

FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

TESE DE DOUTORADO

**MONITORAMENTO AMBIENTAL E ENTOMOLÓGICO EM FRAGMENTO DE
MATA ATLÂNTICA E EM UMA COMUNIDADE URBANA DE SALVADOR,
BRASIL**

RAQUEL LIMA DE SOUZA

**Salvador – Bahia
2022**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

**MONITORAMENTO AMBIENTAL E ENTOMOLÓGICO EM FRAGMENTO DE
MATA ATLÂNTICA E EM UMA COMUNIDADE URBANA DE SALVADOR,
BRASIL**

RAQUEL LIMA DE SOUZA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa da Fiocruz - IGM para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro

**Salvador - Bahia
2022**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ – Bahia – Salvador

S729m Souza, Raquel Lima de.

Monitoramento ambiental e entomológico em fragmento de mata atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador, Brasil / Raquel Lima de Souza. _ Salvador, 2022.

108 f.: il.: 30 cm

Orientadora: Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro

Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) –Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2022.

1. Arboviroses. 2. Culicidae. 3. Aedes aegypti. 4. Levantamento entomológico. 5. Índices de infestação. I. Título.

CDU 614.4


“MONITORAMENTO AMBIENTAL E ENTOMOLÓGICO EM FRAGMENTO DE MATA ATLÂNTICA E
EM UMA COMUNIDADE URBANA DE SALVADOR, BRASIL”.

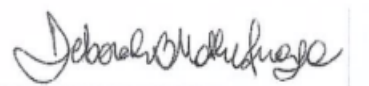
RAQUEL LIMA DE SOUZA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 13 de maio de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA


Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto
Professor Convidado PPGEVS
IEC


Dra. Deborah Bitencourt Mothé Fraga
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

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

Fundação Oswaldo Cruz- FIOCRUZ: Instituto de Pesquisa Gonçalo Moniz-IGM.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Emory University Atlanta, GA: Department of Environmental Sciences.

À CAPES pelo fomento, apoio financeiro e consolidação do programa de pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me permitir chegar até aqui viva e com saúde, principalmente em tempos tão difíceis.

À minha família, pelo investimento, abdicação, dedicação e amor. Sem vocês nada disso seria possível.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro, pela paciência, dedicação e comprometimento com meu aprendizado e crescimento profissional. Obrigada pela oportunidade e pelo apoio durante toda esta jornada. Sigo admirando sua sinceridade e integridade como pessoa e profissional.

Ao Prof. Dr. Uriel Kitron, obrigada pelas oportunidades que me concedeu e por cada contribuição ao meu trabalho, todas foram de grande valor. Thank you!

Ao Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis pela paciência, apoio pessoal e profissional como também contribuições ao trabalho.

Aos membros da equipe, em especial aos meus colegas Romero Nazare e Hernan Argibay, vocês fazem parte dessa conquista. Obrigada por compartilharem bons momentos no campo/insetário e por contribuírem tanto com este trabalho.

Agradeço ao meu colega Vánio Mugabe por compartilhar comigo tantas experiências em Atlanta durante o nosso doutorado Sanduíche. Obrigada pelo apoio pessoal e profissional.

Não posso esquecer também a todos que passaram e deixaram sua contribuição como Gabriel Ferreira e Lairton Borja. Muito obrigada!

Aos membros das bancas de qualificação e de defesa da Tese, obrigada por disponibilizarem seu tempo e experiência para aprimoramento deste trabalho.

À comunidade de Pau da Lima pela hospitalidade e apoio durante os trabalhos de campo.

À coordenação do Parque da Cidade Joventino Silva por permitir a realização das atividades de pesquisa e ao grupo GEPA pelo apoio durante as coletas de campo.

Aos órgãos de financiamento dos estudos, por viabilizarem financeiramente a execução dos mesmos. À CAPES, pela minha bolsa de doutorado.

“Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow. The important thing is not to stop questioning.”

(Albert Einstein)

SOUZA, Raquel Lima. **Monitoramento ambiental e entomológico em fragmento de Mata Atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador, Brasil.** 110 f. il. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2021.

RESUMO

INTRODUÇÃO: No Brasil, os vírus da dengue (DENV), Zika (ZIKV) e chikungunya (CHIKV) co-circulam desde 2015 e, entre 2016 e 2018, o país enfrentou os piores surtos da Febre Amarela Silvestre (FAS) desde a década de 1940. Estudos ambientais e entomológicos com uso de dados primários podem ajudar na identificação de características ambientais e ecológicas que contribuem para proliferação de vetores de arbovírus. Neste estudo, realizamos um extenso monitoramento ambiental e entomológico em um fragmento de Mata Atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador. **OBJETIVO:** Realizar investigações ambientais e entomológicas em um fragmento urbano de Mata Atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador para investigar características ambientais e ecológicas que contribuem para proliferação de vetores de arbovírus. **MÉTODOS:** Entre maio e agosto de 2018, mosquitos adultos foram coletados usando o método de atração humana protegida e esclarecida e armadilhas luminosas do tipo CDC (solo e copa) no fragmento de mata existente no Parque da Cidade. Foram amostrados 30 pontos de coleta: 8 em áreas de floresta de restinga e 22 em floresta ombrófila densa. Entre setembro de 2019 a abril de 2021, realizamos quatro ciclos de coleta na área privada (domicílios sorteados) e área pública (ex: ruas, praças, bocas de lobo etc), em uma área de Pau da Lima. As inspeções consistiram em caracterização de criadouros; coleta de imaturos, aspiração de mosquitos adultos, e instalação de ovitrampas. RT-PCR para DENV, ZIKV e CHIKV, foi realizado em pools de espécimes fêmeas de *Ae. aegypti* coletados na comunidade. **RESULTADOS:** No Parque da Cidade, coletamos um total de 11.914 mosquitos. As espécies mais abundantes coletadas por CDC foram *Culex quinquefasciatus*, *Limatus* spp. e *Wyeomyia* spp., enquanto por atração humana foram *Cx. quinquefasciatus*, *Wy.* spp. e *Ae. albopictus*. A diversidade de mosquitos foi maior em floresta de restinga comparada com floresta ombrófila densa. Em Pau da Lima, identificamos 316 e 186 potenciais criadouros nas áreas privada e pública respectivamente. Destes, 18 (5,7%) e 7 (3,7%) com *Ae. aegypti* imaturos, respectivamente. Criadouros sem cobertura, cercados por vegetação e contendo acúmulo de matéria orgânica (visível) na água foram significativamente associados à presença do *Ae. aegypti* imaturo, assim como os domicílios que possuíam reservatórios de água. Não detectamos *hotspots* do *Ae. aegypti* através do uso de índices entomológicos baseados em imaturos, ovos ou adultos. Nenhum dos pools testados foi positivo. **CONCLUSÕES:** Nossos achados demonstram que fragmentos florestais dentro de parques urbanos podem oferecer oportunidades de transmissão de vírus de mosquitos para humanos, bem como comunidades urbanas em situação de vulnerabilidade social, apresentam características importantes que contribuem para a proliferação do *Ae. aegypti*. Assim, são necessários levantamentos ambientais e entomológicos periódicos para determinar o risco de transmissão de arbovírus nesses ambientes.

Palavras-chaves: Arboviroses. Culicidae. *Aedes aegypti*. Levantamento entomológico. Índices de infestação.

SOUZA, Raquel Lima. **Environmental and entomological monitoring in a fragment of Atlantic Forest and in an urban community in Salvador, Brazil.** 108 f. il. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2021.

ABSTRACT

INTRODUCTION: In Brazil, dengue (DENV), Zika (ZIKV) and chikungunya (CHIKV) co-circulate since 2015 and, between 2016 and 2018, Brazil faced the worst outbreaks of Sylvatic Yellow Fever (SYF) since the 1940's. Environmental and entomological studies using primary data may be helpful to identify environmental and ecological characteristics that contribute to the proliferation of arbovirus vectors. In this study, we performed a comprehensive environmental and entomological monitoring in an Atlantic Forest fragment and in an urban community in Salvador. **AIM:** Carry out environmental and entomological investigations in an Atlantic Forest fragment and in an urban community in Salvador to investigate environmental and ecological characteristics that contribute to the proliferation of arbovirus vectors. **METHODS:** Between May and August 2018, adult mosquitoes were collected using the human attraction method and CO₂-baited light traps (ground and canopy) in the Atlantic Forest fragment within the City Park. It was sampled 30 collection points: 8 in restinga forest area and 22 in dense rainforest area. Between September 2019 and April 2021, we conducted four survey cycles in the private area (selected households) and in the public area (i.e., streets, squares, storm drains, etc.), in an area of Pau da Lima. The surveys included characterization of breeding sites; immatures collection, collecting adult vectors, and installing ovitraps. Pools of female *Ae. aegypti* adult mosquitoes underwent RT-PCR for DENV, ZIKV, and CHIKV. **RESULTS:** In the City Park, we collected a total of 11,914 mosquitoes. The most abundant species collected by CDC were *Culex quinquefasciatus*, *Limatus* spp., and *Wyeomyia* spp., while by human attraction *Cx. quinquefasciatus*, *Wy.* spp., and *Ae. albopictus* were captured most often. The diversity of mosquitoes was greater in the park area with restinga forest compared to dense rainforest areas. In Pau da Lima, 316 potential breeding sites were found within the households and 186 in the public space. Of them, 18 (5.7%) and 7 (3.7%) harbored *Ae. aegypti* immatures, respectively. Breeding sites without covering, surrounded by vegetation, and containing accumulation of organic matter (visible) in the water were significantly associated with the presence of *Ae. aegypti* immatures, as was the households that had water storage containers. We did not detect *Ae. aegypti* hotspots through the use of immature-, egg-, or adult-based entomological indices. None of the tested pools were positive. **CONCLUSIONS:** Our findings showed that forest fragments within urban parks can offer opportunities for transmission of viruses from mosquitoes to humans as well as urban communities in social vulnerability situation, presents important characteristics that contribute to the proliferation of the *Ae. aegypti*. So periodic environmental and entomological surveys to determine the risk of arbovirus transmission in these settings are warranted.

Keywords: Arboviruses. Culicidae. *Aedes aegypti*. Entomological survey. Infestation indices.

LISTA DE FIGURAS

Manuscrito 1

- Figure 1** **Spatial distribution of the adult mosquito collection sites in an Atlantic Forest urban park, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018.** A. Location of Salvador in Brazil and of the park in Salvador. B. Collection points by vegetation type. C. Illustrative photo of a park area characterized by dense rainforest vegetation. D. Illustrative photo of a park area characterized by restinga vegetation. 41
- Figure 2** **Spatial distribution of selected species of adult mosquitoes collected in an Atlantic Forest urban park, according to the abundance of captured specimens, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018.** A. *Aedes aegypti* distribution. B. *Aedes albopictus* distribution. C. *Culex quinquefasciatus* distribution. D. *Wyeomyia* spp. distribution. The legends informing on the abundance of captured specimens are not on the same scales. 44
- Figure 3** **Species (A) accumulation and (B) rarefaction curves according to the capture method (human attraction and CDC light trap).** A. Accumulation curves are shown by sampling effort. B. Rarefaction curves are shown by the number of captured mosquitoes. 44

Manuscrito 2

- Figure 1** **Study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Bahia, Brazil.** a. Location of Salvador in Brazil. b. Location of the study area in Salvador. c. Study area showing the 149 surveyed households. Note: Due to loss of follow-up, not all the 149 households inspected during the first survey cycle were inspected during the subsequent survey cycles. 54
- Figure 2** **Entomological indices and climatic measurements for the four survey cycles (cycle 1: September-December, 2019; cycle 2: January-April, 2020; cycle 3: September-December 2020; cycle 4: January-April 2021).** Private area: a. Container index (frequency of potential breeding sites positive for *Ae. aegypti* immatures). b. Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site c. House index (frequency of household with immatures in container) and Breteau Index (frequency of container with immatures per inspected households). d. Ovitrap Positivity Index (frequency of positive ovitraps). e. Egg Density Index (average number of eggs per positive trap). f. Adult Index (frequency of household with adults indoor). Public area: g. Container index. h. Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site. Climatic measurements: i. Temperature (average values of the collection days). j. Humidity (average values of the collection days). k. Rainfall (average values of the cycle period). 61
- Figure 3** **Kernel density-ratio maps representing densities of *Aedes aegypti* indices in the study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, for the overall and for the four survey cycles separately** a. Overall (four cycles) b. Survey cycle 1: September-December, 2019. c. Survey cycle 2: January-April, 62

2020. **d.** Survey cycle 3: September-December 2020. **e.** Survey cycle 4: January-April 2021.

Figure S1 Study area and surveyed households in each of four survey cycles, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. **a.** Survey cycle 1: September-December, 2019. **b.** Survey cycle 2: January-April, 2020. **c.** Survey cycle 3: September-December 2020. **d.** Survey cycle 4: January-April 2021. 68

Figure S2 Spatial distribution of study households according to the collection of *Aedes aegypti* immatures, adults, and eggs overall and for each survey cycle, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. **a.** Overall (four cycles) **b.** Survey cycle 1: September-December, 2019. **c.** Survey cycle 2: January-April, 2020. **d.** Survey cycle 3: September-December 2020. **e.** Survey cycle 4: January-April 2021. 69

LISTA DE TABELAS

Manuscrito 1

- Table 1** Frequency of adult mosquitoes collected in an Atlantic Forest urban park, according to tribe, species, or genus, and capture method; and diversity indices according to capture method, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018. 43
- Table 2** Frequency of adult mosquitoes captured by human attraction or CO₂-baited CDC traps and standardized indices of abundance, in an Atlantic Forest urban park, according to species or genus, and vegetation type of the collection point; and diversity indices according to vegetation type, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018. 45

Manuscrito 2

- Table 1** Frequency of entomological indices for the private and public areas for the overall study period and for the four survey cycles separately, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021 63
- Table 2** Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the private and public areas, according to observed characteristics of the breeding site, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021. 64
- Table 3** Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* indicators (eggs, immatures and adults), according to the socio-environmental characteristics of the household, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021. 65
- Table S1** Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the surveyed households during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021). 66
- Table S2** Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the public area during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021). 67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DENV	Vírus Dengue
ZIKV	Vírus Zika
CHIKV	Vírus Chikungunya
YFV	Vírus da Febre Amarela
PNH	Primatas não-humanos
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Aedes albopictus</i>
MS	Ministério da Saúde
LIRAA	Levantamento Rápido de Índices para <i>Ae. aegypti</i>
FAU	Febre Amarela Urbana
WNV	Vírus Oeste do Nilo
ILHV	Vírus Ilheus
MAYV	Vírus Mayaro
OROV	Vírus Oropouche
SNC	Sistema Nervoso Central
SESAB	Secretaria de Saúde do Estado da Bahia
IPO	Índice de positividade de ovitrampa
IDO	Índice de densidade dos ovos
IP	Índice predial
IB	Índice de Breteau
ITR	Índice por tipo de recipiente
IR	Índice de recipiente
PEAA	Plano Diretor de Erradicação do <i>Aedes aegypti</i>
PIACD	Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
DNPCED	Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Endemias da Dengue
OMS	Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 NOÇÕES GERAIS SOBRE ARBOVÍRUS.....	18
2.2 PRINCIPAIS ARBOVIROSES NO BRASIL.....	19
2.2.1 Dengue	19
2.2.2 Chikungunya	20
2.2.3 Zika	20
2.2.4 Febre Amarela	21
2.3 NOÇÕES GERAIS SOBRE OS VETORES.....	23
2.3.1 Índices de infestação	25
2.3.2 Índice relativo ao ovo	25
2.3.3 Índice relativo à larva	26
2.3.4 Índice relativo ao adulto	27
2.4 CONTROLE DOS VETORES NO BRASIL.....	27
2.5 LEVANTAMENTOS ENTOMOLÓGICOS EM ÁREAS DE MATA NO BRASIL	29
2.6 LEVANTAMENTOS ENTOMOLÓGICOS EM COMUNIDADES URBANAS NO BRASIL	31
3 OBJETIVOS	34
3.1 GERAL.....	34
3.2 ESPECÍFICOS.....	34
4 RESULTADOS	36
4.1 MANUSCRITO 1 – DIVERSITY OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) IN AN ATLANTIC FOREST URBAN PARK, SALVADOR, BRAZIL (PÁG. 38).....	38
4.2 MANUSCRITO 2 – AEDES AEGYPTI (DIPTERA: CULICIDAE) DENSITY IN A BRAZILIAN URBAN SLUM COMMUNITY WHERE DENGUE, ZIKA, AND CHIKUNGUNYA VIRUSES CO-CIRCULATE (PÁG. 50).....	50
5 DISCUSSÃO	82
6 COSIDERAÇÕES FINAIS	86
REFERÊNCIAS	87
ANEXOS	96

1 INTRODUÇÃO

Infecções por arbovírus constituem um problema mundial de saúde pública (MARCONDES; XIMENES, 2016). O vírus da dengue (DENV) é o arbovírus mais comum no mundo, com mais de 128 países com evidência de transmissão endêmica do vírus e aproximadamente 4 bilhões de pessoas morando em áreas de risco de transmissão do DENV (RAAFAT; BLACKSELL; MAUDE, 2019; WHO, 2019). No Brasil, além do DENV, outros arbovírus também tem causado preocupação as autoridades de saúde, como o vírus Zika (ZIKV), que foi identificado no país em 2015 e está associado a complicações como a síndrome de Guillain-Barré e a síndrome da Zika congênita (CARDOSO et al., 2015; COSTA et al., 2016) e o vírus Chikungunya (CHIKV) que foi registrado pela primeira vez no país em 2014, e ao longo deste ano, foram confirmados 2.772 casos no Brasil, 1.214 dos quais no estado da Bahia (CARDOSO; CÂMARA, 2015). Desde então esse três arbovírus tem circulado simultaneamente no país.

Além da co-circulação do DENV, ZIKV e CHIKV, entre o final de 2016 e meados de 2018, o Brasil enfrentou os piores surtos e epizootias do ciclo silvestre do vírus da febre amarela (YFV) desde a década de 1940 (POSSAS et al., 2018). O YFV se espalhou em duas ondas, afetando principalmente a região Sudeste. Na primeira onda, entre dezembro de 2016 e junho de 2017, o Brasil registrou 778 casos humanos (incluindo 262 óbitos), com epizootias associadas a pelo menos 1.655 primatas não humanos (PNH) mortos (PAHO/WHO, 2018). Durante a segunda onda, entre o final de 2017 e junho de 2018, foram registrados 1.376 casos humanos (incluindo 438 mortes) e 864 mortes entre PNH (PAHO/WHO, 2018).

No Brasil, o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal vetor do DENV, ZIKV e CHIKV e um vetor competente na transmissão do YFV. Embora não há registro do ciclo urbano da febre amarela no Brasil desde 1942, a expansão da transmissão do YFV em seu ciclo silvestre fora da Região Amazônica e próxima à grandes centros urbanos onde há alta densidade de infestação do *Ae. aegypti*, causa preocupação às autoridades de saúde sobre o risco de reurbanização da doença (CAVALCANTE; TAUIL, 2017). Além disso, remanescentes florestais dentro de grandes centros urbanos ou próximos a estes, apresentam um cenário ideal para o ressurgimento da Febre Amarela Urbana (FAU) devido a mobilidade humana de uma área a outra e devido a interação entre humanos e vetores possivelmente infectados pelo YFV (POSSAS et al., 2018). Além do risco de reurbanização da Febre Amarela (FA), remanescentes florestais urbanos também oferecem o risco de ocorrência de novos ciclos enzoóticos (silvestres) do DENV, ZIKV e CHIKV devido a possibilidade de abrigar mosquitos vetores e

sua aproximação à epicentros para epidemias desses arbovírus bem como sua aproximação com a população humana (ALTHOUSE et al., 2016; TERZIAN et al., 2018; WEAVER, 2013).

Apesar da importância dos fragmentos de mata localizados próximos a (ou dentro de) comunidades urbanas, o conhecimento sobre a diversidade de mosquitos nesses locais no Brasil é escasso. Os recentes surtos e epizootias do YFV no Brasil e a detecção da transmissão do vírus entre PNH que habitam grandes centros urbanos como Salvador (PAPLOSKI et al., 2017), reforçam a necessidade de inventários de Culicídeos em fragmentos florestais urbanos. Estes, por sua vez, serão usados para informar sobre a ecologia e biologia dos mosquitos nesses locais, podendo ajudar a entender sobre o papel dos diferentes ecossistemas na produção de vetores importantes para a saúde pública. Esse tipo de levantamento pode ser útil para monitorar o risco de encontros entre vetores infectados por vírus e humanos. Esse conhecimento é essencial para orientar as estratégias de vigilância para prevenção da transmissão do YFV e outros arbovírus.

Em relação a ecologia do *Ae. aegypti*, embora este mosquito seja encontrado também em áreas de vegetação, é uma espécie bem adaptada à ambientes antropizados. As fêmeas geralmente depositam seus ovos em locais artificiais como por exemplo pneus, latas, caixa d'água, vasos de planta, entre outros. A positividade (presença de larvas/pupas) e produtividade desses criadouros (número de larvas/pupas) variam de acordo com as características dos mesmos e de acordo com o local onde se encontram (MARTINS et al., 2010; NGUGI et al., 2017; NGUGI et al., 2017) em um estudo realizado em Quênia, África, de junho de 2014 a maio de 2016, demonstraram que há uma diferença significativa entre a produtividade de criadouros encontrados no peridomicílio e intradomicílio indicando que o *Ae. aegypti* tem preferência pela área externa, mesmo quando há disponibilidade de criadouros dentro dos domicílios (NGUGI et al., 2017). Esses achados sugerem uma tendência do *Ae. aegypti* em se reproduzir nas áreas externas, o que pode ter implicações epidemiologicamente importantes nas ações de controle deste vetor.

Além da localização do criadouro, características socioambientais também podem influenciar na positividade ou produtividade dos criadouros. Em áreas onde o abastecimento de água é irregular e conseqüentemente o armazenamento de água em recipientes ou reservatórios é necessário para manutenção das atividades diárias da comunidade, reservatórios como caixa d'água, tonel, tanque, cisterna, por exemplo, podem representar importantes locais de reprodução desses vetores. Por outro lado, áreas onde não há necessidade de armazenar água ou esse armazenamento é feito em recipientes fechados, outros criadouros como ralos, vasos de plantas, recipientes plásticos, podem apresentar uma maior produtividade de imaturos de *Ae. aegypti* (DUARTE et al., 2013; NGUGI et al., 2017). O primeiro cenário é comum em

comunidades urbanas em situação de vulnerabilidade socioeconômica. Essas comunidades geralmente apresentam esse tipo de deficiência sanitária. Além do abastecimento de água irregular, essas áreas carecem de condições de habitação e saneamento básico adequado, apresentando uma superlotação dos domicílios, acúmulo de água de forma inadequada e descarte dos resíduos sólidos de forma inconveniente. Esses fatores somados a falta de informação sobre os riscos de transmissão de arbovírus, torna essas áreas mais vulneráveis às epidemias de arboviroses, uma vez que, essas comunidades urbanas oferecem maiores possibilidades para a proliferação do *Ae. aegypti*.

O *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) é considerado um vetor secundário do DENV, ZIKV e CHIKV no país e, ao contrário do *Ae. aegypti*, as fêmeas dessa espécie geralmente depositam seus ovos em criadouros naturais onde há vegetação. No entanto, há evidências de domiciliação (processo pelo qual as espécies ocupam nichos em ambientes antrópicos para alimentação, abrigo e até reprodução) do *Ae. albopictus*, e o mesmo tem se adaptado bem às áreas urbanas e suburbanas (AYLLÓN et al., 2018; DELLA TORRE et al., 2012; WU et al., 2010). Um estudo realizado em uma comunidade urbana do Rio de Janeiro, Brasil, de fevereiro de 2014 a abril de 2017, demonstrou que 86,4% dos *Ae. albopictus* coletados, foram encontrados em locais favoráveis à ocorrência do *Ae. aegypti* e que há uma sobreposição de nichos entre essas duas espécies e, portanto, uma tendência de competição pelos locais de reprodução (AYLLÓN et al., 2018). Em outro estudo realizado na China, de maio a novembro de 2013, foi observado que a taxa de positividade de *Ae. albopictus* e a densidade do mesmo foi significativamente maior em áreas urbanas quando comparadas com áreas suburbanas e rurais (LI et al., 2014). A ocupação dessa espécie nos dois tipos de ambientes, silvestre e urbano, pode possibilitar o carreamento de vírus de um local para outro, aumentando o risco de transmissão de arbovírus entre humanos e PNH.

Alguns estudos têm demonstrado que, diante de situações de ameaça, o *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus*, possuem capacidade de colonizar criadouros alternativos e não tradicionais como ralos, caneletas, estruturas de escoamento de água pluvial, como bocas de lobo, entre outros, criadouros que podem ser encontrados tanto na área privada quanto na área pública e que não são habitualmente considerados pelos programas de controle de vetores quando encontrados em área não residenciais (DELLA TORRE et al., 2012; MANRIQUE-SAIDE et al., 2013; PAPLOSKI et al., 2016) . BAAK-BAAK et al. (2014), no Mérida, México, de novembro de 2011 a junho de 2013, avaliaram a composição de espécies e a abundância de imaturos de mosquitos em diferentes tipos de criadouros encontrados em residências e também em bocas de lobo, e demonstraram que os imaturos de *Ae. aegypti* foram mais abundantes em

bocas de lobo do que em áreas residenciais (BAAK-BAAK et al., 2014). Esses achados chamam a atenção para importância do monitoramento sistemático e regular de possíveis locais de reprodução de mosquitos, considerando tanto as áreas domiciliares como áreas públicas.

No Brasil, como parte do programa de controle da dengue, o Ministério da Saúde (MS) implantou métodos de Levantamento Rápido de Índices para *Ae. aegypti* (LIRAA), porém esse método de levantamento apresenta algumas lacunas. O método aplicado no LIRAA não leva em consideração o estágio adulto do mosquito o qual, constitui o estágio diretamente envolvido na transmissão de arbovírus nem o estágio de pupa o qual apresenta maior taxa de sobrevivência quando comparado ao estágio larval. Além disso, as coletas de dados referentes aos recipientes com água (potenciais criadouros), são realizadas em áreas domiciliares não considerando as áreas públicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). O *Ae. aegypti* pode se reproduzir em áreas não domiciliares e ainda assim, o adulto ser encontrado dentro das residências. Geralmente isso se dá porque o mosquito adulto pode buscar abrigo e, no caso das fêmeas, alimentação sanguínea nos domicílios. Sendo assim, a falta de mensuração da quantidade de adultos ou pupas de mosquitos bem como a não inclusão de dados referentes a potenciais criadouros encontrados nas áreas públicas no levantamento de índices para o *Ae. aegypti*, representam uma fragilidade da Vigilância Entomológica.

A avaliação da infestação do *Ae. aegypti* baseado em oviposição das fêmeas, também pode contribuir para estimar a densidade desses vetores em uma determinada área. Em situações em que não são encontrados os focos larvais, as armadilhas de oviposição (ovitrapas) podem ser utilizadas como estratégia para atrair as fêmeas de mosquitos de um local (CARDEÑA et al., 2019; CARVALHO et al., 2002; MORATO et al., 2005; ZARA et al., 2016). Apesar de não existir um consenso sobre qual indicador entomológico pode prever melhor o risco de transmissão de arbovírus, alguns estudos têm demonstrado que o uso de ovitrapas pode ser o indicador mais sensível para prever a presença do mosquito adulto do que os métodos de coletas diretas de imaturos (ROMERO-VIVAS, CLAUDIA M. E. FALCONAR, 2005). Em um estudo realizado em Mérida, México, entre junho e setembro de 2003, foi demonstrado uma forte associação entre a positividade de ovitrapa e a presença da fêmea de *Ae. aegypti* dentro de casa (MANRIQUE-SAIDE et al., 2014).

Em sumário, o uso de diferentes métodos e indicadores para mensurar a infestação por *Ae. aegypti*, pode ser mais robusto do que a adoção de uma única estratégia e seus resultados em conjunto podem gerar uma melhor avaliação dos níveis de infestação em uma área urbana. Como resultado, esses dados podem ser usados na identificação de áreas mais vulneráveis à transmissão de arbovírus durante uma vigilância entomológica. Adicionalmente, alguns estudos

apoiam a ideia de que a distribuição espacial do *Ae. aegypti* no ambiente é heterogênea e que algumas áreas apresentam maior probabilidade de produzir o mosquito do que outras, o que são chamados de *hotspots* vetoriais (GETIS et al., 2010; LACON et al., 2014; OLANRATMANEE et al., 2013; PADMANABHA et al., 2012; SCHNEIDER et al., 2004). Dado essa produtividade diferencial, identificar a ocorrência de *hotspots* vetoriais, pode ser mais uma ferramenta útil para direcionar ações de controle de vetores de arbovírus.

Diante do insucesso das estratégias de controle vetorial e do desafio no controle da transmissão de arbovírus no Brasil, enfatizamos a importância das pesquisas ambientais e entomológicas periódicas tanto em áreas urbanas como em fragmentos florestais próximos à habitações humanas. Essas pesquisas, principalmente com uso de dados primários, podem ajudar na detecção de vetores de arbovírus, identificação de características ambientais e ecológicas que contribuem para proliferação desses vetores e identificação de áreas mais vulneráveis à transmissão de arbovírus durante uma vigilância entomológica. Neste estudo, realizamos um extenso monitoramento ambiental e entomológico em um fragmento de Mata Atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NOÇÕES GERAIS SOBRE ARBOVÍRUS

Os arbovírus (do termo *Arthropod-borne virus*) são vírus mantidos na natureza através de um ciclo entre hospedeiros vertebrados suscetíveis e artrópodes hematófagos ou através de um ciclo intra-artrópode pela via transovariana (transmitido da fêmea infectada para a prole) e/ou por via sexual (transmitido através da cópula). Em um período que vai de 8 a 12 dias os arbovírus podem se multiplicar nos tecidos dos artrópodes hematófagos (período de incubação extrínseco) e através da picada desses insetos, podem ser transmitidos, para outros vertebrados suscetíveis (WHO, 1985).

Os arbovírus, na sua maioria absoluta, são vírus de RNA (exceto o vírus da Febre Suína Africana) e podem ser reunidos em diferentes grupos (CRUZ; VASCONCELOS, 2008). Estima-se que existam mais de 545 espécies de arbovírus no mundo, porém, os que são patogênicos ao homem pertencem às famílias: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae. Dentre os arbovírus emergentes e reemergentes no Brasil destacam-se os da família Flaviviridae: vírus da dengue (DENV), Oeste do Nilo (WNV), Ilheus (ILHV), Zika (ZIKV), e Febre Amarela (YFV); da família Togaviridae: vírus Chikungunya (CHIKV) e Mayaro (MAYV); e da família Bunyaviridae: Vírus Oropouche (OROV) (LOPES; LINHARES; NOZAWA, 2014).

As manifestações clínicas das arboviroses nos seres humanos podem variar desde doença febril leve e indiferenciada a síndromes neurológicas e hemorrágicas graves. A doença febril geralmente se manifesta por febre, cefaleia, dor retro-orbital, artralgia e mialgia. A síndrome neurológica pode ser representada por mielite, meningite e/ou encefalite, com mudanças de comportamento, paralisia, paresia, convulsões e problemas de coordenação. E por fim a síndrome hemorrágica pode ser evidenciada pelas petéquias, hemorragia e choque, combinado com uma redução intensa na contagem de plaquetas (RITA et al., 2017; SECRETARIA DA SAÚDE, 2019).

As arboviroses representam um grande desafio à saúde pública devido à complexa interação que existe entre hospedeiro, vetor e ambiente, bem como às mudanças climáticas e ambientais que favorecem a amplificação e transmissão viral. Devido a diversidade de fatores que estão envolvidos na transmissão dos arbovírus, é necessário o melhor entendimento da biologia dos arbovírus bem como sua interação com o meio ambiente.

2.2 PRINCIPAIS ARBOVIROSES NO BRASIL

2.2.1 Dengue

O vírus da dengue é o arbovírus mais comum no Brasil. Desde 1846, há relatos de epidemias de dengue no país, quando em São Paulo e Rio de Janeiro foram relatados os primeiros casos entre 1846 e 1853 (BARRETO; TEIXEIRA, 2008). O DENV é representado por 4 sorotipos, DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 e atualmente no Brasil há circulação de todos esses sorotipos. Em 1982 houve a primeira evidência de ocorrência de epidemia causada pelo DENV, quando foram isolados os sorotipos DENV-1 e DENV-4 em Boa Vista, Roraima. Neste período, um inquérito sorológico revelou 11 mil infecções pelo DENV (OSANAI, 1984). A introdução do sorotipo DENV-2 se deu em 1990 em Nova Iguaçu, quando houve um aumento significativo nos casos de dengue no país. A entrada do DENV-2 resultou nos primeiros relatos de febre hemorrágica de dengue no Brasil, quando foram confirmados 462 casos e oito óbitos (NOGUEIRA et al., 1990). Só em 2001 foi confirmada a introdução do sorotipo DENV-3 e em 2002 esse sorotipo foi responsável pela epidemia no Brasil que resultou em 800 mil casos de dengue o que representou quase 80% dos casos no continente americano (BARRETO; TEIXEIRA, 2008); No século 21, o país passou ocupar a primeira posição no ranking mundial de casos reportados de dengue, com uma incidência variando de 63.2 (2004) a 429.9 casos (2010) por 100,000 habitantes (TEIXEIRA, 2012).

O DENV é transmitido por vetores dos gêneros *Aedes* sendo o *Ae. aegypti* seu principal vetor e o *Ae. albopictus*, um vetor secundário dessa arbovirose (FUNASA, 2002). A transmissão da dengue no Brasil se dá através de um ciclo urbano que ocorre entre o homem e o vetor. O mosquito infectado através da sua picada, é capaz de transmitir o vírus após 8 a 12 dias de incubação. A maior parte das infecções pelo DENV são assintomáticas, no entanto, a infecção pode causar casos com sintomatologia branda até quadros mais graves podendo evoluir para óbito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; MONTROYA et al., 2012).

Nas formas mais brandas da doença, o quadro clínico pode variar entre febre alta, mialgia, cefaleia, artralgia, dor retroorbital, náuseas, vômitos e exantema. As formas graves da doença podem manifestar-se com extravasamento de plasma, levando ao choque ou acúmulo de líquidos com desconforto respiratório, sangramento grave ou sinais de disfunção orgânica como o coração, os pulmões, os rins, o fígado e o sistema nervoso central (SNC) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). A co-circulação dos quatro sorotipos da dengue somada a falta de vacina

e a capacidade de expansão e adaptação dos mosquitos *Aedes* faz com que a dengue continue sendo um problema de saúde no Brasil.

2.2.2 Chikungunya

O vírus chikungunya é um *Alphavirus* que pertence à família *Togaviridae*. O CHIKV foi isolado pela primeira vez em 1952/1953 durante epidemias na Tanzânia e Moçambique (ROSS, 1956). O primeiro caso de transmissão autóctone do CHIKV foi registrado nas Américas no final de 2013 na região do Caribe e só no final de 2014 que foram registrados os primeiros casos de chikungunya nos países da América do Sul como Guiana Francesa, Venezuela, Colômbia, Suriname, Paraguai e Brasil. No Brasil, casos autóctones de chikungunya foram confirmados em setembro de 2014 em Feira de Santana e no município de Oiapoque, Amapá (norte do Brasil na fronteira com a Guiana Francesa) (TEIXEIRA et al., 2015)

No Brasil a transmissão do CHIKV se dá através de ciclos urbanos que envolve humanos e vetores do gênero *Aedes*. Assim como na transmissão do DENV, o *Ae. aegypti* é o principal vetor da doença no país (XAVIER, 2019). Infecções pelo CHIKV pode resultar em síndrome febril súbita e debilitante, sendo marcada pela presença de artralgia em 80% dos infectados, o que pode durar meses ou até mesmo anos. O quadro articular crônico pode causar impactos econômicos por afetar diretamente a produtividade devido ao estado debilitado dos doentes (CARDOSO; CÂMARA, 2015).

O Brasil apresenta um cenário favorável para ocorrência de grandes epidemias de chikungunya. O maior período de viremia comparado à dengue (até 8 dias depois do início da febre), a suscetibilidade de grande parte da população humana, e a extensão territorial do país, são fatores que favorecem a ocorrência de grandes epidemias do CHIKV. Além disso, a capacidade de outros vetores de transmitir o CHIKV como o *Ae. albopictus* por exemplo e co-circulação com outros arbovírus, dificultam a prevenção e o controle dessa doença e causa grande preocupação à saúde pública (CARDOSO; CÂMARA, 2015).

2.2.3 Zika

O vírus Zika foi isolado pela primeira vez em macacos rhesus na Floresta Zika, Uganda em 1947 e foi isolado pela primeira vez em humanos na Nigéria embora outros países africanos também tenham reportado casos de Zika na mesma época (MOORE et al., 1975). No Brasil os

primeiros casos autóctones de Zika foram confirmados em 2015, sendo os estados da Bahia e Rio Grande do Norte os primeiros a reportarem casos da doença (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; CARDOSO et al., 2015; ZANLUCA et al., 2015)

A transmissão do ZIKV se dá principalmente pela picada do mosquito *Ae. aegypti* entretanto, existem evidências de transmissão perinatal e sexual (DASTI, 2016; SAKKAS et al., 2018). A maioria das infecções por ZIKV permanecem assintomáticas apresentando sintomas em menos de 20% dos indivíduos infectados os quais podem manifestar febre, erupção cutânea maculopapular, conjuntivite e artralgia (DASTI, 2016). Embora a doença possa evoluir de forma branda, há relatos de complicações neurológicas associadas à infecção pelo ZIKV, como a síndrome de Guillain-Barré e casos de síndrome da Zika congênita em recém-nascidos (BLÁZQUEZ; SAIZ, 2016; NÓBREGA et al., 2018). Em novembro de 2015 o Ministério da Saúde (MS) confirmou a associação entre infecção pelo ZIKV e ocorrência de síndrome da Zika congênita (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A transmissão do ZIKV no país simultaneamente com o DENV e CHIKV, dificulta o diagnóstico preciso, o que exige o uso e padronização de critérios mais sensíveis e específicos para definições de casos suspeitos, visando evitar erros de notificação e distorções na análise do comportamento de cada arbovírus. A transmissão desses três arbovírus pelo mesmo vetor, o *Ae. aegypti*, o qual é abundante nas regiões tropicais e subtropicais, representa um desafio para o enfrentamento das arboviroses.

2.2.4 Febre Amarela

O vírus da Febre Amarela (YFV) é um Flavivírus que circula através de dois ciclos epidemiologicamente distintos: ciclo silvestre e ciclo urbano. Esses ciclos se assemelham quanto aos aspectos etiológico, fisiopatológico, imunológico e clínico. Todavia, diferenciam-se no que diz respeito aos hospedeiros, vetores e à sua distribuição no espaço geográfico (FUNASA, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Na forma silvestre, os Primatas Não Humanos (PNH) são os principais hospedeiros de amplificação viral do YFV no Brasil, sendo que os mais sensíveis ao vírus são macacos do gênero *Alouatta*, *Callithrix* e *Ateles* apresentando alta taxa de letalidade. Diversos mamíferos também são suscetíveis à infecção pelo YFV dos quais se destacam os marsupiais e alguns roedores. O homem participa desse ciclo como hospedeiro acidental ao entrar na mata não estando imune ao vírus. Na forma urbana o homem constitui o principal hospedeiro (FUNASA, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Na África, espécies do gênero *Aedes* estão associadas à transmissão do ciclo silvestre, ao passo que nas Américas os mosquitos responsáveis pela infecção pertencem aos gêneros *Haemagogus* Williston, 1896 e *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827. Na forma urbana, o *Ae. aegypti* é o disseminador da doença nos dois continentes (FERNANDO, 2003; VASCONCELOS, 2003). Vale ressaltar que nas Américas, as últimas notificações de febre amarela urbana ocorreram em Trinidad e Tobago, em 1954. Desde então, não existe registro da doença no continente. No Brasil, a doença foi registrada pela última vez em Sena Madureira, no Acre, em 1942. Na África, epidemias da enfermidade têm sido registradas nos últimos 20 anos em Burkina-Faso e na Nigéria. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003). Embora o *Ae. albopictus* já tenha sido encontrado infectado com o YFV, novos estudos devem ser feitos sobre a possibilidade de estabelecimento do *Ae. albopictus* como vetor da doença no país (INSTITUTO EVANDRO CHAGAS; SVS, 2018). Os mosquitos, além de serem transmissores, são hospedeiros de manutenção viral, assim, uma vez infectados, permanecem por toda sua vida, mantendo o vírus de forma silenciosa na natureza. Já os macacos, assim como o homem, ao se infectarem, morrem ou se curam sendo considerados hospedeiros de amplificação do YFV (MONDET et al., 2002).

Atualmente, a Febre Amarela Silvestre (FAS) é uma doença endêmica no Brasil especialmente na região amazônica, já na região extra-amazônica, períodos epidêmicos são registrados ocasionalmente, caracterizando a reemergência do vírus no país. O perfil de transmissão da FA tem mudado desde as últimas décadas, sendo registradas transmissões de FA além dos limites da região amazônica. Neste período, casos humanos e/ou epizootias em PNH registrados nos estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul representaram grande parte dos registros de FA, demonstrando que houve uma expansão da área de circulação viral nos sentidos leste e sul do país, afetando área até então consideradas “indenes”, onde há décadas não se tinha registro do vírus (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Mais recentemente, entre 2017 e 2018, o Brasil viveu o maior surto de FA do país. A dispersão do vírus alcançou a costa leste brasileira, na região do bioma Mata Atlântica, que abriga uma ampla diversidade de PNH e de potenciais vetores silvestres e onde o vírus não era registrado há décadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Em Salvador foram registradas mortes de PNH infectados pelo YFV em regiões próximas a habitações humanas e durante as investigações entomológicas não foram encontrados os vetores silvestres da doença, no entanto foi detectada a presença de mosquitos *Aedes* (PAPLOSKI et al., 2017). É importante ressaltar que a circulação do YFV no Brasil, está associada à ocorrência do ciclo silvestre da

doença, porém, a ampla distribuição geográfica e abundância do vetor urbano, o *Ae. aegypti*, no país causa grande preocupação às autoridades devido ao risco de reurbanização da FA.

2.3 NOÇÕES GERAIS SOBRE OS VETORES

Os vetores das arboviroses pertencem à classe Insecta, ordem Diptera e família Culicidae, e são conhecidos vulgarmente como mosquitos, pernilongos, muriçocas ou carapanãs (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). Segundo Consoli & Oliveira (1994), são distinguidos dos demais dípteros por apresentarem escamas nas veias alares e as fêmeas da maioria das espécies possuem hábitos hematófagos. O ciclo biológico dos culicídeos apresenta quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto, sendo que as fases imaturas são aquáticas e os adultos são alados (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). A duração de cada estágio pode variar, dependendo essencialmente das condições ambientais e do acesso ao alimento. O ciclo de vida dos mosquitos desde ovo ao adulto, dura entre sete a 20 dias, o que varia principalmente de acordo à temperatura (GOUVEIA DE ALMEIDA, 2011).

Os ovos das fêmeas adultas são depositados em corpos d'água (poças de água da chuva dentro ou fora da floresta, águas estagnadas, lagos, lagoas, igarapés, rios, etc.) de dimensões diferentes e ambientes variados, exceto ovos de certas espécies de *Aedes*; *Haemagogus* e *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827, que são postos em locais úmidos e apresentam diapausa (retenção temporária do desenvolvimento) sucedendo-se ao desenvolvimento embrionário e antecedendo a eclosão (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). As larvas desenvolvem-se no mesmo ambiente em que foram depositados os ovos, respirando sempre o oxigênio do ar, através de um sifão respiratório, exceto as larvas da subfamília Anophelinae que não possuem sifão respiratório, sendo que os espiráculos se abrem na superfície dos segmentos abdominais. Todas as larvas de culicídeos passam por quatro estágios evolutivos, sendo o último destes o mais longo. A larva de quarto estágio passa à fase de pupa, durante a qual ela não se alimenta e, geralmente após dois dias, se transforma em adulto. Este, por sua vez, é alado, possui a genitália completamente formada e as fêmeas realizam hematofagia por punção. É o estágio adulto que está diretamente relacionado com a transmissão de arbovírus (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). A subfamília Culicinae compreende 10 tribos que reúnem 38 gêneros e cerca de 3.000 espécies, sendo que no Brasil foram registradas 371 espécies (CAMARGO-NEVES et al., 2005), inclusive as que participam do ciclo de transmissão do DENV, CHIKV, ZIKV e YFV como o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

O *Ae. aegypti* é um mosquito originário da África e foi introduzido no Brasil durante o período colonial. Por ser de grande importância como vetor do YFV e o principal vetor da dengue, esta espécie foi intensamente combatida no país, sendo considerada erradicada em 1958 (BRAGA; VALLE, 2007b). No entanto, devido a não erradicação em países vizinhos como Guiana e Venezuela ocorreu a reintrodução em nosso país a partir de 1967 sendo em seguida eliminada. Em 1976, o *Ae. aegypti* é mais uma vez reintroduzido no Brasil (NOBRE; ANTEZANA; TAUILL, 1994). Atualmente, o *Ae. aegypti* encontra-se presente em todos os estados (KRAEMER et al., 2015) e na Bahia, de acordo com dados da Secretaria de Saúde do Estado (SESAB), todos os municípios apresentam esse vetor (DIVEP, 2008).

O *Ae. aegypti* é um mosquito urbano, encontrado em vilas e cidades geralmente ligados ao domicílio e peridomicílio. São altamente antropofílicos (preferência por sangue humano) e possuem preferência por criadouros artificiais como pneus, latas, vasos de plantas e outros objetos abandonados pelo homem e preenchidos por água da chuva, pois é logo após o período chuvoso que há um aumento populacional desses mosquitos (BRAGA; VALLE, 2007b). Embora os criadouros típicos utilizados pelo *Ae. aegypti* sejam criadouros artificiais encontrados no intra e peridomicílio, diversos estudos já demonstram que este vetor tem se adaptado a condições ambientais adversas e que habitats subterrâneos como valas, bocas de lobo e bueiros, também podem ser usados como criadouros do *Ae. aegypti* e possivelmente outros criadouros crípticos talvez não encontrados facilmente pelos programas de controle de vetores (LIMA et al., 2016; MANRIQUE-SAIDE et al., 2013; MIAN; DHILLON; DODSON, 2017).

O *Ae. albopictus* tem origem da Ásia e foi registrado pela primeira vez no Brasil em 1986, na região sudeste do país (provavelmente no Rio de Janeiro), trazido por meio do comércio marítimo do minério de ferro entre essa área e o Japão (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; PANCETTI et al., 2015). Após sua introdução no país houve uma acelerada expansão dessa espécie sendo que até 2014 foi detectada em 24 dos 27 estados brasileiros (PANCETTI et al., 2015). O *Ae. albopictus* pode ser encontrado em áreas rurais, urbanas e periurbanas. Essa espécie se reproduz preferencialmente em criadouros naturais como bambus, oco de árvores e folhas caídas. Entretanto, esse mosquito tem demonstrado elevada capacidade de se reproduzir em ambientes artificiais sem abandonar as áreas de mata (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; GOMES et al., 1999). No contexto da adaptação e dispersão do *Ae. albopictus* faz-se necessário estudos que visem entender os locais de reprodução desse vetor e como isso pode impactar na transmissão de arboviroses.

O *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 é uma espécie cosmopolita e amplamente distribuída nas áreas tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil essa espécie ocorre em todo o

país e sua abundância é altamente influenciada pela presença do ser humano (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Essa espécie é capaz de se reproduzir em diferentes tipos de criadouros, naturais ou artificiais, porém geralmente são encontrados em criadouros artificiais localizados no solo os quais usualmente apresentam água rica em matéria orgânica em decomposição. Essa espécie apresenta hábito predominantemente noturno e são intensamente atraídas pela luz artificial. As fêmeas são altamente antropofílicas podendo também se alimentar de outras fontes sanguíneas como cães, gatos aves entre outros animais (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). O *Cx. quinquefasciatus* além de ser vetor de arbovírus no Brasil, também está relacionado ao fator incômodo principalmente devido a sua alta densidade nos domicílios e o hábito de picar em períodos noturnos.

2.3.1 Índices de infestação

A presença, distribuição e densidade dos vetores, são parâmetros fundamentais utilizados pela vigilância entomológica. Os índices de infestação de vetores são medidas que mensuram a densidade vetorial e são utilizados pelo sistema de vigilância para estimar risco de transmissão de arboviroses. Os índices de infestação podem mensurar a densidade de diferentes estágios do mosquito como, ovo, larva, pupa e adultos. Os diferentes estágios do mosquito apresentam ecologia distinta e, portanto, é necessário o uso de diferentes metodologias no levantamento de índices de infestação (GOMES, 1998).

2.3.2 Índice relativo ao ovo

Os mosquitos do gênero *Aedes* geralmente depositam seus ovos nas paredes dos recipientes contendo água. Para mensurar a densidade dos ovos desses vetores são utilizadas armadilhas do tipo ovitrampas que constituem em um recipiente plástico, preto, com boca larga onde coloca-se uma palheta de madeira com fundo áspero na qual os mosquitos depositam seus ovos. Esse recipiente é parcialmente preenchido com água da torneira ou água com adição de feno (GOMES, 1998). As ovitrampas são armadilhas altamente sensíveis e específicas para coleta de ovos de *Aedes* (BRAGA; VALLE, 2007a; SILVA; LIMONGI, 2018). Geralmente o tempo a instalação e retirada da ovitrampa é de 5-7 dias. Após retirada da armadilha, os ovos das palhetas são contados e eventualmente larvas presentes na água da ovitrampa também são contadas. Os principais índices calculados a partir dessa metodologia são:

Índice de positividade de ovitrampa (IPO): porcentagem de armadilhas positivas.

$IPO = \frac{\text{N}^\circ \text{ armadilhas com ovos}}{\text{N}^\circ \text{ armadilhas examinadas}} \times 100$

Índice de densidade dos ovos (IDO): número médio de ovos por armadilhas positivas.

$IDO = \frac{\text{N}^\circ \text{ total de ovos}}{\text{N}^\circ \text{ armadilhas positivas}}$

2.3.3 Índice relativo à larva

Para medir infestação baseada no estágio larval pode-se utilizar duas metodologias: Coletar uma larva por recipiente ou coletar todas as larvas do recipiente. Se o objetivo for calcular a frequência de casas positivas pode-se usar o primeiro método, porém se o objetivo for calcular densidade larval deve-se aplicar o segundo método. No Brasil, o levantamento de Índice Rápido para o *Ae. aegypti* (LIRAA) é uma metodologia que permite o conhecimento de forma rápida, por amostragem, da quantidade de imóveis com a presença de recipientes com larvas desse vetor. O LIRA a utiliza uma metodologia preconizada pelo Ministério da Saúde, em que as localidades são divididas em estratos e estes, em quarteirões. Os quarteirões visitados são sorteados e a inspeção é realizada em 20% dos imóveis.

Durante as inspeções são identificados e examinados os depósitos que apresentam potencial para proliferação do vetor *Ae. aegypti* e aqueles com presença de larvas, são removidos, destruídos ou tratados. A presença de larvas de *Ae. aegypti* em um recipiente, torna o depósito positivo, conseqüentemente, o imóvel também é considerado positivo. O LIRAA não considera a quantidade de larvas encontradas nos depósitos positivos. Os dados coletados em campo e processados em laboratório são utilizados para a geração de índices larvários, baseados na forma imatura do mosquito, tais como Índice de Infestação Predial (IP), Índice de Breteau (IB) e o Índice por tipo de recipiente (ITR).

Índice predial (IP): porcentagem de imóveis (edifícios) positivos para larvas.

$IP = \frac{\text{N}^\circ \text{ de imóveis c/a presença de larva em algum recipiente}}{\text{N}^\circ \text{ de imóveis inspecionados}} \times 100$. Vale ressaltar que esse índice não leva em conta o número de recipientes positivos por imóvel nem a produtividade de cada recipiente.

Índice de Breteau (IB): porcentagem dos recipientes positivos com larvas por grupo de casas inspecionadas. É o índice mais comumente utilizado e leva em consideração a relação entre o número de recipientes positivos e o número de imóveis pesquisados. Este índice também não considere a produtividade dos recipientes.

$IB = \frac{\text{N}^\circ \text{ de recipientes com larvas}}{\text{N}^\circ \text{ de casas inspecionadas}} \times 100$

Índice por tipo de recipiente (ITR): É a relação (%) entre o número do tipo de recipiente positivo e o número de recipientes positivos pesquisados (para larvas). Este índice ressalta a importância de determinado criadouro, dentre os positivos, e, conseqüentemente, indica a necessidade de adoção de medidas específicas de controle.

$$IR = \text{N}^{\circ} \text{ de recipientes positivos "X"} / \text{total de recipientes positivos} \times 100$$

Índice de recipiente (IR): porcentagem de recipientes com água que são positivos para larvas.

$$IR = \text{N}^{\circ} \text{ de recipientes com larvas} / \text{N}^{\circ} \text{ de recipientes c/água inspecionados} \times 100$$

Esse índice nos dá a frequência de recipientes positivos sem se importar com a produtividade.

2.3.4 Índice relativo ao adulto

Para mensurar a densidade de adultos o método utilizado pode variar a depender do objetivo e local de coleta. Geralmente na vigilância de formas adultas aplica-se métodos de atração humana com coleta por puçá/redes entomológicas, aspiradores portáteis e armadilhas luminosas (GOMES, 1998). Com base na fase adulta pode-se calcular:

Índice de densidade por casa: número de fêmeas coletadas por casa.

Índice da taxa de picadas: número de fêmeas coletadas por homem/hora. Esse índice geralmente é utilizado no método da atração humana.

Na vigilância epidemiológica os índices de infestação são utilizados como parâmetros para estimar o risco de infecção por arbovírus. No controle da FA por exemplo, os índices são utilizados da seguinte maneira: $IB < 5$ = sem risco de FA/ $IB > 5$ com risco de FA; $IP < 1\%$ = sem risco de FA/ $IP > 1\%$ com risco de FA; Índice de picada < 2 = sem risco de FA; Índice de picada > 2 = com risco de FA (GOMES, 1998). Assim, nos locais onde forem encontradas taxas de picadas superiores a dois por exemplo, considera-se como uma área de risco de transmissão de FA. Conseqüentemente, se o objetivo for prevenir a FA, este índice deve ser mantido abaixo de dois (GOMES, 1998).

2.4 CONTROLE DOS VETORES NO BRASIL

O controle dos vetores das arboviroses constitui um desafio para a saúde pública no Brasil. O crescimento desordenado das cidades somado a falta de saneamento básico como coleta e destino inadequado de resíduos sólidos e o abastecimento de água irregular contribuem para produção de locais de reprodução do *Aedes* (ZARA et al., 2016). A presença de criadouros desse

vetor, no ambiente intradomiciliar e peridomiciliar, oferece condições ideais para que os mesmos se reproduzam, encontrem abrigo e alimento. Entretanto mesmo em condições adversas ou em falta de criadouros tradicionais, esses vetores, tem se adaptado à diferentes ambientes, o que torna ainda mais difícil o controle dos mesmos (LIMA et al., 2016; MANRIQUE-SAIDE et al., 2013; MIAN; DHILLON; DODSON, 2017).

Diante do desafio de combater o *Aedes aegypti*, em 1996, o MS propõe a criação do primeiro programa para combate ao *Ae. aegypti* no Brasil, o Plano Diretor de Erradicação do *Aedes aegypti*, (PEAa). Mesmo não atingindo seus objetivos, o PEAa, teve seus méritos ao propor a necessidade de atuação multissetorial e prever um modelo descentralizado de combate à doença, com a participação das três esferas de governo, Federal, Estadual e Municipal. Posteriormente, outros programas de combate ao *Ae. aegypti* foram criados como o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue (PIACD) em 2001, o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) em 2002, até o último e atualmente implementado, o Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Endemias da Dengue (DNPCEd) em 2009 (FUNASA, 2002; LASNEAUX, 2017; BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os principais métodos de controle vetorial adotados pelos programas de controle das arboviroses, até os dias atuais, são o controle mecânico, o qual consiste na adoção de práticas capazes de impedir a reprodução do *Ae. aegypti*, tendo como principais atividades a remoção e destruição dos recipientes positivos para larvas do mosquito e o controle químico que consiste no uso de substâncias químicas como larvicidas e inseticidas (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; ZARA et al., 2016).

Os larvicidas utilizados no controle de vetores pertencem principalmente aos grupos dos biolarvicidas, reguladores do crescimento como inibidores da síntese de quitina e análogos de hormônio juvenil, espinosinas e organofosforados e piretróides. Entretanto, para o uso em água potável, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o uso de larvicidas de cinco grupos: *Bacillus thuringiensis israelensis*, cepa AM 65-52 (BTI), Diflubenzuron, Novaluron, Piriproxyfen, Espinosade e Temefós. O temefós foi o principal larvicida utilizado para o controle de *Ae. aegypti* nas últimas décadas. Entretanto, desde 1999 vem sendo detectada resistência do vetor a esse larvicida e, em 2012, foi recomendada por especialistas a interrupção do uso do mesmo. Desta forma, em 2013 foram utilizados os diflubenzuron e novaluron e em 2014 foi introduzido o pyriproxyfen o qual tem sido utilizado desde então (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O pyriproxyfen atua sobre o inseto de forma análoga ao hormônio juvenil, o qual inibe o desenvolvimento das características adultas do inseto como asas, maturação dos órgãos reprodutivos e genitália externa. Durante o estágio de larva o

hormônio juvenil também está presente, porém sua produção é interrompida ao final do 4º estágio larvário quando a atuação do pyriproxyfen é mais notada. Neste sentido, com o uso do pyriproxyfen se verifica o efeito de prolongação do tempo que o vetor se mantém como larva, o que pode chegar até 20 dias. Esse produto tem pouco efeito sobre mortalidade de larvas, sendo seu efeito de mortalidade verificado em pupas e na inibição de emergência do adulto (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A aplicação espacial de inseticidas é utilizada principalmente para o controle do *Ae. aegypti*. No Brasil recomenda-se utilizar a aplicação espacial a Ultra Baixo Volume (UBV) com nebulizadores costais ou equipamentos acoplados a veículos. As aplicações a Ultra Baixo Volume são preconizadas somente quando houver necessidade de conter surtos e epidemias de dengue, conforme estabelecido nas Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue. A OMS somente recomenda a utilização de inseticidas do grupo dos piretróides e organofosforados para esse tipo de aplicação. Os inseticidas recomendados pela OMS para aplicação espacial a UVB em espaços abertos são: Deltametrina, Lambdacialotrina, Malathion e d-d, transcifenotrina (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014)

A comunicação e mobilização da população, também é uma prática de saúde recomendada pelo Ministério de Saúde no enfrentamento das arboviroses. Tais ações visam garantir a sustentabilidade da eliminação dos criadouros (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; ZARA et al., 2016). Apesar dos esforços, o controle vetorial permanece um desafio à saúde pública e visto que o combate ao vetor é a principal estratégia para prevenir e controlar as arboviroses, é importante realizar estudos que visem entender mudanças no perfil ecológico dos mosquitos para que seja possível direcionar os programas de controle de vetores na tomada de decisões de forma que alcancem sucesso no enfrentamento dessas doenças.

2.5 LEVANTAMENTOS ENTOMOLÓGICOS EM ÁREAS DE MATA NO BRASIL

Fragmentos urbanos de vegetação podem abrigar grande diversidade de espécies de mosquitos, muitas das quais tem um papel importante na transmissão de arbovírus. Quando esses fragmentos de vegetação estão localizados em parques urbanos, aumenta o risco de encontros entre vetores e humanos, uma vez que os parques são áreas destinadas ao entretenimento humano. Alguns estudos têm relatado sobre o risco epidemiológico da ocorrência de espécies de mosquitos em fragmentos de vegetação localizados em parques urbanos (BRADLEY; ALTIZER, 2007; DE PAULA et al., 2015; MEDEIROS-SOUSA et al., 2015).

Medeiros-Souza et al. (2015), realizaram um levantamento entomológico no Parque Anhanguera, São Paulo, Brasil, o qual apresenta resquício de Mata Atlântica. O levantamento foi realizado com o uso de diferentes metodologias como armadilhas luminosas do tipo CDC, armadilhas do tipo Shannon, aspiração de mosquitos adultos e coleta de imaturos. Durante esse levantamento encontram que *Culex quinquefasciatus* e o *Aedes albopictus*, foram as espécies mais abundantes na área de estudo. Já o *Aedes aegypti* foi coletado com menor frequência. Eles também demonstraram que entrenós de bambu e criadouros artificiais apresentaram maior abundância de imaturos enquanto que lagoas e poças uma maior riqueza (MEDEIROS-SOUSA et al., 2015). Este estudo assim como outros, tem discutido sobre a capacidade dos mosquitos do gênero *Culex* Linnaeus 1758, em colonizar diversos tipos de criadouros tanto naturais como artificiais e sobre sua grande representatividade em levantamentos entomológicos realizados em áreas de mata (CONFALONIERI; COSTA NETO, 2012; HUTCHINGS et al., 2005; MEDEIROS-SOUSA et al., 2015).

DE PAULA et al. (2015), realizaram um estudo entomológico entre março de 2011 e fevereiro de 2012 no Parque do Carmo e Parque Chico Mendes, São Paulo, Brasil, usando aspiradores a bateria, armadilhas do tipo Shannon e armadilhas luminosas do tipo CDC para coleta de mosquitos adultos e aparelhos de sucção para coleta de mosquitos imaturos. Neste estudo eles demonstraram que no Parque do Carmo, *Coquillettidia venezuelensis* (Theobald 1912), *Aedes scapularis* (Rondani 1848) e *Culex* (*Culex*) spp. foram os adultos mais abundantes, enquanto *Culex* (*Melanoconion*) spp. e *Anopheles strodei* Root 1926 os mosquitos imaturos mais abundantes. Já no Parque Chico Mendes, *Culex* (*Cux.*) spp. e *Ae. scapularis* foram os adultos mais abundantes, enquanto o *Ae. albopictus* os mosquitos imaturos mais frequentes (DE PAULA et al., 2015). Neste estudo o *Ae. scapularis* foi uma das espécies com maior representatividade. Mosquitos desta espécie geralmente se reproduzem em criadouros transitórios localizados no solo e, portanto, apresentam um desenvolvimento larval relativamente rápido, em comparação com o desenvolvimento de outros Culicídeos, o que oferece uma vantagem adaptativa sobre outras espécies (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

Os parques urbanos com fragmentos de vegetação também são locais importantes para estudar a ecologia dos vetores. Sabe-se que mudanças no clima podem acelerar ou retardar o desenvolvimento do inseto, disponibilidade de criadouros e recursos alimentares (FORATTINI, 2002). Em áreas de mata a disponibilidade de criadouros esta diretamente relacionada à ocorrência de chuvas e temperaturas mais elevadas podem acelerar o desenvolvimento larvário (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). MEDEIROS-SOUSA et al. (2015), demonstraram que há

uma relação significativa entre abundância e sazonalidade, com um aumento notável na abundância de mosquitos no período quente e chuvoso (MEDEIROS-SOUSA et al., 2015). As condições de preservação dos fragmentos de vegetação também pode ser um fator importante que influencia a diversidade e abundância de Culicídeos. Alguns estudos têm relatado que a urbanização promove a redução da diversidade, mas aumenta a abundância dos chamados exploradores urbanos, espécies especializadas no ambiente urbano (ARONSON et al., 2014; FAETH; BANG; SAARI, 2011; MCKINNEY, 2008; TURRINI; KNOP, 2015). HUTCHINGS et al. (2005), em um estudo realizado no Parque Nacional do Jaú, Amazonas, Brasil, relataram que em geral espécies de Culicídeos encontradas no parque, tanto em criadouros naturais ou artificiais, estavam associadas a áreas de florestas mais preservadas (HUTCHINGS et al., 2005).

A identificação de mosquitos hematófagos encontrados em fragmentos florestais urbanos bem como a caracterização desses ambientes, pode produzir dados que podem ser utilizados para subsidiar possíveis ações de monitoramento ou controle por parte do poder público responsável por essas áreas. Apesar da importância epidemiológica dos levantamentos de fauna de Culicídeos nessas áreas, esses estudos estão concentrados em sua maioria na região Norte e Sudeste do Brasil, sendo que na região Nordeste principalmente, pouco se sabe sobre a fauna de Culicídeos.

2.6 LEVANTAMENTOS ENTOMOLÓGICOS EM COMUNIDADES URBANAS NO BRASIL

O ambiente urbano pode apresentar uma diversidade de características, proporcionando tanto locais com infraestrutura apropriada, boas condições de habitação e saneamento básico adequado como também locais que carecem desses padrões de infraestrutura, habitação e saneamento básico. Este último, geralmente representam as áreas mais pobres de uma cidade, designadas como comunidades urbanas em situação de vulnerabilidade social e econômica. Essas comunidades são locais mais vulneráveis às epidemias de arboviroses (BISANZIO et al., 2021; BONIFAY et al., 2017; DO CARMO et al., 2020; HOTEZ et al., 2017; KIKUTI et al., 2015), uma vez que oferecem um ambiente favorável a proliferação de vetores. Apesar disso, poucos estudos tem avaliado a distribuição e ecologia dos vetores de arbovírus em comunidades urbanas em situação de vulnerabilidade socioeconômica principalmente na região Nordeste do Brasil, uma das regiões do país mais afetada pela pobreza (FECOP, 2020) e conseqüentemente com maior quantidade de pessoas em situações vulneráveis no contexto da saúde.

Em relação aos levantamentos entomológicos realizados em comunidades urbanas vulneráveis no Brasil, destacam-se os estudos realizados na região Sudeste do país. Esses estudos têm demonstrado a relação entre a abundância dos vetores de arbovírus com a situação socioeconômica da região estudada. AYLLÓN et al. (2018), em um estudo realizado entre fevereiro de 2014 e abril de 2017, em uma comunidade socioeconomicamente vulnerável e densamente urbanizada no Rio de Janeiro, Brasil, encontraram uma alta correlação entre a disponibilidade de criadouros de mosquitos com o nível socioeconômico da população. Neste estudo foi relatado que os recipientes usados para armazenamento de água são abundantes em áreas com distribuição irregular de água (AYLLÓN et al., 2018). AYLLÓN et al. (2018), encontraram espécies como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. scapularis*, *Aedes fluviatilis* (Lutz, 1904) e o *Cx. quinquefasciatus* através do uso de aspiradores. Ovos de *Aedes* spp. também foram coletados através de armadilhas de oviposição. Neste estudo os altos níveis de infestação de vetores foram relacionados ao saneamento precário, abastecimento de água interrompido e alta densidade populacional humana (AYLLÓN et al., 2018). Este e outros estudos têm demonstrado que existe uma co-ocorrência do *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, o que chama a atenção para a adaptação do *Ae. albopictus* em se estabelecer em locais tipicamente descritos como favoráveis ao *Ae. aegypti* (AYLLÓN et al., 2018; CUSTÓDIO et al., 2019).

DAVID et al. (2012), realizaram um estudo em uma comunidade urbana socioeconomicamente vulnerável e em uma área de classe média do Rio de Janeiro, Brasil, de agosto a novembro de 2008 e de março a junho de 2009. O objetivo do estudo era avaliar densidade, taxas de paridade, sobrevivência diária e longevidade de populações naturais de *Cx. quinquefasciatus* em três bairros com distintos perfis socioeconômicos e de infraestrutura. Neste estudo a densidade vetorial não foi correlacionada com os fatores climáticos como temperatura e precipitação. Foi relatado que as diferenças significativas na sobrevivência e longevidade do *Cx. quinquefasciatus* nos três bairros pode estar relacionado com a disponibilidade de criadouros, níveis socioeconômicos e demografia humana. Os pesquisadores destacaram que a disponibilidade de tipos de criadouros é altamente correlacionada com nível socioeconômico no Rio de Janeiro e que os recipientes usados para armazenamento de água são abundantes em áreas com distribuição irregular de água (DAVID; RIBEIRO; MACIEL-DE-FREITAS, 2012). Em outro estudo realizado por MACIEL-DE-FREITAS et al. (2008), em um distrito suburbano (Tubiacanga) e em uma comunidade urbana de baixo nível socioeconômico (Favela do Amorim) do Rio de Janeiro experimentos foram originalmente conduzidos para estimar a sobrevivência diária do *Ae. aegypti* na Favela do Amorim (janeiro - fevereiro de 2005) e na área suburbana (março - abril de 2005). A frequência de criadouros chaves não variou

sazonalmente dentro de cada área, mas o nível de infestação diferiu entre as áreas. Provavelmente, o baixo impacto da sazonalidade no padrão de infestação do *Ae. aegypti* foi devido à produção constante e alta de grandes recipientes de água como tambores metálicos e caixas d'água, os quais não são afetados pelas chuvas. De fato, o efeito da sazonalidade também foi baixo ou ausente na produtividade dos criadouros, no número médio de pupas de *Ae. aegypti* coletadas por casa, e na taxa de sobrevivência de fêmeas dessa espécie (MACIEL-DE-FREITAS et al., 2008).

Os levantamentos entomológicos realizados em áreas de vulnerabilidade socioeconômica no Brasil, apesar de escassos, têm destacado sobre a relação das condições precárias de infraestrutura e saneamento básico com a proliferação de vetores importantes na transmissão de arbovírus. Esses achados chamam a atenção para as autoridades locais sobre a necessidade de oferecer melhores condições a essas comunidades como abastecimento regular de água, drenagem e manejo adequado de resíduos sólidos por exemplo. Essas comunidades urbanas têm um papel importante na manutenção de vetores como o *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Cx. quinquefasciatus*. Portanto, é importante a realização de estudos ambientais e entomológicos em áreas com essas características em outras regiões do Brasil além da região Sudeste.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Realizar investigações ambientais e entomológicas em um fragmento urbano de Mata Atlântica e em uma comunidade urbana de Salvador para investigar características ambientais e ecológicas que contribuem para proliferação de vetores de arbovírus.

3.2 ESPECÍFICOS

Referentes ao fragmento urbano de Mata Atlântica

1. Inventariar espécies de Culicídeos e analisar a distribuição espacial das principais espécies encontradas na área de estudo;
2. Estimar índices de abundância e índices de diversidade das espécies de Culicídeos encontradas de acordo com os diferentes métodos de coleta e tipos de vegetação presentes no fragmento estudado;
3. Investigar a produtividade dos diferentes métodos de coleta realizados na área de estudo;
4. Avaliar a diversidade de Culicídeos de acordo com os tipos de vegetação presentes no fragmento estudado;

Referentes à comunidade urbana

1. Estimar índices entomológicos relativos ao *Ae. aegypti* para as áreas privada e pública da comunidade estudada;
2. Avaliar a contribuição relativa dos diferentes tipos de criadouro para positividade e produtividade do *Ae. aegypti* nas áreas privada e pública;
3. Investigar se as características dos diferentes locais/estruturas com acúmulo de água (potenciais criadouros) encontrados nas áreas privada e pública estão associadas com a presença do *Ae. aegypti* imaturo;
4. Investigar se as características sociais e ambientais dos domicílios investigados estão associadas com a frequência dos diferentes indicadores entomológicos para o *Ae. aegypti* (imaturo, ovo e adulto);

5. Avaliar o padrão da distribuição temporal (no período de dois anos) dos diferentes índices entomológicos e comparar com a flutuação das variáveis climáticas como temperatura, umidade e precipitação;
6. Avaliar a distribuição espacial dos diferentes indicadores entomológicos para o *Ae. aegypti* (imaturo, ovo e adulto) e investigar a presença de *hotspots* desse vetor;
7. Investigar se espécimes fêmeas adultas de *Ae. aegypti* coletadas na comunidade carregam os arbovírus, DENV, ZIKV ou CHIKV.

4 RESULTADOS

Os resultados da tese serão apresentados nos manuscritos a seguir:

MANUSCRITO 1 – Diversity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in An Atlantic Forest Urban Park, Salvador, Brazil (pág. 38).

MANUSCRITO 2 – *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) density in a Brazilian urban slum community where dengue, Zika, and chikungunya viruses co-circulate (pág. 50).

4.1 MANUSCRITO 1 – DIVERSITY OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) IN AN ATLANTIC FOREST URBAN PARK, SALVADOR, BRAZIL.

O manuscrito 1 foi publicado na revista *Journal of Medical Entomology* como Short Communication (<https://doi.org/10.1093/jme/tjac007>), e corresponde aos objetivos específicos da tese:

- Inventariar espécies de Culicídeos e analisar a distribuição espacial das principais espécies encontradas na área de estudo;
- Estimar índices de abundância e índices de diversidade das espécies de Culicídeos encontradas de acordo com os diferentes métodos de coleta e tipos de vegetação presentes no fragmento estudado;
- Investigar a produtividade dos diferentes métodos de coleta realizados na área de estudo;
- Avaliar a diversidade de Culicídeos de acordo com os tipos de vegetação presentes no fragmento estudado.

Diversity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in An Atlantic Forest Urban Park, Salvador, Brazil

Raquel Lima de Souza,^{1,*} Gabriel dos Santos Ferreira,^{1,2,*} Lairton Souza Borja,¹ Romero de Jesus Nazaré,¹ Vánio Andre Mugabe,^{1,3,4} Hernan Darío Argibay,^{1,3} Moyra Machado Portilho,¹ Leile Camila Jacob-Nascimento,^{1,5} Mitermayer Galvão Reis,^{1,5,6} Uriel D. Kitron,⁷ and Guilherme Sousa Ribeiro^{1,5,8,}

¹Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia 40296-710, Brazil, ²Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia 40170-115, Brazil, ³Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia 40110-040, Brazil, ⁴Departamento de Ciências e Tecnologia, Universidade Licungo, Quelimane, Zambézia 106, Mozambique, ⁵Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia 40110-100, Brazil, ⁶Department of Epidemiology of Microbial Diseases, Yale School of Public Health, New Haven, CT 06510, USA, ⁷Department of Environmental Sciences, Emory University, Atlanta, GA 30322, USA, and ⁸Corresponding author, e-mail: guilherme.ribeiro@fiocruz.br

*These authors contributed equally for this work.

Subject Editor: Andrew van den Hurk

Received 23 August 2021; Editorial decision 4 January 2022

Abstract

We identified mosquito species (Diptera: Culicidae) in an Atlantic Forest fragment located in a large urban park in Salvador, Brazil, one year after a citywide epizootic of yellow fever virus (YFV). Between May 2 and August 2, 2018, adult mosquitoes were collected using the human attraction method, followed by trapping with hand-nets, and CO₂-baited light traps placed at ground level and in the canopy. We collected a total of 11,914 mosquitoes, which belonged to three tribes, five genera, and at least seven species. The most abundant taxa captured by CO₂-baited light traps were *Culex quinquefasciatus* (Say, Diptera: Culicidae) *Limatus* spp. (Diptera: Culicidae), and *Wyeomyia* spp. (Diptera: Culicidae), while by human attraction, *Cx. quinquefasciatus*, *Wyeomyia* spp., and *Aedes albopictus* (Skuse, Diptera: Culicidae) were captured most often. The diversity of mosquitoes by species was greater in the park area with restinga vegetation compared to the area with dense rainforest. Although vectors commonly

associated with sylvatic YFV transmission were not captured, we collected several species capable of transmission of other arboviruses. Given the high likelihood of encounters between mosquitoes and human visitors in environments, such as the one studied, periodic entomological surveys to determine the risk of arbovirus transmission in these settings are warranted.

Key words: arbovirus, mosquito, entomological survey, Brazil

In Brazil, dengue (DENV), Zika (ZIKV), and chikungunya (CHIKV) viruses have co-circulated since 2015 (Carvalho et al. 2019). In addition, between late 2016 and mid-2018, Brazil faced the worst human outbreaks and epizootics of sylvatic yellow fever virus (YFV) since the 1940's (Possas et al. 2018). In Salvador, the largest northeastern city of Brazil, an epizootic of YFV affecting 205 non-human primates (NHPs) of the genus *Callithrix* was reported in 2017 (Paploski et al. 2017). Because the city had been affected by simultaneous epidemics of DENV, CHIKV, and ZIKV (Cardoso et al. 2015, Ribeiro et al. 2018, Silva et al. 2019), there were concerns about the potential for establishment of an urban human-mosquito cycle of YFV transmission. Urban areas adjacent to forests, or containing forest remnants, are considered an ideal setting for resurgence of urban YFV transmission (Possas et al. 2018). However, knowledge about mosquito diversity in forested areas located close to (or within) urban residential areas in Brazil is scarce. The recent outbreaks and epizootics of YFV in Brazil, and the detection of the virus transmission among NHPs living in large urban centers such as Salvador, reinforced the need for inventories of mosquito species in urban forest fragments. In this study, we performed a comprehensive entomological survey of the Joventino Silva City Park, an urban park that preserves remnants of the Atlantic Forest, and is located near the site where NHPs were found dead during the YFV epizootic in Salvador (Paploski et al. 2017). We aimed to document the mosquito fauna and to investigate the role of the different ecosystems within this forest remnant in harboring mosquitoes of public health importance.

Materials and Methods

Study Area

We performed this survey in Joventino Silva City Park because YFV infected NHPs were detected in its vicinity in 2017, it receives ~2000 visitors per day, and it borders a densely populated area (Fig. 1). The entire park comprises 72 hectares separated into two forest

fragments by walking paths and recreational areas. Its vegetation is characterized by two distinct vegetation types: restinga, a set of plant species associated with quaternary coastal sandy deposits and coastal rocky environments, which may present as herbaceous, sub-shrubby, shrub, and arboreal species; and a dense ombrophylous forest (rainforest), an area with large and medium-sized trees, vines, and epiphytes, present on the Brazilian coast and on the Amazon region (Fig. 1; Carvalho et al. 2010, Campanili and Schaffer 2010). The Park also contains a temporary pond, with higher water level during the rainy season, that can serve as a larval habitat for some mosquito species when the water level reduces during the dry season.

Mosquito Collection and Identification

Mosquito specimens were collected weekly at multiple locations in the park for 10 weeks, between May 2 and August 2, 2018 (the rainy season in Salvador). During this time, the cumulative precipitation was 259.6 mm (INEMET 2018) and the average temperature and humidity were 24.5 °C and 76%, respectively. During each capture day, three different locations (~100 meters apart) were sampled, totaling 30 collection points. The captures were performed using human attraction followed by landing catches and Centers for Disease Control (CDC) light traps. The human landing catch method used to sample diurnal mosquitoes was performed by three researchers at each collection point for one hour between the hours of 09:00 and 16:00. Sampling consisted of using net sweeps to capture adult specimens that landed on the researcher's bodies. The team was vaccinated against YFV and all collectors wore long clothing to avoid inadvertent mosquito bites during the collection process. The Gonçalo Moniz Institute Ethics Committee approved this study (CAAE: 38942620.5.0000.0040). We also installed two CDC traps at each collection point, one at ground level (60 cm high) and another at the canopy level (~10 m high). The traps were run from 16:00 to 09:00 and were situated approximately 50 m from locations where visitors congregate. To increase attraction of mosquitoes each trap was baited with 250 mg of dry ice as a CO₂ source. The captured mosquitoes were placed in tubes and transported on dry ice to the entomology facility, at the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Salvador, Brazil. Two investigators identified all specimens collected to the lowest possible identification level using the taxonomic keys described by Consoli and Oliveira (1994). Because adult mosquitoes of the Sabethini tribe are small, have morphological characteristics that are difficult to separate, and are often damaged during capture and transport, we did not classify them beyond the genus level.

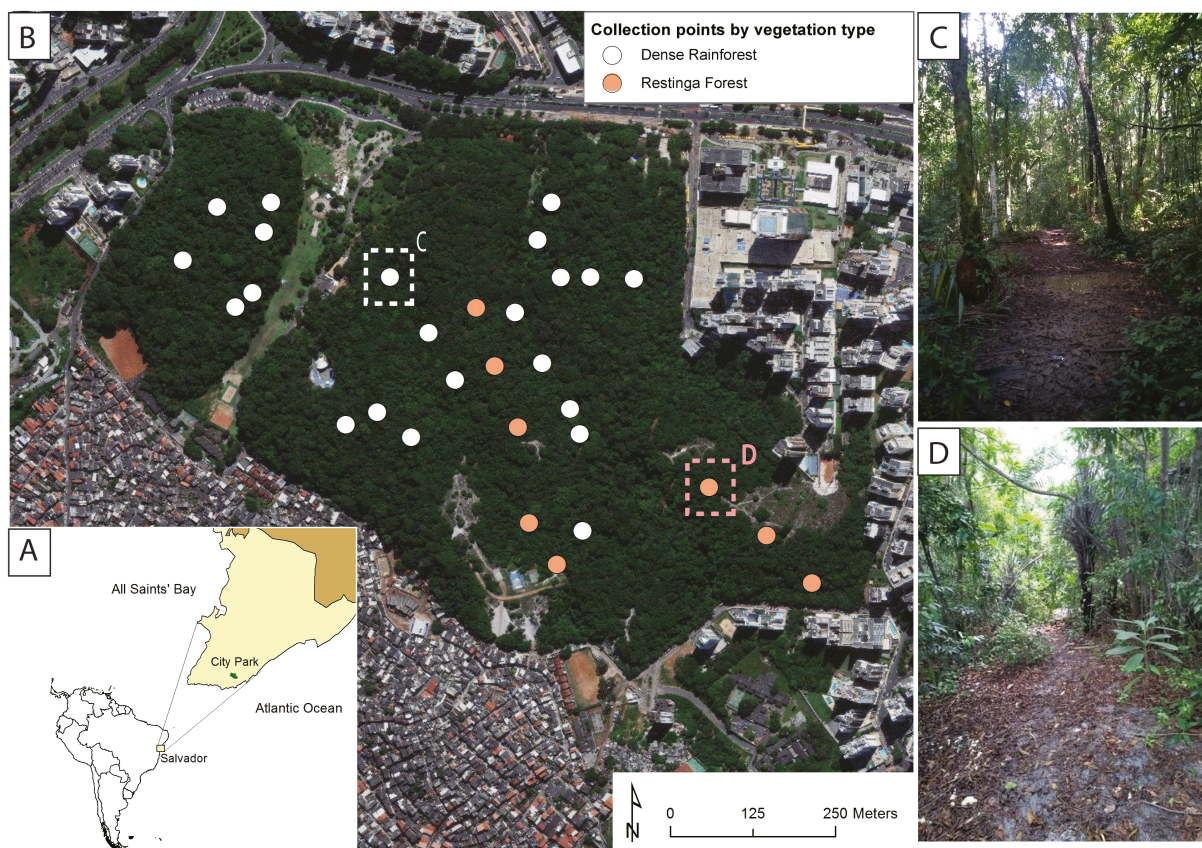


Fig. 1. Spatial distribution of the adult mosquito collection sites in an Atlantic Forest urban park, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018. A. Location of Salvador in Brazil and of the park in Salvador. B. Collection points by vegetation type. C. Illustrative photo of a park area characterized by dense rainforest vegetation. D. Illustrative photo of a park area characterized by restinga vegetation.

Statistical Analysis

We calculated the frequencies of each species of mosquito collected by capture method and vegetation type, and standardized indices of abundance, such as females per man-hour and females per trap per night. Additionally, two of the multiple available ecological diversity indices, Shannon-Wiener index (H') and Pielou's evenness index (J'), were obtained to compare the diversity of species between the different vegetation types in the park, as well as between the different methods of mosquito collection used (Pielou 1966; Hill 1973; Gorelick 2006). The lower the Shannon-Wiener index, the lower the species diversity. Pielou's evenness index measures uniformity of the distribution among existing species, and ranges between 0 (no evenness) to 1, (complete evenness). Species accumulation and rarefaction curves by collection method were also calculated to evaluate the sampling effort.

Results

A total of 11,914 mosquitoes were collected, of which 887 specimens were captured by human attraction and 11,027 by CO₂-baited CDC traps (6,150 on ground level and 4,877 in the canopy). All were from the subfamily Culicinae, belonging to three tribes (Aedini, Culicini, and Sabethini), five genera (*Aedes*, *Culex*, *Limatus*, *Psorophora*, *Wyeomyia*), and at least seven species (Table 1). The most frequently captured mosquitoes were *Culex quinquefasciatus* (11,038 (92.6%) mosquitoes), *Wyeomyia* spp. (374, 3.1%), and *Limatus* spp. (225, 1.9%) (Table 1). The two most important urban vectors of arboviruses, *Aedes aegypti* (Linnaeus, Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus*, accounted only for a small fraction of mosquitoes with 17 (0.1%) and 166 (1.4%) of each species collected, respectively. We analyzed the spatial distribution of the density of captured mosquitoes by collection point for the two most frequently captured mosquitoes (*Cx. quinquefasciatus* and *Wyeomyia* spp.) and the two of greatest public health interest (*Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*) (Fig. 2). *Cx. quinquefasciatus* and *Wyeomyia* spp. were ubiquitous throughout the park, being captured at all collection points, while *Ae. albopictus* was captured at most (23 out of 30) of the collection points. In contrast, *Ae. aegypti* was captured only at 6 of the 30 collection points, located close to open areas of the park, where movement of people is greater, or in its periphery, near residential areas. Species accumulation and rarefaction curves showed that the sampling effort using human attraction was adequate, whereas for CDC light traps a greater effort could lead to collection of additional, rarer species (Fig. 3). The CDC light traps on the ground and canopy levels were much more efficient in terms of the number of mosquitoes captured (6,150 and 4,887 specimens, respectively) compared to the human attraction method (887 specimens) (Table 1). However, the species diversity and heterogeneity were lower in CDC traps (Table 1), with >95% of mosquitoes captured comprising a single species (*Cx. quinquefasciatus*), regardless of whether the CDC trap was installed on the ground or in the canopy. The human attraction method captured a greater diversity of mosquito species, including *Cx. quinquefasciatus* (39.2% of the captured specimens), *Wyeomyia* spp. (29.0%), *Ae. albopictus* (16.0%), and *Limatus* spp. (9.2%). Not surprisingly, 16 (94.1%) of the 17 specimens of *Ae. aegypti* and 142 (85.5%) of the 166 specimens of *Ae. albopictus* collected were captured by the human attraction method. The majority (10,427, 87.5%) of mosquitoes were collected in the dense rainforest area, while 1,487 (12.5%) of specimens were collected in the restinga area (Table 2). In addition, the different vegetation types influenced the diversity and heterogeneity of the species collected

(Table 2). While *Cx. quinquefasciatus* accounted for ~90% of all specimens collected both in the dense rainforest and in restinga, *Wyeomyia* spp. and *Ae. albopictus* were relatively less frequent in the dense rainforest area (2.5% and 1%, respectively), compared to the restinga area (7.7% and 3.8%, respectively). Standardized indices of female abundance corroborated that the CDC traps were more productive in capturing *Cx. quinquefasciatus* and the other most abundant species when placed in the dense rainforest compared to restinga, and that the human attraction method was more effective in capturing *Wyeomyia* spp. and *Ae. albopictus* in the restinga area than in the dense rainforest area (Table 2).

Table 1. Frequency of adult mosquitoes collected in an Atlantic Forest urban park, according to tribe, species, or genus, and capture method; and diversity indices according to capture method, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018.

Mosquito taxa	No. (%) of adults or index			
	All capture methods	Human attraction	CO ₂ -baited CDC trap, ground	CO ₂ -baited CDC trap, canopy
Culicini	11,040 (92.7%)	348 (39.2%)	5,878 (95.6%)	4,814 (98.7%)
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Say, Diptera: Culicidae)	11,038 (92.6%)	348 (39.2%)	5,877 (95.6%)	4,813 (98.7%)
<i>Culex</i> spp. (Diptera: Culicidae)	2 (<0.1%)	0 (0%)	1 (<0.1%)	1 (<0.1%)
Sabethini	599 (5.0%)	339 (38.2%)	206 (3.4%)	54 (1.1%)
<i>Limatus</i> sp. (Diptera: Culicidae)	225 (1.9%)	82 (9.2%)	116 (1.9%)	27 (0.6%)
<i>Wyeomyia</i> spp. (Diptera: Culicidae)	374 (3.1%)	257 (29.0%)	90 (1.5%)	27 (0.6%)
Aedini	275 (2.3%)	200 (22.6%)	66 (1.0%)	9 (0.2%)
<i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, Diptera: Culicidae)	17 (0.1%)	16 (1.8%)	1 (<0.1%)	0 (0%)
<i>Aedes albopictus</i> (Skuse, Diptera: Culicidae)	166 (1.4%)	142 (16.0%)	22 (0.4%)	2 (<0.1%)
<i>Aedes scapularis</i> (Rondani, Diptera: Culicidae)	89 (0.7%)	39 (4.4%)	43 (0.7%)	7 (0.1%)
<i>Psorophora ferox</i> (Von Humboldt, Diptera: Culicidae)	3 (<0.1%)	3 (0.3%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	11,914	887	6,150	4,877
Diversity index				
Shannon-Wiener (H')	0.363	1.468	0.237	0.259
Pielou's evenness (J')	0.174	0.754	0.122	0.142

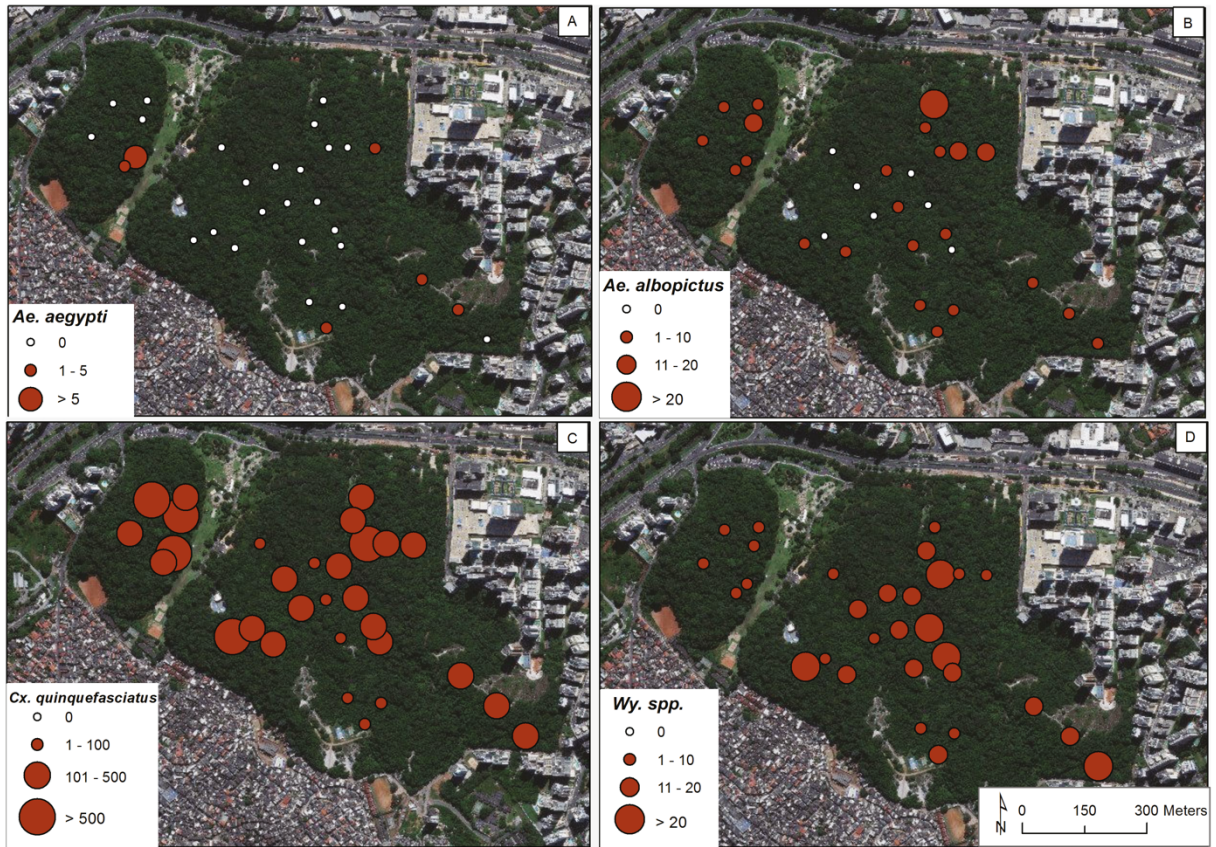


Fig. 2. Spatial distribution of selected species of adult mosquitoes collected in an Atlantic Forest urban park, according to the abundance of captured specimens, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018. A. *Aedes aegypti* distribution. B. *Aedes albopictus* distribution. C. *Culex quinquefasciatus* distribution. D. *Wyeomyia* spp. distribution. The legends informing on the abundance of captured specimens are not on the same scales.

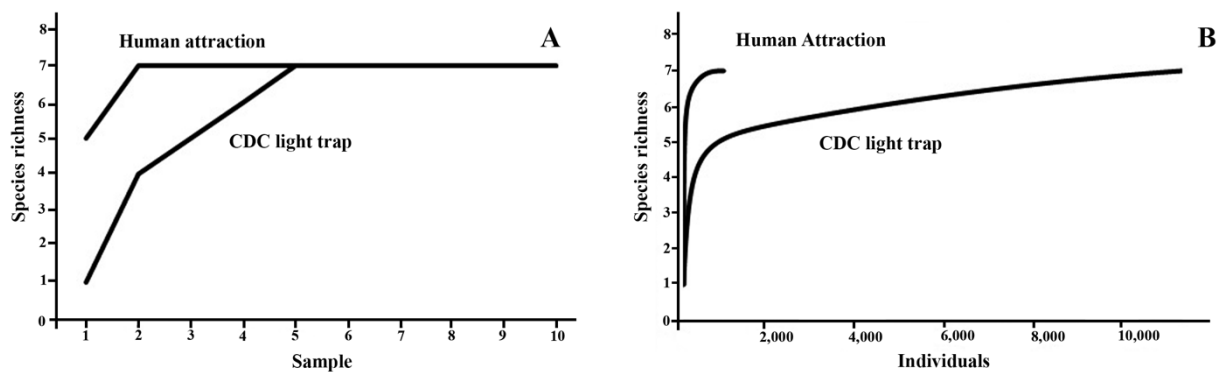


Fig. 3. Species (A) accumulation and (B) rarefaction curves according to the capture method (human attraction and CDC light trap). A. Accumulation curves are shown by sampling effort. B. Rarefaction curves are shown by the number of captured mosquitoes.

Table 2. Frequency of adult mosquitoes captured by human attraction or CO₂-baited CDC traps and standardized indices of abundance, in an Atlantic Forest urban park, according to species or genus, and vegetation type of the collection point; and diversity indices according to vegetation type, Salvador, Brazil, May 2 to August 2, 2018.

Mosquito taxa and diversity	Dense rainforest				Restinga			
	Total number of adult mosquitoes collected (%) or index	Average number of females per man-hour	Average number of females per ground trap per night	Average number of females per canopy trap per night	Total number of adult mosquitoes collected (%) or index	Average number of females per man-hour	Average number of females per ground trap per night	Average number of females per canopy trap per night
<i>Culex quinquefasciatus</i>	9,756 (93.6%)	2.9	247.2	179.1	1,282 (86.2%)	2.0	44.1	101.4
<i>Wyeomyia</i> spp.	259 (2.5%)	2.2	3.9	1.2	115 (7.7%)	4.5	0.5	0.1
<i>Limatus</i> sp.	201 (1.9%)	1.0	4.9	1.1	24 (1.6%)	0.7	1.0	0.0
<i>Aedes albopictus</i>	109 (1%)	0.9	0.9	0.1	57 (3.8%)	1.5	0.3	0.0
<i>Aedes scapularis</i>	88 (0.8%)	0.6	1.9	0.3	1 (<0.1%)	<0.1	0.0	0.0
<i>Aedes aegypti</i>	11 (0.1%)	<0.1	0.0	0.0	6 (0.4%)	<0.1	0.1	0.0
<i>Psorophora ferox</i>	3 (<0.1%)	<0.1	0.0	0.0	0 (0%)	0.0	0.0	0.0
<i>Culex</i> spp.	0 (0%)	0.0	0.0	0.0	2 (0.1%)	0.0	0.1	0.0
Total	10,427	7.7	258.7	181.8	1,487	8.8	46.9	101.5
Diversity index								
Shannon-Wiener (H')	0.327	-	-	-	0.553	-	-	-
Pielou's evenness (J')	0.168	-	-	-	0.284	-	-	-

Discussion

The seven species of mosquitoes that we identified in this study were also found previously during an entomological survey carried out inside and around the same park and in another preserved Atlantic Forest area in Salvador (Paploski et al. 2017). Together, these findings suggest that mosquito diversity in the urban remnants of the Atlantic Forest in Salvador is low. Neither survey found species of the genera *Haemagogus* (Williston, Diptera: Culicidae) and *Sabethes* (Robineau-Desvoidy, Diptera: Culicidae) which are (to date) the putative vectors implicated in sylvatic YFV transmission. However, *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, the main vectors for DENV, ZIKV, and CHIKV, were collected, suggesting that urban parks with fragments of Atlantic Forest may offer opportunities for transmission of these arboviruses. Overall, *Cx. quinquefasciatus* accounted for 92.6% of all specimens captured. Its high abundance can be partly explained by the multiple larval habitats of this species within the park and its nocturnal habits, coupled with our use of CO₂-baited light traps for mosquito collection (97% of the *Cx. quinquefasciatus* were captured using CDC traps). Although overall numbers were lower, *Cx. quinquefasciatus* comprised the greatest proportion of mosquitoes collected by

the human attraction method, indicating that the abundance of *Cx. quinquefasciatus* was not only a function of collection strategy. We found a greater abundance of mosquitoes in collection points located in areas of dense rainforest than in restinga areas, mainly due to the high numbers of *Cx. quinquefasciatus* collected in CO₂-baited CDC traps in the first setting. However, species such as *Wyeomyia* spp. and *Ae. albopictus* were found relatively more frequently in the restinga area, indicating the importance of this habitat in maintaining a greater diversity and heterogeneity of species in this environment. In 2017, *Callithrix* spp. monkeys collected dead near the park were found to be positive for YFV. Given that groups of *Callithrix* spp. live in the park, that the park houses both *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, and that the park is adjacent to densely urbanized areas, a considerable risk exists for the resurgence of urban YFV transmission mediated by *Aedes* mosquitoes. In addition, Salvador has been an epicenter for epidemics of DENV, ZIKV, and CHIKV (Cardoso et al. 2017, Silva et al. 2019, Tauro et al. 2019), and the confluence of people, vectors and animals can provide a favorable environment for these arboviruses to follow the YFV path in re-establishing their primary enzootic cycles (Weaver 2013, Althouse et al. 2016, Terzian et al. 2018, Guth et al., 2020). Our study was conducted during one season only, which may have influenced the diversity and abundance of species collected. However, the accumulation and rarefaction curves suggest that a greater capture effort using the human attraction method would have a small impact on the diversity of collected species. A greater effort using CO₂-baited CDC light traps could have led to the identification of additional rarer species but would have limited impact on measuring mosquito abundance. Regardless, our survey is one of the few comprehensive entomofauna investigation in a Brazilian urban park containing fragments of the Atlantic Forest. The limited literature on entomofauna in urban forest fragments in Brazil and elsewhere point to the need for additional surveys on the diversity and abundance of hematophagous insects in these areas, given their potential to serve as a link between the sylvatic and urban environments.

Acknowledgments

The authors thank the coordination of the Joventino Silva City Park, for authorizing the study and supporting field activities.

Funding

This work was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development under Grants 400830/2013 2,440891/2016-7, and 307450/2017-1 to G.S.R., and scholarships to M.G.R., and G.S.R.; the Bahia Foundation for Research Support under Grants

PET0022/2016 to G.S.R.; the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, Brazilian Ministry of Education under grant 88881.130749/2016- 01 to G.S.R.; the Department of Science and Technology, Secretariat of Science, Technology and Strategic Inputs, Brazilian Ministry of Health; the Federal University of Bahia; and the Oswaldo Cruz Foundation. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

References Cited

- Althouse, B. M., N. Vasilakis, A. A. Sall, M. Diallo, S. C. Weaver, and K. A. Hanley. 2016. Potential for Zika virus to establish a sylvatic transmission cycle in the Americas. *Plos Negl. Trop. Dis.* 10: e0005055.
- Campanili, M., and W. B. Schäffer. 2010. *Mata Atlântica: Manual de adequação ambiental*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, BR.
- Cardoso, C. W., M. Kikuti, A. P. Prates, I. A. Paploski, L. B. Tauro, M. M. Silva, P. Santana, M. F. Rego, M. G. Reis, U. Kitron, et al. 2017. Unrecognized emergence of Chikungunya virus during a Zika virus outbreak in Salvador, Brazil. *Plos Negl. Trop. Dis.* 11: e0005334.
- Cardoso, C. W., I. A. Paploski, M. Kikuti, M. S. Rodrigues, M. M. Silva, G. S. Campos, S. I. Sardi, U. Kitron, M. G. Reis, and G. S. Ribeiro. 2015. Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, Chikungunya, and Dengue viruses, Salvador, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 21: 2274–2276.
- Carvalho, F. R., T. Medeiros, R. A. O. Vianna, G. Douglass-Jaimes, P. C. G. Nunes, M. D. S. Quintans, C. F. Souza, S. M. B. Cavalcanti, F. B. Dos Santos, S. A. Oliveira, et al. 2019. Simultaneous circulation of arboviruses and other congenital infections in pregnant women in Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop.* 192: 49–54.
- Carvalho, D. M., M. C. L. Peres, M. A. Dias, M. C. R. Queiroz, and T. T. Ferreira. 2010. Leaf litter Araneofauna in an Atlantic Forest remnant in northeast Brazil: Comparative study between two sample methods. *Neotrop Biol and Conserv.* 5: 93–100.
- Consoli, R. A., and R. L. Oliveira. 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, BR.
- Gorelick, R. 2006. Combining richness and abundance into a single diversity index using matrix analogues of Shannon's and Simpson's indices. *Ecography.* 29: 525–530.
- Guth, S., K. A. Hanley, B. M. Althouse, and M. Boots. 2020. Ecological processes underlying the emergence of novel enzootic cycles: Arboviruses in the neotropics as a case study. *Plos Negl. Trop. Dis.* 14: e0008338.
- Hill, M. O. 1973. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology* 54: 427–432.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. 2018. Normais climatológicas do Brasil 1961-1990. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisclimatologicas>, Accessed 3 April 2018.

Dexheimer Paploski, I. A., R. L. Souza, L. B. Tauro, C. W. Cardoso, V. A. Mugabe, A. B. Pereira Sim es Alves, J. de Jesus Gomes, M. Kikuti, G. S. Campos, S. Sardi, et al. 2017. Epizootic outbreak of yellow fever virus and risk for human disease in Salvador, Brazil. *Ann. Intern. Med.* 168: 301–302.

Pielou, E. C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theoret. Biol.* 13: 131–144.

Possas, C., R. M. Martins, R. L. Oliveira, and A. Homma. 2018. Urgent call for action: avoiding spread and re-urbanisation of yellow fever in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 113: 1–2.

Ribeiro, G. S., M. Kikuti, L. B. Tauro, L. C. J. Nascimento, C. W. Cardoso, G. S. Campos, A. I. Ko, S. C. Weaver, M. G. Reis, and U. Kitron; Salvador Arboviral Research Group. 2018. Does immunity after Zika virus infection cross-protect against dengue? *Lancet. Glob. Health.* 6: e140–e141.

Silva, M. M. O., L. B. Tauro, M. Kikuti, R. O. Anjos, V. C. Santos, T. S. F. Gonçalves, I. A. D. Paploski, P. S. S. Moreira, L. C. J. Nascimento, G. S. Campos, et al. 2019. Concomitant transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika viruses in Brazil: clinical and epidemiological findings from surveillance for acute febrile illness. *Clin. Infect. Dis.* 69: 1353–1359.

Tauro, L. B., C. W. Cardoso, R. L. Souza, L. C. Nascimento, D. R. D. Santos, G. S. Campos, S. Sardi, O. B. D. Reis, M. G. Reis, U. Kitron, et al. 2019. A localized outbreak of Chikungunya virus in Salvador, Bahia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 114: e180597.

Terzian, A. C. B., N. Zini, L. Sacchetto, R. F. Rocha, M. C. P. Parra, J. L. Del Sarto, A. C. F. Dias, F. Coutinho, J. Rayra, R. A. da Silva, et al. 2018. Evidence of natural Zika virus infection in neotropical non-human primates in Brazil. *Sci. Rep.* 8: 1–5.

Weaver, S. C. 2013. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends Microbiol.* 21: 360–363.

4.2 MANUSCRITO 2 – *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) DENSITY IN A BRAZILIAN URBAN SLUM COMMUNITY WHERE DENGUE, ZIKA, AND CHIKUNGUNYA VIRUSES CO-CIRCULATE.

O manuscrito 2 será submetido a uma revista científica em formato de artigo, e corresponde aos objetivos específicos da tese:

- Estimar índices entomológicos relativos ao *Ae. aegypti* para as áreas privada e pública da comunidade estudada;
- Avaliar a contribuição relativa dos diferentes tipos de criadouro para positividade e produtividade do *Ae. aegypti* nas áreas privada e pública;
- Investigar se as características dos diferentes locais/estruturas com acúmulo de água (potenciais criadouros) encontrados nas áreas privada e pública estão associadas com a presença do *Ae. aegypti* imaturo;
- Investigar se as características sociais e ambientais dos domicílios investigados estão associadas com a frequência dos diferentes indicadores entomológicos para o *Ae. aegypti* (imaturo, ovo e adulto);
- Avaliar o padrão da distribuição temporal (no período de dois anos) dos diferentes índices entomológicos e comparar com a flutuação das variáveis climáticas como temperatura, umidade e precipitação;
- Avaliar a distribuição espacial dos diferentes indicadores entomológicos para o *Ae. aegypti* (imaturo, ovo e adulto) e investigar a presença de *hotspots* desse vetor;
- Investigar se espécimes fêmeas adultas de *Ae. aegypti* coletadas na comunidade carregam os arbovírus, DENV, ZIKV ou CHIKV.

***Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) density in a Brazilian urban slum community where dengue, Zika, and chikungunya viruses co-circulate**

Raquel L. Souza¹, Romero J. Nazare¹, Hernan D. Argibay^{1,2}, Maysa Pellizzaro^{1,2}, Rosângela O. Anjos¹, Moyra M. Portilho¹, Leile Camila J. Nascimento^{1,2}, Mitermayer G. Reis^{1,2,3}, Uriel D. Kitron⁴, Guilherme S. Ribeiro^{1,2*}

* Correspondence: guilherme.ribeiro@fiocruz.br

¹ Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador Bahia, Brazil

² Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

³ Yale School of Public Health, New Haven, Connecticut, USA

⁴ Emory University, Atlanta, Georgia, USA

Abstract

Background: Urban slums are overcrowded, poor communities that usually lack sanitary infrastructure, favoring *Aedes aegypti* proliferation and arboviral transmission. However, few studies have investigated the role of slum-specific environmental characteristics in *Ae. aegypti* density. We performed a series of entomological surveys in a Brazilian slum to determine ecological attributes associated with *Ae. aegypti* presence, assess whether specific areas within the slum served as *hotspots* for vector reproduction over time, and test the field-collected mosquitoes for arboviruses.

Methods: We randomly selected 149 households in a slum in Salvador, Brazil, and conducted four cycles of entomological and socio-environmental surveys in the selected households and the surrounding public area between September 2019 to April 2021. The surveys included searching for potential breeding sites (accumulated water) and *Ae. aegypti* immatures in them, capturing adult mosquitoes and installing ovitraps. The Chi-square or Fisher's exact test was used to investigate the association of entomological findings with different social and ecological characteristics. We performed Kernel density-ratio analysis to evaluate the spatial distribution of the *Ae. aegypti* density indices and used univariate local Moran's I test to assess spatial autocorrelation for each index. Pools of female *Ae. aegypti* adult mosquitoes underwent RT-PCR for DENV, ZIKV, and CHIKV.

Results: Overall, 316 potential breeding sites were found in the study households and 186 in public spaces. Of them, 18 (5.7%) and 7 (3.7%) harbored *Ae. aegypti* immatures, respectively. The most productive breeding sites within the households were water storage containers. In the public area, puddles and waste materials were the most important. Potential breeding sites

without covering, surrounded by vegetation, and containing organic matter in the water were significantly associated with the presence of *Ae. aegypti* immatures, as well as households that had water storage containers. None of the entomological indices, whether based on immatures, eggs, or adults, detected a consistent pattern of vector clustering in the same slum areas over time. All the tested mosquito pools were negative.

Conclusions: Improving basic sanitation in slums through the regular water supply, proper management of solid wastes, and drainage may reduce water storage, both for use and nonintentional, and the formation of puddles, minimizing opportunities for *Ae. aegypti* proliferation in urban slums.

Keywords: *Aedes aegypti*, Entomological survey, Environmental factors, Density indices, Mosquito ecology, Water containers

Background

Arboviral infections are among the most critical public health problems, and their burden has increased during this century due to the co-circulation of dengue (DENV), Zika (ZIKV), and chikungunya (CHIKV) viruses [1,2]. Millions of people live in regions where the risk of infection is high, concerning authorities and health professionals as the commonly used methods to prevent and control arboviral transmission have widely failed when implemented on a large scale, such as across a country [3,4]. Among the main reasons for the lack of success of the vector control strategies is the adaptation of the *Ae. aegypti*, the primary vector of DENV, ZIKV, and CHIKV, to the urban habitat and its preference to breed in artificial water containers [5,6].

Furthermore, the urban environment can have very diverse characteristics, such as areas with an adequate infrastructure of habitations and services and regions that lack standards conditions of housing and sanitation, being marked by overcrowding and poverty. The latter, generally designated as slums, is more vulnerable to arboviral epidemics [7–11], either because their inhabitants live in closer proximity, facilitating multiple interactions between the vector and humans, or because the slum environment offers greater possibilities for *Ae. aegypti* reproduction. Yet, little is known about the ecology of *Ae. aegypti* within urban slums.

Although several studies have described that the poor areas in a city have increased levels of *Ae. aegypti* density, such studies are often based on household surveys of the immature forms of the vector, and investigating the presence of mosquito eggs and adults has been less common [12,13]. Surveying for oviposition and adult mosquitoes is a gap in such studies since

eggs and adults may be better indicators for the presence of the vector at a stage capable of arbovirus transmission. In addition, the infestation indices produced from these inspections are derived from qualitative measures (i.e., presence vs. absence of immatures per house), which do not consider mosquitos' density. Typically, they also do not include data from public areas, which have been shown to harbor important habitats for *Ae. aegypti* reproduction [14–16]. Finally, the ecological study designs, in which vector data are aggregated in relatively large geographical zones, such as neighborhoods or census tracts, may hamper the detection of localized foci of vector infestation, especially inside slums.

Studies that use non-aggregated data to determine different entomological indices and their relations with specific ecological characteristics within an urban slum may be helpful to assess the importance of *hotspots* for vector infestation and inform on the role of socio-environmental deficiencies on the distribution of *Ae. aegypti*. Despite the existing differences between each slum community, they share similarities, such as poverty, inadequate housing and sanitation, and high population density. Thus, it is possible that findings from one slum can be generalizable to other slums.

In this study, we carried out a series of entomological and socio-environmental surveys in a Brazilian urban slum, using various vector capture methods. Our main aims were to investigate whether specific ecological factors were associated with detecting *Ae. aegypti* mosquitoes, and whether there were foci of *Ae. aegypti* infestation in the slum environment that remained over time and could be identified by different entomological markers. We also evaluated whether the collected specimens of *Ae. aegypti* carried DENV, ZIKV, or CHIKV.

Materials and Methods

Study design

Four entomological and socio-environmental survey cycles were conducted in the Pau da Lima slum neighborhood, Salvador, Brazil, between September 2019 and April 2021 (cycle 1: Sep-Dec/2019, cycle 2: Jan-Apr/2020, cycle 3: Sep-Dec/2020, cycle 4: Jan-Apr/2021). Our initial plan was to conduct an additional survey between May-Aug/2020; however, due to the COVID-19 pandemic and the restrictions on field activities, we had to cancel it. These cycle periods (Jan-Apr, May-Aug, Sept-Dec) were defined based on the rainfall and insolation data for the last ten years in Salvador [17] which showed increasing precipitation and decreasing insolation between May and August, reducing precipitation and increasing insolation from September to December, and an intermediate climatic pattern of lowest precipitation and highest insolation between January and April. The Research Ethics Committee of Gonçalo Moniz Institute,

Oswaldo Cruz Foundation (CAAE: 57221816.8.0000.0040) approved the study, and an adult (≥ 18 years old) who was responsible for the household signed the informed consent term before we performed the survey at their home.

Study site

The Pau da Lima slum study site harbored a densely populated poor community, which lacked basic sanitation conditions [18]. The study site contained 1,965 properties and 2,317 inhabitants (data from a census that we conducted in July 2019) in an area of 0.082 km² ($>28,000$ hab/km²) delimited by two of the main streets in the neighborhood and a local access street (Figure 1). It is located nearby (within 1 km) the São Marcos Health Unit, an emergency unit where we have conducted surveillance for arboviral infection among patients with febrile illness and detected co-circulation of DENV, ZIKV, and CHIKV [7,19].

We randomly selected 200 households within the study site and completed the first survey cycle in 149 of them, which became our target group for the subsequent surveys; the remaining 51 households were not surveyed because of refusal or because nobody was found at home after at least five attempts. Based on the spatial coordinates of the surveyed households, we verified that they were well distributed within the study site (Figure 1). In addition to the enrolled households (herein defined as the private area surveyed), we performed entomological and environmental surveys in the public space within the study site, including all public structures (vacant public lots, squares, streets, and rainwater drainage structures, such as storm drains).

The surveys consisted of 1) identification and characterization of potential breeding sites (any reservoir accumulating water); 2) collection of immature forms (larvae and pupae) from breeding sites; 3) capture of adult mosquitoes by aspiration (only in the private area and in storm drains); and 4) installation of ovitraps (only in the private area due to the high risk of loss in the public area). Additional details about these strategies are provided below. In addition, during the private area surveys, we interviewed an adult responsible for the household to ask about the frequency of water supply and use of water storage containers (water reservoirs) in the house. The inspections were performed two to three days per week during each survey cycle, from 8:30 am to 2:00 pm (average of 8 weeks of survey per cycle).

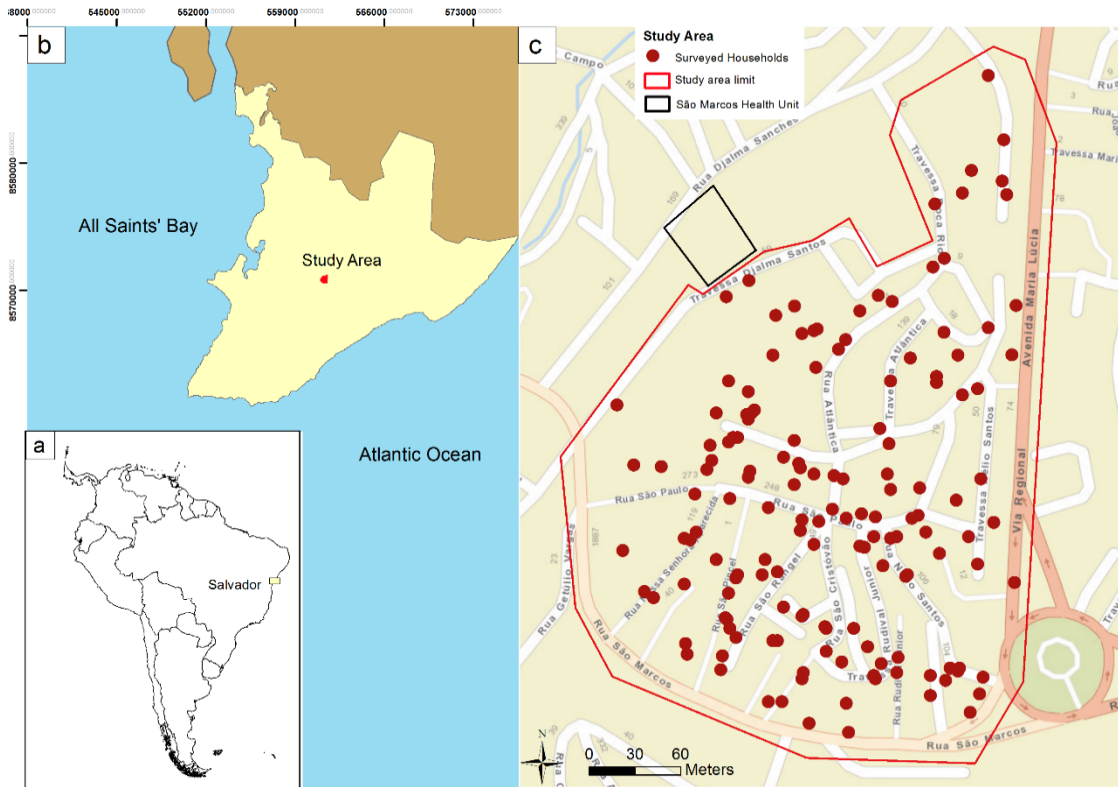


Figure 1. Study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Bahia, Brazil. a. Location of Salvador in Brazil. **b.** Location of the study area in Salvador. **c.** Study area showing the 149 surveyed households.

Note: Due to loss of follow-up, not all the 149 households inspected during the first survey cycle were inspected during the subsequent survey cycles.

Identification and characterization of potential breeding sites

In each survey, we conducted systematic inspections searching potential breeding sites inside and outside of all studied households and in all public structures. We defined as potential breeding sites all kinds of containers or structures with accumulated water, whether covered or not (except capped pet bottles), which might serve for mosquito reproduction. The spatial coordinates of all the potential breeding sites in the public area and those of the studied households were recorded. They were further characterized by type (water tank, vat, tires, etc.), location (indoor or outdoor, for those found in the households), height to ground level, presence or absence of surrounding plants or trees, presence or absence of cover/protection, estimated water volume, presence or absence of organic matter in the water, and presence or absence of immature forms of mosquitoes in the water. During each survey, residents were instructed on mechanical procedures to avoid nonintentional water accumulation in their households and to

properly close any water storage containers to reduce arbovirus transmission risk. Whenever possible, we eliminated the potential breeding sites found during the surveys. We also estimated the volume of water in the storm drains by obtaining measures and checking for the presence of inorganic matter and shading status in the storm drains. In addition, we traced the open streams and sewer routes that ran through the study area.

Collection of immature forms from breeding sites

All the water from small and movable breeding sites (<3 L) was placed in a white vat to collect all the immature mosquito forms with a pipette. For fixed and relatively large breeding sites (> 3 L) or storm drains, we passed a larvae net ten times in the water to catch immature forms. The immature mosquitoes collected from each breeding site were placed in individual falcon tubes containing 70% alcohol, which were labeled and sent to the Laboratory of Entomology, located at Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brazil. The immature specimens collected were classified into larva or pupa and identified to the lowest possible identification level using the identification keys in Consoli & Oliveira (1995) and were quantified [20].

Collection of adult forms from households and storm drains

Prokopack aspirators [21] were used to collect adult mosquitoes inside all selected households and in storm drains located in the public area. Aspirations were performed for approximately 10 minutes inside the homes and 1 minute in storm drains. The mosquitoes captured in each household or storm drain were kept in individual closed cups and transported refrigerated on CO₂ ice to the Laboratory of Entomology. Two researchers jointly identified the collected specimens to the lowest possible identification level using the identification keys described by Consoli & Oliveira (1995) [20]. Mosquitoes were grouped into pools of 1-20 specimens (by species, date of collection, capture location site, sex, and engorgement status when female) and stored in freezers at -80°C to be further tested for arboviral infections.

Ovitrap surveys

In each survey cycle, we installed one ovitrap per household (preferably outdoor). The ovitraps, consisting of a black plastic cup filled with about 350 ml of tap water and an oviposition pallet, were removed after 5 - 7 days. The pallets were placed in individual plastic Ziploc bags, which were labeled and transported to the Laboratory of Entomology, where they were examined under a stereomicroscope (Nikon SMZ 745T) to count *Ae. aegypti* eggs. When we found

immatures in the ovitrap water, we placed them in individual falcon tubes containing 70% alcohol, labeled the tubes, and sent them to the Laboratory of Entomology to be identified as referred before.

Investigation of arboviral infection in mosquitoes

All available pools of adult female *Ae. aegypti* mosquitoes were tested for DENV, ZIKV, and CHIKV by RT-PCR: 30 pools (35 mosquitoes) and 34 pools (40 mosquitoes) of non-engorged and engorged mosquitoes, respectively. Pools were disrupted using a Tissue Lyser L-Beader 6 (Loccus, São Paulo, Brazil) containing one zirconia bead and 500 μ L of fetal bovine serum and then centrifuged for 10 min at 10,000 \times g at 4°C. According to the manufacturer's protocol, the supernatant was used to extract RNA with the Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification kit (Promega, Wisconsin, USA). Extraction products were stored at -80°C until tested by real-time RT-PCR in an ABI Prism 7500 SDS Real-Time cycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) using the CDC TRIOPLEX RT-PCR protocol [22]. Positive and negative controls were included in all extraction rounds and RT-PCR experiments.

Statistical data analysis and spatial distribution

Data were stored on RedCap (Research electronic data capture – Vanderbilt University, Nashville, USA) [23]. Statistical analyses were performed using STATA 12 statistical software (Stata Corp LP, College Station, TX, USA) [24]. For the spatial analyses, we used the ArcGis 10.2.2 geoprocessing program (Esri, Redlands, CA, USA) and the GeoDa program (Geographic Data Analysis - University of Chicago, IL, USA) [25].

Infestation indices of *Ae. aegypti* were calculated overall and for each survey cycle as follows. Container Index (CI): percentage of inspected containers positive for the presence of *Ae. aegypti* immature forms; House Index (HI): percentage of inspected households positive for the existence of *Ae. aegypti* immature forms; Breteau Index (BI): ratio between the number of water containers positive for *Ae. aegypti* immature forms and the number of inspected households times 100; Ovitrap Positivity Index (OPI): percentage of ovitraps positive for eggs; Egg Density Index (EDI): average number of eggs per positive trap; Adults Index (AI): percentage of households positive for *Ae. aegypti* adults. The daily averages of temperature and humidity were calculated for the days of field activities through several measurements obtained with a digital thermohygrometer during the georeferencing of the breeding sites located in the public area and during home inspections. We then estimated the mean temperature and

humidity for each survey cycle based on daily averages. We obtained pluviometric data from Salvador's central meteorological station [17]. We used the daily rainfall data for the period between the start and end of each survey cycle to calculate the average daily levels of rainfall for each survey cycle.

We calculated the entomological indices for the private and public areas for the overall study period and for the four survey cycles separately. We used the Chi-square test or Fisher's exact test to investigate the association between specific characteristics of the potential breeding sites (such as being covered and surrounded by plants) with the presence of immature forms of *Ae. aegypti* inside it, as well as the association of household entomological indicators (existence of eggs, immatures, and adults) with household social and environmental characteristics (such as reported regularity of water supply (yes or no), presence of water storage container (yes or no), level to the ground (ground or above ground), number of inhabitants within the household (≤ 5 or >5), type of street pavement (paved or not), and type of residence construction (with or without plastered walls). The level of statistical significance was set at 5%. Finally, Kernel density ratios were used to represent the spatial distribution of the *Ae. aegypti* density indices overall and for each survey cycle. The denominator for the density-ratio calculations were the surveyed households for the immature index, the aspirated households for the adult index, and those with recovered ovitraps for the egg index. Univariate Local Moran's I test was used to investigate the existence of spatial clustering for each of the *Ae. aegypti* indices (eggs, immatures, and adults) overall and for each survey cycle.

Results

Detection of *Ae. aegypti* potential breeding sites

During the first survey cycle, we were able to inspect 149 households. In subsequent cycles, the number of households examined decreased due to loss of follow-up (moving of residents of the selected households, refusals, or inability to find someone who could receive our team), and we inspected 112, 98, and 89 households in each of the following three surveys in the private area; totalizing 448 household inspections during the study period (Figure S1).

Overall, 316 water containers or structures with the potential to serve for *Ae. aegypti* reproduction were found in the private area during the four survey cycles. This represents 70.5 potential breeding sites per 100 inspected households during the four survey cycles. Despite the high frequency of potential breeding sites in the private area, *Ae. aegypti* immature forms were

only found in 18 water containers (Table 1). Thus, the relative frequency of breeding sites positive for *Ae. aegypti* immature forms in the private area (CI) was 5.7% (18 out of 316 potential breeding sites). The relative frequency of households positive for *Ae. aegypti* immature forms (HI) was 4.0% (18 out of 448 inspected households) (Table 1). As in all households where we found water containers with immature forms of *Ae. Aegypti* only had one water container positive for the presence of *Ae. Aegypti*, the HI, and the BI were the same during the study.

During the four survey cycles, 186 water containers or structures with the potential to serve for *Ae. aegypti* reproduction were found in the public area, of which only seven (3.7%) contained immatures of *Ae. Aegypti* (Table 1). This CI (3.7%) was not statistically different from that observed in the private area (5.7%) ($P = 0.33$). Notably, the study area only had one storm drain, which was dry in all four survey cycles; therefore, no mosquitoes (immature or adult) were collected.

Quantification of immature forms of *Ae. aegypti* by breeding site type

The 18 water containers with immatures of *Ae. aegypti* found in the private area harbored 595 immatures of *Ae. aegypti*. Among the types of water containers identified during the four surveys, the most productive for *Ae. aegypti* were water buckets, water tanks (connected to the water supply service), and plastic containers, which contributed to 393 (66.1%), 72 (12.1%), and 71 (11.9%) of the collected specimens of *Ae. aegypti* immatures, respectively (Table S1).

The seven water containers with *Ae. aegypti* immatures in the public area harbored a total of 283 specimens. Plastic tarps on the ground (138 specimens; 48.7%), stream/ditch (puddled) (99 specimens; 35%), and water tanks (19 specimens; 6.7%) contributed to most of the *Ae. aegypti* immature specimens that we found in the public area during the four surveys (Table S2).

Household indices of *Ae. aegypti* eggs and adults

During the four survey cycles, 373 ovitraps were installed and recovered intact in the private area. Of them, 157 were positive for the presence of eggs (OPI: 42.1%), and 7,299 eggs were counted on the pallets (EDI: 46.5 eggs). We also performed indoor aspirations in 446 households and captured adult *Ae. aegypti* in 81 (18.2%) (Table 1).

Detection of non-*Ae. aegypti* species

We did not find immatures of non-*Ae. aegypti* species in the private area. However, we found immatures of *Culex quinquefasciatus* in the public space during the survey cycles 2 and 3 (2 and 31 immatures of *Cu. quinquefasciatus* in each of these cycles, respectively). All of the 33 (100%) *Cu. quinquefasciatus* immatures collected in the public area were caught in streams/ditches (puddled water). Also, during the indoor aspirations, we captured 101 adult specimens of *Cu. quinquefasciatus* in 55 (12.3%) of the 446 aspirations. Adults of *Cu. quinquefasciatus* were aspirated in the four survey cycles.

Temporal variation of *Ae. aegypti* entomological indices during the four cycles

Table 1 and Figure 2 show the measured entomological indices for each survey cycle. Although some of the indices were relatively similar between the four surveys (such as CI, HI/BI, AI), this was not always the case (such as the frequency of potential breeding sites per surveyed household, the average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site, OPI, and EDI). Yet, we did not observe any systematic pattern among the indices during the four surveys or even between the two pairs of surveys performed during the same period of different years (cycles 1 and 3, and cycles 2 and 4). We also did not observe substantial variation in the daily temperature (range: 29.5 °C to 31.5 °C), humidity (61% to 65%), and rainfall levels (3.6 mm to 4.6 mm) during the four survey cycles (Figure 2) that could potentially explain the differences of the entomological indices among the cycles.

Spatial distribution of *Ae. aegypti* entomological indices

The kernel density-ratio maps (Figure 3) and the supplementary figures (Figure S2) illustrate the spatial distribution of the presence of egg, immature and adult forms of *Ae. aegypti* for the surveyed households for the overall study period and each survey cycle separately. The visual analysis of the maps did not reveal any hotspot that was consistently detected by more than one of the entomological markers within each survey cycle, and overall, nor did it depict any clustering of a specific indicator between the cycles. Furthermore, the local Moran's I analysis for spatial autocorrelation did not show any spatial clustering for the different *Ae. aegypti* forms.

Factors associated with detection of *Ae. aegypti* immatures, eggs, and adults

Considering the four survey cycles in the private area, we found that the immatures of *Ae. aegypti* were more frequently detected in containers located outdoor (6.5%) compared to those located indoor (3.4%) ($P = 0.41$); in containers without coverage/protection (11%) compared

to those with cover/protection (3.5%) ($P = 0.01$); in containers surrounded by plants or trees (14.7%) compared to those that were not (5%) ($P = 0.02$); and in containers whose water had visual evidence of organic matter (26.8%) compared to those without (3.6%) ($P < 0.01$) (Table 2), but not all of these differences were statistically significant.

Similarly, using the data from the four surveys in the public area, we found that the frequency in which the breeding sites located in the public space had immatures of *Ae. aegypti* was higher when the breeding sites did not have coverage/protection (3.8%) compared to when they did (0.0%) ($P = 1.00$); when there were no plants or trees around them (5.3%) compared to when there were (0.0%) ($P = 0.10$); and when there were organic matters in the water (5.3%) compared to when there was not (2.7%) ($P = 0.44$) (Table 2). However, none of these differences were statistically significant.

We also investigated whether specific household characteristics were associated with the detection of *Ae. aegypti* eggs, immatures, or adults. The only statistically significant association found was between the presence of containers for water storage in the household and the detection of *Ae. aegypti* immatures (6.5% of the households with containers for water storage had immatures detected, vs. 1.7% of the households without them, $P=0.01$) (Table 3).

Investigation of arbovirus RNA in the pools of adult *Ae. aegypti* captured

The 64 pools of adult female specimens of *Ae. aegypti* (34 pools of engorged and 30 pools of non-engorged mosquitoes) were tested by qRT-PCR for DENV, ZIKV, and CHIKV. The pools size ranged from 1 to 3 mosquitoes (median: 1). All tests were negative for the three arboviruses.

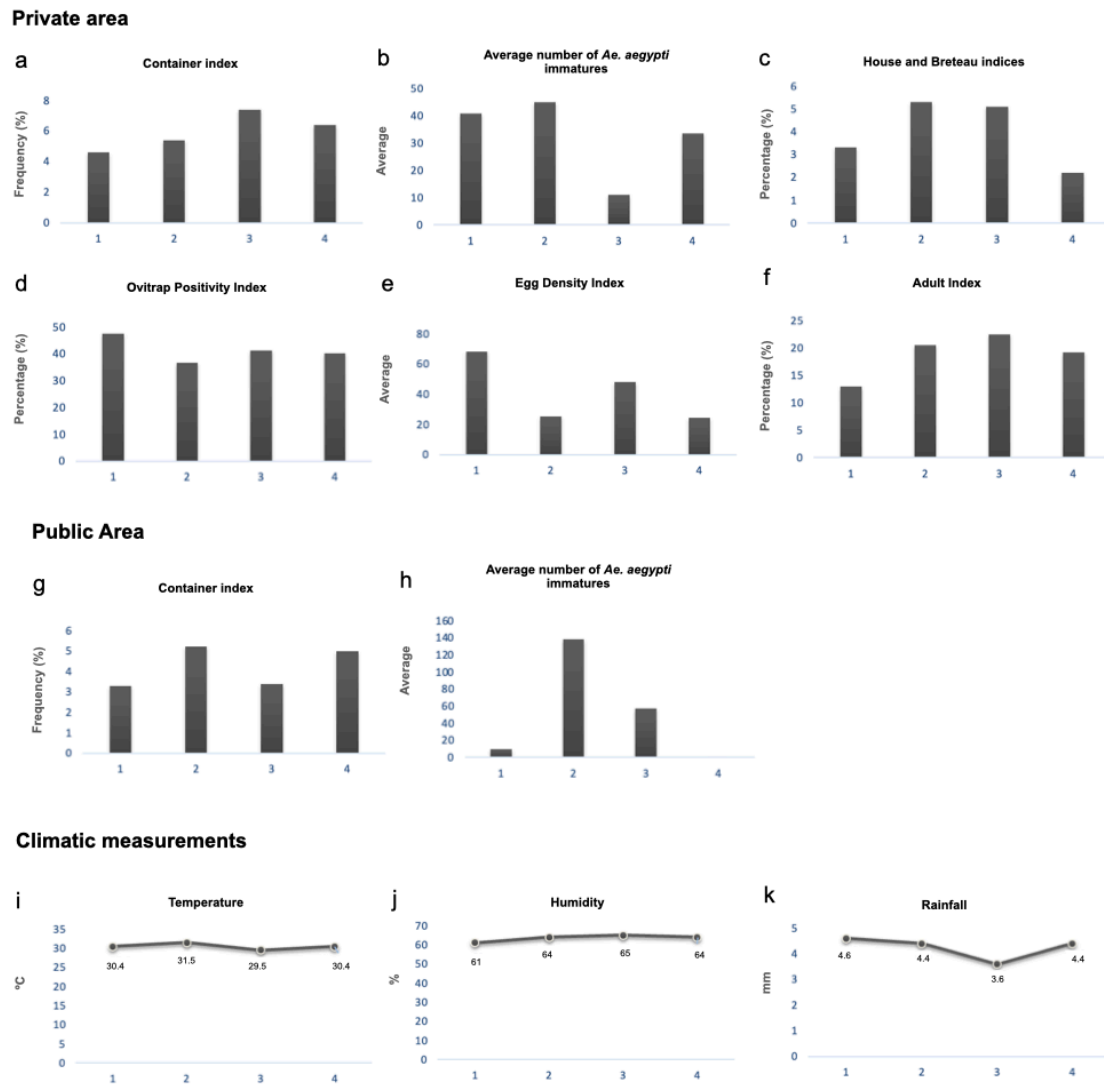


Figure 2. Entomological indices and climatic measurements for the four survey cycles (cycle 1: September-December, 2019; cycle 2: January-April, 2020; cycle 3: September-December 2020; cycle 4: January-April 2021). Private area: a. Container index (frequency of potential breeding sites positive for *Ae. aegypti* immatures). **b.** Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site **c.** House index (frequency of household with immatures in container) and Breteau Index (frequency of container with immatures per inspected households). **d.** Ovitrap Positivity Index (frequency of positive ovitraps). **e.** Egg Density Index (average number of eggs per positive trap). **f.** Adult Index (frequency of household with adults indoor). **Public area: g.** Container index. **h.** Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site. **Climatic measurements: i.** Temperature (average values of the collection days). **j.** Humidity (average values of the collection days). **k.** Rainfall (average values of the cycle period).

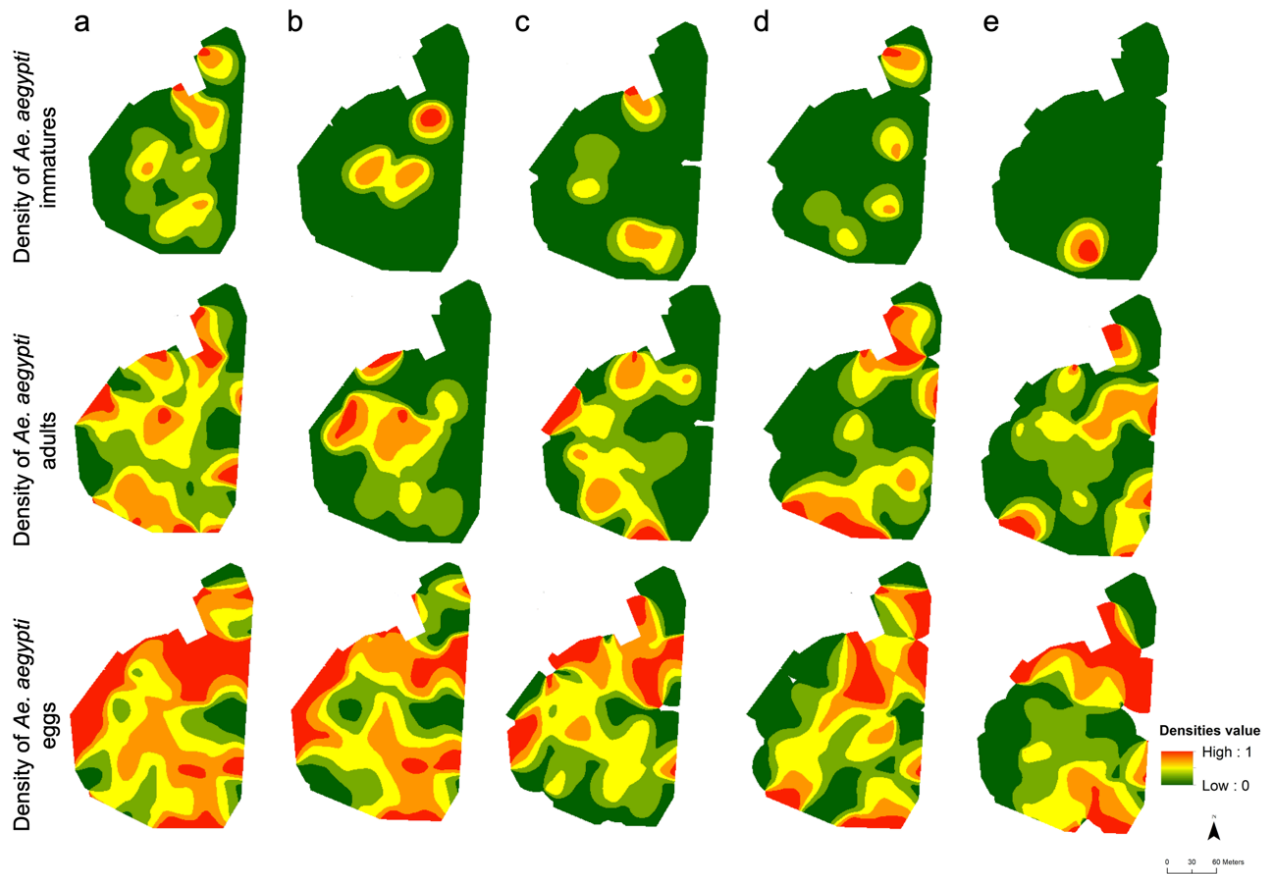


Figure 3. Kernel density-ratio maps representing densities of *Aedes aegypti* indices in the study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, for the overall and for the four survey cycles separately a. Overall (four cycles) b. Survey cycle 1: September-December, 2019. c. Survey cycle 2: January-April, 2020. d. Survey cycle 3: September-December 2020. e. Survey cycle 4: January-April 2021.

Table 1. Frequency of entomological indices for the private and public areas for the overall study period and for the four survey cycles separately, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Entomological index, according to type of area	Survey cycle				
	Overall	1	2	3	4
Private area					
Number of inspected households	448	149	112	98	89
Number of potential breeding sites	316	107	111	67	31
Frequency of potential breeding sites per 100 households	70.5	71.8	99.1	68.3	34.8
Number of potential breeding sites positive for <i>Ae. aegypti</i> immatures	18	5	6	5	2
Frequency of potential breeding sites positive for <i>Ae. aegypti</i> immatures, in percentage (container index)	5.7	4.6	5.4	7.4	6.4
House and Breteau indices, percentage	4.0	3.3	5.3	5.1	2.2
Total number of <i>Ae. aegypti</i> immatures in breeding sites	595	204	269	55	67
Average number of <i>Ae. aegypti</i> immatures per positive breeding site	33	40.8	44.8	11	33.5
Number of recovered ovitraps	373	126	90	85	72
Number of recovered ovitraps with eggs	157	60	33	35	29
Ovitrapp Positivity Index, percentage	42.1	47.6	36.6	41.1	40.2
Total number of eggs in the ovitrapp pallets	7,299	4,075	835	1,681	708
Egg Density Index, average	46.5	68	25.3	48	24.4
Number of households undergoing mosquito aspiration	446	147	112	98	89
Number of households with <i>Ae. aegypti</i> adults captured	81	19	23	22	17
Adult Index, percentage	18.2	12.9	20.5	22.4	19.1
Public area					
Number of potential breeding sites	186	89	19	58	20
Number of potential breeding sites positive for <i>Ae. aegypti</i> immatures	7	3	1	2	1
Frequency of potential breeding sites positive for <i>Ae. aegypti</i> immatures, percentage (container index)	3.7	3.3	5.2	3.4	5
Total number of <i>Ae. aegypti</i> immatures in breeding sites	283	29	138	115	1
Average number of <i>Ae. aegypti</i> immatures per positive breeding site	40.4	9.6	138	57.5	1

Table 2. Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the private and public areas, according to observed characteristics of the breeding site, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Characteristic of the potential breeding site	No. of potential breeding site	No. with <i>Ae. aegypti</i>	Frequency of positive	P value
Private area				
Location				
Outdoor	228	15	6.5%	0.41
Indoor	88	3	3.4%	
Cover/protection				
Yes	225	8	3.5%	0.01
No	91	10	11.0%	
Presence of plants or trees around *				
Yes	34	5	14.7%	0.02
No	258	13	5.0 %	
Organic matter in the water *				
Yes	41	11	26.8%	<0.01
No	195	7	3.6%	
Public area				
Cover/protection				
Yes	2	0	0.0%	1.00
No	184	7	3.8%	
Presence of plants or trees around				
Yes	55	0	0.0%	0.10
No	131	7	5.3%	
Organic matter in the water *				
Yes	75	4	5.3%	0.44
No	109	3	2.7%	

*These characteristics could not be observed in all the containers.

Table 3. Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* indicators (eggs, immatures and adults), according to the socio-environmental characteristics of the household, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Socio-environmental characteristics of the households	Number of households		% of positive	P value	Number of households		% of positive	P value	Number of households		% of positive	P value
	Inspected	With <i>Ae. aegypti</i> immature			With recovered ovitrap	With <i>Ae. aegypti</i> egg			Aspirated	With <i>Ae. aegypti</i> adult		
Irregular water provision												
Yes	240	11	4.5%	0.51	201	81	40.2%	0.44	238	65	27.3%	0.43
No	208	7	3.3%		172	76	44.1%		208	50	24.0%	
Water storage containers (water reservoirs)												
Yes	215	14	6.5%	0.01	183	72	39.3%	0.29	214	59	27.5%	0.40
No	233	4	1.7%		190	85	44.7%		232	56	24.1%	
Floor level												
Ground	341	12	3.5%	0.33	283	125	44.1%	0.14	339	92	27.1%	0.24
First or second	107	6	5.6%		90	32	35.5%		107	23	21.4%	
Residence located on an unpaved street												
Yes	4	0	0.0%	1.00	4	1	25.0%	0.64	4	1	25.0%	1.00
No	444	18	4.0%		369	156	42.2%		442	114	25.7%	
Type of residence construction												
Plastered walls	442	17	3.8%	0.21	369	154	41.7%	0.31	441	115	26.0%	0.33
Unplastered walls	6	1	16.6%		4	3	75.0%		5	0	0.0%	
No. of inhabitants												
≤ 5	414	17	4.1%	1.00	345	149	43.1%	0.13	413	104	25.1%	0.30
> 5	34	1	2.9%		28	8	28.5%		33	11	33.3%	

Note: The total number of households for each of the evaluated outcomes (eggs, immatures or adults) varies because we only analyzed households that had ovitraps recovered, whose breeding sites were accessible for evaluation of immatures, or that were aspirated.

Table S1. Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the surveyed households during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021).

Type of water container identified during the surveys	Cycle 1			Cycle 2			Cycle 3			Cycle 4			Total		
	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens
Water bucket	41 (38.4)	2 (4.8)	144	49 (44.1)	3 (6.1)	249	20 (29.9)	0 (0.0)	0	4 (12.9)	0 (0.0)	0	114 (36.1)	5 (4.3)	393
Water tank, connected to the water supply service	35 (32.8)	0 (0.0)	0	19 (17.2)	0 (0.0)	0	28 (41.8)	1 (3.5)	5	21 (67.8)	2 (9.5)	67	103 (32.6)	3 (2.9)	72
Water vat	10 (9.4)	1 (10.0)	1	12 (10.8)	0 (0.0)	0	5 (7.4)	0 (0.0)	0	1 (3.2)	0 (0.0)	0	28 (8.9)	1 (3.5)	1
Water tank, not connected to the water supply service	8 (7.4)	0 (0.0)	0	9 (8.1)	2 (22.2)	6	8 (11.9)	1 (12.5)	27	5 (16.1)	0 (0.0)	0	30 (9.5)	3 (10)	33
Plastic container	7 (6.5)	1 (14.2)	57	11 (9.9)	1 (9)	14	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	18 (5.7)	2 (11.1)	71
Plant vase	2 (1.9)	1 (50.0)	2	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	4 (1.3)	1 (25)	2
Cistern	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	1 (100)	15	0 (0.0)	0 (0.0)	0	3 (1)	1 (33.3)	15
Bottle / can	1 (0.9)	0 (0.0)	0	2 (1.8)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	3 (1)	0 (0.0)	0
Religious object	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	1 (100)	4	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (0.6)	1 (50)	4
Sink	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (0.6)	0 (0.0)	0
Home drain	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (0.6)	0 (0.0)	0
Toilet tank	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (1.8)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (0.6)	0 (0.0)	0
Pan/cauldron	1 (0.9)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (0.6)	0 (0.0)	0
Broken fan	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.9)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.3)	0 (0.0)	0
Concrete block	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	1(100)	4	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.3)	1(100)	4
Gallon water	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.5)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.3)	0 (0.0)	0
Total	107 (100)	5 (4.6)	204	111 (100)	6 (5.4)	269	67 (100)	5 (7.4)	55	31 (100)	2 (6.4)	67	316 (100)	18 (5.7)	595

Table S2. Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the public area during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021).

Type of water container identified during the surveys	Cycle 1			Cycle 2			Cycle 3			Cycle 4			Total		
	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens	No. of containers (%)	No. with <i>Ae. aegypti</i> (%)	No. of <i>Ae. aegypti</i> specimens
Plastic container	46 (51.7)	0 (0.0)	0	4 (21)	0 (0.0)	0	32 (55.2)	1 (3.1)	17	5 (25)	0 (0.0)	0	87 (46.8)	1 (1.1)	17
Stream / ditch (puddled)	16 (18)	0 (0.0)	0	6 (31.6)	0 (0.0)	0	12 (20.7)	1 (8.3)	98	10 (50)	1 (10)	1	44 (23.6)	2 (4.5)	99
Puddle	10 (11.2)	0 (0.0)	0	5 (26.4)	0 (0.0)	0	5 (8.7)	0 (0.0)	0	3 (15)	0 (0.0)	0	23 (12.3)	0 (0.0)	0
Plastic bag	5 (5.8)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	6 (3.1)	0 (0.0)	0
Water bucket	3 (3.4)	0 (0.0)	0	1(5.2)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	5 (2.6)	0 (0.0)	0
Bottle / can	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	3 (5.2)	0 (0.0)	0	1 (5)	0 (0.0)	0	4 (2.1)	0 (0.0)	0
Styrofoam box	1 (1.1)	0 (0.0)	0	1(5.2)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	1 (5)	0 (0.0)	0	4 (2.1)	0 (0.0)	0
Toilet (unused)	1 (1.1)	1 (100)	5	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (1)	1 (50)	5
Plastic tarp on the ground	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (10.6)	1 (50)	138	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	2 (1)	1 (50)	138
Blender cup	1 (1.1)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Construction debris	1 (1.1)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Sewer	1 (1.1)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Umbrella	1 (1.1)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Metal cover	1 (1.1)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Water tank	1 (1.1)	1 (100)	19	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	1 (100)	19
Washing machine (unused)	1 (1.1)	1 (100)	5	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	1 (100)	5
Sink plunger	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Plastic pool (abandoned)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (1.7)	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	1 (0.6)	0 (0.0)	0
Total	89 (100)	3 (3.3)	29	19 (100)	1 (5.2)	138	58 (100)	2 (3.4)	115	20 (100)	1 (5)	1	186 (100)	7 (3.7)	283



Figure S1. Study area and surveyed households in each of four survey cycles, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. a. Survey cycle 1: September-December, 2019. **b.** Survey cycle 2: January-April, 2020. **c.** Survey cycle 3: September-December 2020. **d.** Survey cycle 4: January-April 2021.

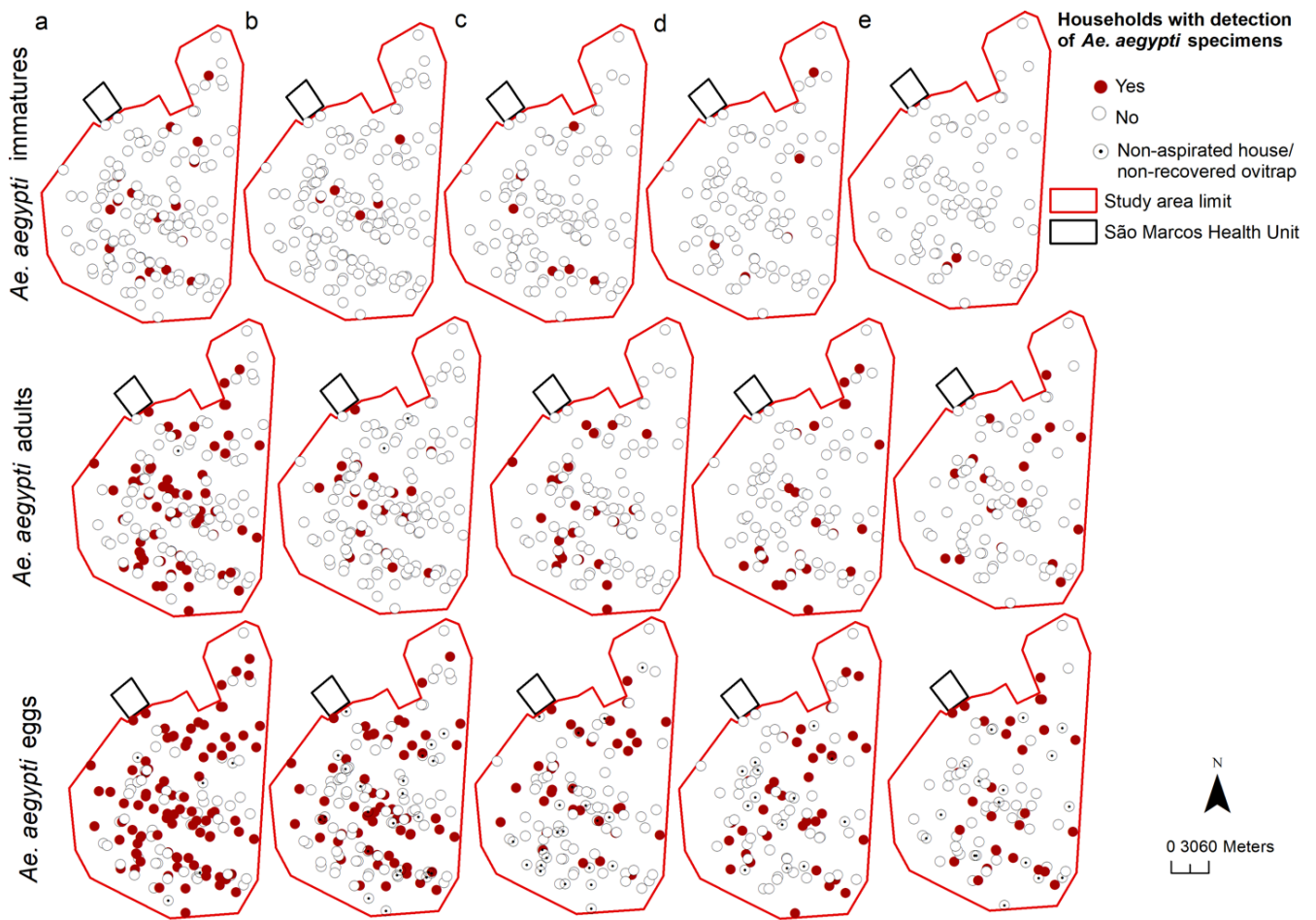


Figure S2. Spatial distribution of study households according to the collection of *Aedes aegypti* immatures, adults, and eggs overall and for each survey cycle, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. a. Overall (four cycles) b. Survey cycle 1: September-December, 2019. c. Survey cycle 2: January-April, 2020. d. Survey cycle 3: September-December 2020. e. Survey cycle 4: January-April 2021.

Discussion

This series of entomological surveys in a Brazilian urban slum support that *Ae. aegypti* reproduction can occur in households or public spaces. However, although the relative frequency in which immatures of *Ae. aegypti* were found in water containers located in the private area was relatively similar to that found in the public space (5.7% and 3.7%, respectively), the absolute number of potential breeding sites in the private area was much higher compared to the public area (316 versus 186), and the total number of breeding sites containing immature specimens of *Ae. aegypti* as well (18 versus 7). These differences could have been even more significant if we had surveyed all households in the study site rather than a sample. Despite the relatively more significant role of the household environment in *Ae. aegypti* reproduction, integrated actions to reduce vector infestation need to target both spaces.

We found that water buckets and tanks were the most frequent types of water containers in the private area and those that most contributed to the growth of *Ae. aegypti* immatures in this area. Notably, in 70% of the survey inspections, we found a potential breeding site in the households, and most often, they were a type of water reservoir used to store water for daily needs. Furthermore, the presence of a water storage reservoir was significantly associated with detecting immatures in the house, reinforcing those containers used to accumulate water were the mainstay for *Ae. aegypti* proliferation in this community [5,26–28]. A regular supply of potable water to households is thus a pivotal action to reduce the population's need for water storage, potentially impacting *Ae. aegypti* reproduction and arboviral transmission risk.

We also found that *Ae. aegypti* preferred to breed in water sources outside the house rather than indoors. The difference in the frequency of immatures between water sources located inside and outside the household was almost twice, although not statistically significant. Similar findings have been reported in other studies and may have important epidemiological implications for vector control practices [5,6,29,30]. As expected, the frequency of immatures in water sources that were covered was much lower than those that were not. Thus, given the observed need of urban slum communities to store water, intersectoral actions must be carried on by the health, infrastructure, and education authorities to instruct the population regarding the importance of adequately closing their water tanks, as well as that the state provide covered water tanks for those who can't afford them [31]. Differently, in the studied public area, most mosquito breeding sites comprised water accumulated in the urban environment, such as puddled water or abandoned containers and garbage, which cannot be covered. Thus, the interventions to mitigate *Ae. aegypti* reproduction in the public space must be based on

sanitation measures, including improving the water drainage system and solid waste management.

Other container characteristics can also influence the capacity of the accumulated water to serve as a breeding site [32]. In our study, the presence of organic matter in the water favored the detection of *Ae. aegypti* immatures in both the private and public areas (Table 2). Although *Culex* mosquitoes are those that typically reproduce in water rich in organic matters [20], our finding reinforces others, showing that *Ae. aegypti* has adapted to produce in non-traditional breeding sites that are rich in organic matter, such as rainwater drainage structures and sewers [14–16,31]. We also found that the presence of vegetation surrounding the water containers largely increased the positivity of the breeding site for immatures in the private area (Table 2). Proximity to vegetation might affect container positivity as vegetation is a vital sugar feeding resource and serves as a resting site for mosquitoes[32].

Climatic factors in Salvador do not vary much. Average temperatures vary by 2.8 °C throughout the year, and the average rainfall difference between the driest (December) and the wettest month (May) of the year is only 138 mm [33]. In places where the climatic factors present more significant variation, entomological indices fluctuation may be more evident, usually showing an increase *Ae. aegypti* infestation at higher temperatures and lower precipitation [29,32,34]. The non-observation of any specific trend in the *Ae. aegypti* infestation indices measured during the four survey cycles may therefore reflect the slight fluctuation of Salvador's climatic conditions.

We found an oscillation in the frequency of potential breeding sites in the private area over the four survey cycles and a substantial decrease in the last one (Table 1). This reduction may reflect the guidance given by the researchers to the inhabitants during each household visit. Despite this reduction in the potential breeding sites found, the frequency of breeding sites with *Aedes aegypti* immatures did not vary significantly during the four cycles (Table 1), indicating that the *Ae. aegypti* positivity did not differ remarkably even when there was a reduction of available breeding sites.

Regarding the *Ae. aegypti* entomological indicators, there is no consensus on which of them (eggs or immatures) would be more adequate to predict the presence of the adult mosquito, the stage directly linked to arbovirus transmission. Manrique-Saide et al. (2014) showed an association between outdoor ovitrap and indoor adult positivity, suggesting that ovitrap collections may represent a practical method of monitoring the presence of indoor *Ae. aegypti* females [35]. They and other authors have shown that surveys based on oviposition traps may be more sensitive than indoor adult mosquito collection [35–37]. In this study, the OPI was

approximately two times higher than the AI for each cycle; compared with the other entomological indices, the OPI was the most representative in all cycles (Table 1). As the adult *Ae. aegypti* is the most critical stage for arboviral transmission [38], and oviposition traps are the most sensitive method to predict the presence of the adult mosquito, the applicability of traditional indices based on *Ae. aegypti* larvae or pupae as indicators of adult infestations used by vector control programs remains questionable.

In this study, we found no consistent pattern in the spatial distribution of the *Ae. aegypti* eggs, immatures of adults, neither among them nor for each of them over time. These findings may be because our surveys were carried out in a small area with relatively similar social and environmental characteristics, which could explain the occurrence of *Ae. aegypti* hotspots. In other studies, performed in larger areas, researchers demonstrated that each particular region had its own vector spatial dynamics. Despite that, hotspots observed during one survey did not necessarily predict hotspots at the same location during subsequent surveys, since the environmental characteristics are dynamic [39,40]. In addition, the discordance that we observed between the areas where eggs, immatures, and adults were found may suggest that when used separately, none of these entomological indicators is accurate enough to capture the spatial distribution of *Ae. aegypti* in an urban slum.

Although we did not find any positive mosquito pools for DENV, ZIKV, and CHIKV, Salvador has been an epicenter for epidemics of these arboviruses [1,41,42]. Detecting arbovirus in mosquitoes is challenging during non-epidemic periods, especially when mosquito captures are not guided by the presence of human infected cases in the local. This may explain the negative results in our tested pools. In Salvador, a massive transmission of CHIKV occurred between the second and third survey cycles (a period when we could not perform entomological surveys due to the isolation recommendations because of the COVID-19 pandemic) [43]. In addition, during the whole study period, the transmission of DENV and ZIKV in Salvador was very low [44,45]. Finally, we tested a relatively small number of mosquitoes, which reduced the chance of arbovirus detection.

Our study has other limitations. Due to the pandemic, it was impossible to carry out field activities between May and August 2020. The relatively short period of study could have hindered the identification of temporal patterns regarding the *Ae. aegypti* indices. Besides, 60 (40%) of the households were lost-to-follow-up during the four survey cycles, and not all installed ovitraps were successfully recovered. These two factors may have limited the power of our analysis.

Conclusion

Our findings highlight the versatility of *Ae. aegypti* mosquitoes, which can reproduce in various habitats in urban slums, challenging prevention of arbovirus transmission in such settings. As we found that household storage of water and uncovered accumulation of water in the households as well as in ditches and solid wastes disposals are critical for *Ae. aegypti* proliferation, efforts should be made to improve basic sanitation services in slums, especially provision of regular water supply, rainwater drainage, and solid waste management. Despite we have used different strategies for monitoring the levels of *Ae. aegypti* infestation, including using oviposition traps and adult mosquitoes capture, we did not find evidence to support the existence of vector *hotspots* in the study site. This may suggest that *Ae. aegypti* reproduction is widespread in urban slums and that focal interventions to reduce the vector may have limited effectiveness. Further studies in large slum areas are needed to confirm our findings.

Abbreviations

DENV: Dengue virus; ZIKV: Zika virus; CHIKV: Chikungunya virus; INMET: Instituto Nacional de Meteorologia; RT-PCR: Real-time polymerase chain reaction; REDCAP: Research electronic data capture; CI: Container Index; OPI: Ovitrap Positivity Index; EDI: Egg Density Index; HI: House Index; BI: Breteau Index; AI: Adults Index.

Acknowledgments

We thank the community of Pau da Lima for their hospitality and support during the study.

Funding

This work was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development under Grants 400830/2013-2, 440891/2016-7, and 307450/2017-1 to G.S.R., and scholarships to M.G.R., and G.S.R.; the Bahia Foundation for Research Support under Grants PET0022/2016 and SUS0019/2021 to G.S.R.; the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, Brazilian Ministry of Education under grant 88881.130749/2016- 01 to G.S.R.; Program for Research Excellence (PROEP) - IGM-Fiocruz/2020; the Department of Science and Technology, Secretariat of Science, Technology and Strategic Inputs, Brazilian Ministry of Health; the Federal University of Bahia; and the Oswaldo Cruz Foundation. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Availability of data and material

All relevant data are included in the paper.

Author Contributions

R.L.S., R.J.N., and H.D.A contributed to the conception and design of the study, planning, organization, and collection of mosquito specimens and field data, and to the identification of the collected specimens. R.O.A. contributed to the household's selection and data collection. M.M.P. and L.C.J.N. performed the RT-PCR tests. R.L.S., R.J.N., and H.D.A analyzed and interpreted the data. R.L.S. and G.S.R. wrote the first version of the manuscript. U.D.K. and G.S.R. guided the conception and planning of the study, data analysis, and interpretation of results. All authors critically reviewed and approved the final version of the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

The study was reviewed and approved by the Ethical Committee of the Oswaldo Cruz Foundation, Salvador, Brazil (CAAE:57221816.8.0000.0040). Although no surveys were carried out directly with people, all those responsible for the household signed the study Informed Consent Form.

References

1. Silva MMO, Tauro LB, Kikuti M, Anjos RO, Santos VC, Gonçalves TSF, et al. Concomitant Transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in Brazil: Clinical and Epidemiological Findings From Surveillance for Acute Febrile Illness. 2019;69:1353–9.
2. Cardoso CW, Paploski IAD, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MMO, Campos GS, et al. Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 2015;21:2274–6.
3. Fritzell C, Rousset D, Adde A, Kazanji M, van Kerkhove MD, Flamand C. Current challenges and implications for dengue, chikungunya and Zika seroprevalence studies worldwide: A scoping review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018;12:1–29.

4. Jones R, Kulkarni MA, Davidson TMV, Talbot B, Sander B, González C, et al. Arbovirus vectors of epidemiological concern in the Americas: A scoping review of entomological studies on Zika, dengue and chikungunya virus vectors. *PLoS ONE*. 2020;15:1–17.
5. Ngugi HN, Mutuku FM, Ndenga BA, Musunzaji PS, Mbakaya JO, Aswani P, et al. Characterization and productivity profiles of *Aedes aegypti* (L.) breeding habitats across rural and urban landscapes in western and coastal Kenya. *Parasites and Vectors*. *Parasites & Vectors*; 2017;10:1–12.
6. Wilson-Bahun TA, Kamgang B, Lenga A, Wondji CS. Larval ecology and infestation indices of two major arbovirus vectors, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in Brazzaville, the capital city of the Republic of the Congo. *Parasites and Vectors* [Internet]. *BioMed Central*; 2020;13:1–18. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04374-x>
7. Kikuti M, Cunha GM, Paploski IAD, Kasper AM, Silva MMO, Tavares AS, et al. Spatial distribution of dengue in a Brazilian Urban slum setting: Role of socioeconomic gradient in disease risk. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. *Public Library of Science*; 2015;9.
8. Bonifay T, Douine M, Bonnefoy C, Hurpeau B, Nacher M, Djossou F, et al. Poverty and Arbovirus Outbreaks: When Chikungunya Virus Hits More Precarious Populations Than Dengue Virus in French Guiana. *Open Forum Infectious Diseases*. *Oxford University Press*; 2017;4.
9. Bisanzio D, Martello E, Izenour K, Stevens K, Kaur R, McKenzie BA, et al. Arboviral diseases and poverty in Alabama, 2007–2017. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. *Public Library of Science*; 2021;15.
10. do Carmo RF, Silva Júnior JVJ, Pastor AF, de Souza CDF. Spatiotemporal dynamics, risk areas and social determinants of dengue in Northeastern Brazil, 2014–2017: an ecological study. *Infectious Diseases of Poverty*. *BioMed Central Ltd*; 2020;9.
11. Hotez PJ, Basáñez MG, Acosta-Serrano A, Grillet ME. Venezuela and its rising vector-borne neglected diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. *Public Library of Science*; 2017.
12. Ferreira AC, Chiaravalloti F, Ii N, Neto FC. Infestação de área urbana por *Aedes aegypti* e relação com níveis socioeconômicos. *Rev Saúde Pública*. 2007.
13. Spiegel JM, Bonet M, Ibarra AM, Pagliccia N, Ouellette V, Yassi A. Social and environmental determinants of *Aedes aegypti* infestation in Central Havana: Results of a case-control study nested in an integrated dengue surveillance programme in Cuba. *Tropical Medicine and International Health*. 2007;12:503–10.
14. Manrique-Saide P, Arisqueta-Chablé C, Geded-Moreno E, Herrera-Bojórquez J, Valentín UC, Chablé-Santos J, et al. An assessment of the importance of subsurface catch basins for

- Aedes aegypti* adult production during the dry season in a neighborhood of Merida, Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* [Internet]. 2013;29:164–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23923331>
15. Baak-Baak CM, Arana-Guardia R, Cigarroa-Toledo, Nohemi Puc-Tinal M, Coba-Tún C, Rivero-Osorno, Víctor Lavalle-Kantun D, Alba Loroño-Pino, María Machain-Williams C, et al. Urban mosquito fauna in Mérida City, México: Immatures collected from containers and storm-water drains/catch basins. *National Institutes of Health*. 2014;40:1394–403.
 16. Roger Arana-Guardia, Carlos M. Baak-Baak, María Alba Loroño-Pino CM-, Williams, Barry J. Beaty, Lars Eisen and JEG-R. Stormwater Drains and Catch Basins as Sources for Production of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. 2014;33–42.
 17. INMET. INMET - Instituto Nacional de Meteorologia [Internet]. Internet. 2015. Available from: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home2/index>
 18. Secretaria Municipal de Saúde. Prefeituras-bairro, População e Densidade Populacional. Salvador-Bahia, 2010 [Internet]. 2018. Available from: http://www.saude.salvador.ba.gov.br/wp-content/uploads/2018/01/volume-_i_anexo_versao_consulta_publica_18_01_18.pdf
 19. Ribeiro GS, Kikuti M, Tauro LB, Nascimento LCJ, Cardoso CW, Campos GS, et al. Does immunity after Zika virus infection cross-protect against dengue? *The Lancet Global Health*. Elsevier Ltd; 2018. p. e140–1.
 20. Consoli RAGB, Oliveira C e RL. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. 1994th ed. 1994.
 21. Vazquez-Prokopec GM, Galvin WA, Kelly R, Kitron U. A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. *Journal of Medical Entomology*. 2009;46:1256–9.
 22. Santiago GA, Vázquez J, Courtney S, Matías KY, Andersen LE, Colón C, et al. Performance of the Trioplex real-time RT-PCR assay for detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. *Nature Communications* [Internet]. Springer US; 2018;9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-03772-1>
 23. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)-A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *Journal of Biomedical Informatics* [Internet]. Elsevier Inc.; 2009;42:377–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>
 24. StataCorp. *Stata Statistical Software: Release 12*. College Station, TX: StataCorp LP; 2011.

25. Anselin L, Syabri I, Kho Y. GeoDa: An introduction to spatial data analysis. *Geographical Analysis*. 2006;38:5–22.
26. Joelma Soares-da-Silva SSIJMTBWPT and VCSP. Variation in *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera, Culicidae) infestation in artificial containers in Caxias, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2012;45(2):174–9.
27. Duarte EH, Pereira J, Oliveira H de, Lima HS, Perez A, Pile E. *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera: Culicidae) em algumas ilhas de Cabo Verde: tipologia dos criadouros e sua relação com a presença larval. *Arquivos do Instituto Biológico. FapUNIFESP (SciELO)*; 2013;80:359–62.
28. Pedro María Alarcón-Elbal MAR-SCR-MLTCAAAAFAFRMRLRP-R. Breeding Sites of Synanthropic Mosquitoes in Zika-Affected Areas of the Dominican Republic. *J Am Mosq Control Assoc* [Internet]. 2021;37(1):10–9. Available from: <http://meridian.allenpress.com/jamca/article-pdf/37/1/10/2810832/i8756-971x-37-1-10.pdf>
29. Dhimal M, Gautam I, Joshi HD, O’Hara RB, Ahrens B, Kuch U. Risk Factors for the Presence of Chikungunya and Dengue Vectors (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*), Their Altitudinal Distribution and Climatic Determinants of Their Abundance in Central Nepal. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2015;9:1–20.
30. Msellemu D, Gavana T, Ngonyani H, Mlacha YP, Chaki P, Moore SJ. Knowledge, attitudes and bite prevention practices and estimation of productivity of vector breeding sites using a habitat suitability score (Hss) among households with confirmed dengue in the 2014 outbreak in dar es salaam, tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2020;14:1–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007278>
31. Philbert A, Ijumba JN. Preferred breeding habitats of *Aedes Aegypti* (Diptera-Culicidae) Mosquito and its public health implications in Dares Salaam, Tanzania. *E3 Journal of Environmental Research and Management* [Internet]. 2013;4:344–0351. Available from: <http://www.e3journals.org>
32. Paul KK, Dhar-Chowdhury P, Emdad Haque C, Al-Amin HM, Goswami DR, Heel Kafi MA, et al. Risk factors for the presence of dengue vector mosquitoes, and determinants of their prevalence and larval site selection in Dhaka, Bangladesh. *PLoS ONE* [Internet]. 2018;13:1–19. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0199457>
33. CLIMATE-DATA.ORG. Salvador Clima (Brasil) [Internet]. 2021. Available from: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/bahia/salvador-854/#climate-table>
34. Malik A, Yasar A, Tabinda AB, Zaheer IE, Malik K, Batool A, et al. Assessing spatio-temporal trend of vector breeding and dengue fever incidence in association with

meteorological conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*. *Environmental Monitoring and Assessment*; 2017;189.

35. Manrique-Saide P, Coleman P, McCall PJ, Lenhart A, Vázquez-Prokopec G, Davies CR. Multi-scale analysis of the associations among egg, larval and pupal surveys and the presence and abundance of adult female *Aedes aegypti* (*Stegomyia aegypti*) in the city of Merida, Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*. 2014;28:264–72.

36. Focks DA. *Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors*. 2003.

37. Paho. *Dengue and dengue hemorrhagic fever in the americas: guidelines for prevention and control*. 1994. p. 98.

38. Morrison AC, Zielinski-gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. *Defining Challenges and Proposing Solutions for Control of the Virus Vector Aedes aegypti*. 2008;5:362–6.

39. LaCon G, Morrison AC, Astete H, Stoddard ST, Paz-Soldan VA, Elder JP, et al. *Shifting Patterns of Aedes aegypti Fine Scale Spatial Clustering in Iquitos, Peru*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. *Public Library of Science*; 2014;8.

40. Albrieu-Llinás G, Espinosa MO, Quaglia A, Abril M, Scavuzzo CM. *Urban environmental clustering to assess the spatial dynamics of Aedes aegypti breeding sites*. *Geospatial Health*. *Page Press Publications*; 2018;13:135–42.

41. Cardoso CW, Kikuti M, Prates APPB, Paploski IAD, Tauro LB, Silva MMO, et al. *Unrecognized Emergence of Chikungunya Virus during a Zika Virus Outbreak in Salvador, Brazil*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2017;1–8.

42. Tauro LB, Cardoso CW, Souza RL, Nascimento LCJ, Santos DR, Campos GS, et al. *A localized outbreak of Chikungunya virus in Salvador, Bahia, Brazil*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2019;114:2–5.

43. Secretaria municipal de saúde. *Situação epidemiológica da Chikungunya em Salvador* [Internet]. *BMC Medicine*. *BioMed Central Ltd.*; 2020 Apr. Available from: http://www.cievs.saude.salvador.ba.gov.br/boletins-epidemiologicos/?cp_boletins-epidemiologicos=2

44. Secretaria da Saúde do Estado da Bahia -Sesab. *Arboviroses*. 2022.

45. Secretaria Municipal de Saúde. *Situação epidemiológica das Arboviroses (dengue, chikungunya e Zika) em 2019* [Internet]. 2020. Available from: <https://www.paho.org/data/index.php/>

Figure legends

Figure 1. Study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Bahia, Brazil. a. Location of Salvador in Brazil. **b.** Location of the study area in Salvador. **c.** Study area showing the 149 surveyed households.

Note: Due to loss of follow-up, not all the 149 households inspected during the first survey cycle were inspected during the subsequent survey cycles.

Figure 2. Entomological indices and climatic measurements for the four survey cycles (cycle 1: September-December, 2019; cycle 2: January-April, 2020; cycle 3: September-December 2020; cycle 4: January-April 2021). Private area: a. Container index (frequency of potential breeding sites positive for *Ae. aegypti* immatures). **b.** Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site **c.** House index (frequency of household with immatures in container) and Breteau Index (frequency of container with immatures per inspected households). **d.** Ovitrap Positivity Index (frequency of positive ovitraps). **e.** Egg Density Index (average number of eggs per positive trap). **f.** Adult Index (frequency of household with adults indoor). **Public area: g.** Container index. **h.** Average number of *Ae. aegypti* immatures per positive breeding site. **Climatic measurements: i.** Temperature (average values of the collection days). **j.** Humidity (average values of the collection days). **k.** Rainfall (average values of the cycle period).

Figure 3. Kernel density-ratio maps representing densities of *Aedes aegypti* indices in the study area in the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, for the overall and for the four survey cycles separately a. Overall (four cycles) **b.** Survey cycle 1: September-December, 2019. **c.** Survey cycle 2: January-April, 2020. **d.** Survey cycle 3: September-December 2020. **e.** Survey cycle 4: January-April 2021.

Tables legends

Table 1. Frequency of entomological indices for the private and public areas for the overall study period and for the four survey cycles separately, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Table 2. Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the private and public areas, according to observed characteristics of the breeding site, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Table 3. Overall result for the four survey cycles of the frequency of *Ae. aegypti* indicators (eggs, immatures and adults), according to the socio-environmental characteristics of the household, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil, September 2019 to April 2021.

Note: The total number of households for each of the evaluated outcomes (eggs, immatures or adults) varies because we only analyzed households that had ovitraps recovered, whose breeding sites were accessible for evaluation of immatures, or that were aspirated.

Supplementary information

Additional file 1:

Figure S1. Study area and surveyed households in each of four survey cycles, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. a. Survey cycle 1: September-December, 2019. b. Survey cycle 2: January-April, 2020. c. Survey cycle 3: September-December 2020. d. Survey cycle 4: January-April 2021.

Figure S2. Spatial distribution of study households according to the collection of *Aedes aegypti* immatures, adults, and eggs overall and for each survey cycle, Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil. a. Overall (four cycles) b. Survey cycle 1: September-December, 2019. c. Survey cycle 2: January-April, 2020. d. Survey cycle 3: September-December 2020. e. Survey cycle 4: January-April 2021.

Additional file 2:

Table S1. Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the surveyed households during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021).

Table S2. Frequency of *Ae. aegypti* immatures collected in breeding sites (water containers) located in the public area during the four cycles of entomological surveys performed at the Pau da Lima neighborhood, Salvador, Brazil (Survey cycle 1: September-December, 2019; Survey cycle 2: January-April, 2020; Survey cycle 3: September-December 2020; Survey cycle 4: January-April 2021).

6 DISCUSSÃO

Embora, durante o monitoramento no Parque da Cidade, não encontramos espécies do gênero *Haemagogus* ou *Sabethes*, incriminadas como principais vetores do YFV no ciclo silvestre, outras espécies transmissoras de arbovírus foram encontradas nesta área. *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, os principais vetores do DENV, ZIKV e CHIKV foram coletadas, assim como o *Ae. scapularis*, espécie considerada como potencial vetor do YFV (SHANNON; WHITMAN; MARIOFRANCA, 1943). Além da competência desta espécie para transmissão do YFV, o *Ae. scapularis* está envolvido na transmissão do vírus Rocio, um vírus que causou diversos surtos de meningoencefalite na década de 1970 em comunidades litorâneas do sul do estado de São Paulo, região também coberta por vegetação de floresta ombrófila densa (MITCHELL et al., 1977; MITCHELL; FORATTINI, 1984). Além disso, o *Ae. scapularis* foi encontrado naturalmente infectado por vários arbovírus no Brasil, como os vírus Caraparu, Ilhéus, Kairi, Maguari, Melao e Mucambo (AITKEN; ANDERSON, 1959; SEGURA; CASTRO, 2007).

Além das espécies de *Aedes*, outras espécies como *Culex quinquefasciatus*, *Psophora ferox* (Von Humboldt, 1819), *Wyeomyia* spp. e *Limatus* sp. foram encontradas e também apresentam potencial de transmissão de arbovírus. Coletamos três espécimes de *Ps. ferox*, uma espécie da tribo Aedini que é preferencialmente diurna e geralmente se reproduz em poças temporárias que se enchem com a água da chuva (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). De acordo com esse padrão, os três espécimes foram coletados por atração humana em área de floresta ombrófila densa. Dois deles foram encontrados no mesmo ponto de coleta, ~200 m da lagoa que se seca sazonalmente, e o outro à ~240 m dessa lagoa. Esses pontos de coleta estavam entre os mais próximos da lagoa (o 2º e o 4º mais próximos). No Brasil, *Ps. ferox* foi encontrado naturalmente infectado pelos vírus Roccio, Caraparu, Ilhéus, Maguari, Mayaro, Melao, Oriboca e Una (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; LOPES et al., 1981; SEGURA; CASTRO, 2007). Assim, apesar de escassa, sua presença no parque pode representar um risco adicional de transmissão de arbovírus em humanos e animais silvestres.

Os mosquitos da tribo Aedini foram relativamente incomuns no Parque da Cidade em comparação com os da tribo Culicini, especificamente o *Cx. quinquefasciatus*, que representou 92,6% de todos os espécimes coletados. A maior abundância de *Cx. quinquefasciatus* pode ser parcialmente explicada pelo hábito noturno desta espécie e por ser altamente atraído por luzes artificiais. Sendo assim, nossa estratégia de coleta, que incluiu o uso de duas armadilhas CDC com adição do atrativo de gelo seco (CO₂) por 17h durante a noite pode ter favorecido a coleta dessa espécie. No Brasil, o *Cx. quinquefasciatus* é considerado um vetor secundário do vírus

Oropouche, um vírus que tem causado vários surtos na região amazônica brasileira (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MOURÃO et al., 2009). *Cx. quinquefasciatus* também foi encontrado infectado por outros arbovírus, como o vírus da Encefalite de Saint Louis e o vírus do Nilo Ocidental nos Estados Unidos, vírus da Encefalite Venezuelana no Panamá e do Nilo Ocidental em Guatemala (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; KENT; CRABTREE; MILLER, 2010; LILLIBRIDGE et al., 2004; MEYER; HARDY; PRESSER, 1983). Embora ainda controverso (FERNANDES et al., 2016; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 2018; ROUNDY et al., 2017), alguns estudos sugerem um papel potencial do *Cx. quinquefasciatus* na transmissão do ZIKV (AYRES et al., 2017; GUEDES et al., 2017; SMARTT et al., 2018).

Nossos achados sugerem que parques urbanos com fragmentos de Mata Atlântica podem oferecer oportunidades de transmissão de vírus de mosquitos para humanos uma vez que podem abrigar diferentes espécies de mosquitos, possíveis vetores de arbovírus e devido a sua aproximação com seres humanos. A detecção de PNHs infectados com o YFV em 2017 no Parque da Cidade e em fragmentos de mata adjacentes (PAPLOSKI et al., 2017), chama a atenção para a importância desses fragmentos, uma vez que houve circulação do YFV e pela frequência de pessoas que circulam esses locais, as quais podem estar expostas à infecções por este vírus. Além disso, Salvador apresenta alta infestação do *Ae. aegypti* um vetor competente na transmissão do YFV o que juntamente com os demais fatores mencionados, aumenta o risco de reurbanização da Febre Amarela. Além do risco de reurbanização da FA também há um risco da ocorrência de novos ciclos silvestres dos vírus DENV, ZIKV e CHIKV os quais, atualmente circulam no meio urbano no Brasil, porém são vírus de natureza primariamente silvestres (ALTHOUSE et al., 2016; TERZIAN et al., 2018; WEAVER, 2013).

Em relação aos diferentes tipos de ecossistemas presentes no remanescente de mata atlântica do Parque da Cidade, as áreas de floresta ombrófila densa apresentaram maior abundância de Culicídeos quando comparadas com as áreas de floresta de restinga. Em contrapartida, mais de 90% dos espécimes coletados na floresta ombrófila densa eram *Cx. quinquefasciatus*, enquanto que na floresta de restinga houve uma maior uniformidade na distribuição das espécies encontradas. Além disso, os valores referentes aos índices de diversidades (Shannon-Wiener e Equabilidade de Pielou), foram relativamente maiores nas áreas de restinga. Esses achados sugerem que florestas de restinga são importantes para a manutenção da diversidade de Culicídeos. No que se refere aos métodos de coleta, nossos resultados mostraram que as armadilhas do tipo CDC (solo e copa) foram relativamente mais produtivas em termos do número de mosquitos coletados em comparação ao método de atração humana protegida e esclarecida. No entanto, em relação à diversidade e uniformidade na

distribuição das espécies coletadas, o método de atração humana foi relativamente mais eficiente.

No que concerne aos monitoramentos ambientais em uma comunidade urbana em situação de vulnerabilidade socioeconômica, demonstramos que reservatórios de água como tanque, baldes e caixas d'água por exemplo, são os principais criadouros encontrados na área privada que contribuíram para reprodução do *Ae. aegypti* (maior número de mosquitos imaturos coletados). Portanto, sugerimos que o fornecimento regular de água potável às famílias é uma ação fundamental para reduzir a necessidade de armazenamento de água da população, potencialmente impactando na reprodução do *Ae. aegypti* e no risco de transmissão arbovírus. Também demonstramos que criadouros encontrados no peridomicílio foram mais positivos para o *Ae. aegypti* em relação aos criadouros encontrados no intradomicílio. Esses achados estão em concordância com outros estudos e propõem que o *Ae. aegypti* tem demonstrado uma tendência em se reproduzir em áreas mais externas ou peridomiciliares o que pode ter implicações epidemiologicamente importantes (MSELLEMU et al., 2020; NGUGI et al., 2017; WILSON-BAHUN et al., 2020). Nosso estudo também mostrou que outras características do criadouro como presença de tampa/cobertura, acúmulo de matéria orgânica visível na água ou vegetação ao redor, podem influenciar na presença do *Ae. aegypti* no criadouro.

Em relação aos espaços públicos (não residenciais), concluímos que estes locais também podem oferecer ambiente favorável para reprodução e proliferação do *Ae. aegypti*. Neste estudo, resíduo sólido descartado inapropriadamente (lixo) e valas empoçadas, foram os locais que mais contribuíram para reprodução do *Ae. aegypti* na área pública. Assim, chamamos atenção para a importância da inclusão dessas áreas em programas de vigilância entomológica como também sugerimos que a aplicabilidade dos índices tradicionais baseados em larvas de *Ae. aegypti* como indicadores de infestação, usados pelos programas de controle de vetores permanecem questionáveis. Neste sentido, salientamos sobre a importância da implementação de diferentes métodos de coletas de mosquitos, como armadilhas de oviposição e aspiração de mosquitos adultos. O uso desses métodos em conjunto com o método tradicional utilizado pelo Ministério da Saúde, pode oferecer resultados mais consistentes em relação aos níveis de infestação de *Ae. aegypti* em uma área urbana. Desta forma, esses dados podem ser usados na identificação de áreas mais suscetíveis à transmissão de arbovírus.

Sobre a distribuição do *Ae. aegypti* em áreas urbanas, estudos tem demonstrado que algumas regiões apresentam sua própria dinâmica espaço-temporal e isso se dá devido as diferentes características sociais e ambientais das diferentes áreas (ALBRIEU-LLINÁS et al., 2018; GETIS et al., 2010; LACON et al., 2014; OLANRATMANEE et al., 2013;

PADMANABHA et al., 2012; SCHNEIDER et al., 2004). Neste estudo não encontramos padrões consistentes da distribuição do *Ae. aegypti* e sugerimos que estudos realizados em áreas relativamente maiores podem apresentar diferentes características ambientais as quais podem ajudar a explicar a presença de *hotspots* de *Ae. aegypti*.

Neste estudo não encontramos nenhum pool de mosquitos infectados por DENV, ZIKV ou CHIKV, porém, a identificação de arbovírus em mosquitos coletados em períodos não epidêmicos se torna mais desafiador do que quando as coletas de mosquitos são guiadas pela ocorrência de surtos ou epidemias. Todavia, o fato de Salvador ser um epicentro para epidemias de DENV, ZIKV e CHIKV (CARDOSO et al., 2017; SILVA et al., 2019; TAURO et al., 2019) gera grande preocupação às autoridades de saúde, principalmente no que diz respeito ao controle do *Ae. aegypti*. Somado a isto, pouco se sabe sobre a distribuição de outros vetores em fragmentos de vegetação dentro de áreas urbanas. Portanto, concluímos que levantamentos entomológicos que inclui tentativa de detecção de circulação de arbovírus em mosquitos, inventários de grupos importantes para transmissão de arbovírus e identificação de fatores associados à reprodução e proliferação de vetores, são cruciais para prever áreas de risco para a transmissão de arbovírus e, assim, melhorar a prevenção e as estratégias de controle de arboviroses.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo demonstrou que parques urbanos os quais apresentam fragmentos de vegetação, podem oferecer oportunidades de transmissão de vírus de mosquitos para humanos uma vez que esses parques podem abrigar espécies de mosquitos importantes na transmissão de diversos arbovírus e devido a frequência de pessoas que usualmente visitam os parques urbanos. Em nosso estudo também foi observado que floresta de restinga pode apresentar um papel importante na diversidade de Culicídeos uma vez que oferece condições favoráveis à reprodução e manutenção de diferentes espécies de mosquitos.

Nossos achados mostram que comunidades urbanas em situação de vulnerabilidade socioeconômica, como deficiência em infraestrutura e saneamento básico, podem favorecer a proliferação do *Ae. aegypti*. O descarte de lixo inadequado por exemplo, pode aumentar a produção de potenciais criadouros de mosquitos e a distribuição irregular de água nos domicílios gera uma necessidade de armazenamento de água em reservatórios e os mesmos apresentam um papel importante na reprodução do *Ae. aegypti*. Assim, concluímos que esforços devem ser feitos para melhorar os serviços de saneamento básico nas comunidades urbanas, especialmente o fornecimento regular de água, drenagem de águas pluviais e gestão de resíduos sólidos.

Diante do insucesso das estratégias de controle vetorial no Brasil e dificuldade de identificação do índice de *Ae. aegypti* mas adequado para mensurar densidade vetorial, ressaltamos a importância do uso de diferentes índices e métodos de coleta de mosquitos na tentativa de obter resultados mais consistentes em relação à densidade de vetores de uma determinada área e assim identificar de forma mais confiável as áreas mais suscetíveis à transmissão de arbovírus. Uma vez que o *Ae. aegypti* é capaz de se reproduzir em diferentes tipos de criadouros encontrados tanto em áreas domiciliares como em áreas não domiciliares (pública), ressaltamos a importância da inclusão de dados referentes aos dois tipos de ambientes pelos programas de controle de vetores.

Diante da importância que os fragmentos florestais urbanos e as comunidades urbanas vulneráveis socioeconomicamente apresentam na dinâmica de transmissão de arbovírus, ressaltamos sobre a necessidade dos monitoramentos ambientais e entomológicos contínuos nessas áreas.

REFERÊNCIAS

- AITKEN, T. H.; ANDERSON, C. R. Virus transmission studies with Trinidadian mosquitoes. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 8, n. 1, p. 41–45, 1959.
- ALBRIEU-LLINÁS, G. et al. Urban environmental clustering to assess the spatial dynamics of *Aedes aegypti* breeding sites. **Geospatial Health**, v. 13, n. 1, p. 135–142, 7 maio 2018.
- ALTHOUSE, B. M. et al. Potential for Zika Virus to Establish a Sylvatic Transmission Cycle in the Americas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 12, 15 dez. 2016.
- ARONSON, M. F. J. et al. A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1780, 12 fev. 2014.
- AYLLÓN, T. et al. Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: Initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. **PLoS ONE**, v. 13, n. 4, p. 1–11, 2018.
- AYRES, C. et al. Response to: ‘Lack of evidence for Zika virus transmission by *Culex* mosquitoes.’ **Emerging Microbes and Infections**, v. 6, n. 1, p. 1–2, 2017.
- BAAK-BAAK, C. M. et al. Urban mosquito fauna in Mérida City, México: Immatures collected from containers and storm-water drains/catch basins. **National Institutes of Health**, v. 40, n. 8, p. 1394–1403, 2014.
- BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G. **Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa**. [s.l: s.n.]. v. 22 (64).
- BISANZIO, D. et al. Arboviral diseases and poverty in Alabama, 2007–2017. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 7, 1 jul. 2021.
- BLÁZQUEZ, A.-B.; SAIZ, J.-C. Neurological manifestations of Zika virus infection. **World Journal of Virology**, v. 5, n. 4, p. 135, 2016.
- BONIFAY, T. et al. Poverty and Arbovirus Outbreaks: When Chikungunya Virus Hits More Precarious Populations Than Dengue Virus in French Guiana. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 4, 2017.
- BRADLEY, C. A.; ALTIZER, S. **Urbanization and the ecology of wildlife diseases** *Trends in Ecology and Evolution*, fev. 2007.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007a.
- BRAGA, IA. VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007b.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informe saúde**. Brasília, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**, Brasília, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância do Culex quinquefasciatus**. Brasília, 2011. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_culex_quinquefasciatus.pdf>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Levantamento rápido para índices de Aedes argypti – LIRAA – para vigilância entomológica do Aedes aegypti no Brasil**, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Controle de vetores**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/vigilancia-em-saude/controle-de-vetores>>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ministério da Saúde confirma relação entre vírus Zika e microcefalia**. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/ministerio-da-saude-confirma-relacao-entre-zika-e-microcefalia>>. Acesso em: 30 mar. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico adulto e criança. Diretoria Técnica de Gestão**, p. 80p, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Febre amarela: sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**, 2019.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. DE et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 4, p. 1278–1286, 2005.

CAMPOS, G.; BANDEIRA, A.; SARDI, S. Zika Virus Outbreak, Bahia Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1881, 2015.

CARDEÑA, E. K. et al. Estimating absolute indoor density of Aedes aegypti using removal sampling. **Parasites & Vectors**, p. 1–11, 2019.

CARDOSO, C. W. et al. Outbreak of exanthematous illness associated with zika, chikungunya, and dengue viruses, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 12, p. 2274–2276, 2015.

CARDOSO, C. W. et al. Unrecognized Emergence of Chikungunya Virus during a Zika Virus Outbreak in Salvador, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p. 1–8, 2017.

CARDOSO, D.; CÂMARA, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 31, n. 5, p. 906–908, 2015.

CARVALHO, C. J. B. DE et al. Principais Coleções Brasileiras de Díptera: Histórico e Situação Atual. **Projecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática - PrIBES 2002**, p. 37–52, 2002.

CAVALCANTE, K. R. L. J.; TAUIL, P. L. Risco de reintrodução da Febre Amarela Urbana no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, v. 26, n. 3, p. 617–620, 1 jul. 2017.

CONFALONIERI, U. E. C.; COSTA NETO, C. Diversity of mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuanã, Pará, Brazil. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2012, 2012.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, C. E. R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. 1994. ed. [s.l: s.n.].

COSTA, F. et al. Emergence of congenital zika syndrome: viewpoint from the front. **Annals of Internal Medicine**, n. February, p. 1–4, 2016.

CRUZ, A. C. R.; VASCONCELOS, P. F. DA C. Arbovírus no Brasil. **Biológico**, v. 70, n. 2, p. 45–46, 2008.

CUSTÓDIO, J. M. DE O. et al. Abiotic factors and population dynamic of aedes aegypti and aedes albopictus in an endemic area of dengue in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 61, p. 1–9, 2019.

DASTI, J. I. Zika virus infections: An overview of current scenario. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 7, p. 621–625, 2016.

DAVID, M. R.; RIBEIRO, G. S.; MACIEL-DE-FREITAS, R. Bionomics of Culex quinquefasciatus within urban areas of Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 46, n. 5, p. 858–865, 2012.

DE PAULA, M. B. et al. Fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) em parques da cidade de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 15, n. 3, 15 set. 2015.

DELLA TORRE, A. et al. The “Auto-Dissemination” Approach: A Novel Concept to Fight Aedes albopictus in Urban Areas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, p. e1793, 2012.

DIVEP. **Plano de Intensificação das ações de controle da Febre Amarela**, 2008.

DO CARMO, R. F. et al. Spatiotemporal dynamics, risk areas and social determinants of dengue in Northeastern Brazil, 2014–2017: an ecological study. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2020.

DUARTE, E. H. et al. Aedes (Stegomyia) aegypti (Diptera: Culicidae) em algumas ilhas de Cabo Verde: tipologia dos criadouros e sua relação com a presença larval. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 359–362, set. 2013.

FAETH, S. H.; BANG, C.; SAARI, S. Urban biodiversity: Patterns and mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1223, n. 1, p. 69–81, 2011.

FECOP. **Região Nordeste possui quase metade de toda a pobreza no Brasil, segundo IBGE**. Disponível em: <<https://www.fecop.seplag.ce.gov.br/2020/11/20/regiao-nordeste-possui-quase-metade-de-toda-a-pobreza-no-brasil-segundo-ibge/>>. Acesso em: 6 abr. 2022.

FERNANDES, R. S. et al. Culex quinquefasciatus from Rio de Janeiro is not competent to transmit the local Zika virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, 6 set. 2016.

FERNANDO, P. Febre amarela Yellow fever. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275–293, 2003.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: Identificação, biologia e epidemiologia**. São Paulo: Edusp, 2002. v. 2

FUNASA. **Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela**, 1999.

FUNASA. Programa Nacional de Controle da Dengue. 2002.

GETIS, A. et al. **Characteristics of the spatial pattern of the dengue vector, aedes aegypti, in Iquitos, Peru**. [s.l: s.n.].

GOMES, A. DE C. Medidas dos níveis de infestação urbana para aedes (stegomyia) aegypti e aedes (stegomyia) albopictus em Programa de Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do Sus**, v. 7, n. 3, p. 49–57, 1998.

GOMES, A. DE C. et al. Aedes albopictus em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre. **Revista de Saude Publica**, v. 33, n. 1, p. 95–97, 1999.

GOUVEIA DE ALMEIDA, A. P. Mosquitoes (Diptera, Culicidae) and their medical importance for Portugal: Challenges for the XXI Century. **Acta Medica Portuguesa**, v. 24, n. 6, p. 961–974, 2011.

GUEDES, D. R. D. et al. Zika virus replication in the mosquito Culex quinquefasciatus in Brazil. **Emerging Microbes and Infections**, v. 6, n. 8, 9 ago. 2017.

HOTEZ, P. J. et al. **Venezuela and its rising vector-borne neglected diseases** PLoS Neglected Tropical Diseases Public Library of Science, 29 jun. 2017.

HUTCHINGS, R. S. G. et al. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 19, n. 4, p. 428–441, dez. 2005.

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS; SVS. **Instituto Evandro Chagas detecta vírus da Febre Amarela em mosquito Aedes albopictus no Brasil**. Disponível em: <<https://www.iec.gov.br/descoberta/>>.

KENT, R. J.; CRABTREE, M. B.; MILLER, B. R. Transmission of West Nile virus by Culex quinquefasciatus say infected with culex flavivirus izabal. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 5, maio 2010.

KIKUTI, M. et al. Spatial distribution of dengue in a Brazilian Urban slum setting Role of socioeconomic gradient in disease risk. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 7, 2015.

KRAEMER, M. U. G. et al. The global compendium of Aedes aegypti and Ae. albopictus occurrence. **Scientific Data**, v. 2, 7 jul. 2015.

LACON, G. et al. Shifting Patterns of Aedes aegypti Fine Scale Spatial Clustering in Iquitos, Peru. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, 7 ago. 2014.

LASNEAUX, M. V. Programas de controle da dengue no Brasil: uma análise crítica dos seus principais objetivos. **Revista eixo**, v. 6, p. 87–92, 2017.

LI, Y. et al. Urbanization Increases *Aedes albopictus* Larval Habitats and Accelerates Mosquito Development and Survivorship. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 11, 2014.

LILLIBRIDGE, K. M. et al. The 2002 introduction of West Nile virus into Harris County, Texas, an area historically endemic for St. Louis encephalitis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 70, n. 6, p. 676–681, 2004.

LIMA, A. et al. Evidence for an Overwintering Population of *Aedes aegypti* in Capitol Hill Neighborhood,. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 1, p. 231–235, 2016.

LOPES, N.; LINHARES, R. E. C.; NOZAWA, C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 55, n. 43, p. 55–64, 2014.

LOPES, O. DE SOUZA et al. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil: III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819. **American journal of epidemiology**. , v. 113, n. 2, p. 122–125, 1981.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. et al. *Culex quinquefasciatus* mosquitoes do not support replication of Zika virus. **The Journal of general virology**, v. 99, n. 2, p. 258, 2018.

MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. Occurrence, productivity and spatial distribution of key-premises in two dengue-endemic areas of Rio de Janeiro and their role in adult *Aedes aegypti* spatial infestation pattern. **Tropical Medicine and International Health**, v. 13, n. 12, p. 1488–1494, dez. 2008.

MANRIQUE-SAIDE, P. et al. An assessment of the importance of subsurface catch basins for *Aedes aegypti* adult production during the dry season in a neighborhood of Merida, Mexico. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 29, p. 164–7, 2013.

MANRIQUE-SAIDE, P. et al. Multi-scale analysis of the associations among egg, larval and pupal surveys and the presence and abundance of adult female *Aedes aegypti* (*Stegomyia aegypti*) in the city of Merida, Mexico. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 3, p. 264–272, 2014.

MARCONDES, C. B.; XIMENES, M. DE F. F. DE M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. September 2015, p. 4–10, 2016.

MARTINS, V. E. et al. Spatial distribution and breeding site characteristics of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in Fortaleza, State of Ceará. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 1, p. 73–77, 2010.

MCKINNEY, M. L. Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. **Urban Ecosystems**, v. 11, n. 2, p. 161–176, jun. 2008.

MEDEIROS-SOUSA, A. R. et al. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: Larval habitats and temporal variation. **Acta Tropica**, v. 150, p. 200–209, 1 out. 2015.

MEYER, R. P.; HARDY, J. L.; PRESSER, S. B. Comparative vector competence of *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* from the Coachella, Imperial, and San Joaquin Valleys of California for St. Louis Encephalitis virus. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 32, n. 2, p. 305–311, 1983.

MIAN, L. S.; DHILLON, M. S.; DODSON, L. Field evaluation of pyriproxyfen against Mosquitoes in Catch Basins in Southern California. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 33, n. 2, p. 145–147, 2017.

MITCHELL, C. J. et al. Vector competence experiments with rocio virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. v. 4, 1977.

MITCHELL, C. J.; FORATTINI, O. P. Experimental transmission of rocio encephalitis virus by *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) from the epidemic zone in Brazil. **J. Med. Entomol**, v. 21, n. 1, 1984.

MONDET, B. et al. Biologia dos culicídeos vetores da febre amarela. **Caxiuanã: Populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica**, p. 734, 2002.

MONTOYA, R. H. et al. Review: The History of Dengue Outbreaks in the Americas. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 87, n. 4, p. 584–593, 2012.

MOORE, D. L. et al. Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 69, n. 1, p. 49–64, 1975.

MORATO, V. C. G. et al. Infestation of *Aedes aegypti* estimated by oviposition traps in Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 39, n. 4, p. 553–558, 2005.

MOURÃO, M. P. et al. Oropouche fever outbreak, Manaus, Brazil, 2007–2008. **Emerging infectious diseases**, v. 15, n. 12, p. 2063, mar. 2009.

MSELLEMU, D. et al. Knowledge, attitudes and bite prevention practices and estimation of productivity of vector breeding sites using a habitat suitability score (Hss) among households with confirmed dengue in the 2014 outbreak in dar es salaam, tanzania. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. 1–18, 2020.

NGUGI, H. N. et al. Characterization and productivity profiles of *Aedes aegypti* (L.) breeding habitats across rural and urban landscapes in western and coastal Kenya. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2017.

NOBRE, A.; ANTEZANA, D.; TAUIL, P. L. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, p. 59–65, 1994.

NÓBREGA, M. E. B. DA et al. Surto de síndrome de Guillain-Barré possivelmente relacionado à infecção prévia pelo vírus Zika, Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil, 2015.

Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Único de Saúde do Brasil, v. 27, n. 2, p. e2017039, 2018.

NOGUEIRA, R. M. et al. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 2, p. 253, 1990.

OLANRATMANEE, P. et al. Population Genetic Structure of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) at a Micro-Spatial Scale in Thailand: Implications for a Dengue Suppression Strategy. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 1, 2013.

OSANAI, C. H. **A epidemia de dengue em Boa Vista, território Federal de Roraima, 1981-1982**. Rio de Janeiro: [s.n.].

PADMANABHA, H. et al. The Interactive Roles of *Aedes aegypti* Super-Production and Human Density in Dengue Transmission. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, ago. 2012.

PAHO/WHO. Epidemiological Update: Yellow Fever - 7 dec., 2018. n. January 2017, p. 1–7, 2018.

PANCETTI, F. G. M. et al. Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: A rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 1, p. 87–89, 2015.

PAPLOSKI, I. A. D. et al. Storm drains as larval development and adult resting sites for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Salvador, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 9, n. 1, 27 jul. 2016.

PAPLOSKI, I. A. D. et al. Epizootic Outbreak of Yellow Fever Virus and Risk for Human Disease in Salvador, Brazil. **Annals of Internal Medicine**, n. November, p. 1–4, 2017.

POSSAS, C. et al. Yellow fever outbreak in Brazil: The puzzle of rapid viral spread and challenges for immunisation. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 10, p. 1–12, 2018.

RAAFAT, N.; BLACKSELL, S. D.; MAUDE, R. J. A review of dengue diagnostics and implications for surveillance and control. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene**, p. 1–8, 2019.

RITA, M. et al. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, p. 1–6, 2017.

ROMERO-VIVAS, CLAUDIA M. E. FALCONAR, A. K. I. Investigations of relationships between *Aedes aegypti* egg, larvae, pupae, and adult density indices where their main breeding sites were located indoors. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, p. 15–21, 2005.

ROSS, R. W. The newala epidemic: III. The virus: Isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. **J Hyg (Lond)**, v. 54(2), p. 177–91, 1956.

ROUNDY, C. M. et al. Lack of evidence for Zika virus transmission by Culex mosquitoes. **Emerging Microbes and Infections**, v. 6, n. 1, p. 1–2, 2017.

SAKKAS, H. et al. An Update on Sexual Transmission of Zika Virus. **pathogens**, v. 7, p. 1–14, 2018.

SCHNEIDER, J. R. et al. Population and community ecology adult size and distribution of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) associated with larval habitats in Iquitos, Peru. **Entomological Society of America**, p. 634–642, 2004.

SECRETARIA DA SAÚDE. **Arboviroses – Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela**. Disponível em: <<http://www.saude.ba.gov.br/suvisa/vigilancia-epidemiologica/doencas-de-transmissao-vetorial/arboviroses-dengue-chikungunya-zika-e-febre-amarela/>>.

SEGURA, M. DE N. DE O.; CASTRO, F. C. **Atlas de culicídeos na Amazônia brasileira: características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae**. [s.l: s.n.].

SHANNON, R. C.; WHITMAN, L.; MARIOFRANCA. Yellow Fever Virus in jungle mosquitoes. **The Lancet**, v. 241, n. 6243, p. 534–535, 1943.

SILVA, C. E.; LIMONGI, J. E. Avaliação comparativa da eficiência de armadilhas para a captura e coleta de Aedes aegypti em condições de campo. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 26, n. 3, p. 241–248, 2018.

SILVA, M. M. O. et al. Concomitant Transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in Brazil: Clinical and Epidemiological Findings From Surveillance for Acute Febrile Illness. v. 69, p. 1353–1359, 2019.

SMARTT, C. T. et al. Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae) from Florida transmitted Zika virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. APR, 26 abr. 2018.

TAURO, L. B. et al. A localized outbreak of Chikungunya virus in Salvador, Bahia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 114, p. 2–5, 2019.

TEIXEIRA, M. G. Few characteristics of dengue's fever epidemiology in Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 54, n. 1, p. 2010–2013, 2012.

TEIXEIRA, M. G. et al. East/central/South African genotype chikungunya virus, Brazil, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 5, p. 906–908, 2015.

TERZIAN, A. C. B. et al. Evidence of natural Zika virus infection in neotropical non-human primates in Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018.

TURRINI, T.; KNOP, E. A landscape ecology approach identifies important drivers of urban biodiversity. **Global Change Biology**, v. 21, n. 4, p. 1652–1667, 1 abr. 2015.

VASCONCELOS, P. F. DA C. Febre amarela (Yellow Fever). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275–293, 2003.

WEAVER, S. C. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. **Trends in Microbiology: Cell press**, v. 21, p. 360–363, 2013.

WHO. **Arthropod-Born and Rodent-Borne Viral Diseases**. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/39922>>. Acesso em: 30 mar. 2022.

WHO. **Dengue and severe dengue fact sheet**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>>.

WILSON-BAHUN, T. A. et al. Larval ecology and infestation indices of two major arbovirus vectors, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in Brazzaville, the capital city of the Republic of the Congo. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2020.

WU, J. Y. et al. Review: Dengue fever in mainland China. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 3, p. 664–671, 2010.

XAVIER, J. ET AL. Circulation of chikungunya virus East / Central / South African lineage in Rio de Janeiro, Brazil. **PLOS ONE**, n. November 2015, p. 1–14, 2019.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. June, p. 569–572, 2015.

ZARA, A. L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde: Revista Do Sistema Único de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.

Anexos A: Certificado Doutorado Sanduíche

EMORY
COLLEGE

Department of Environmental Sciences

Jan. 24, 2019

Subject: Certificate of attendance

To whom it may concern,

I, Professor Uriel Kitron, Department of Environmental Studies, Emory University

DECLARE

that Raquel Lima de Souza, currently enrolled in the PHD program at Fiocruz, Salvador, Bahia, has completed a period of research at the Department of Environmental Studies, Emory University, Atlanta (GA, USA) under my supervision, from August to December, 2018 with support from CAPES.



During this period Raquel has worked closely with me, with another faculty member, Dr. Julie Clennon, and with other graduate students and post-docs. She has taken part in the West Nile virus projects that our research group is conducting, participating in field work, lab work, paper discussions, and data management and analysis. She has developed skills in GIS (Geographic Information Systems), spatial analysis and eco-epidemiology through attending courses, independent studies, and seminars.

Raquel has applied the GIS/Spatial analysis tools to her mosquito data, has presented his data to our group, and has attended and presented in the American Society of Tropical medicine and Hygiene annual meeting in New Orleans, USA in October 2018.

Handwritten signature of Uriel Kitron in black ink.

Uriel Kitron, Ph.D., MPH
Goodrich C. White Professor,
Department of Environmental Sciences
Emory University, Atlanta, GA 30322 Tel: (404) 727-4253;
ukitron@emory.edu: http://ems.emory.edu/home/people/faculty/kitron_uriel.html

Anexos B: Questionário investigação na área privada

CONFIDENCIAL		MONITORAMENTO AMBIENTAL PAU DA LINA (ÁREA PRIVADA)		CONFIDENCIAL	
		Page 1 of 10		Page 2 of 10	
Area Privada (1ª visita)					
Numero de identificação do projeto	_____				
Numero de identificação do projeto	_____				
Latitude	_____ (7 DIGITOS)				
Longitude	_____ (7 DIGITOS)				
Nome do morador responsável	_____				
Contato do morador responsável (celular ou fixo)	_____				
Data da investigação	_____ (DD/MM/AAAA)				
Periodo da investigação	<input type="radio"/> Manhã (09:00 as 12:00) <input type="radio"/> Tarde (13:00 as 16:00)				
Temperatura no início da investigação	_____ (C)				
Umidade relativa do ar no início da investigação	_____ (%)				
Qual local está sendo investigado?	<input type="radio"/> casa (famílias isoladas em andares diferente) <input type="radio"/> prédio (edifício com áreas comuns) <input type="radio"/> estabelecimento comercial <input type="radio"/> terreno baldio <input type="radio"/> igreja <input type="radio"/> hospital/clinica medica <input type="radio"/> instituicao de ensino <input type="radio"/> clinica de estetica <input type="radio"/> clinica veterinaria <input type="radio"/> outro				
Se for outro, qual local está sendo investigado	_____ (so responder se marcar a opção "outro local")				
O imóvel se encontra em que nível?	<input type="radio"/> Terreo <input type="radio"/> 1º Andar <input type="radio"/> 2º Andar <input type="radio"/> 3º Andar <input type="radio"/> Subsolo (Nível da entrada principal da casa)				
PERGUNTAS PARA O MORADOR					
Falta água em sua casa?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No				
Se falta água, com que frequência?	<input type="radio"/> uma vez por semana (toda semana pelo menos 1 vez) <input type="radio"/> mais de uma vez por semana (toda semana, mais de uma vez) <input type="radio"/> uma vez por mes (esporadicamente/raramente) (so responder se marcar a opção "falta água")				
08/29/2019 1:21pm		www.projectredcap.org			
voce usa alguma reservatorio para armazenar agua?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Se armazena agua em reservatorio, qual o tipo?		<input type="checkbox"/> cx. d'agua (ligado a rede) <input type="checkbox"/> tonel (reservatorio cilindrico metal/plastico SEM torneira) <input type="checkbox"/> barril (reservatorio cilindrico metal/plastico/madeira COM torneira) <input type="checkbox"/> tanque (reservatorio nao ligado a rede) <input type="checkbox"/> sistema (reservatorio subterraneo) <input type="checkbox"/> poço (agua natural) <input type="checkbox"/> balde (so responder se marcar a opção "usa reservatorio")			
CRIODOUROS (CARACTERIZAR APENAS RECIPIENTES COM AGUA E FAVORAVEIS A REPRODUÇÃO DOS MOSQUITOS)					
OBS: CADA CRIADOURO SERÁ REGISTRADO ISOLADAMENTE- EXCETO GARRAFAS OU LATAS (DEVE ANOTAR A QUANTIDADE) SE ESTIVEREM NO MESMO LOCAL					
Foi feita aspiração com Prokopack?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Foi capturado mosquito com Prokopack?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Foi encontrado pneus abandonados (com/sem água)?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Foi encontrado criadouro (apenas recipientes com água)?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Foi encontrado criadouro positivo?		<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (criadouro com larva)			
CRIODOURO 1					
08/29/2019 1:21pm		www.projectredcap.org			

Confidential

Page 3 of 10

Qual criadouro foi identificado?

- caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poco
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 raios (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

- Intra
 Peri

Onde estava localizado esse criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/04/2019 1:21pm

www.projectredcap.org



Confidential

Page 4 of 10

CRIAIDOURO 2

Qual criadouro foi identificado?

- caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poco
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 raios (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

- Intra
 Peri

Onde estava localizado esse criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/04/2019 1:21pm

www.projectredcap.org



Confidential

Page 5 of 10

CRIADOURO 3

Qual criadouro foi identificado?

- calha d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 peca
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: algudiar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 ralos (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

- Intra
 Peri

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/29/2019 1:21 pm

www.projectredcap.org



Confidential

Page 6 of 10

CRIADOURO 4

Qual criadouro foi identificado?

- calha d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 peca
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: algudiar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 ralos (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

- Intra
 Peri

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/29/2019 1:21 pm

www.projectredcap.org



Confidential

Page 7 of 10

CRIA DOURO 5

Qual criadouro foi identificado?

- caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poço
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construção
 pneus
 recipientes plásticos (ex: copos descartáveis)
 raios (so se tiver água parada)
 vasos sanitários (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromélias, ocos de árvores, folhas, plantas)
 poça
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plástica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opção "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

- Intra
 Peri

Presença de arbustos/árvores em torno do criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de matéria orgânica na água do criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de cobertura/proteção no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/proteção, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Volume de água estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Não foi possível observar

Altura estimada do criadouro em relação ao nível do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/29/2019 1:21pm

www.projectredcap.org



Confidential

Page 8 of 10

CRIA DOURO 6

Qual criadouro foi identificado?

- caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poço
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construção
 pneus
 recipientes plásticos (ex: copos descartáveis)
 raios (so se tiver água parada)
 vasos sanitários (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromélias, ocos de árvores, folhas, plantas)
 poça
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plástica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opção "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

- Intra
 Peri

Presença de arbustos/árvores em torno do criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de matéria orgânica na água do criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de imaturos no criadouro?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Presença de cobertura/proteção no criadouro?

- Yes
 No

Se tinha cobertura/proteção, a mesma estava vedada?

- Yes
 No
 Não foi possível observar

Volume de água estimado do criadouro:

- < 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Não foi possível observar

Altura estimada do criadouro em relação ao nível do solo:

- solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/29/2019 1:21pm

www.projectredcap.org



Page 9 of 10

CRIA DOURO 7

Qual criadouro foi identificado?

caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poco
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 raios (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

Intra
 Peri

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?


Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

< 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/28/2019 1:21pm www.projectredcap.org 

Page 10 of 10

CRIA DOURO 8

Qual criadouro foi identificado?

caixa d'agua
 barril
 tanque
 tonel
 poco
 sistema
 garrafas/latas
 vasos/pratos de plantas
 objetos religiosos (ex: alguidar)
 entulhos de construcao
 pneus
 recipientes plasticos (ex: copos descartaveis)
 raios (so se tiver agua parada)
 vasos sanitarios (sem uso)
 criadouros naturais (ex: bromelias, ocos de arvores, folhas, plantas)
 poca
 calha
 piscina abandonada
 bacias (plastica ou de metal)
 balde
 outros

Se foi outro qual criadouro foi encontrado?

(so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")

Se for garrafas/latas, quantos?

Onde estava localizado esse criadouro?

Intra
 Peri

Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de materia organica na agua do criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de imaturos no criadouro?

Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Presenca de cobertura/protecao no criadouro?

Yes
 No

Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?


Yes
 No
 Nao foi possivel observar

Volume de agua estimado do criadouro:

< 1
 1-2 L
 3-4 L
 ≥ 5 L
 Nao foi possivel observar

Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:

solo
 ≤ 1m
 > 1m

08/28/2019 1:21pm www.projectredcap.org 

Anexo C: Questionário investigação na área pública (Criadouros)

Confidential		MONITORAMENTO AMBIENTAL PAU DA LIMA (ÁREA PÚBLICA) Page 1 of 2		Confidential		Page 2 of 2	
Area Publica (Criadouro)							
Numero de Identificacao do projeto		_____					
Numero de Identificacao do projeto		_____					
Latitude		(7 DIGITOS) _____					
Longitude		(7 DIGITOS) _____					
Data da Investigacao		(DD/MM/AAAA) _____					
Periodo da Investigacao		<input type="radio"/> Manhã (09:00 as 12:00) <input type="radio"/> Tarde (13:00 as 16:00)					
Temperatura no inicio da Investigacao		(C) _____					
Umidade relativa do ar no inicio da Investigacao		(%) _____					
CRIDADOUROS (CARACTERIZAR APENAS RECIPIENTES COM AGUA E FAVORAVEIS A REPRODUCAO DE MOSQUITOS)							
OBS:CADA CRIADOURO SERÁ REGISTRADO ISOLADAMENTE							
Em que tipo de local publico foi encontrado o criadouro?		<input type="radio"/> Praça <input type="radio"/> Rua <input type="radio"/> Terreno baldio <input type="radio"/> Estacionamento <input type="radio"/> outro					
Se foi em outro local, qual?		_____ (so responder se marcar a opcao "outro local")					
				Qual criadouro foi identificado?			
				<input type="radio"/> caixa d'agua <input type="radio"/> barril <input type="radio"/> tanque <input type="radio"/> tonel <input type="radio"/> poço <input type="radio"/> sistema <input type="radio"/> garrafas/latas <input type="radio"/> vasos/pratos de plantas <input type="radio"/> objetos religiosos (ex: alguidar) <input type="radio"/> entulhos de construcao <input type="radio"/> pneus <input type="radio"/> recipientes plasticos (ex: copos descartaveis) <input type="radio"/> raios (so se tiver agua parada) <input type="radio"/> vasos sanitarios (sem uso) <input type="radio"/> criadouros naturais (ex: bromelias, ocas de arvores, folhas, plantas) <input type="radio"/> poça <input type="radio"/> calha <input type="radio"/> piscina abandonada <input type="radio"/> bacias (plastica ou de metal) <input type="radio"/> balde <input type="radio"/> outros			
				Se foi outro qual criadouro foi encontrado?			
				_____ (so responder se marcar a opcao "outro tipo de criadouro")			
				Presenca de arbustos/arvores em torno do criadouro?			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
				Presenca de materia organica na agua do criadouro?			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Nao foi possivel observar			
				Presenca de cobertura/protecao no criadouro?			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
				Se tinha cobertura/protecao, a mesma estava vedada?			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Nao foi possivel observar			
				Presenca de imaturos no criadouro?			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Nao foi possivel observar			
				Volume de agua estimado do criadouro:			
				<input type="radio"/> < 1 <input type="radio"/> 1-2 L <input type="radio"/> 3-4 L <input type="radio"/> ≥ 5 L <input type="radio"/> Nao foi possivel observar			
				Altura estimada do criadouro em relacao ao nivel do solo:			
				<input type="radio"/> solo <input type="radio"/> ≤ 1m <input type="radio"/> > 1m			
08/09/2019 1:52pm		www.projectredcap.org REDCap		08/09/2019 1:52pm		www.projectredcap.org REDCap	

Confidential

Page 3 of 3

PROKOPACK

Foi feita aspiracao com Prokopack?



- Yes
 No

Foi capturado mosquito com Prokopack?

- Yes
 No

Anexo D: Questionário investigação na área pública (Boca de lobo)

Confidential		MONITORAMENTO AMBIENTAL PAU DA LIMA (ÁREA PÚBLICA) Page 1 of 3		Confidential		Page 2 of 3	
Area Publica (Boca De Lobo)							
Numero de identificação do projeto	_____						
Numero de identificação da boca de lobo	_____						
Latitude	_____ (7 DIGITOS)						
Longitude	_____ (7 DIGITOS)						
Altitude da boca de lobo em relação ao nível do mar (m)	_____ (METROS)						
Data da investigação	_____ (DD/MM/AAAA)						
Periodo da investigação	<input type="radio"/> Manhã (09:00 as 12:00) <input type="radio"/> Tarde (13:00 as 16:00)						
Temperatura no início da investigação	_____ (C)						
Umidade relativa do ar no início da investigação	_____ (%)						
Em que direção esta voltada a abertura boca de lobo?	<input type="radio"/> clima <input type="radio"/> lateral <input type="radio"/> outra						
Se for outra, qual direção?	_____ (so responder se marcar a opção "outra direção")						
A equipe teve acesso a boca de lobo?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No (acesso= se foi possível fazer a investigação)						
Se não teve acesso, explicar motivo	_____ (so responder se marcar a opção "não teve acesso")						
BOCAS DE LOBO ACESSADA							
De que material é feita a cobertura da boca de lobo?	<input type="radio"/> concreto <input type="radio"/> grade <input type="radio"/> outro						
Se for outro, qual material?	_____ (so responder se marcar a opção "outro material")						
Foi retirada a cobertura da boca de lobo para realizar a investigação?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No						
A boca de lobo estava ativa (drenagem de água funcionando)?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Parcialmente obstruída (Boca de lobo inativa = obstruída com lixo, areia, ou outro material que impede a passagem de água)						
				<input type="checkbox"/> areia <input type="checkbox"/> plástico <input type="checkbox"/> matéria orgânica <input type="checkbox"/> outros (so responder se marcar a opção "obstruída/parcialmente obstruída")			
				(so responder se marcar a opção "material")			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Parcialmente sombreado (a sombra não cobre toda a boca de lobo)			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar			

				[CAMPO CALCULADO AUTOMATICAMENTE-NAO RESPONDE CAMPO]			
				[SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO]			
				[CAMPO CALCULADO AUTOMATICAMENTE-NAO RESPONDE CAMPO]			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO)			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO)			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO)			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO)			
				<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Não foi possível observar (SO PREENCHER SE TIVER AGUA NA BOCA DE LOBO)			
08/09/2019 1:53pm				www.projectredcap.org 			
08/09/2019 1:53pm				www.projectredcap.org 			

Anexo E: Questionário de instalação e retirada de ovitrampas

Confidential MONITORAMENTO AMBIENTAL PAU DA LIMA (OVITRAMPAS)
Page 1 of 1

Instalacao De Ovitrampa (1º Visita)

Numero de identificacao do projeto _____

Numero de identificacao da ovitrampa _____

Data de instalacao da ovitrampa _____

Em que local foi instalada a ovitrampa? _____

Confidential MONITORAMENTO AMBIENTAL PAU DA LIMA (OVITRAMPAS)
Page 1 of 1

Retirada Ovitrampa (1º Visita)

Numero de identificacao do projeto _____

Numero de identificacao da ovitrampa _____

Data da retirada da ovitrampa _____

A ovitrampa estava intacta? Yes
 No
 Nao encontrou a ovitrampa (perda total)

SE ENCONTROU A OVITRAMPA RESPONDER ESSAS PERGUNTAS

Se nao estava intacta, tinha palheta? Yes
 No
(so responder se marcar a opcao "ovit nao intacta")

Se nao estava intacta, tinha agua? Yes
 No
 Pouca agua
(so responder se marcar a opcao "ovit nao intacta")

Tinha imaturo na ovitrampa? Yes
 No
(so responder SE tiver encontrado a ovitrampa)

A palheta foi encaminhada para o laboratorio? Yes
 No
 Nao se aplica (nao tinha palheta)
(so responder SE tiver encontrado a ovitrampa)

A amostra de agua foi encaminhada para o laboratorio? Yes
 No
 Nao se aplica (nao tinha agua)
(so responder SE tiver encontrado a ovitrampa)

Anexo F: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA USO DE
ARMADILHAS SEM INSETICIDA**

**Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz/Ministério da
Saúde Consentimento para Investigação Entomológica**

Título do Projeto: Estudo ambiental sobre a dispersão de vetores da dengue em Salvador e região metropolitana, BA.

Nome do responsável pela casa: _____

Número da casa no projeto Pesquisa: _____

Para ser lido para todos os adultos (maiores de 18 anos) responsáveis pela casa onde serão realizadas investigações ambientais e entomológicas, que consistem em coleta ativa e instalação de armadilhas para captura de vetores de arboviroses (a exemplo da Dengue, Zika, Chikungunya, Febre Amarela):

As informações a seguir descrevem o estudo. O entrevistador responderá a quaisquer perguntas que você tiver sobre este termo de consentimento livre e esclarecido ou sobre o estudo. Por favor, ouça com atenção e não hesite em fazer qualquer pergunta sobre a informação fornecida.

Objetivo do Estudo: Você está sendo convidado a participar voluntariamente de um estudo que a Fundação Oswaldo Cruz / Ministério da Saúde (FIOCRUZ) está realizando sobre a dengue e outras doenças transmitidas por insetos, a exemplo da Zika, a Chikungunya, e a Febre Amarela. As pessoas podem adquirir essas doenças através da picada do mosquito, também conhecido como *Aedes aegypti*, ou mais raramente pela picada de outras espécies de mosquitos. Essas doenças podem causar febre, dor de cabeça, dor nas articulações, dor nos músculos, dor atrás dos olhos, cansaço e vermelhidão da pele.

O objetivo deste estudo é medir a quantidade de mosquitos transmissores dessas doenças, entender em quais tipos de ambientes eles se reproduzem e quais as áreas com maior infestação em Salvador e região metropolitana. Diferentes formas para capturar

esses mosquitos serão usadas e o benefício deste estudo é ajudar a entender quais situações aumentam o risco de se contrair uma dessas doenças, além de permitir acompanhar a distribuição dos mosquitos nessas áreas. Esta informação é muito importante para orientar as ações de prevenção e controle das doenças transmitidas por mosquitos. Sua casa foi selecionada para participar do estudo porque ela está localizada em uma das áreas da cidade em que há registros de casos de Dengue, Zika, Chikungunya, ou outras doenças transmitidas por mosquitos, ou porque queremos saber se existe o risco de transmissão dessas doenças na região onde você mora. Você e seus familiares podem nunca ter tido essas doenças e pode não existir mosquitos em sua residência, mas ainda assim é importante que sua casa seja incluída na pesquisa porque esta informação será útil para sabermos como está a distribuição desses mosquitos em algumas áreas de Salvador.

Procedimento: Se após ter lido este termo de consentimento, você **voluntariamente** permitir que a sua casa entre neste estudo, o investigador coletará informações básicas a seu respeito. É possível que façamos perguntas adicionais a você, com o objetivo de descrever o local onde você mora. Adicionalmente, instalaremos armadilhas para captura de insetos em sua residência e daqui a sete dias nós retornaremos para buscá-las. Essas armadilhas não apresentam risco para os moradores ou animais de estimação. Faremos também uma inspeção na área externa da sua casa para verificar a presença de locais com acúmulo de água e faremos uma aspiração de mosquitos com um aparelho captura mosquitos no interior de sua casa e em seu quintal. Se encontrarmos o mosquito transmissor da dengue e de outras doenças em sua casa ou quintal ou se encontrarmos recipientes onde esses mosquitos se reproduzem, nós te informaremos a respeito da existência do local onde a água estava acumulada e tentaremos eliminar o foco. Também coletaremos uma amostra da água do recipiente para investigar se há larvas de mosquitos e vamos te orientar sobre como evitar o aparecimento de novos locais de reprodução dos mosquitos transmissores dessas doenças.

Sigilo: Todas informações coletadas em sua casa, seja quanto a presença de mosquitos ou qualquer outra informação, serão mantidas em sigilo e apenas você, os investigadores do grupo de estudo, e o Comitê de Ética em Pesquisas da FIOCRUZ terão acesso a estas informações. Você e sua casa não serão identificados (as) em qualquer relatório ou publicação resultante deste estudo. Os insetos coletados em sua residência serão enviados à FIOCRUZ para identificação das espécies, sendo então os insetos

armazenados. Os regulamentos federais e estaduais exigem que todos criadouros de mosquitos que sejam identificados sejam eliminados/tratados. Caso não consigamos tomar alguma providência em relação aos criadouros devido a seu acesso ou volume de água, a nossa equipe passará as informações necessária para o morador de maneira que o mesmo possa solicitar a intervenção junto aos agentes do Centro de Controle de Zoonoses durante sua próxima visita.

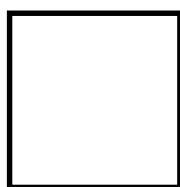
Participação Voluntária: A sua casa só entrará neste estudo se você permitir de forma voluntária. Você pode recusar ou em qualquer momento pode desistir que façamos o estudo em sua casa. Se isso ocorrer, nossa equipe não executará atividade alguma em sua residência, respeitando sua vontade. Você não sofrerá nenhuma consequência se você decidir que sua casa não deve participar do estudo ou se decidir retirá-la do estudo. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe será dada para você guardar. Você não será responsável por nenhuma despesa associada a este estudo.

Pessoas com quem entrar em contato: Se você tiver mais perguntas sobre essa pesquisa, favor entrar em contato com o pesquisador da Fiocruz, Dr. Guilherme Ribeiro: Rua Waldemar Falcão 121, Brotas, Salvador, tel. (71) 3176-2302 ou com o Comitê de Ética em Pesquisas da Fiocruz, tel. (71) 3176-2285, e-mail: cep@bahia.fiocruz.br

Eu ouvi e entendi este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Minhas dúvidas foram respondidas. Eu voluntariamente aceito que minha casa seja incluída neste estudo.

Participante da pesquisa

Rubrica



Impressão datiloscopia do responsável pelo domicílio

Pesquisador (responsável pela coleta de dados)

Rubrica

Local

Data