03	rara
<i>Wy. (Pho.) splendida</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0,06	rara
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	29	0	0	0	1	0	0	0	30	0,94	rara
<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0,19	rara
<i>Wy. (Wyo.) hemisagnosta</i>	3	3	0	0	0	0	0	0	6	0,19	rara
<i>Wy. Argenteorostris</i>	88	2	0	0	24	0	0	0	114	3,56	subdominante
<i>Wy. flui</i>	7	0	0	0	5	0	0	0	12	0,37	rara
<i>Wy. negrensis</i>	38	0	0	0	0	0	0	0	38	1,19	eventual
<i>Wy. negrensis/occulta</i>	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0,12	rara
<i>Wyeomyiaspecies</i>	92	1	0	0	15	0	0	0	108	3,37	subdominante
<b>Abundância</b>	1747				1455				3202	100,00	
<b>Unidades taxonomicas</b>	56				38						
<b>Riqueza</b>	45				29				57		
<b>Shannon (H')</b>	14.03				7.13						
<b>Simpson (D)</b>	5.02				2.56						

**Legenda:** freq. % = D > 10% Eudominante; D > 5 < 10% Dominante; D > 2% < 5% Subdominante; D = 1 < 2% Eventual e D < 1% Rara.

**Fonte:** Autor, 2024.

Os resultados obtidos nas coletas de armadilhas revelaram uma diferença significativa na coleta de mosquitos, com armadilhas posicionadas à altura do solo apresentando números consideravelmente maiores do que aquelas colocadas ao nível da copa das árvores. Essa observação sugere que as condições no solo são mais favoráveis para a captura das espécies estudadas, possivelmente devido à maior disponibilidade de hospedeiros ou ambientes larvais mais adequados.

Além disso, foi identificada uma variação na preferência por ambientes larvais entre os diferentes níveis de coleta. Nas armadilhas da copa, os mosquitos demonstraram uma clara preferência por ambientes naturais, como internódios de bambu e ouriços de castanha do Pará. Esses locais oferecem uma combinação de umidade, sombra e proteção, características essenciais para o desenvolvimento das larvas. Apenas em período chuvoso obteve larvas e estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Espécies de culicídeos coletados no período chuvoso por método de larvitrapa tanto em solo quanto em copa.

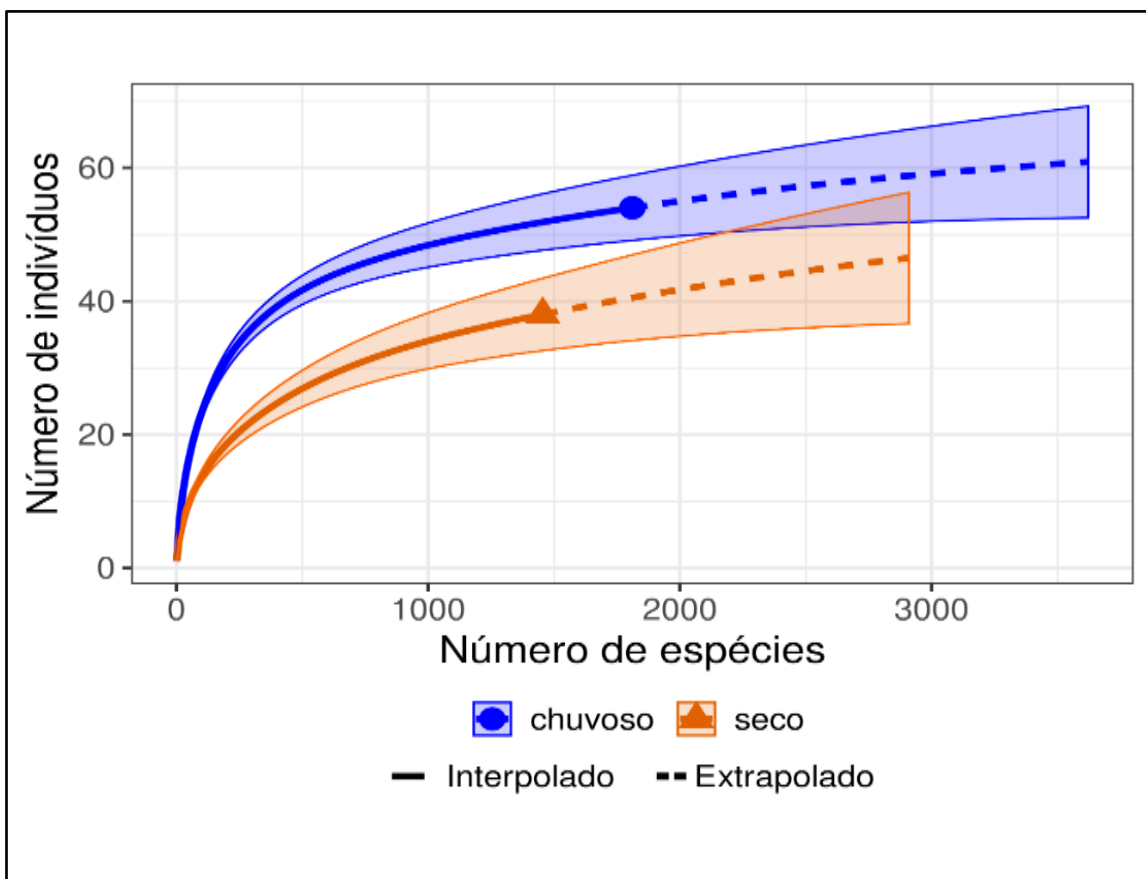
ESPÉCIES	CHUVOSO					
	BAMBU		OURIÇO		VASO	
	Copa	Solo	Copa	Solo	Copa	Solo
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	0	0	0	1	0	0
<i>Cx. (Car.) infoliatatus</i>	22	0	1	0	0	0
<i>Cx. (Car.) urichii/anduzei</i>	0	0	0	0	0	25
<i>Li. flavisetosus</i>	0	0	0	0	0	15

No presente estudo, as curvas de rarefação e extrapolação geradas para cada período de amostragem apresentaram uma leve inclinação ascendente, indicando que um esforço amostral mais intensivo poderia revelar a presença de espécies adicionais. Contudo, durante o processo de identificação taxonômica, muitos exemplares apresentaram danos em sua estrutura morfológica, o que impossibilitou sua classificação até o nível de espécie. Essa limitação provavelmente influenciou as

estimativas obtidas, pois essa abordagem leva em consideração tanto a riqueza de espécies quanto a abundância dos indivíduos amostrados (Figura 13).

Essas descobertas destacam a importância de realizar uma amostragem cuidadosa e abrangente para obter uma representação mais precisa da diversidade de espécies presentes. Além disso, a adoção de metodologias que minimizem danos aos espécimes pode aprimorar a acurácia das estimativas, contribuindo para uma compreensão mais aprofundada da composição da fauna.

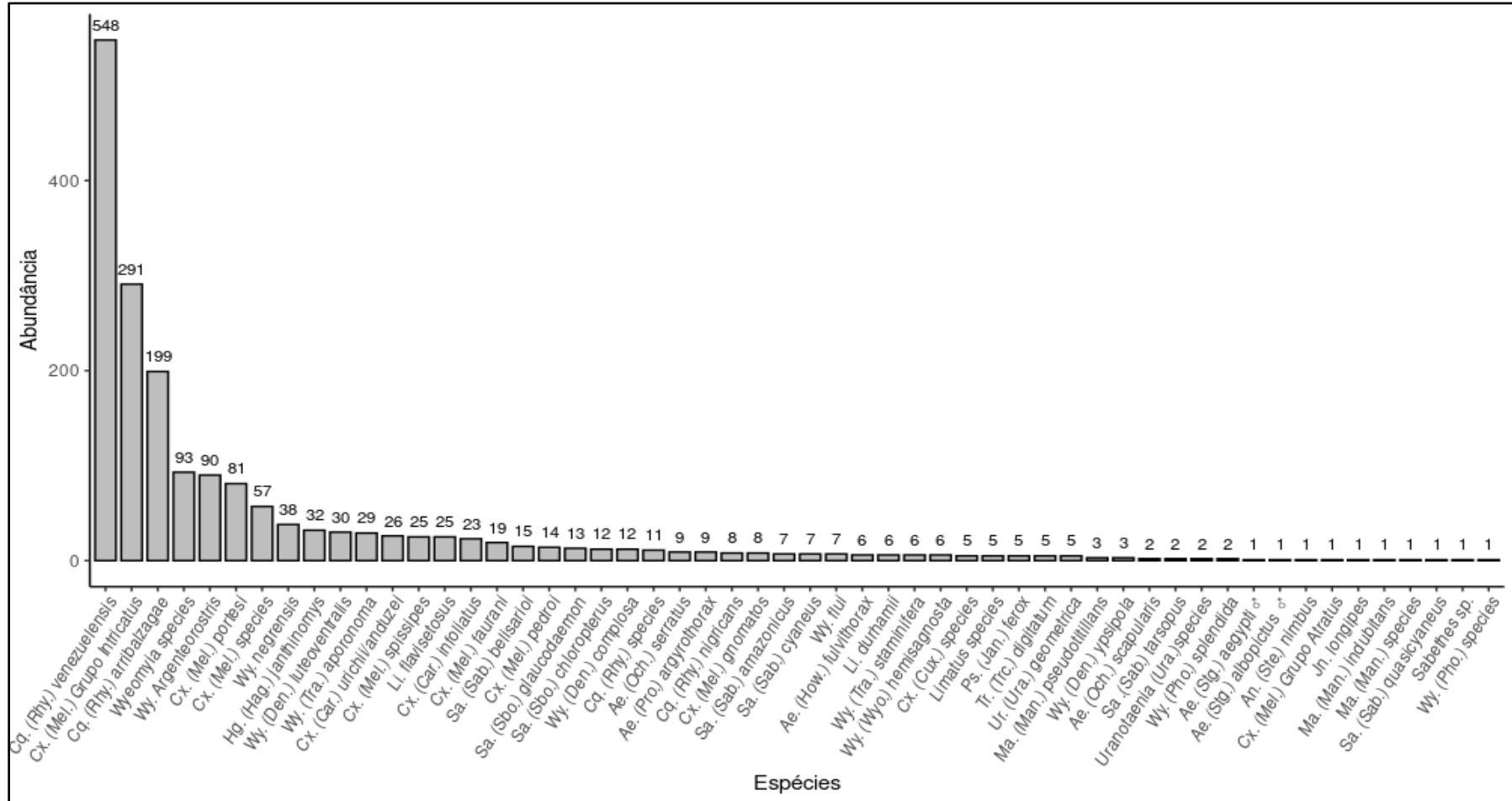
Figura 13: Gráfico de diversidade das espécies coletadas



Fonte: Autor, 2024.

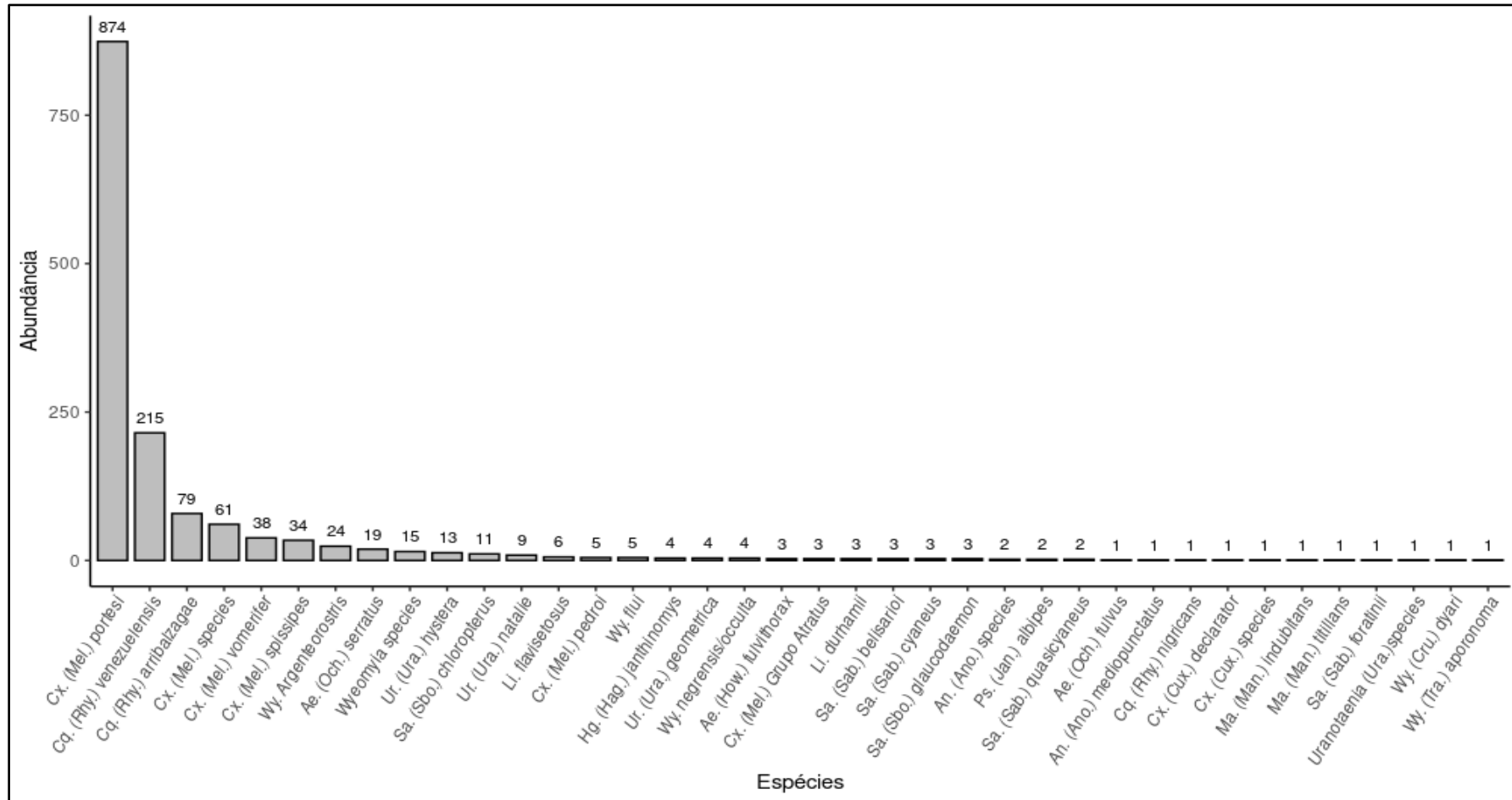
Em relação à composição de espécies, os dois períodos de amostragem compartilharam várias espécies, incluindo aquelas de importância epidemiológica, como *Culex portesi*, *Coquillettidia venezuelensis* e *Coquillettidia arribalzae*, que se destacaram como eudominantes e dominantes no estudo. As figuras abaixo (Figuras 14 e 15) apresentam gráficos de abundância das espécies durante os períodos chuvoso e seco, respectivamente.

Figura 14: Abundância de espécie do período chuvoso na Comunidade Quilombola Abacatal



Fonte: Autor, 2024

Figura 15: Abundância de espécie no período seco da Comunidade Quilombola Abacatal



Fonte: Autor, 2024

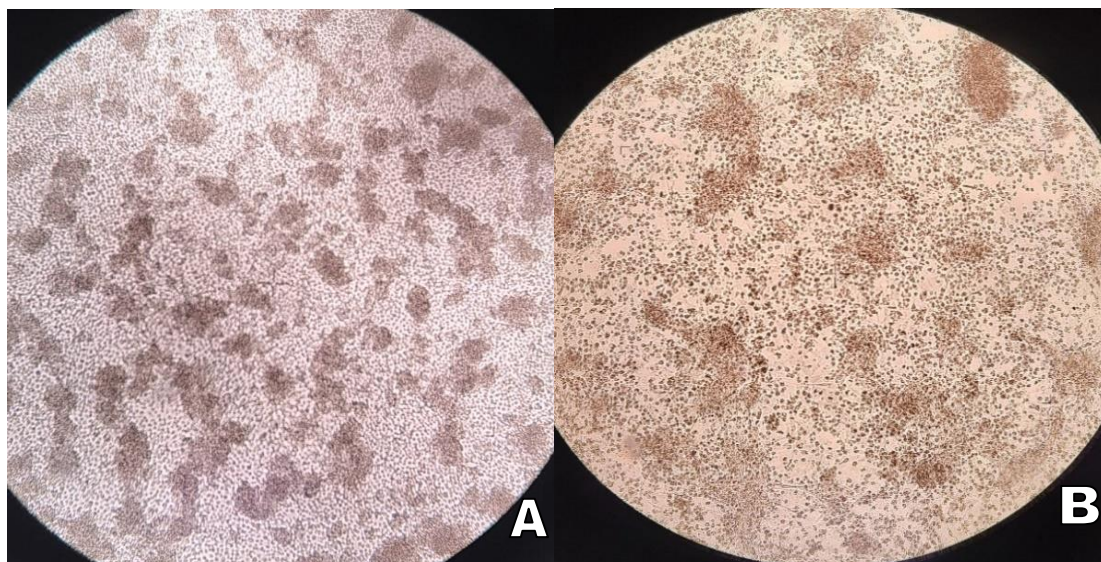
#### 4.2. ISOLAMENTO VIRAL E TESTE DE IFI.

As amostras processadas no Laboratório de Isolamento Viral foram coletadas tanto durante o período chuvoso quanto no seco, totalizando 189 amostras de pools de artrópodes hematófagos, sendo 102 provenientes do período chuvoso e 87 do período seco. Essas amostras foram inoculadas nas linhagens celulares C6/36 e VERO.

Os efeitos citopáticos (ECP) observados nas linhagens foram caracterizados por alterações morfológicas das células, incluindo a formação de sincícios e a destruição completa da monocamada, conforme ilustrado na Figura 16. Das amostras analisadas, 4,7% apresentaram alterações morfológicas nas células VERO e 2,1% nas C6/36.

Dentre as 189 amostras inoculadas, 15 mostraram alterações morfológicas. Dessas, 3 amostras resultaram em reações inespecíficas, e outras 3 que não apresentaram ECP também mostraram reações inespecíficas no teste de Imunofluorescência Indireta (IFI). As demais amostras foram negativas. As reações inespecíficas foram caracterizadas por uma fluorescência baixa, necessitando de confirmação e repetição das análises. Os resultados estão detalhados nos Quadros 5 e 6, totalizando 18 amostras que foram encaminhadas para o Laboratório de Biologia Molecular.

Figura 16: ECP em C6/36 (A) e ECP em VERO (B) proveniente da mesma amostra de AR 889093 *Cx. (Mel.) portesi*



**Fonte:** Autor, 2024.

Quadro 4: Artrópodes coletados que demonstraram efeito citopático no isolamento Viral e seus respectivos resultados no teste de imunofluorescência indireta do período chuvoso.

Registro (AR)	Espécie	Modo de coleta/ substrato	Quantidade (indivíduos)	Data da coleta (Mês/Ano)	Detalhes do isolamento viral	Resultado do Teste IFI
881503	<i>Li. duhamii</i>	ATHPE/ SOLO	5	Abr.-Mai./ 2023	ECP em VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
881536	<i>Sa. ( Sob.) glaucodaemon</i>	ATHPE/COPA	13	Abr.-Mai./ 2023	ECP em VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
881567	<i>Cx. (Mel.) Grupo Intricatus</i>	CDC/COPA	35	Abr.-Mai./ 2023	ECP em VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
881570	<i>Ma. ( Man.) species</i>	CDC/COPA	1	Abr./2023	ECP em VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
881576	<i>Cx.(Car.) infoliatius</i>	BAMBU/COPA	1	Jun./2023	ECP em C6/36 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Reação inespecífica <b>VERO:</b> Negativo

Fonte: Autor, 2024.

Quadro 5: Artrópodes coletados que demonstraram efeito citopático no isolamento Viral e seus respectivos resultados no teste de imunofluorescência indireta do período seco.

Registro (AR)	Espécie	Modo de coleta /substrato	Quantidade (indivíduos)	Data de coleta (Mês/Ano)	Detalhes do isolamento viral	Resultado do teste IFI
889027	<i>Ae. (Och.) serratus</i>	ATHPE/SOLO	18	Ago./ 2023	ECP em C6/36 E VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889034	<i>Cq. (Rhy) venezuelensis</i>	ATHPE/SOLO	38	Ago./ 2023	ECP em C6/36 E VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889040	<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	ATHPE/SOLO	1	Ago./ 2023	ECP em C6/36 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> <b>Reação inespecífica</b>
889056	<i>Wy. (Tra.) aponorama</i>	ATHPE/SOLO	1	Ago./ 2023	Não houve ECP	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> <b>Reação inespecífica</b>
889058	<i>Wy. (Cru.) dyari</i>	ATHPE/SOLO	1	Ago./ 2023	Não houve ECP	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> <b>Reação inespecífica</b>
889062	<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	ATHPE/COPA	1	Ago./ 2023	Não houve ECP	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> <b>Reação inespecífica</b>
889072	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	40	Ago./ 2023	ECP em VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889073	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	40	Ago./ 2023	ECP em C6/36 E VERO 1º Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo

889075	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	40	Ago./ 2023	ECP em VERO 1° Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889083	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	44	Ago./ 2023	ECP em VERO 1° Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889087	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	40	Ago./ 2023	ECP em VERO 1° Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo
889093	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	CDC/SOLO	35	Ago./ 2023	ECP em C6/36 E VERO 1° Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> <b>Reação inespecífica</b>
889095	<i>Cx. (Mel.) species</i>	CDC/SOLO	31	Ago./ 2023	ECP em C6/36 1° Passagem	<b>C6/36:</b> Negativo <b>VERO:</b> Negativo

**Fonte:** Autor, 2024.

#### 4.3. DETECÇÃO DO GENOMA VIRAL POR RT-qPCR

As 18 amostras entre as quais apresentaram ECP com resultados negativos na IFI e reações inespecíficas foram encaminhadas para a realização da RT- qPCR testado para os gêneros virais *Orthoflavivirus* e *Alphavirus*. A análise não detectou nenhum dos arbovírus testados (Quadro 7).

Quadro 6: Resultado das amostras de artrópodes testado por RT-qPCR.

Registro (AR)	Espécie	Gêneros virais testados	Resultado RT-qPCR
881503	<i>Li. duhamii</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
881536	<i>Sa. (Sob.) glaucodaemon</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
881567	<i>Cx. (Mel.) Grupo Intricatus</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
881570	<i>Ma. (Man.) species</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
881576	<i>Cx. (Car.) infoliatius</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889027	<i>Ae. (Och.) serratus</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889034	<i>Cq. (Rhy) venezuelensis</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889040	<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889056	<i>Wy. (Tra.) aponorama</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889058	<i>Wy. (Cru.) dyari</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889062	<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889072	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889073	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889075	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889083	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889087	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889093	<i>Cx. (Mel.) portesi</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo
889095	<i>Cx. (Mel.) species</i>	<i>Orthoflavivirus</i> e <i>Alphavirus</i>	Negativo

## 5. DISCUSSÃO

A região amazônica é reconhecida como um dos ecossistemas mais importantes do mundo, devido à sua rica diversidade biológica e à complexa rede de interações entre as diversas formas de vida, incluindo uma impressionante variedade de espécies de plantas e animais. Entre esses organismos, os invertebrados, especialmente as diferentes espécies de culicídeos, desempenham um papel crucial na manutenção do ecossistema e na transmissão de patógenos que afetam a saúde humana e animal.

Neste trabalho, foi realizado um estudo entomoviológico com o objetivo de investigar a fauna de culicídeos e seu papel potencial na participação de ciclos de agentes virais em uma área do quilombo Abacatal, situada no município de Ananindeua. O estudo revelou uma diversidade significativa de espécies, totalizando 57 identificadas, abrangendo 13 gêneros e 21 subgêneros.

O gênero *Culex* apresentou a maior abundância e frequência, destacando-se a espécie *Cx. portesi*, que se mostrou eudominante com 955 espécimes amostrados. Em seguida, o gênero *Coquilletidia*, onde *Cq. venezuelensis* sendo a espécie mais abundante, com 838 indivíduos amostrados. Resultados semelhantes foram observados por Confalonieri & Costa-Neto (2012), que relataram perfis similares de dominância para ambas as espécies na Floresta Nacional de Caxinauã, no município de Melgaço, Pará. É possível que o perfil de abundância do gênero *Culex* seja influenciado pela metodologia de coleta CDC, uma vez que essas espécies são classificadas como de importância epidemiológica.

*Cx.portesi*, apresenta hábito noturno e é conhecido por sua distribuição predominantemente silvestre, com uma marcada preferencialmente alimentar por uma ampla variedade de roedores e outros animais (Davies, 2009). É classificada como de importância médica, tendo sido encontrada naturalmente infectada com diversos arbovírus importante como VEEV, SLE, WNV.

A espécie *Coquilletidia venezuelensis* é cohecida por seu comportamento voraz e agressivo (FORATTINI, 2022), É de importância médica devido a registros de detecção de infecções naturais para diversos arbovírus, incluindo o vírus do Nilo Ocidental (WNV)( VELÁSQUEZ *et al.*, 2013), (HERVÉ *et al.*, 1986), e outros arbovírus como o *Aruac virus* (ARUV), o *Bimiti virus* (BIMV) (ROBIN *et al.*, 1982), o GAMV (PANDAY, 1981), o MAYV (AITKEN *et al.*, 1964; JONKERS *et al.*, 1968 LANE

), além do *Itaporanga virus* (ITPV), o *Bussuquara virus* (BSQV) e o *Moju virus* (MOJUV) (IEC, 2007). É considerada vetor secundário do vírus oropouche (*Orthobunyavirus oropouchense*).

Um estudo realizado por Ramos (2023) em uma área de vegetação remanescente na Região Metropolitana de Belém observou a dominância das espécies *Culex (Mel.) portesi* e *Coquilletidia (Rhy.) venezuelensis*. A coleta foi realizada por meio do método ATHPE entre 9h e 12h, assim como no presente estudo, enquanto as armadilhas CDC foram ativadas à tarde, a partir das 16h30. As metodologias de coleta empregadas, tanto na atração humana quanto nas armadilhas CDC, proporcionaram um esforço amostral significativo, resultando em uma representatividade da rica e diversificada fauna presente na localidade.

As espécies mais abundantes, caracterizadas como dominantes no estudo, incluem *Cq. (Rhy.) arribalzagae* e *Cx. (Mel.) grupo Intricatus*, amplamente registradas em estudos na Amazônia. VIEIRA *et al.* (2021) conduziram pesquisas no arco do desmatamento amazônico, no norte do estado de Mato Grosso, onde as espécies *Cq. (Rhy.) arribalzagae* e o gênero *Culex* foram considerados dominantes em um clima tropical.

FORATTINI *et al.* (1991) relataram que as características oportunistas dos mosquitos do grupo *Culex (Melanoconion) spp.* podem favorecer sua domiciliação em ambientes antropizados. Por outro lado, outras espécies descritas nos resultados do presente estudo podem reagir de maneira diferente, apresentando uma diminuição gradual em sua abundância. FORATTINI (2002) enfatiza que algumas espécies têm preferência por ambientes larvais específicos, cuja ecologia e diversidade variam conforme o local.

A análise do presente estudo indicou que as formas imaturas se desenvolveram apenas na estação chuvosa, evidenciando uma preferência dos indivíduos: nas copas arbóreas, optaram por ambientes naturais, enquanto no solo predominaram ambientes artificiais. Além disso, estudo de NETO *et al.* (2023) documentou o primeiro isolado de WNV (Vírus do Nilo Ocidental) no sudeste do Pará em mosquitos do subgênero *Melanoconion*.

As armadilhas de larvitampas mostraram um padrão de comportamento distinto entre internódios de bambu e vasos. Os representantes de *Cx. (Car.) spp.* destacaram-se como dominantes na pesquisa com formas imaturas, resultados que corroboram achados de ALMEIDA (2018).

Segundo FORATTINI (2002), os representantes do gênero *Culex* não apresentam critérios rígidos para oviposição. Por exemplo, *Culex (Car.) infoliatius* foi encontrado em 34,3% nas armadilhas naturais localizadas na copa das árvores, enquanto *Culex (Car.) Urichii/anduzei* alcançou 39% nas armadilhas de vaso instaladas no solo. ALMEIDA (2018) registrou uma elevada abundância de *Culex (Car.) Urichii/anduzei* em larvitrapas de pneus no estado do Amazonas.

Outra espécie que apresentou um número significativo em armadilhas artificiais foi *Limatus flavisetosus*, que representou 23,4%. As larvitrapas de vaso, por sua vez, registraram a maior abundância em solo, com um total de 62,4% dos indivíduos encontrados.

A comunidade quilombola do abacatal é composta por uma floresta tropical, caracterizada por grandes árvores e pela presença de ambientes larvais naturais, que favorecem o desenvolvimento de culicídeos. No entanto, a construção da Estrada da Liberdade pode gerar impactos ambientais significativos, resultando em mudanças climáticas que influenciam a dinâmica das populações de mosquitos. Essas alterações desempenham um papel importante na modulação da biologia e no ciclo de vida dos vetores.

O impacto da urbanização sobre os mosquitos pode variar conforme a espécie. Estudos de Ferraguti *et al.* (2016) e Rezende *et al.* (2011) indicam que áreas urbanas podem oferecer habitats adequados para algumas espécies específicas de mosquitos, como aqueles que se reproduzem em recipientes artificiais.

A partir das análises do gráfico das curvas de intrapolação e extrapolação, observou-se que a riqueza das espécies foi crucial para a designação do esforço amostral. No total, o estudo registrou 57 espécies de culicídeos. Segundo GUIMARÕES *et al.*, 2001 afirma que as maiores densidades populacionais de culicídeos está relacionado com as temperaturas mais elevadas.

Entre os meses analisados, o período chuvoso apresentou a maior diversidade de formas imaturas. Estudos sobre a ecologia e a riqueza de determinadas espécies, especialmente aquelas com potencial como vetores, são fundamentais para entender os aspectos epidemiológicos. Foram identificadas várias espécies de vetores de arbovírus, incluindo *Haemagogus janthinomys*, *Sabethes* spp., *Limatus duhamii*, e *Limatus flavisetosus*, conforme descrito na Tabela 1.

É importante destacar algumas espécies, como *Haemagogus janthinomys* e diversas do gênero *Sabethes*, que são reconhecidas como vetores primários e secundários da febre amarela silvestre no Brasil. Além delas, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* também desempenham um papel significativo como potenciais vetores da febre amarela urbana. Adicionalmente, as espécies *Culex venezuelensis* e *Aedes serratus* são consideradas potenciais vetores secundários do vírus Oropouche, ressaltando a relevância da diversidade de culicídeos na epidemiologia dessas doenças.

A investigação da circulação de arbovírus em população de mosquitos coletados na Comunidade Quilombola Abacatal, indicam que não há evidências de circulação de arbovírus na comunidade. No entanto, a análise foi realizada com apenas uma passagem em células VERO e C6/36. Para uma investigação mais aprofundada na vigilância entomoviológica, é recomendável realizar três passagens para aumentar a carga viral. A pesquisa sobre arbovírus é conduzida por diversos grupos, e a exploração de uma maior diversidade de espécies tem como objetivo entender o papel de cada uma no ciclo de transmissão. A identificação dos vetores em áreas endêmicas é essencial para o desenvolvimento de estratégias de controle eficazes.

Estudos realizados por Sousa (2022) documentam o primeiro relato de mosquitos *Mansonia humeralis* infectados com os arbovírus Mayaro e Dengue. O período chuvoso demonstrou efeitos citopáticos nas espécies do gênero *Ma. (Man.)* spp., que são abundantes em regiões afetadas por processos antrópicos. No entanto, essas espécies não são tradicionalmente reconhecidas como vetores de doenças. Vale ressaltar que neste estudo não foi realizada a avaliação da competência vetorial dessas espécies.

Os mosquitos *Cx. (Mel.) portesi* apresentam alta prevalência na Comunidade Quilombola Abacatal, caracterizando-se por uma elevada densidade populacional e um alto grau de antropofilia. Essas evidências indicam que os mosquitos do gênero *Culex* podem ser valiosos para estudos de monitoramento epidemiológico. A ausência de detecção de arbovírus em *pools* das amostras coletadas pode estar relacionada à diminuição do título viral durante o processamento. A dificuldade em isolar arbovírus em células C6/36 devido à baixa carga viral já foi documentada em estudos com o vírus da dengue. Jarman *et al.* (2011) relataram problemas associados ao processamento de amostras virais, como acondicionamento inadequado, descongelamento repetido ou baixa carga viral, que podem comprometer os resultados.

A detecção de arbovírus, junto com a análise da competência vetorial, densidade populacional e preferência alimentar, é fundamental para compreender a introdução de

novos vírus em determinadas regiões (FERNANDES, 2017; SHAW; CATTERUCCIA, 2018).

A Biologia molecular, por meio do sequenciamento genômico, desempenha um papel vital na identificação da origem dos vírus circulantes e na compreensão das dinâmicas de transmissão, correlacionando esses dados com informações epidemiológicas (FARIA *et al.*, 2017). Além disso, a coinfeção por múltiplos arbovírus pode levar a complicações clínicas significativas (RÜCKERT *et al.*, 2017; VOGELS *et al.*, 2019).

Essa vigilância deve envolver a detecção de vírus em diferentes espécies de mosquitos em locais estratégicos. Coletar e analisar essas informações é essencial não apenas para entender surtos, mas também para prevenir ou reduzir a dispersão viral em futuros eventos.

## 6. CONCLUSÃO

A comunidade Quilombola Abacatal localizada no município de Ananideua, Pará, Brasil, apresentou uma abundância de 3202 espécimes, 13 gêneros e riqueza de 57 espécies. A diversidade de gêneros e espécies encontrada não apenas enriquece o estudo no local, mas também destaca a necessidade de esforços contínuos para conservar esses ecossistemas;

Durante o período chuvoso, observou-se uma abundância de 16 espécies a mais de culicídeos em comparação ao período seco, devido à maior disponibilidade de criadouros naturais que se forma durante o período.

*Culex (Melanoconion) portesi* e *Coquilletidia. (Rhynchotaenia) venezuelensis* foi observada no estudo com eudominante, pelo método de ATHPE e CDC sendo de grande importância devido a sua domiciliação de mosquitos *Culex (Melanoconion)* em ambientes antrópicos e *Coquilletidia. (Rhynchotaenia) venezuelensis* é considerado vetor secundário do vírus Oropouche

*Culex (Carrollia,) infoliatum* e *Culex (Carrollia) Urichii/anduzei* foram espécies prevalentes em larvitampas demonstrando comportamentos distintos

A identificação de espécies de importância epidemiológica, a qual são vetores de diversos arbovírus, dessa maneira o monitoramento na área é de grande relevância uma vez que a área sofrerá processo de antropização.

Pesquisa de vírus por tentativa de isolamento Viral e Biologia Molecular nos demonstraram que não há circulação de arbovírus no local, no entanto para avaliar melhor, estudos de sequenciamento metagenômico são de grande importância para investigação e deverão ser realizadas.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Jéssica Feijó et al. **Evidências de Sinatropização de mosquitos (DIPTERA: Culicidae) em um assentamento rural na Amazônia brasileira**. 2018. Tese de Doutorado.

AOKI, V. et al. Imunofluorescência direta e indireta. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 490–500, 2010.

ARAÚJO, A.S *et al.* Análise socioeconômica de agricultores da comunidade quilombola do Abacatal, Ananindeua, estado do Pará, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n. 1, p. 30-37, 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Departamento de Vigilância Das Doenças Transmissíveis. Guia da Vigilância de Epizootia em Primatas não humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela. 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Departamento de Vigilância Das Doenças Transmissíveis. Guia para o Planejamento das Ações de Captura de Anofelino pela técnica de Atração por Humano Protegido (TAHP) e Acompanhamento dos Riscos à saúde do Profissional Capturador. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre chikungunya e febre do vírus Zika até a Semana Epidemiológica 51, 2022. **Boletim Epidemiológico**, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da saúde incorpora contra a dengue no SUS, 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue e febre de Chikungunya até a Semana Epidemiológica 51, 2022. **Boletim Epidemiológico**, 2022.

CAMPOS, J.A.R. Diversidade de mosquitos (diptera: culicidae) com ênfase na fauna de importância epidemiológica da área do parque nacional da serra dos órgãos, estado do rio de janeiro, brasil. Set, 2021

CHAO, A. *et al.* Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. **Ecological monographs**, v. 84, n. 1, p. 45–67, 2014.

**Chikungunya**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/chikungunya>>. Acesso em: 14 set. 2023.

CONFALONIERI, U. C.; NETO, C. Diversidade de Mosquitos Vetores (Diptera: Culicidae) em Caxiuana. **Interdisciplinar. Perspectiva. Infectar. Dis**, 2012.

CONSOLI RAGB, OLIVEIRA RL, DA COSTA VASCONCELOS PF. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Febre amarela. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 36: 275–293, 2003.

CONSOLI, R. A.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora Fiocruz. [s.l: s.n.].

CONWAY, M. J.; COLPITTS, T. M.; FIKRIG, E. Role of the vector in arbovirus transmission. **Annual review of virology**, v. 1, n. 1, p. 71–88, 2014.

**Current ICTV taxonomy release**. Disponível em: <<https://ictv.global/taxonomy>>. Acesso em: 30 ago. 2024.

D'ORTENZIO. E *et al.* Evidence of sexual transmission of zika virus. **The new england journal of medicine**, junho, 2016.

**Dengue**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>>. Acesso em: 15 set. 2023.

DO ROSÁRIO CASSEB, Alexandre *et al.* ARBOVÍRUS:: IMPORTANTE ZOONOSE NA AMAZÔNIA BRASILEIRA. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 3, p. 391-403, 2013.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de saude publica**, v. 51, n. 0, p. 30, 2017.

DOS ANJOS, M. H.; BARBOSA; SILVA, V. Alterações ambientais e malária na região amazônica brasileira. **Research, Society and Development**, p. e21912441210–e21912441210, 2023.

FARIA, N. R. et al. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. **Nature**, v. 546, n. 7658, p. 406–410, 2017.

**Febre amarela**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-amarela>>. Acesso em: 23 set. 2023.

**Febre do Mayaro**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-do-mayaro>>. Acesso em: 22 set. 2023.

**Febre do Nilo Ocidental**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-do-nilo-ocidental>>. Acesso em: 14 set. 2023.

FERNANDES, R. **Competência vetorial de populações brasileiras de *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti* frente a diferentes cepas do vírus Zika isoladas no Brasil.** [s.l: s.n.].

FERRAGUTI, M. **Effects of landscape anthropization on mosquito community composition and abundance.** *Scientific reports.* [s.l: s.n.].

FLINT, S.J *et al.*, Princípios de virologia- 4º edição, 1º volume. Asmpress, Washington, 2015.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica - 2o Volume: Identificação, Biologia, Epidemiologia.** São Paulo: [s.n.].

FORRESTER, N.L; COFFEY, L,L; WEAVER; S.C. Arboviral Bottlenecks and Challenges to Maintaining Diversity and Fitness during Mosquito Transmission. . **Viruses.** 2014, Disponível em: [www.mdpi.com/journal/viruses](http://www.mdpi.com/journal/viruses).

FRIEBE, B. Coloração seletiva de prata de regiões organizadoras de nucléolos em *Vicia faba*. **Microsc. Acta**, v. 87, p. 49–52, 1983.

GALVÃO, Cleber. Vetores da doença de Chagas no Brasil. 2014.

GO, Y. Y.; BALASURIYA, U. B. R.; LEE, C.-K. Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. **Clinical and experimental vaccine research**, v. 3, n. 1, p. 58–77, 2014.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística Municipal de Ananindeua**, Brasília, 2023. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/Ananindeua/panorama>>. Acesso em: 15 Mar. 2023.

IGARASHI, A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to Dengue and Chikungunya Viruses. **Journal of General Virology**, 1978.

JF Lista de abreviações para táxons de nível genérico atualmente válidos na família Culicidae (Diptera). **European Mosquito Bulletin**, v. 27, p. 68–76, 2009.

KORSMAN, STEPHEN NJ *et al.* **Virologia.** Elsevier Brasil, 2014.

LANE, J. Universidade de São. 1953.

LIMA-CAMARA, T. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, 2016.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista pan-amazonica de saude**, v. 5, n. 3, p. 55–64, 2014.

LOUTEN, J. **Essential Human Virology**. San Diego, CA, USA: Academic Press, 2016.

MAGURRAN, A. E.; MCGILL, B. J. **Biological diversity: Frontiers in measurement and assessment**. Londres, England: Oxford University Press, 2010. v. 9780199580675

MANIERO, Viviane C. *et al.* Dengue, chikungunya e zika vírus no brasil: situação epidemiológica, aspectos clínicos e medidas preventivas. **Almanaque multidisciplinar de pesquisa**, v. 3, n. 1, 2016.

MARQUES, C. A.; SIQUEIRA, M. M. DE; PORTUGAL, F. B. Avaliação da não completude das notificações compulsórias de dengue registradas por município de pequeno porte no Brasil. **Ciencia & saude coletiva**, v. 25, n. 3, p. 891–900, 2020

MAVALE, Mangala *et al.* Venereal transmission of chikungunya virus by *Aedes aegypti* mosquitoes (Diptera: Culicidae). **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 6, p. 1242, 2010.

MEDEIROS, D. B. A.; VASCONCELOS, P. F. C. Is the brazilian diverse environment is a crib for the emergence and maintenance of exotic arboviruses? **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 91, n. suppl 3, p. e20190407, 2019.

MOREIRA, H.M *et al.* Surto do vírus Oropouche m regiões fronteiriças da Amazônia ocidental. **Journal American Society for microbiology**, 2024.

MUSSO, D; NHAN, T.X. Emergence of Zika Virus. **Clinical Microbiology**, 2015.

NETO, Joaquim Pinto Nunes *et al.* Primeiro isolamento e análise de sequência genômica do vírus do Nilo Ocidental em mosquitos no Brasil. **Medicina Tropical e Doenças Infecciosas**, v. 8, n. 4, p. 237, 2023.

NIKLISSON.B; MANGIAFICO.J; VENE.S. Indirect immunofluorescence for serological diagnosis of Dengue vírus infections in swedishpatients. **Clinical and Diagnostic Virology**, 1995.

OLIVEIRA, C.H *et al.*, yellow fever vírus maintained by sabethes mosquitões during the dry season in cerrado, a semiarid region of Brazil. **Viruses**, 2021.

**Oropouche**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/o/oropouche>>. Acesso em: 14 set. 2024.

Panday, RS Atividade do vírus do grupo Guamá no Suriname. *Tropa. Geogr. Med.* **1981**, 33, 123–127.

RAMOS, B.A *et al.*, Arboviruses in free- Ranging Birds and hematophagous arthropodes (Diptera, Nematocera) from forest remnants and urbanized areas in environmental protection areas in the Amazon biome. *Viruses*, 2022.

ROCHA, T.C; SVOBODA, W.K; GOMES, E.C. A importância da investigação de arboviroses em saúde pública: aspectos gerais e o papel dos primatas não humanos. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.15, n.2, Abr. - Jun./2014.

ROSA, A. Arboviroses na Amazônia Brasileira. *Revista de Fundação Serviços de Saúde Pública*, p. 123–126, 1986.

RÜCKERT, C. et al. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. *Nature communications*, v. 8, n. 1, p. 15412, 2017.

SALOMÃO, R.P. Sistema Capoeira Classe: uma proposta de sistema de classificação de estágios sucessionais de florestas secundárias para o estado do Pará. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi – Ciências Naturais, Belém*, v. 7, n. 3, p. 297-317, set-dez. 2012.

SANTOS, J.S.S. Biodiversidade de culicídeos em uma área de preservação de Mata Atlântica Reserva ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. Tese (Programa de Biologia Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

SARRAF, M. **Rodovia e expansão urbana ameaçam a comunidade quilombola Abacatal, no Pará.** Disponível em: <<https://amazoniareal.com.br/rodovia-e-expansao-urbana>>. Acesso em: 14 out. 2024.

SEGURA, M. N. O.; CASTRO, F. C. **Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira. Características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae.** Belém: Instituto Evandro Chagas, 2007.

SHAW, W. R.; CATTERUCCIA, F. Vector biology meets disease control: using basic research to fight vector-borne diseases. *Nature microbiology*, v. 4, n. 1, p. 20–34, 2019.

SILVA, F.A *et al.*, Serological and molecular evidence of the circulation of the Venezuelan equine encephalitis virus subtype III A in humans, wild vertebrates and mosquitoes in the Brazilian Amazon viroses. *Viruses*, 2022.

SILVA, L.J.; ANGERAMI, RN. Arboviroses no Brasil contemporâneo. In: *Viroses emergentes no Brasil* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

SOUSA, D. E.; BARRETO, F. Primeiro relato de mosquitos *Mansonia humeralis* naturalmente infectados com os arbovírus Mayaro e Dengue. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, 2022.

SOUSA, D. E. *et al.* Os reflexos socioambientais da expansão metropolitana de Belém sobre a Comunidade Remanescente Quilombola de Abacatal (CRQA). **Cerrados**, v. 18, p. 129–158, 2020.

SOUSA, V.M. Terra de quilombo em região metropolitana: Impactos sociais na comunidade de Abacatal, Pará. (Especialização em História); 2018

SOUZA, E. **Impacto das estruturas urbanas em relação à biodiversidade Amazônica. Revista de arquitetura da IMED.** [s.l: s.n.].

STANZANII, L.M.d.A *et al.*, Back to Where it was first described vectors of sylvatic yellow fever transmission in the 2017 outbreak in Espírito Santo, Brazil. **Viruses**, 2022.

STEPHENS, P.R *et al.* Virologia. In: MOLINARIO, ETELCIA MORAES; CAPUTO, LUZIA FÁTIMA GONÇALVES; AMENDOEIRA, MARIA REGINA REIS (org.) Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde. v.98, n.1, p.2, 2017.

SUDIA, W. RW Armadilha de luz operada por bateria, um modelo aprimorado. Por WD 23 e RW Chamberlain. **J. Am. Mosq. Control Assoc**, v. 4, p. 536–538, 1962.

TH, A.; SPENCE, L.; MANUEL, R. KAIRI VIRUS. **Journal of Medical Entomology**, n. 1, p. 50–52, 1964.

URAMOTO, K.; WALDER, J. M. M.; ZUCCHI, R. A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical entomology**, v. 34, n. 1, p. 33–39, 2005.

VASCONCELOS, P. F. C. *et al.* Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cadernos de saude publica**, v. 17, n. suppl, p. S155–S164, 2001.

VELÁSQUEZ, G. *et al.* JW Evidência da presença do vírus do Nilo Ocidental em focos de mosquitos na região Nordeste da Venezuela. **Globo. Av. Res . J. Med . Med . Ciência**, v. 2, p. 20–25, 2013.

VOGELS, C. B. F. *et al.* Arbovirus coinfection and co-transmission: A neglected public health concern? **PLoS biology**, v. 17, n. 1, p. e3000130, 2019.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, 2010.

WILK-DA-SILVA, R. et al. Influence of landscape composition and configuration on the richness and abundance of potential sylvatic yellow fever vectors in a remnant of Atlantic Forest in the city of São Paulo, Brazil. **Acta tropica**, v. 204, n. 105385, p. 105385, 2020.

WU, X. *et al.* Impact of climate change on human infectious diseases: Empirical evidence and human adaptation. **Environment international**, v. 86, p. 14–23, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Oropouche virus: A neglected global arboviral threat. **Virus research**, v. 341, n. 199318, p. 199318, 2024.

## ANEXO I

### Autorização de acesso a Comunidade Quilombola

---



Ministério da Saúde  
Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente  
Instituto Evandro Chagas  
Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas

OFÍCIO Nº 3/2023/IEC/SAARB/IEC/SVSA/MS

Ananindeua, 09 de janeiro de 2023.

À Associação dos Moradores e Produtores Quilombolas de Abacatal/Aurá - AMPQUA  
Endereço: Estrada do Aurá - Km 08, s/n - Território Quilombola de Abacatal  
CEP: 67.033-765 – Ananindeua-PA  
E-mail: ampquaabacatal@gmail.com

**Assunto:** Solicitação de acesso a área do Território Quilombola de Abacatal por alunos e pesquisadores da SAARB.

Prezados,

Solicitamos autorização de acesso ao Território Quilombola de Abacatal, sob responsabilidade da Associação dos Moradores e Produtores Quilombolas de Abacatal/Aurá - AMPQUA, para realização de coleta de insetos por discentes de pós-graduação e pesquisadores da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas/SCTIE/MS.

A presente solicitação se faz, em função de projetos de pesquisa de discentes do laboratório de entomologia médica da SAARB, que objetivam desempenhar estudo de investigação entomoviológica em fauna de culicídeos (Diptera: Culicomorpha), bem como ecológico e taxonômico, nessa área.

Atenciosamente,

LÍVIA CARÍCIO MARTINS  
Diretora do Instituto Evandro Chagas  
SVSA/MS

---

## ANEXO II



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

## Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82230-1	Data da Emissão: 29/03/2022 17:27:11	Data da Revalidação*: 29/03/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

## Dados do titular

Nome: Joaquim Pinto Nunes Neto	CPF: 653.361.512-20
Título do Projeto: Estudo Taxonômico e Molecular de Artrópodes Hematófagos da Região Metropolitana de Belém.	
Nome da Instituição: Instituto Evandro Chagas	CNPJ: 00.394.544/0025-52

## Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Invertebrados Terrestres)	Secreção
2	Método de captura/coleta (Insetos)	Armadilha de interceptação de voo, Armadilha luminosa, Captura manual, Coleta manual, Peneira, Puçá, Rede entomológica, Outros métodos de captura/coleta(Ovitrapa.)
3	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Captura manual, Armadilha de interceptação de voo, Armadilha luminosa, Peneira, Puçá, Rede entomológica, Coleta manual, Outros métodos de captura/coleta(Técnica de arrasto.)

## Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Instituto Evandro Chagas	Laboratório