

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

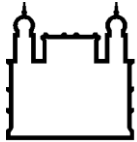
Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

DIVERSIDADE ECOSSISTÊMICA E AVALIAÇÃO DA INFESTAÇÃO
DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EM ÁREA DE MATA
ATLÂNTICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E NA ILHA DA
TRINDADE (BR)

ALEXANDRE DE ARAUJO OLIVEIRA

Rio de Janeiro

Abril de 2022



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Alexandre de Araujo Oliveira

DIVERSIDADE ECOSSISTÊMICA E AVALIAÇÃO DA INFESTAÇÃO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EM ÁREA DE MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E NA ILHA DA TRINDADE (BR)

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.

Orientadores: Prof. Dr. Jerônimo Augusto Fonseca Alencar
Prof. Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet

Rio de Janeiro

Abril de 2022

Oliveira, Alexandre de Araujo.

Diversidade ecossistêmica e avaliação da infestação de mosquitos (Diptera: Culicidae) em área de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro e na Ilha da Trindade (BR) / Alexandre de Araujo Oliveira, Alexandre de Araujo Oliveira - Rio de Janeiro, 2022.

xviii, 148 f.

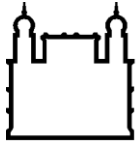
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2022.

Orientador: Jeronimo Augusto Fonseca Alencar.

Co-orientadora: Jacenir Reis dos Santos Mallet.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Mosquito. 2. Culicidae. 3. Diversidade. 4. Mata Atlântica. 5. Ilha da Trindade. I. Oliveira, Alexandre de Araujo . II. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Alexandre de Araujo Oliveira

DIVERSIDADE ECOSISTÊMICA E AVALIAÇÃO DA INFESTAÇÃO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EM ÁREA DE MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E NA ILHA DA TRINDADE (BR)

Orientadores: Prof. Dr. Jerônimo Augusto Fonseca Alencar

Prof. Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet

Aprovado em: 20/04/2022.

EXAMINADORES:

Dra. Veruska Cavalcanti Barros

UFPI (**Presidente**)

Dr. Antônio Henrique Almeida de Moraes Neto

FIOCRUZ

Dra. Valéria Cid Maia

UFRJ - Museu Nacional

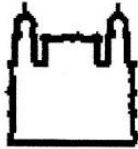
Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz

FIOCRUZ (Suplente)

Dr. Ildemar Ferreira

UFRRJ (Suplente)

Rio de Janeiro, 20 de abril de 2022.



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de tese de doutorado acadêmico em Medicina Tropical de **Alexandre de Araujo Oliveira**, sob orientação do Dr. Jeronimo Augusto Fonseca Alencar e co-orientação da Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet. Ao vigésimo dia do mês de abril de dois mil vinte e dois, realizou-se às treze horas e trinta minutos, de forma síncrona remota, o exame da tese de doutorado acadêmico intitulada: **“Diversidade ecossistêmica e avaliação da infestação de mosquitos (Diptera: Culicidae) em área de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro e na Ilha da Trindade (BR)”**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Dinâmica da Transmissão de Doenças Infecciosas e Parasitárias. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr^a. Veruska Cavalcanti Barros – UFPI/PI (Presidente), Dr. Antonio Henrique Almeida de Moraes Neto – IOC/FIOCRUZ, Dr^a. Valéria Cid Maia – UFRJ/RJ e como suplentes: Dr^a. Margareth Maria de Carvalho Queiroz – IOC/FIOCRUZ e Dr. Ildemar Ferreira – UFRRJ/RJ. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela APROVAÇÃO da defesa da tese de doutorado acadêmico. De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutor em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, a Presidente da Banca atesta a decisão e a participação do aluno e de todos os membros da banca de forma síncrona remota. A Coordenadora do Programa Dr^a. Vanessa Salete de Paula, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 20 de abril de 2022.

Dra. Veruska Cavalcanti Barros (Presidente da Banca):

Dra. Vanessa Salete de Paula (Coordenadora do Programa):

Dedico este trabalho aos que caminharam comigo e contribuíram de alguma forma nesta longa, exaustiva e incrível jornada.

AGRADECIMENTOS

Sou grato e agradeço,

Inicialmente às dificuldades que a vida costuma apresentar, que nos força a mover em busca de uma evolução contínua, e nos faz refletir sobre nosso jeito de pensar, agir e reagir.

Aos meus estimados pais, a quem admiro e amo profundamente, seus valores, dedicação, perseverança e confiança jamais serão esquecidos. A minha mãe **Laura Cristina** por questionar meus atos e me fazer buscar o meu melhor, além de ser sempre meu refúgio nos momentos mais difíceis. E meu pai **Paulo Cesar** por ser visivelmente apaixonado pelas minhas experiências, sempre apoiar meus sonhos e me dedicar um carinho sem igual. Sou agraciado por isso tudo. Aos meus familiares, que sempre com muito afeto me desejaram sorte e confiaram no meu empenho em especial a minha tia Regina (Oliveira) que sempre manteve contato, meus tios Jorge (e Regina), João Carlos (e Marina) a minha adorável tia Izidra (e Walter) e meu único representante ascendente da família Araujo, meu tio Carlos Henrique. A meus valorosos primos Ronildo, Luiza, Flávio, Liliane (Rodrigo), Fillipe (Raquel), Luana e Natália (Ariel, Maria Amália e Davi).

Aos professores, alunos e demais profissionais da Fiocruz que dedicadamente me transmitiram seus conhecimentos e suas visões humanitárias, me fazendo questionar sobre questões biológicas, sociais e pessoais. Devo neste contexto acrescentar os grandes amigos de laboratório (LIVEDIH, LABDIP entre outros), os quais fazem parte de uma grandiosa rede de pessoas que cada vez mais admiro e respeito, tanto pelas conversas em altíssimo nível, bem como pelas recreativas e descontraídas. Cito nominalmente: Dr. Maurício Vilela, Dra. Catarina Macedo, Dra. Tereza Cristina, Dra.

Simone Tevez, Dr. Renato Jr., Dra. Simone Costa, Dra. Margarete, Dra. Julia, Dr. Wagner, Dra. Daniele Misael, Dra. Nathanielly, Dra. Cristina, Dra. Maria Luisa, Dra. Cecília Ferreira, Srta. Bruna Queiroz, Sr. Thiago Peixoto, Srta. Liliane Zanon, Dr. Hércio Gil, Dra. Celeste Torres, Sr. Derick Mendes, Dr. Peliganga e Sr. Paulo Leite. Em destaque aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho e que possuem muito prestígio e carinho de minha parte: **Dr. William Marques**, **Dr. Hércio Gil-Santana** e futura doutora **Srta. Thamiris Balthazar**, além de minha sofrida IC de tempos de campo **Srta. Carolina Teixeira**, que foram os que mais dedicaram esforços e tempo, sou extremamente grato a vocês. Aos amigos que acompanham esta caminhada e dão força e desejam sempre o nosso bem (não os listarei nominalmente por serem muitos).

Aos meus orientadores **Dr. Jerônimo Alencar** e **Dra. Jacenir Mallet**, pela paciência, ensinamentos, cobranças e oportunidades oferecidas. Me espelho em seus trabalhos e contemplo a sabedoria de ambos.

À pessoa mais importante da minha vida, a qual compartilho tempo, preocupações e inúmeras alegrias, a minha companheira, amiga e adorável esposa **Michele Serdeiro**. Acrescento a essa lista a minha estimada sogra **Sra. Neila Teixeira**, que cuida da gente com muito carinho e por qual eu também tenho muita admiração e respeito.

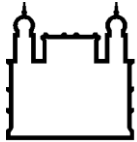
Por fim aos familiares, amigos, professores e mestres que se foram, seus ensinamentos compõem uma vasta obra que formaram minha pessoa.

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

Muitíssimo obrigado!

“O maior bem do homem é uma mente inquieta.”

Isaac Asimov



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

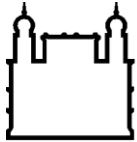
DIVERSIDADE ECOSSISTÊMICA E AVALIAÇÃO DA INFESTAÇÃO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EM ÁREA DE MATA ATLÂNTICA NO, ESTADO DO RIO DE JANEIRO E NA ILHA DA TRINDADE (BR)

RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

Alexandre de Araujo Oliveira

As doenças transmitidas por mosquito têm crescido em número e em quantidade de locais atingidos. No Brasil, o número de casos é corriqueiramente elevado de dengue, zika, chikungunya e febre amarela. No bioma de Mata Atlântica diversas espécies de mosquitos são consideradas vetores para o vírus da febre amarela, constituindo uma área de risco potencial para a população humana. O presente trabalho propõe estudar os aspectos da biologia e diversidade, tais como distribuição mensal, composição e influência de períodos sazonais de mosquitos, bem como examinar o comportamento de oviposição, em área de situação de vigilância entomológica para febre amarela. Além de avaliar a infestação por mosquito no Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade (POIT) e propor um plano de controle em caso de espécies não endêmicas. Foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo CDC para coleta de espécimes adultos em diferentes distâncias das residências e armadilhas ovitrampas e de bambu em diferentes alturas em uma área de mata limítrofe de uma Unidade de Conservação do Município de Nova Iguaçu, no bairro do Rio D'ouro, estado do Rio de Janeiro, Brasil no período de agosto de 2018 a julho de 2019. Na Ilha da Trindade, a coleta dos mosquitos foi realizada de agosto a outubro de 2019 através de busca ativa de adultos, ovos e larvas além da instalação de 23 ovitrampas em diferentes locais da ilha. No bairro Rio D'ouro município de Nova Iguaçu, um total de 4.048 espécimes adultos representando 20 espécies diferentes foram coletados, dentre essas espécies, *Aedes albopictus* apresentou associação recorrente com o nível mais próximo das residências humanas e *Haemagogus leucocelaenus* com os níveis mais distantes. Foram coletados 3.929 ovos e 4.953 larvas e pupas nas armadilhas ovitrampas e bambutrap. As armadilhas instaladas nos estratos superiores permaneceram zeradas enquanto as armadilhas do solo estavam instaladas simultaneamente, mas se mantinham positivas quando foram instaladas sozinhas. Na Ilha da Trindade, foram coletados 33 espécimes adultos de *Ae. aegypti* via busca ativa no interior das edificações e um total de 433 ovos de *Ae. aegypti* também foram obtidos das ovitrampas. Com base nas amostragens, foi observado que as populações de mosquitos foram influenciadas pelas variáveis abióticas durante os períodos seco e chuvoso. Cabe ressaltar, que a partir da presente análise é possível preconizar que as populações de mosquitos iniciam deslocamentos a procura de habitats de reprodução próximos ao nível do solo. Habitats larvais localizados nos estratos mais altos podem ser ocupados devido à ausência ou impermanência de outros habitats larvais.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ECOSYSTEMIC DIVERSITY AND ASSESSMENT OF MOSQUITO INFESTATION (DIPTERA: CULICIDAE) IN THE ATLANTIC FOREST AREA IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO AND ON TRINDADE ISLAND (BR)

ABSTRACT

PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL.

Alexandre de Araujo Oliveira

Mosquito-borne diseases have grown in number and in number of affected places. In Brazil, the number of cases of Dengue, Zika, Chikungunya and Yellow Fever is routinely high. In the Atlantic Forest biome, several species of mosquitoes are considered vectors for yellow fever, constituting an area of potential risk for the human population. The present work proposes to study aspects of biology, diversity, such as monthly distribution, composition and influence of seasonal periods of mosquitoes, as well as to examine the oviposition behavior that colonize bambootrap and ovitraps installed at different heights, in an area of entomological surveillance for Yellow Fever. In addition to studying the mosquito infestation reported by Brazilian Navy personnel at the Trindade Island Oceanographic Post and proposing a control plan in case of non-endemic species. CDC light traps were used to collect adults at different distances from residences and ovitrap and bambootrap at different heights in an area of bordering forest of a Unidade de Conservação de Nova Iguaçu, in the Rio D'ouro neighborhood, state of Rio de Janeiro, Brazil. The positions of the traps for collecting immatures in the strata were changed every 15 days. On Trindade Island, the collection of mosquitoes was carried out from August to October 2019 through an active search for adults, eggs, and larvae through the survey of objects with accumulated water and the implantation of 23 ovitraps in different places of the island. In the Rio D'ouro district of Nova Iguaçu, a total of 4,048 adult specimens representing 20 different species were collected, among these species, *Aedes albopictus* presented a recurrent association with the closest level of human residences and *Haemagogus leucocelaenus* with the most distant levels. And 3,929 eggs and 4,953 larvae and pupae were collected in ovitrap and bambootrap traps. The traps installed in the upper strata remained zeroed when the ground traps were installed at the same time, but positives when they were installed alone. On Trindade Island 33 adults of *Ae. aegypti* were collected via active search inside the buildings and a total of 433 eggs of *Ae. aegypti* were also obtained from ovitraps. Under the conditions studied, mosquito populations were directly influenced by environmental conditions during the dry and rainy seasons. In addition, this study suggests that mosquitoes start the search for breeding sites near ground level. Higher breeding sites may be occupied due to the absence or impermanence of other breeding sites.

ÍNDICE

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Família Culicidae: considerações gerais	19
1.2. Biologia e morfologia da família Culicidae	19
<i>1.2.1. Ovos</i>	22
<i>1.2.2. Larvas</i>	23
<i>1.2.3. Pupas</i>	24
1.3. Habitat larval	25
1.4. Descrição da Mata Atlântica e interação com as áreas urbanizadas	26
1.5. Diversidade de Culicidae em bioma de Mata Atlântica	29
1.6. Efeito de borda sobre a distribuição de Culicidae em fragmento de floresta	33
1.7. Breve histórico e importância da Ilha da Trindade, arquipélago no Oceano Atlântico	34
1.8. Arbovírus e outros patógenos transmitidos por mosquitos	36
<i>1.8.1. Febre Amarela</i>	37
<i>1.8.2. Dengue</i>	41
<i>1.8.3. Zika</i>	42
<i>1.8.4. Chikungunya</i>	42
2. JUSTIFICATIVA	44
3. OBJETIVOS	46
3.1. Objetivo Geral	46
3.2. Objetivos Específicos	46
CAPÍTULO I	47
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1. INTRODUÇÃO	51
2. MATERIAL E MÉTODOS	53

3. RESULTADOS	56
4. DISCUSSÃO	65
5. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	69
CAPÍTULO II	73
RESUMO	75
ABSTRACT	76
1. INTRODUÇÃO	77
2. MATERIAL E MÉTODOS	79
3. RESULTADOS	83
4. DISCUSSÃO	94
5. CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS	98
CAPÍTULO III	102
RESUMO	104
ABSTRACT	105
1. INTRODUÇÃO	106
2. MATERIAL E MÉTODOS	108
3. RESULTADOS	108
4. DISCUSSÃO & CONCLUSÃO	109
REFERÊNCIAS	112
4. CONCLUSÃO	114
REFERÊNCIAS	116
ANEXO I	134
ANEXO II	143
ANEXO III	146

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1:	Aspectos da morfologia externa do adulto fêmea: abdômen, tórax e cabeça. Presença de duas asas e antenas longas. Imagem adaptada de: http://www.mosquitoalert.com .	20
FIGURA 2:	Ciclo de vida do mosquito, passando por ovos, quatro estágios larvais (L1-L4), pupa e o adulto ao centro. Imagem: Adaptada de Natacha Martinho disponível em: http://www.cassadaciencias.org .	22
FIGURA 3:	Abrangência do bioma de Mata Atlântica, sobre o território brasileiro. Mapa obtido do Sistema Nacional de Informações Florestais (SNIF) disponível em: https://snif.florestal.gov.br/	27
FIGURA 4:	Ilha da Trindade. (A) vista sudeste da ilha; (B) vista norte da ilha, com instalações; (C) vista noroeste da ilha a partir da Praia dos portugueses. Foto: Araujo-Oliveira 2019.	35
FIGURA 5:	Esquema de ciclo silvestre e urbano da febre amarela. Fonte: Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela, 2014.	38
FIGURA 6:	Mapa com localização dos pontos de amostragens das armadilhas do tipo CDC luminosa, (A) Brasil; (B) Estado do Rio de Janeiro; (C) Município de Nova Iguaçu; Localização dos pontos de coleta (A-H) dividido em níveis (Level 1-4), com a área de Mata Atlântica contínua destacada em verde.	53
FIGURA 7:	Instalação de armadilha do tipo CDC luminosa, com aditivo de CO ₂ na caixa de isopor. Foto: Araujo-Oliveira 2019.	55
FIGURA 8:	Número de espécimes encontrados em todos os pontos por mês na área verde fronteira da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.	60
FIGURA 9:	Precipitação total e temperatura (média, máxima e mínima) por mês, ao longo do período de coleta na região.	61
FIGURA 10:	Gráfico Biplot com os resultados de precipitação e temperatura e a distribuição da quantidade de espécimes coletadas por mês, (meses secos) quadrados vermelhos e (meses chuvosos) pontos azuis.	62

FIGURA 11:	PCA Biplot (70,6%) do período total de coleta, correlacionando as espécies de importância médica encontradas com os níveis.	63
FIGURA 12:	PCA Biplot (70,5%) apenas do período seco (maio a outubro), correlacionando as espécies de importância médica encontradas com os níveis, com destaque para os níveis 3 e 4 com forte semelhança.	64
FIGURA 13:	PCA Biplot (72,7%), correlacionando apenas do período chuvoso (novembro a abril) e as espécies de importância médica encontradas com os respectivos níveis.	65
FIGURA 14:	Armadilha para coleta de imaturos (ovos, larvas e pupas) do tipo (A) bambutrap para larvas e pupas e do tipo (B) ovitrampas para ovos, larvas e pupas.	80
FIGURA 15:	Posicionamento das armadilhas (bambutrap e ovitrampas) nas árvores selecionadas.	81
FIGURA 16:	Quantidade de ovos coletados nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (superior, solo e em ambos) em todo o período de coleta.	86
FIGURA 17:	Quantidade de imaturos coletados apenas nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (superior, solo e ambos) em todo período de coleta.	87
FIGURA 18:	Quantidade de imaturos coletados apenas nas armadilhas bambutrap nos diferentes estratos (superior, solo e ambos) em todo período de coleta.	87
FIGURA 19:	Quantidade de ovos coletados mensalmente nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (solo, superior e ambos) em todo período de coleta.	88
FIGURA 20:	Quantidade de imaturos coletados mensalmente nas armadilhas ovitrampas e bambutrap nos diferentes estratos (solo, ambos e superior) em todo o período de coleta.	89
FIGURA 21:	Temperatura e precipitação mensal na região de coleta ao longo do período de amostragem.	90

FIGURA 22:	Quantidade de imaturos (larvas e pupas) coletados nas armadilhas ovitrampas e bambutrap, nos diferentes estratos (superior, solo e em ambos) nos períodos seco e chuvoso.	92
FIGURA 23:	Ilha da Trindade. (A) Posição da Ilha da Trindade em relação ao Brasil indicada por um círculo no Oceano Atlântico Sul; (B) Visão mais próxima da área no retângulo do painel A mostra as costas vizinhas dos estados brasileiros da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro; (C) Contorno da Ilha da Trindade.	107
FIGURA 24:	Número de ovos coletados no período de 17 de agosto a 4 de outubro de 2019. Os 4 dias período entre o qual as ovitrampas foram examinadas e alterado, corresponde ao intervalo entre cada traço no a linha horizontal.	109
FIGURA 25	Treinamento e capacitação para ações de erradicação aos mosquitos <i>Ae. aegypti</i> na POIT em 26 de setembro de 2019. Foto: Araujo-Oliveira 2019.	111

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Espécies encontradas e quantidade por ponto de captura e nível, com seus respectivos percentuais na área verde fronteira da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.	57
TABELA 2:	Resultados da quantidade de espécies encontradas (S), diversidade (H') e equitabilidade (J') nos pontos (A-H) e nos níveis (1-4), área verde fronteira da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.	59
TABELA 3:	Quantidade de ovos e imaturos (larvas e pupas) na ovitrampas e quantidade de imaturos na bambutrap instaladas simultaneamente nas posições de solo e no estrato superior.	86
TABELA 4:	Quantidade de ovos e imaturos (larvas e pupas) nas ovitrampas e quantidade de imaturos na bambutrap instaladas individualmente no solo e no estrato superior.	87
TABELA 5:	Resultado do teste de correlação de Spearman sobre o (A) número de ovos coletados nas armadilhas ovitrampas por estrato, (B) imaturos (larvas e pupas) coletadas nas armadilhas ovitrampas, (C) imaturos (larvas e pupas) coletados nas armadilhas bambutrap, em relação a temperatura e precipitação.	91
TABELA 6:	Espécies capturadas pela armadilha em cada estrato ao longo do período de amostragem (agosto 2018 a julho 2019) em Rio D'ouro - Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.	93

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AL	Alagoas (Unidade Federativa);
BA	Bahia (Unidade Federativa);
CDC	Centers for Disease Control;
CHIKV	Chikungunya vírus;
cm	centímetros;
CO ₂	Gás carbônico;
d.C.	depois de Cristo
DENV1	Dengue vírus, sorotipo 1;
DENV2	Dengue vírus, sorotipo 2;
DENV3	Dengue vírus, sorotipo 3;
DENV4	Dengue vírus, sorotipo 4;
ECIT	Estação Científica da Ilha da Trindade;
FA	Febre amarela;
FAS	Febre amarela silvestre;
FHD	Febre hemorrágica da dengue;
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia;
L1	Primeiro estágio larval;
L2	Segundo estágio larval;
L3	Terceiro estágio larval;
L4	Quarto estágio larval;
LIVEDIH	Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera;
m	metros;
ml	mililitros;
mm	milímetros;
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde;
PE	Pernambuco (Unidade Federativa);
PNH	Primatas não humanos;
POIT	Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade;
REBIO	Reserva biológica;
RS	Rio Grande do Sul (Unidade Federativa);
SC	Santa Catarina (Unidade Federativa);
SNIF	Sistema Nacional de Informações Florestais;
WNV	West Nile vírus;
YFV	Yellow fever vírus;
ZIKV	Zika vírus;

1. INTRODUÇÃO

1.1. Família Culicidae: considerações gerais

Mosquitos ou pernilongos são os principais artrópodes transmissores de patógenos a animais, incluindo os seres humanos. Pertencente à Classe Insecta e Ordem Diptera, a família Culicidae reúne atualmente duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae das quais são reconhecidas, segundo Harbach (2022), cerca de 3.583 espécies de mosquitos, distribuídas em aproximadamente 113 gêneros, embora de acordo com a classificação mais tradicional de Wilkerson et al. (2015) seja constituída por 42 gêneros.

São o maior e mais importante grupo de insetos hematófagos no mundo, com ampla dispersão e adaptabilidade, apresentando grande diversidade nas florestas tropicais (Hutchings et al. 2005, Hutchings et al. 2011). Historicamente, este grupo de insetos, desde a antiguidade tem atraído considerável atenção devido ao seu papel na transmissão de muitos patógenos importantes, como arbovírus (por exemplo, Zika, Dengue, Chikungunya e Febre Amarela) e protozoários (por exemplo, *Plasmodium sp.*), agente etiológico da malária (WHO 2014), contribuindo para graves problemas de saúde pública. O Brasil, por se tratar de um país com a maior parte do território situado em área de clima predominantemente tropical, torna-se um local adequado para ocorrência de mosquitos vetores de arbovírus (Figueiredo 2000, Lopes et al. 2014).

1.2. Biologia e morfologia da família Culicidae

Como características comuns a todos os insetos, os mosquitos possuem um exoesqueleto de quitina e o corpo dividido em três segmentos: cabeça, tórax e abdômen (Forattini 2002). Por definição, mosquitos são a fase adulta dos culicídeos, possuem duas asas (Ordem: Diptera) e um par de balancins ou halteres (asas modificadas) que são responsáveis pelo equilíbrio e direcionamento do voo. Possuem em comum como

alguns membros de sua ordem, escamas nas veias alares e conforme os membros de mesma subordem (Nematocera), possuem antenas longas (Forattini 1996) (Figura 1).

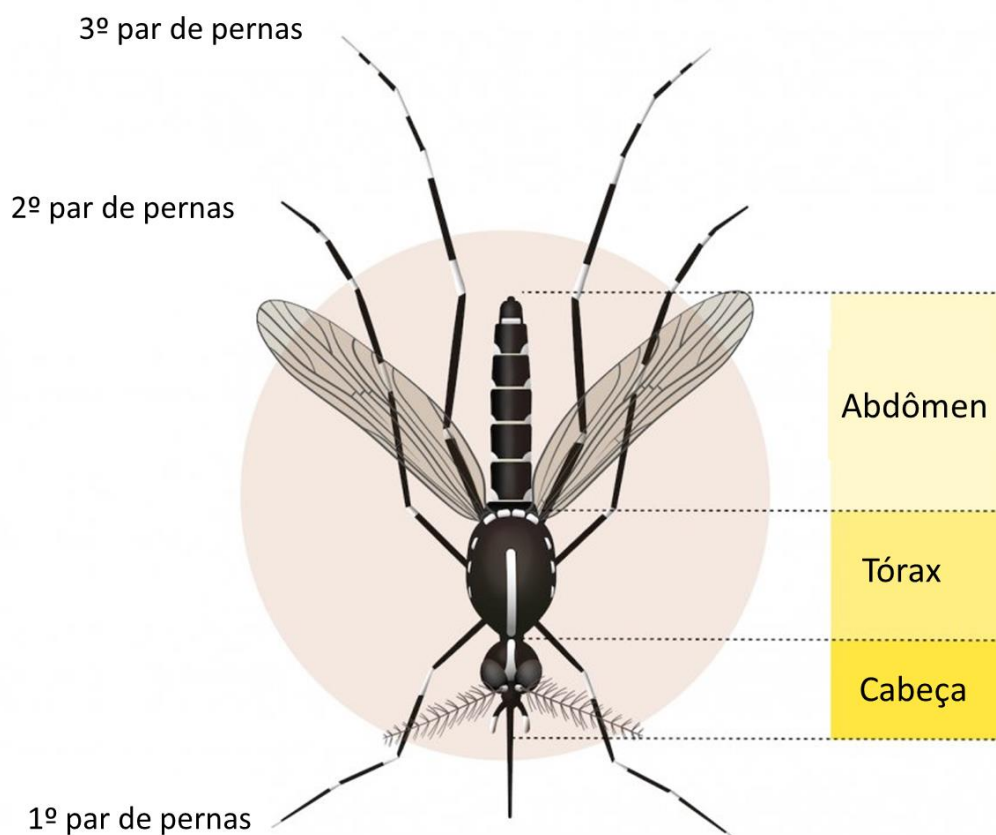


FIGURA 1: Aspectos da morfologia externa do adulto fêmea: abdômen, tórax e cabeça. Presença de duas asas e antenas longas. Imagem adaptada de: <http://www.mosquitoalert.com>.

Na cabeça possuem peças bucais aparentes do tipo picador ou sugador-pungitivo constituído por estiletos, maxilas, mandíbulas, labro e hipofaringe, peças que estão envolvidas pelo lábio, onde todo este conjunto é denominado probóscide ou probóscida. Ao lado da extremidade basal da probóscide encontram-se os palpos que possuem função sensorial e importância para a identificação, sendo diferentes entre os machos e as fêmeas e variando de tamanho dependendo da espécie (PAHO 2012). Possuem um par de olhos grandes e compostos, ocupando a maior parte da cabeça e um par de antenas segmentadas e longas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002).

No tórax estão presentes os apêndices locomotores, onde além das asas e balancins existem três pares de pernas longas, cada qual composta por uma coxa, a qual se conecta ao tórax, seguido pelo fêmur, tíbia e tarsos com cinco segmentos; na extremidade do último tarso há um par de pequenas unhas (Ree 2003). Nas asas, existe uma rede de veias, para a qual a literatura taxonômica adotou uma terminologia própria e numeração em suas ramificações para auxiliar na localização e conseqüentemente a identificação das espécies.

A presença de escamas ocorre sobre ou no contorno dessas veias, em diferentes quantidades e tonalidades nas diferentes espécies. Estruturas morfológicas no tórax como posição, tamanho e densidade de cerdas, padrões (desenhos) e localização de escamas presentes auxiliam na identificação das espécies e possíveis alterações nas populações (Henry et al. 2010, Wilk-da-Silva et al. 2018).

A porção abdominal é formada por dez segmentos, cada segmento formado por uma parte superior ou dorsal (tergito) e uma inferior ou ventral (esternito). Destes dez segmentos, oito são aparentes e os dois últimos modificados compondo a porção final do sistema reprodutor e excretor, órgãos que se encontram no interior da porção abdominal. Novamente, padrões, cores e densidade de escamas bem como as cores do próprio tegumento auxiliam na diferenciação e identificação das espécies (Mori et al. 2016).

Na maioria das espécies os padrões apresentados por escamas sobre algumas áreas específicas do corpo auxiliam a identificação, através da taxonomia clássica, no entanto, algumas espécies de mosquitos podem ser melhor identificadas através da dissecação e montagem de lâminas da genitália do macho, que é mais complexa e permite diferenciações mais específicas que a das fêmeas (Liria & Navarro 2007, Dehghan et al. 2016).

Mosquitos possuem um desenvolvimento holometabólico que consiste em uma alteração de toda estrutura corpórea ao longo de seu desenvolvimento, passando pelos estágios de ovo, larva (quatro estádios larvais: L1, L2, L3 e L4) e pupa antes de atingirem a fase adulta (Figura 2). Em cada fase há características morfológicas próprias para cada espécie.

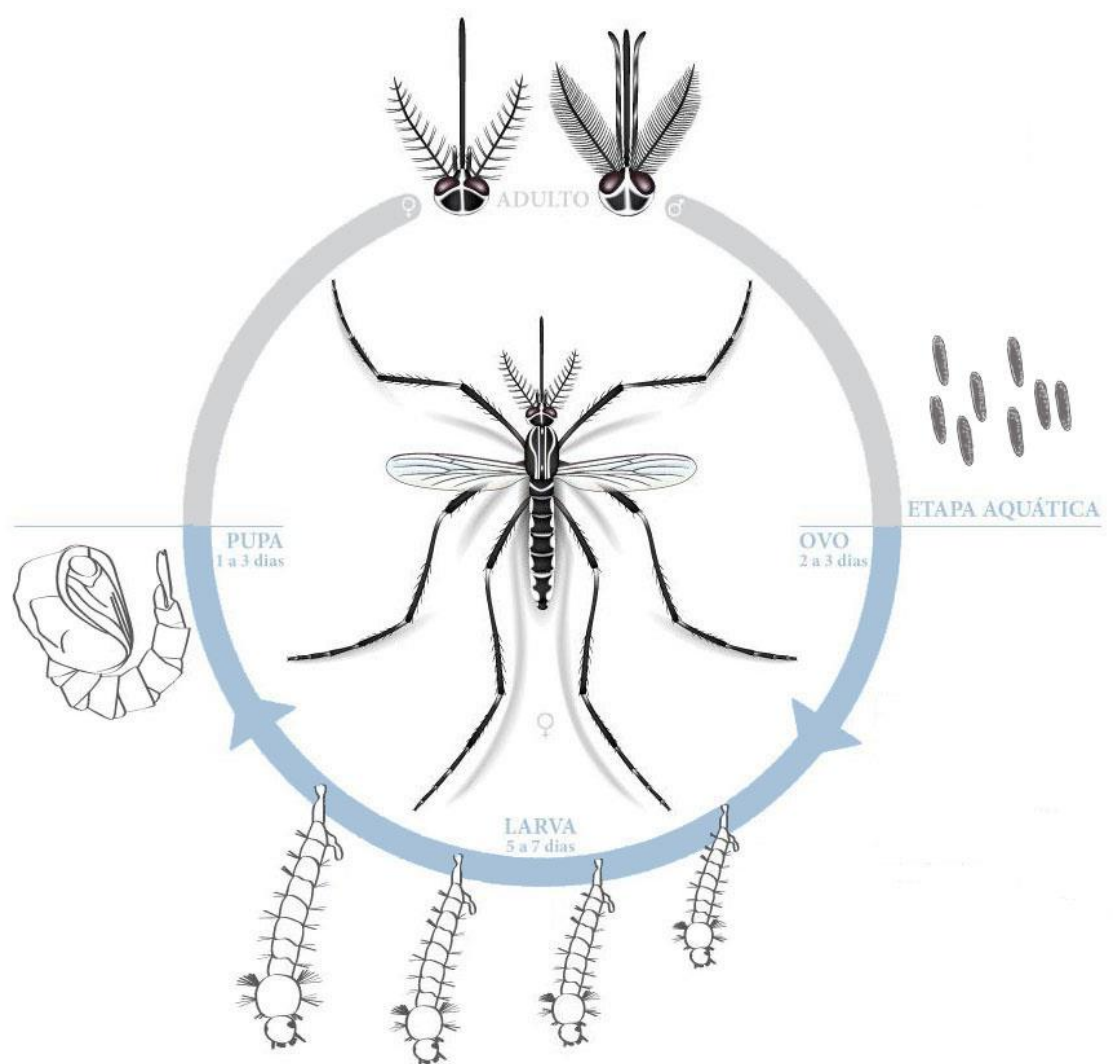


FIGURA 2: Ciclo de vida do mosquito, passando por ovos, quatro estágios larvais (L1-L4), pupa e o adulto ao centro. Imagem: Adaptada de Natacha Martinho disponível em: <http://www.cassadaciencias.org>.

1.2.1. Ovos

Cada espécie apresenta características distintas no formato de seus ovos, adaptadas ao substrato a qual irão realizar a postura (oviposição) (Consoli & Lourenço-

de-Oliveira 1994). De um modo geral, os ovos de mosquito possuem um formato elíptico lembrando um pequeno grão de arroz, de cor esbranquiçada no momento da postura e posteriormente escuro conforme o enrijecimento da casca (cório). Esta é impermeável e apresenta ornamentações particulares em cada espécie. Em uma de suas extremidades há um minúsculo orifício denominado micrópila, local pelo qual permite a entrada do espermatozoide para fecundar o óvulo em seu interior (Santos-Mallet et al. 2021).

Os ovos podem ser postos individualmente (espalhados) em algum substrato ou diretamente na água, ou ainda, podem ser depositados em conjunto, formando pequenos conjuntos de ovos flutuantes conhecidas como jangadas a depender da espécie (PAHO 2012).

Os ovos de mosquitos são resistentes à dessecação, e podem permanecer viáveis por semanas ou meses sem o contato com a água. O tempo de resistência varia entre as espécies (Juliano et al. 2002, Bryant et al. 2007).

1.2.2. Larvas

Assim como os adultos, as larvas possuem o corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen, porém com aparência vermicular. Na frente da cabeça encontram-se as peças bucais formadas por escovas que conduzem o alimento até a boca. Possuem olhos compostos com aparência de duas pequenas manchas escuras na lateral da cabeça (uma de cada lado) (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

O tórax possui formato quase circular e tamanho maior que a cabeça com cerdas simétricas bilateralmente, ocorrendo a presença de espículas a depender da espécie observada (Burkett-Cadena 2013).

O abdômen possui sete segmentos (I-VII) facilmente observáveis, com conjuntos de cerdas bilateralmente com número que varia de espécie para espécie. No

oitavo seguimento (VIII) estão presentes pequenas estruturas (observáveis em microscópio) com formato de espinhos (péctens), que possuem formato, disposição e quantidade diferentes em cada espécie. Essas estruturas são de grande importância taxonômica, bem como o sifão respiratório (IX) que se liga a esse segmento. O décimo segmento (X) também se liga ao VIII e é caracterizado pelo término do tubo digestivo da larva, sendo denominado de lóbulo anal (Burkett-Cadena 2013).

O estágio de larva é caracterizado pela fase de maior acúmulo de energia possível. As larvas costumam ser vorazes em cada um de seus quatro estádios (L1 - L4) sempre aumentando o tamanho corpóreo a cada muda, tendo em vista a reserva para o estágio seguinte (pupa), que não se alimenta (Thomas 1950, Honório et al. 2006).

1.2.3. Pupas

Nas pupas ocorrem a etapa final da metamorfose completa, embora permaneçam quase sempre imóveis na água, porém quando há uma alteração (perturbação) no ambiente a qual se encontram, realizam movimentos rápidos para a fuga (Thomas 1950). O corpo neste estágio possui um formato de vírgula divididos em duas partes: cefalotórax e abdômen. Há uma alteração na cor do tegumento, tornando-se mais escuro quando se aproxima da emergência do mosquito.

No cefalotórax estão presentes os espiráculos respiratórios, estes conectados a duas estruturas chamadas de trompas respiratórias, e os olhos estão caracterizados por manchas bilaterais escuras (Foster & Walker 2002). O abdômen é composto por oito (VIII) segmentos visíveis, e o último é composto por um par de paletas responsáveis pela movimentação (Foster & Walker 2002). Em sua parte ventral, encontra-se o lobo genital no qual é possível diferenciar o sexo dos futuros adultos.

Tanto o cefalotórax como o abdômen das pupas possuem cerdas que se diferenciam de espécie por espécie, a depender da posição, ramificações e tamanhos

apresentados, por isso também são de grande importância na taxonomia (Forattini 2002).

O sucesso nessa transição entre os estágios, até atingir a forma adulta vai depender da qualidade do habitat larval escolhido pela fêmea para depositar seus ovos (Zara et al. 2016).

1.3. Habitat larval

Por definição, o habitat larval ou criadouro é o local com condições ideais de umidade, temperatura, sombreamento e capacidade de retenção de água, a qual as fêmeas de mosquitos selecionam para realizar a postura de seus ovos (Barbosa & Silva 2002). Porém, a escolha da fêmea por um determinado habitat larval pode incluir outros fatores endógenos (físicos, químicos e biológicos), tratando-se de características específicas da espécie às preferências ambientais. A soma de todo esse conjunto de fatores determina a maior probabilidade de a prole finalizar o ciclo de desenvolvimento e conseqüentemente o sucesso reprodutivo (Bentley & Day 1989, Zahiri & Rau 1998).

Habitats larvais com características favoráveis tendem a serem selecionados por diversas espécies, acarretando um grande aumento na densidade de indivíduos. Nesse ponto, a competição por alimento por parte das larvas pode influenciar o desenvolvimento corporal dos mosquitos, que podem ter o tamanho reduzido devido à escassez nutricional, e por consequência pode influenciar na longevidade, capacidade vetorial e reprodução (Beserra et al. 2009).

Em ambiente antropizado, a disponibilidade de recipientes para armazenamento de água e outros fins, que também podem reter água, constituem um ambiente propício por parte de algumas espécies, como habitat larval para oviposição (Gomes et al. 2005, Miyazaki et al. 2009). Caixas d'água, vasos de plantas, pneus e garrafas deixadas ao relento costumam ser os exemplos mais comuns.

Porém, em ambiente silvestre a disponibilidade de habitats larvais tende a ser muito mais rara e com características temporárias, como poças, água retida em tronco de árvores (Gomes et al. 1992), oco de bambu (Lozovei 1998, Marcondes & Mafra 2003) e em bromélias (Marques & Forattini 2008). Com isso, os poucos habitats larvais disponíveis podem ser alvo de uma maior competição (Tátilla-Ferreira et al. 2017).

Por esse motivo, algumas espécies se especializaram em determinados tipos de habitats larvais, conseqüentemente não frequentado por outras e garantindo desta forma, o desenvolvimento completo de sua prole, devido a maior especificidade dos ambientes selecionados (Day 2016, Vieira et al. 2020).

Modificações na temperatura e umidade, causadas por atividades humanas podem produzir alterações na ecologia e que possivelmente afetam a viabilidade dos habitats larvais (Yasuoka & Levins 2007), induzindo os mosquitos a adaptações antes desnecessárias e impactando na dinâmica das doenças transmitidas por esses insetos (Molyneux 2003). Por outro lado, a elevada pluviosidade e umidade, que possibilitam manter por um tempo maior os habitats larvais formados, são tipicamente encontradas em florestas úmidas neotropicais. No Brasil, boa parte do território nacional possui essa cobertura vegetal, como é o caso dos biomas de Floresta Amazônica e a Mata Atlântica (Méio et al. 2003, Oliveira Júnior & Dias 2005).

1.4. Descrição da Mata Atlântica e interação com as áreas urbanizadas

O bioma de Mata Atlântica é uma das florestas tropicais com a maior biodiversidade do planeta e considerado um dos principais hotspots mundiais, que por definição trata-se de uma área ou bioma com mais de 1500 espécies endêmicas. É estimado que este bioma tenha perdido aproximadamente 75% de sua vegetação original, e justamente por sua proximidade com as maiores capitais do Brasil é caracterizada como uma das florestas mais ameaçadas no mundo (Rezende et al. 2018).

Inicialmente, este bioma cobria uma região que abrange desde a costa leste dos estados do Nordeste até o estado do Rio Grande do Sul na região sul do país, margeando o Oceano Atlântico de onde recebe seu nome, além de seguir para o interior nos estados do Paraná e Santa Catarina, chegando até a região leste do Paraguai e a província de Misiones no nordeste da Argentina, com cerca de 3429 municípios inseridos em 17 estados diferentes no Brasil (Tabarelli et al. 2005, Dantas et al. 2017) (Figura 3).

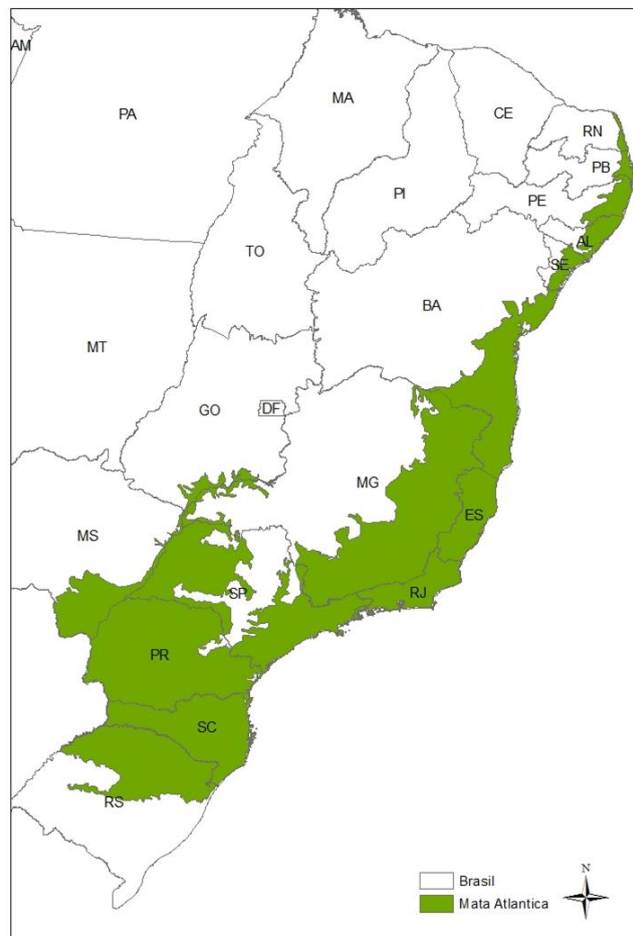


FIGURA 3: Abrangência do bioma de Mata Atlântica, sobre o território brasileiro. Mapa obtido do Sistema Nacional de Informações Florestais (SNIF) disponível em: <https://snif.florestal.gov.br/>

Atualmente somente 12% da floresta original se mantém de pé, porém extremamente fragmentada devido à contínua expansão das cidades e à ocupação contínua e progressiva para atividades agrícolas e agropecuárias (Silva & Casteleti 2003, Tabarelli et al. 2005). Essa fragmentação é responsável pelo surgimento de

barreiras que impedem o trânsito de espécies, causando isolamento e consequente perda de diversidade devido à redução do fluxo gênico (Dantas et al. 2017), tornando-a um dos ecossistemas mais prejudicados do planeta (Myers et al. 2000).

Em 2009, o total de fragmentos da Mata Atlântica era de 245.173 na qual aproximadamente 83,4% (204.469) são fragmentos menores que 50 hectares. Análises indicam que as espécies tropicais de ambientes florestais sofrem ainda mais os efeitos causados pelos padrões de uso do solo na transição borda versus interior mais preservado (Ribeiro et al. 2009). Essas alterações no bioma somadas ao aumento da população humana e o desmatamento da floresta são fatores que podem favorecer a dispersão de mosquitos vetores e sua proliferação (Sant'Ana 2013).

A Mata Atlântica possui uma topografia complexa, e essa característica permite uma ampla variedade ambiental e de microclimas que, definem as condições de habitat para cada espécie de mosquitos e contribuem com informações sobre a bioecologia de insetos vetores, além de possibilitar estudos envolvendo a incidência de agentes etiológicos (Guimarães et al. 2000). Algumas espécies podem atuar como bioindicadores de ambientes modificados, seja pelo aumento em sua população ou até sua ausência (Massad & Forattini 1998).

Levando-se em conta a capacidade de adaptação da família Culicidae, algumas espécies se sobressaem em abundância em meio à baixa riqueza, essa perda em habitats fragmentados é comumente observada (Ruiz et al., 2007; Chaves et al., 2011).

Atividades humanas, tais como a agricultura tradicional e a de subsistência alteram o ambiente florestal, criando ou reduzindo fragmentos neste bioma, e consequentemente influenciando o comportamento dos mosquitos, que são muito sensíveis a grandes variações nas condições ambientais (Afrane et al. 2008, Naranjo-

Díaz et al. 2019). Essa variedade de condições cria uma alteração espacial nas comunidades de Culicidae (Alencar et al. 2015).

As atividades antrópicas podem alterar os ambientes florestais em ambos os sentidos, pelo lado negativo, como é o caso da degradação quanto positivo, a preservação de uma determinada área, ambos podendo gerar implicações epidemiológicas no bioma de Mata Atlântica e conseqüentemente para a saúde pública, por isso levantamento faunísticos são tão importantes pois favorecem a identificação, o acompanhamento e o controle das populações de mosquitos (Dorvillé 1996, Montes 2005).

1.5. Diversidade de Culicidae em bioma de Mata Atlântica

Estudos sobre os aspectos ecológicos, biodiversidade e padrões de distribuição de Culicidae na Mata Atlântica são realizados por diversos motivos, entre eles, a busca por respostas sobre as mudanças ambientais causadas por atividades humanas e principalmente, a busca do entendimento de surtos de doenças transmitidas por mosquitos (Alencar et al. 2020a). Algumas espécies são frequentemente relatadas neste bioma, como por exemplo *Haemagogus leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924, *Limatus durhamii* Theobald, 1901 e *Aedes albopictus* Skuse, 1894 (Alencar et al. 2016a, Virgens et al. 2018), e apesar da ocorrência de outras espécies, relataremos aqui alguns aspectos relacionados a estas taxa, levando em conta sua importância na transmissão de patógenos.

Mosquitos do gênero *Haemagogus* estão constantemente presentes em estudos realizados na Mata Atlântica (Alencar et al. 2008), uma vez que possuem importante papel na epidemiologia de doenças. As espécies *Haemagogus capricornii* Lutz, 1904, *Haemagogus janthinomys* Dyar, 1921 e *Hg. leucocelaenus* apresentam grande

importância médica por estarem envolvidas na transmissão do vírus da FAS e têm ampla distribuição geográfica no continente americano (Marcondes & Alencar 2010).

O fato dos ovos da espécie *Hg. janthinomys* eclodirem em grupos a cada nova imersão em água, facilita a sobrevivência da espécie em longos períodos de estiagem e possibilita a sua ocorrência em vários períodos do ano (Alencar et al. 2008). *Hg. leucocelaenus* é a espécie mais frequente no Brasil (Abreu et al. 2019). Sua distribuição geográfica se estende desde a ilha de Trinidad no Caribe, até o sul do Brasil, e tem sido assinalada principalmente nos estados de Mato Grosso, Goiás, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul (Zavortink 1972). É importante destacar que uma maior capacidade de adaptação a ambientes modificados tem sido relatada para essa espécie (Camargo-Neves et al. 2005, Alencar et al. 2016b).

Embora espécies desse gênero são encontradas mais facilmente em ambientes de Mata Atlântica relativamente preservadas, com poucas alterações em seu ecossistema (Mondet 1997, Mondet et al. 2002), um estudo em áreas de ocorrência de FAS em São Paulo indicou a presença de *Hg. janthinomys/capricornii* em vários municípios, com indícios de adaptação a ambientes modificados pela atividade humana. *Sabethes chloropterus* Humboldt, 1819 também foi encontrado nesse mesmo estudo (Camargo-Neves et al. 2005).

A tribo Sabethini é um dos maiores e mais diferenciados grupos dentro de Culicidae, com poucas espécies apresentando importância epidemiológica. No gênero *Sabethes*, poucas espécies participam de ciclos silvestres de arboviroses, não possuindo tendência a abandonar o meio silvestre e, menos ainda, adaptar-se ao meio antrópico, embora o interesse no papel que algumas espécies deste gênero teriam na manutenção de arbovírus no Panamá proporcionou o estímulo inicial para estudos mais específicos deste grupo (Harbach 1994).

A densidade das espécies deste gênero, não se altera muito com a diminuição das chuvas, pois em alguns ambientes florestais, durante a estação seca, permanecem ou podem exceder o total das demais espécies de Culicidae. Destaca-se a presença constante de *Sa. chloropterus* e *Sabethes albiprivus* Theobald, 1903 em estudos de levantamento faunístico na Mata Atlântica (Mascheretti et al. 2013, Couto-Lima et al. 2017).

Quanto ao gênero *Aedes*, este reúne provavelmente o mais importante grupo de culicídeos de importância epidemiológica e possui grande capacidade de adaptação a áreas antropizadas. *Aedes albopictus* é amplamente disperso em ambientes florestais de Mata Atlântica (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004) e constantemente encontrado em ambientes urbanos no Brasil (Forattini et al. 1997, Zequi et al. 2018).

Uma alta frequência de *Aedes scapularis* Rondoni, 1848, e *Aedes serratus* Theobald, 1901 também é relatada em estudos neste bioma (Forattini et al. 1981, Sant'Ana & Lozovei 2001, Laporta et al. 2012). O mais conhecido membro deste gênero no Brasil e provavelmente no mundo é a espécie *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, que possui competência vetorial para diversos arbovírus sendo um dos mais importantes alvos de preocupação da saúde pública no país (Braga & Valle 2007, Souza-Neto et al. 2019). Embora seja considerado não presente em mata fechada ou em ambientes florestais densos, em 2016 Alencar et al. (2020b) registraram a presença da espécie em uma reserva de Mata Atlântica na cidade de Bom Retiro, Rio de Janeiro, fato considerado extremamente incomum até o momento.

O gênero *Culex*, conhecido por seu representante urbano *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, possui uma grande quantidade de espécies muito adaptadas ao bioma de Mata Atlântica, como por exemplo o *Culex nigripalpus* Theobald, 1901 (Virgens et al. 2018), *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Albeny-Simões et al. 2019), *Culex imitator*

Theobald, 1903 (Oliveira-Christe et al. 2019), entre outros que são constantemente relatadas em levantamentos faunísticos de Culicidae, sendo comumente encontradas utilizando bromélias como habitats larvais.

Estudos sistematizados no bioma de Mata Atlântica sobre investigação de vetores de FAS começaram em 1942 com Davis (1944) com estratificação de armadilhas em dois pontos no município de Teresópolis, estado do Rio de Janeiro e posteriormente com Causey & Dos Santos (1949) que de 1945 a 1948 fizeram observações diurnas em um fragmento de floresta em Passos, Minas Gerais em busca de espécies do gênero *Haemagogus*, neste estudo foi relatada a presença de diversas espécies de vários gêneros e que a população de *Haemagogus* poderia passar um ciclo, além do ciclo sazonal comumente observado.

Cerca de dez anos depois, uma série de estudos em ambiente de mata no município de Brusque, SC faz associação da biologia do vetor (anofelinos, subgênero *Kerteszia*) com medidas microclimáticas padronizadas (Aragão, 1958, Aragão 1968). Posteriormente, já na década de 60 e 70 Forattini e colaboradores intensificam os estudos sobre aspectos da ecologia, epidemiologia e sistemática de espécies de mosquitos de diversas áreas do Vale do Ribeira, situado no sudeste do Estado de São Paulo (Forattini et al. 1968, Forattini et al. 1978a, Forattini et al. 1978b).

Desde então diversos grupos de pesquisa realizaram estudos sobre levantamento, comportamento e características dos culicídeos da área de Mata Atlântica, buscando nesses trabalhos a relação entre espécies de Culicidae e o ambiente, algumas das vezes iniciado a partir de algum agravo de saúde relatado (Guimarães & Arlé 1984, Guimarães et al. 1985, Guimarães et al. 1989, Tubaki et al. 1993, Guimarães et al. 1994).

Outros estudos em áreas sob influência da Mata Atlântica sobre a fauna de mosquitos presentes, correlacionando de forma cada vez mais minuciosa os aspectos de temperatura (Alencar et al. 2011, Couto-Lima et al. 2020; Alencar et al. 2021), pluviosidade (Guedes 2010, Alencar et al. 2021), sazonalidade (Cardoso et al. 2011, Silva et al. 2013) características e hábitos biológicos (Santos-Neto & Lozovei 2008, Alencar et al. 2016b, Silva et al. 2021), tem sido realizado.

Além dos exemplos citados, a Mata Atlântica por sua grandiosa diversidade abriga conseqüentemente diversos gêneros de mosquitos ao longo de todo seu território, cada gênero com espécies representantes de importância médica ou médica veterinária. *Mansonia*, *Psorophora*, *Runchomyia*, *Limatus*, *Trichoprosopon* e *Wyeomyia* são alguns dos gêneros encontrados (Virgens et al. 2018) e que necessitam de estudos aprofundados sobre o comportamento e possíveis doenças que são capazes de transmitir.

1.6. Efeito de borda sobre a distribuição de Culicidae em fragmento de floresta

Áreas de florestas, antes contínuas, passam a ser reduzidas ou subdivididas em fragmentos menores desencadeando uma supressão da vegetação. Quando essa fragmentação tende a alterar a distribuição, o comportamento e a sobrevivência de espécies que nela existem, então considera-se que esta área está sob efeito de borda (Copatti & Gasparetto 2012).

O efeito de borda, portanto, é um evento capaz de moderar substancialmente os fragmentos florestais, sendo este um efeito que penetra na área do fragmento por vários metros, atuando em processos ecológicos e esses passam a se diferenciar enormemente dos ambientes centrais (Laurance et al. 2002).

Muitas espécies evitam habitats sob influência do efeito de borda, uma vez que a fragmentação criada acarreta um surgimento de barreiras, isolamento reprodutivo,

diminuição do fluxo gênico e conseqüentemente perda da diversidade. Tais fatos levam a uma mudança nas formas de interação entre elas (Dantas et al. 2017).

Outras espécies, entretanto, parecem se beneficiar em consequência da redução de predadores e/ou aumento de recursos disponíveis à reprodução (Copatti & Gasparetto 2012). Insetos e outros invertebrados podem aumentar abundância quanto mais próximos da área de borda (Didham 1997), e geralmente apresentam uma enorme variedade de respostas à quantidade e qualidade dos recursos (Laurence & Bierregaard Jr 1997). Entre os culicídeos a perda de riqueza de espécies ocorre, porém algumas se sobressaem, mesmo considerando a adaptação a ambientes modificados, aumentando a abundância em meio à baixa riqueza (Chaves et al. 2011).

Deve ser considerada a adaptabilidade da espécie, que anteriormente participa da fauna regional e adapta-se às condições de alteração apresentadas nas bordas dos fragmentos, como observado com *Ae. scapularis* que habita ambientes naturais, mas possui uma grande capacidade de adaptação aos ambientes que sofreram alterações como em áreas rurais (Barbosa et al. 2008).

1.7. Breve histórico e importância da Ilha de Trindade, arquipélago no Oceano Atlântico

A Ilha da Trindade, situada entre 20°29'–20°32'S e 29°17'–29°21'W a 1.140 km da costa do Espírito Santo, tem a sua descoberta datada em 1501 pela maioria dos historiadores, pelo navegador português João da Nova e batizada um ano depois por Estevão da Gama, com o nome que conserva até hoje, em homenagem à Santíssima Trindade, em função das três elevações mais conspícuas, que se avistam à distância. Confundida frequentemente com a ilha de Ascensão no século XVI, nome sob o qual figura em algumas cartas e escritos da época (SECIRM 2017).

A ilha foi intermitentemente utilizada como ponto de apoio marítimo por traficantes de escravos e piratas ingleses. Nos séculos XVIII e XIX foi visitada por navegadores, exploradores e naturalistas. Entre 1781 e 1782 a ilha foi ocupada por ingleses, sendo retomada por portugueses no ano seguinte, que manteve a ocupação até 1797, em 1882 com a Proclamação da Independência a Ilha da Trindade foi definitivamente incorporada ao território brasileiro (SECIRM 2017).

Em 1950, uma expedição científica foi enviada com o intuito de avaliar a ocupação permanente, e em 29 de maio de 1957 foi criado o Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade (POIT) com presença permanente de pessoas, o que garante a posse a uma área de 200 milhas náuticas ao redor, concedendo ao Brasil os direitos de soberania para pesquisar, preservar ou explorar. Mais recentemente em 15 de maio de 2007, foi publicado no Diário Oficial da União a criação do Programa de Pesquisas Científicas na Ilha da Trindade (Protrindade), e em 2010 foi concluída a Estação Científica na ilha (ECIT) que abriga pesquisadores de diversas instituições do país com projetos relacionados a diversas áreas de conhecimento (Figura 4) (SECIRM 2017).

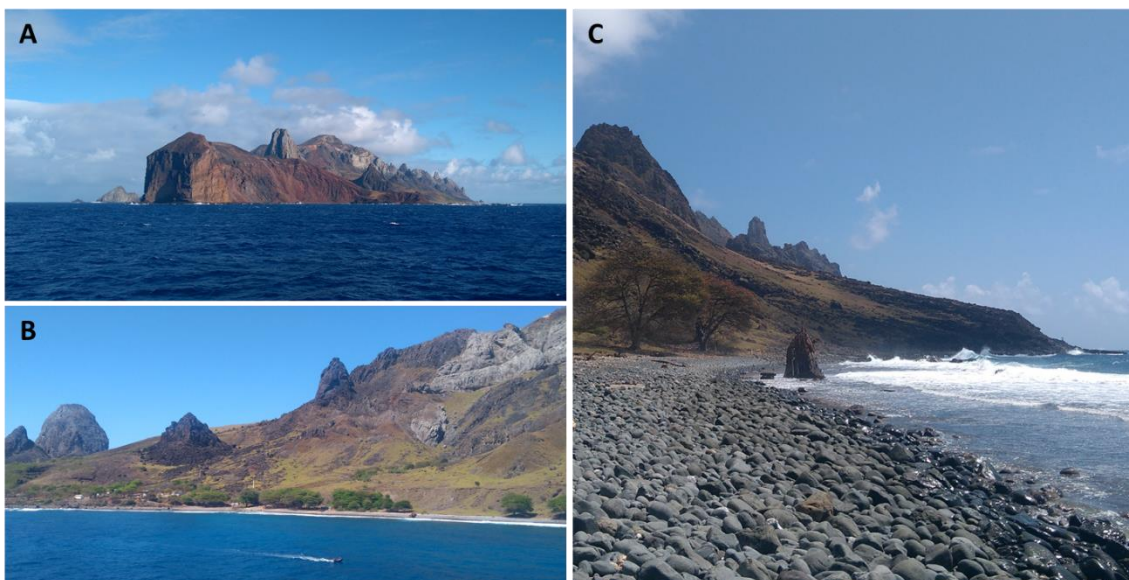


FIGURA 4: Ilha da Trindade. (A) vista sudeste da ilha; (B) vista norte da ilha, com instalações; (C) vista noroeste da ilha a partir da Praia dos portugueses. Foto: Araujo-Oliveira 2019.

O primeiro e único relato de espécie de culicídeo (indeterminada e não confirmada) na Ilha da Trindade foi realizado pelo Prof. Johann Becker (Alves 1998). Porém, somente em 2018 surgem os primeiros relatos de mosquitos realizando repasto sanguíneo, nunca observados até então pelos militares destacados no local.

1.8. Arbovírus e outros patógenos transmitidos por mosquitos

Embora as picadas por mosquitos sejam extremamente incômodas, em algumas pessoas podem surgir uma reação alérgica maior, causando bastante desconforto. Além disso, as doenças causadas por patógenos transmitidos por mosquitos são as maiores causadoras de mortes em regiões tropicais (Ferguson 2018). Por isso, os mosquitos são considerados os mais importantes vetores de patógenos conhecidos, causando desde morte a invalidez permanente devido a algumas das doenças desenvolvidas por patógenos transmitidas por eles (Barnett 2007, Muñoz & Navarro 2012).

A transmissão ocorre através da picada de uma fêmea infectada, que adquire o patógeno após o repasto sanguíneo em um indivíduo ou animal infectado. Considera-se fêmea infectada a que possui o patógeno infectivo na saliva. Para chegar a esta fase, o sangue sugado com o patógeno é digerido, e no decorrer da digestão se multiplica em diferentes tecidos do mosquito até alcançar a glândula salivar, na qual a saliva será o principal meio de transmissão (Lourenço-de-Oliveira 2015).

Entre os patógenos transmitidos por mosquitos aos seres humanos existem os protozoários, como as diversas espécies de *Plasmodium* causadores da Malária (Monteiro et al. 2013, Talapko et al. 2019, Altamiranda-Saavedra et al. 2018). Porém, no Brasil somente as espécies *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malarie* foram encontradas (Monteiro et al. 2013), na qual 99% dos casos de malária ocorrem na região da Amazônia Legal. Entretanto, na Mata Atlântica, uma

região extra-amazônica a letalidade da malária é cerca de 80 vezes maior, e isso se deve principalmente ao diagnóstico tardio da doença (Braz et al. 2020).

Nematóides como *Wuchereria bancrofti* Cobbold, 1877, agente etiológico da Elefantíase ou Filariose (Small et al. 2019) estava presente em diversos estados: Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Bahia (BA), Alagoas (AL) e Pernambuco (PE) entre as décadas de 40 e 50, porém, atualmente somente a região metropolitana da cidade de Recife (PE) é endêmica para a doença (Fontes et al. 2012), com o último caso confirmado no ano de 2013 (BRASIL 2019).

Em relação aos arbovírus, que são vírus transmitidos por artrópodes, englobando uma grande diversidade de vírus patogênicos ao homem (Guedes 2012), existe outra forma dos mosquitos tornarem-se infectivos. Trata-se da transmissão vertical, na qual uma fêmea infectada gera um percentual de sua prole, mesmo que baixo, já infectado com o patógeno (Fontenille et al. 1997, Cecílio et al. 2009). A transmissão vertical no mosquito, é observada com vírus e bactérias, porém não foi relatado com protozoários como por exemplo os causadores da malária (Maciel & Oliveira 2014).

Entre as doenças causadas por arbovírus mais constantemente relatadas mundialmente são aquelas presentes em ambiente urbano como a Dengue, Chikungunya, Zika, diversas encefalites e Febre Amarela (Weaver et al. 2018).

1.8.1. Febre Amarela

A Febre Amarela é uma doença que acomete cerca de 200 mil pessoas por ano em todo o mundo, levando à morte aproximadamente 30 mil (15%) (WHO 2021). Pertencente à Família Flaviviridae, gênero *Flavivirus* (Vasconcelos 2002), o vírus da Febre Amarela causa uma doença febril que em casos graves apresenta-se como uma febre hemorrágica com complicações hepáticas e renais, que pode culminar com o óbito (Cavalcante & Tauil 2016).

A história das principais arboviroses no Brasil começa com a Febre Amarela que foi provavelmente introduzida na América através de navios europeus que faziam a rota entre o continente americano e o continente africano, e que traziam não só o vírus, mas também os ovos do mosquito vetor, *Ae. aegypti* (Franco 1969).

Em termos sanitários e econômicos o país sofreu muito com a doença, e sua eliminação das zonas urbanas, no início do século XX, foi um grande feito, além do mais, a criação de uma vacina auxiliou muito a prevenção da ocorrência de novos casos (Benchimol 1994, Ferreira et al. 2011).

Na década de 1920 não havia relatos sobre Febre Amarela em áreas florestais, apenas a epidemia urbana da doença transmitida por *Ae. aegypti*, quando posteriormente surgiu a suspeita de transmissão da doença em áreas silvestres da Colômbia (Arjona 1999). A comprovação deste fato no Brasil, só foi feita no vale de Canaã, Estado do Espírito Santo, ficando evidente que o vírus havia se adaptado aos mosquitos silvestres, passando a ser denominado de febre amarela silvestre (FAS) (Mondet 2001) (Figura 5).

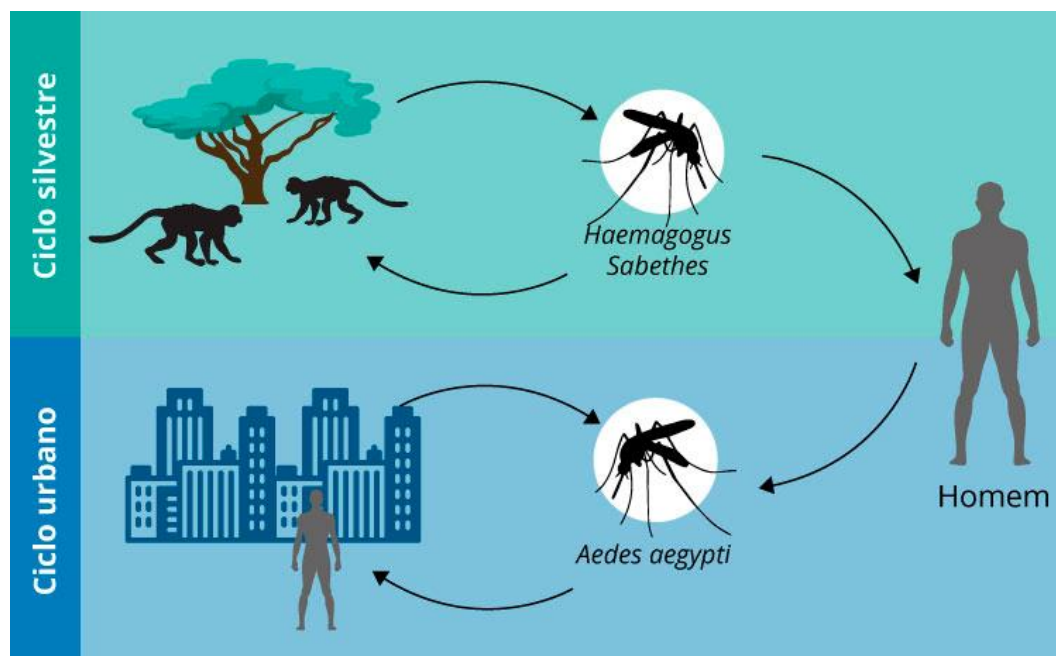


FIGURA 5: Esquema de ciclo silvestre e urbano da febre amarela. Fonte: Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela, 2014.

Muitos fatores, como alterações climáticas, desmatamentos, extrativismo, entre outros podem atuar no ciclo silvestre da doença deslocando-a de seu foco natural, local onde os vírus se propagam continuamente através de hospedeiros primários, e contribui para a expansão da área epizootica além das áreas de risco pré-estabelecidas (Costa et al. 2011, Mascheretti et al. 2013, Brito et al. 2014). Primatas não humanos são comumente acometidos pelo vírus, sendo os bugios (*Alouatta*) os mais evidentes, devido a especificidades destes animais que acabam sofrendo com a infecção e sua mortandade gera os alertas sobre os riscos para a população humana (Abreu et al. 2019), que pode ser infectadas ocasionalmente através da picada do mosquito (Araújo et al. 2011). Marsupiais e algumas outras espécies de macacos têm sido encontrados com anticorpos para o vírus da Febre Amarela, e seu papel como reservatório é pouco conhecido (Vasconcelos 2003). Em locais onde foi relatada a morte de primatas não humanos também foi isolado vírus no mosquito *Hg. leucocelaenus*, espécie já conhecida como um vetor eficiente de FA (Vasconcelos et al. 2003).

Estima-se que 34 países na África e 13 nas Américas Central e do Sul sejam endêmicos para FAS (Barrett & Higgs 2007, Marcondes 2011, WHO 2021). Atualmente a doença ocorre de forma endêmica nas regiões Norte, Centro-Oeste e parte da região Sudeste do Brasil, principalmente no estado de Minas Gerais, sendo epidêmica em quase todos os outros estados (Vasconcelos 2003, BRASIL 2020). Os surtos de FAS são de forma periódica em locais próximos as áreas de florestas e zonas rurais. Estes surtos acometeram 964 pessoas entre os anos de 1954 e 2008, com mortalidade em torno de 50% (Câmara et al. 2011). Entretanto, até o início da década de 1980 os casos raramente excediam a 40 notificações por ano, mas o número dessas notificações começou a aumentar, como ocorrido nos anos de 1984, 1993, 1999-2000, 2008 e 2009 (Vasconcelos 2002, BRASIL 2020).

Segundo o relatório de atualização epidemiológica da febre amarela divulgado pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) em outubro de 2021, o Brasil passou pelo maior surto da doença nos últimos anos (PAHO 2021). Cavalcante & Tauil 2017, Abreu et al. (2020) disseram que felizmente esse agravo pode ser contido com a vacinação em massa da população vulnerável.

Noronha & Camacho (2017) relatam que em decorrência deste último surto epidemiológico de febre amarela ocorrido no Brasil em 2017, as autoridades de saúde pública no país ampliaram a área de risco para a doença (recomendação para a vacinação), que passou a incluir toda região sul e sudeste do Brasil, bem como todo o estado da Bahia, a parte sul do estado do Piauí e o estado do Maranhão que já pertenciam a área de risco anteriormente, permanecendo apenas sem recomendação os estados de Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará

Mesmo que há muito tempo não tenha sido confirmada a transmissão urbana da FA no Brasil, a crescente abundância de mosquitos da espécie *Ae. aegypti* faz temer este risco, sendo necessário, portanto, conhecer as possibilidades de intercâmbio do vírus entre as regiões de mata e a zona urbana, onde se inclui também a presença da espécie *Ae. albopictus*, que ocorre em ambos os ambientes e pode constituir em um risco adicional para a disseminação deste vírus (Cavalcante & Tauil 2016).

1.8.2. Dengue

Dentre os arbovírus transmitidos, o vírus Dengue é o que mais acomete pessoas no país e em toda América do Sul, sendo o Brasil responsável pelo maior número de casos (WHO 2009). Esse vírus disseminou-se nas Américas somente nos anos 80 e passou a adquirir importância epidemiológica no Brasil em 1986, quando deixou de circular apenas no estado do Rio de Janeiro e apareceram casos na região nordeste (Barreto & Teixeira 2008). São quatro os sorotipos do vírus Dengue (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) e todos foram detectados no país, com atual predominância do DENV1 (BRASIL 2020).

Os primeiros registros de uma doença com quadro clínico compatível como os causados pela dengue datam do ano de 610 d.C.; as ocorrências mais bem documentadas foram nos anos de 1778 na Ilha de Java, em Jacarta e na Filadélfia, e em 1779 no Egito e em 1953 foi registrado o primeiro surto de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD). No continente americano a grande escalada da dengue ocorreu a partir da década de 1980, hoje são relatados casos desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (Barreto & Teixeira 2008).

Os principais vetores do vírus Dengue são os mosquitos do gênero *Aedes*, mais especificamente *Ae. aegypti*, considerado vetor primário e *Ae. albopictus* considerado vetor secundário do vírus e primário no sudeste asiático (Tauil 2001, Corrêa et al. 2005). Altamente antropofílico, as fêmeas de *Ae. aegypti* preferem fazer sua oviposição na parede de containers artificiais ou recipientes expostos que contenham água e estejam em locais sombreados. Isso geralmente ocorre com maior probabilidade em torno das residências (Fay & Perry 1965, Gubler 1998, Gomes et al. 2006).

Destaca-se a importância dos mosquitos *Ae. Albopictus*, pois possuem grande capacidade de transição em diferentes ambientes que variam de urbanos a silvestres

(Santos 2003, Pancetti et al. 2015), o que conseqüentemente mostra a necessidade do seu monitoramento.

1.8.3. Zika

Em abril de 2015 foi confirmada transmissão autóctone de vírus Zika (ZIKV) no país. Este causa uma doença febril, acompanhada por outros sintomas gerais, tais como cefaleia, mal-estar e dores articulares e nos casos mais graves comprometimento do sistema nervoso central (Campos et al. 2015, Vasconcellos 2015). Em gestantes pode causar no feto uma má formação congênita em que o cérebro não se desenvolve (microcefalia) (Vargas et al. 2016). Oriundo de uma floresta de mesmo nome em Uganda na África, o vírus Zika foi confirmado em humanos na Nigéria e posteriormente reportado em outros países africanos, e algum tempo depois em países asiáticos como Índia, Malásia, Tailândia e Indonésia (Hayes 2009, Lima-Camara 2016). Em 2013 houve um registro de uma grande epidemia na Polinésia Francesa, local com grande quantidade de turistas e possibilitando uma maior distribuição do vírus globalmente (Musso et al. 2014). Os primeiros estados brasileiros a registrar casos de zika foram Bahia e Rio Grande do Norte (Zanluca et al. 2015), atualmente no país foram registrados 756 casos prováveis com uma taxa de incidência de 0,4 casos por 100 mil habitantes (BRASIL 2022).

1.8.4. Chikungunya

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um arbovirus que pertence ao gênero *Alphavirus* e família *Togoviridae* (BRASIL 2015). Um dos sintomas da febre de chikungunya é a ocorrência de dores agudas nas articulações (artralgias), que persistem por meses em alguns casos. Estes sintomas a tornam uma doença incapacitante, tendo

como consequência a redução da produtividade e da qualidade de vida de quem é acometido (BRASIL 2015).

Desde que foi isolado pela primeira vez, em meados de 1952, na Tanzânia, o vírus CHIKV vem sendo relatado em mais de 60 países da Ásia, África, Europa e Américas (WHO, 2017). Em 2013 entrou no continente americano, inicialmente no Caribe até, em 2014, passar a ocorrer a transmissão autóctone no Brasil primeiramente nos Estados do Amapá e Bahia (Teixeira et al. 2015). Conforme o último boletim epidemiológico divulgado pelo Ministério da Saúde ocorreram 17.411 casos prováveis de Chikungunya no ano de 2022 até o momento, com taxa de incidência de 8,2 casos por 100 mil habitantes (BRASIL 2022).

2. JUSTIFICATIVA

Apesar da vacina antiamarílica ser uma ferramenta importantíssima para o controle da febre amarela, inúmeros casos da doença ocorreram e ocorrem no Brasil seja em ciclos ou em casos esporádicos. A vacinação costuma ser muito eficiente, mas a aplicação desta em toda a população da área afetada, que é diferente a cada novo surto, é complexa, especialmente em curto prazo, e se torna muito difícil evitar os óbitos.

A não existência de uma vacina de alta eficácia para as outras arboviroses (dengue, chikungunya e zika) aumenta em relevância o propósito do estudo, na qual as transformações causadas ao ambiente pelos diferentes ciclos de atividade humana vêm modificando a dinâmica populacional de insetos vetores ao longo dos anos e frequentemente, espécies de grupos de mosquitos que apresentam hábitos tipicamente silvestres têm-se adaptado a habitats larvais localizados em áreas urbanas e, por conseguinte, à convivência com o homem. O conhecimento das populações de mosquitos é de fundamental importância, seja pela degradação ou preservação de determinada área e suas implicações no cenário epidemiológico.

Desta forma, o presente estudo se propõe a avaliar aspectos da biologia das espécies de mosquitos das áreas de situação de vigilância entomológica para FAS, de acordo com as condições ambientais (temperatura, umidade e pluviosidade), o tipo de mata e a situação nesta (borda versus interior e proximidades) e preferências de postura de ovos, em suas várias condições ambientais. Com base nos dados obtidos, pretende-se fornecer subsídios para a compreensão do comportamento de culicídeos de importância médica na natureza e com isso, possibilitar a o entendimento da ocorrência de surtos de doenças causadas por patógenos transmitidos por mosquitos vetores em humanos. Essa abordagem foi agrupada nos dois primeiros capítulos:

CAPÍTULO I:

COMPOSIÇÃO E DIVERSIDADE DA FAUNA DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EM UMA ÁREA DE MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

CAPÍTULO II:

AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE DE CULICÍDEOS VETORES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA SILVESTRE EM REMANECENTES DA MATA ATLÂNTICA, COM O USO DE OVITRAMPAS E BAMBUTRAPS

Durante a realização dos estudos, surgiu a possibilidade de estudar uma nova população de mosquitos, quando nossa equipe recebeu relatos sobre mosquitos por parte de militares da Marinha do Brasil presentes na Ilha de Trindade (BR). Vislumbramos assim a possibilidade de comparar o comportamento, padrões de oviposição e outras características com os espécimes tradicionalmente encontrados na Mata Atlântica.

Desde então tornou-se importante uma expedição para identificação de espécie de mosquito encontrada em ambiente de ilha oceânica, em localidade completamente remota, avaliar a existência de riscos de transmissão de alguns arbovírus ao destacamento militar presente, devido à dificuldade de acesso e demora no recebimento de suprimentos, bem como de qualquer auxílio médico mais especializado. Esta abordagem foi incluída no capítulo final:

CAPÍTULO III:

Aedes aegypti INVADE A ILHA DA TRINDADE, A 1.140 KM DO LITORAL BRASILEIRO, NO ATLÂNTICO SUL.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Estudar a biodiversidade de culicídeos na área do entorno da Reserva Biológica do Tinguá no município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, e realizar a vigilância entomológica no Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade (POIT), após o relato da primo-infestação de culicídeos.

3.2. Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a diversidade de mosquitos vetores na área do entorno da Reserva Biológica do Tinguá no município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro;
- ✓ Analisar a fauna de mosquitos em diferentes distâncias em relação as residências com de vegetação distinta (interior da mata, área de transição e próximo às habitações);
- ✓ Comparar as condições abióticas como temperatura e precipitação sobre a variação da população de mosquitos;
- ✓ Analisar o comportamento das espécies de mosquitos quanto à preferência de oviposição pelas diferentes alturas, através da utilização de armadilhas de ovitrampas e bambutrap;
- ✓ Avaliar a infestação de mosquitos no Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade;
- ✓ Elaborar um plano de manejo de material, procedimentos e cuidados que devem ser adotados para prevenir introduções de mosquitos no POIT;
- ✓ Treinar e capacitar recursos humanos em práticas que visem a adequação do plano de manejo e erradicação de culicídeos invasores no POIT;

CAPÍTULO I

(Submetido à Scientific Reports)

**COMPOSIÇÃO E DIVERSIDADE DA FAUNA DE MOSQUITO (DIPTERA:
CULICIDAE) EM UMA ÁREA DE MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DO RIO
DE JANEIRO, BRASIL**

Alexandre de Araujo-Oliveira^{1,2}; Jeronimo Alencar³; William de Almeida Marques⁴;

Michele Teixeira Serdeiro³; Jacenir Reis dos Santos Mallet¹.

¹ Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera,
Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz),
Rio de Janeiro, Brasil.

³ Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

⁴ Laboratório de Biologia de Insetos e Parasitos, Instituto de Biofísica Médica Carlos
Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro Brasil.

RESUMO

Diversas espécies de mosquitos do bioma Mata Atlântica são consideradas vetores da febre amarela, constituindo uma área de risco potencial para a população humana. Estudos sobre mosquitos de áreas predominantemente silvestres produzem dados valiosos para a compreensão do surgimento de novas epidemias. Além disso, esses estudos elucidam componentes ambientais que favorecem ou dificultam a biodiversidade e a distribuição das espécies. Esse estudo teve como objetivo avaliar a distribuição mensal, composição, diversidade e influência dos períodos sazonais (seco e chuvoso) sobre a fauna de mosquitos. Foram utilizadas armadilhas luminosas CDC em diferentes níveis em uma área de mata limítrofe de uma Unidade de Conservação de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os espécimes foram capturados de agosto de 2018 a julho de 2019 por meio da instalação de armadilhas em locais de amostragem sob diferentes coberturas vegetais. Entre as amostragens, foram detectadas algumas espécies de importância epidemiológica em termos de transmissão de arbovírus. Um total de 4.048 espécimes representando 20 espécies diferentes foram coletados. Dentre essas espécies, *Aedes albopictus* apresentou associação recorrente com o nível mais próximo das residências humanas e *Haemagogus leucocelaenus* com os níveis mais distantes. Holisticamente, nas condições estudadas, as populações de mosquitos foram diretamente influenciadas pelas condições ambientais durante os períodos seco e chuvoso; assim, podem ocorrer mudanças no local de atividade por parte das espécies encontradas.

ABSTRACT

Several mosquito species in the Atlantic Forest biome are considered vectors of yellow fever, constituting an area of potential risk to the human population. Studies on mosquitoes from predominantly sylvatic areas produce valuable data for understanding the emergence of new epidemics. In addition, these studies elucidate environmental components favoring or hindering biodiversity and species distribution. Our study aimed to evaluate the monthly distribution, composition, diversity, and influence of seasonal periods (dry and rainy) on the mosquito fauna. We used CDC light traps at different levels in a forest area bordering a Conservation Unit of Nova Iguaçu, in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Specimens were captured from August 2018 to July 2019 by installing traps in sampling sites under different vegetation covers. Among the samplings, we detected some species of epidemiological importance in terms of arbovirus transmission. A total of 4,048 specimens representing 20 different species were collected. Among these species, *Aedes albopictus* showed recurrent association with the closest level to human residences and *Haemagogus leucocelaenus* with the most distant levels. Holistically, under the studied conditions, the mosquito populations were directly influenced by conditions during the dry and rainy periods; thus, changes may occur at the site of activity.

1. INTRODUÇÃO

Conhecidos popularmente como mosquitos, pernilongos, carapanãs e muriçocas, os culicídeos são dípteros nematóceros, de distribuição cosmopolita, que desde a antiguidade vêm sendo envolvidos na transmissão de agentes etiológicos de doenças ao homem e/ou a outros animais (WHO 2014, Bartlow et al. 2019). Existem cerca de 3.583 espécies de mosquitos reconhecidas, distribuídos em 42 gêneros de acordo com a classificação mais tradicional de Wilkerson et al. (2015).

Estudos sobre os aspectos ecológicos da fauna mosquitos têm sido realizados em vários estados brasileiros. No estado do Rio de Janeiro, esses estudos geralmente foram motivados pela presença de vetores em ambientes urbanos, porém, os estudos em ambiente silvestre são de suma importância, pois buscam esclarecer o surgimento e a dinâmica de doenças que tipicamente circulam nestes ambientes (Alencar et al. 2011, Alencar et al. 2015, Silva et al. 2017, Alencar et al. 2020).

Endêmica de florestas tropicais no continente Africano e nas Américas, a febre amarela é uma doença infecciosa aguda causada por vírus (YFV) da família Flaviviridae gênero *Flavivirus* transmitida por mosquito, provoca surtos esporádicos em Primatas Não Humanos (PNH) e em seres humanos, esses surtos podem dar origem a epidemias causando um forte impacto na sociedade (Mascheretti et al. 2013, Abreu et al. 2019).

A transmissão é, atualmente, considerada apenas em ambiente silvestre no Brasil, e teve seus últimos registros de transmissão em área urbana na década de 40 no município de Sena Madureira, estado do Acre (Vasconcelos 2002). Todavia, o risco da reurbanização da febre amarela também é um ponto importante a ser destacado (Cavalcante & Tauil 2017, Silva et al. 2018).

Contudo, para monitorar o risco de re-urbanização é necessário detectar a presença de espécies vetores competentes coabitando os mesmos ambientes como *Aedes*

(*Stg.*) *albopictus* Skuse 1894, muito presente em bairros periurbanos e/ou rural, além de urbanos e citado por muitos autores um possível vetor de ligação entre os ambientes silvestres e periurbanos/urbanos (Vasconcelos 2002, Alencar et al. 2016, Possas et al. 2018).

No bioma de Mata Atlântica, diversas espécies de mosquito são consideradas vetores da febre amarela, principalmente os que pertencem aos gêneros *Haemagogus* (vetor primário), e *Sabethes* (vetor secundário) (Couto-Lima et al. 2020) e em locais onde há a presença dos vetores, a área em si pode constituir um risco para a população residente em seu entorno, ou para aqueles que adentram esses locais sem os devidos cuidados e sem imunização (Mascheretti et al. 2013).

Estudos realizados sobre as populações de mosquitos em área predominantemente silvestre produzem dados que auxiliam a compreender o surgimento do desenvolvimento de novas epidemias, além de elucidar componentes ambientais que tendem favorecer ou prejudicar a biodiversidade e a distribuição das espécies de culicídeos (Guimarães et al. 2000, Alencar et al. 2016). Alterações ambientais forçadas pelas atividades humanas podem descontrolar populações de mosquitos devido à ausência de pressões seletivas que às mantinham (Lyimo & Ferguson 2009).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a distribuição mensal, composição, diversidade e a influência dos períodos sazonais (seco e chuvoso) na fauna de mosquitos atraída por armadilha luminosa do tipo CDC em diferentes níveis territoriais em uma área verde fronteira a uma Unidade de Conservação do município de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As capturas dos espécimes de mosquitos foi realizada mensalmente por doze meses, entre agosto de 2018 a julho de 2019 em uma área verde fronteiriça da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil ($22^{\circ}39'00.9''$ S / $43^{\circ}31'19.4''$ W) localizado a 63 km a noroeste da cidade do Rio de Janeiro, o local apresenta a cobertura vegetal típica de Floresta Ombrófila densa Montana e Sub-Montana (Garai & Rizzini 2003), apresentando clima tropical úmido, sem a presença de uma estação seca definida com as médias mensais de temperatura variado em torno de $17,3^{\circ}\text{C}$ e $25,8^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar entre 83% e 85%.

Foram selecionados pontos de amostragens com diferentes coberturas vegetais, divididos em quatro níveis (Level 1-4) com 600 metros de distância entre eles, ao todo foram oito pontos amostrais (A-H), iniciando na última residência da estrada de acesso (Figura 6).

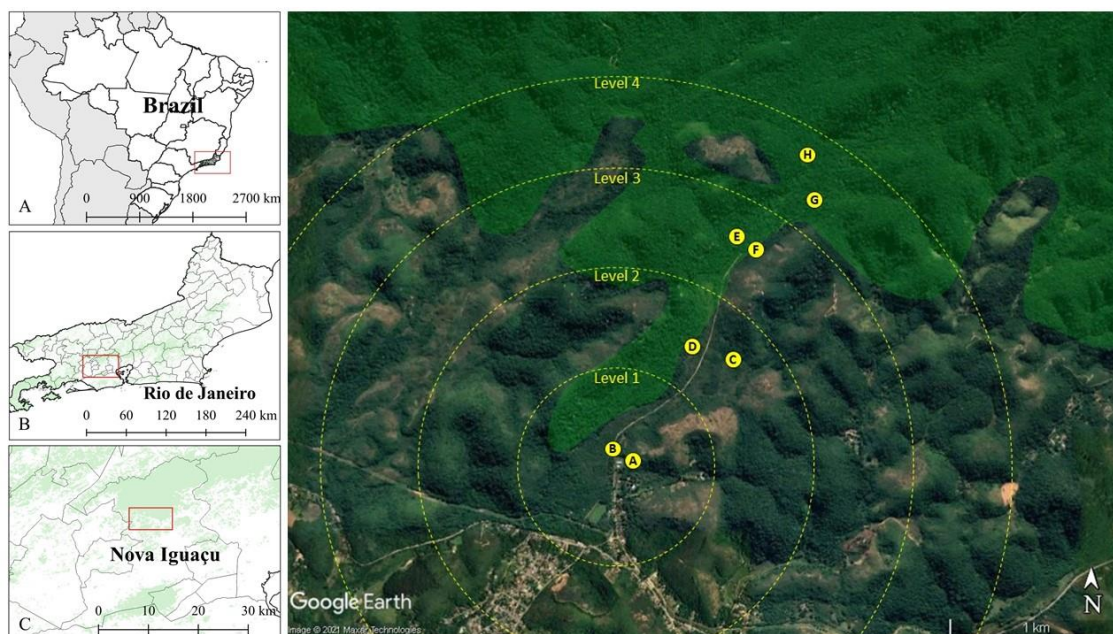


FIGURA 6: Mapa com localização dos pontos de amostragens das armadilhas do tipo CDC luminosa, (A) Brasil; (B) Estado do Rio de Janeiro; (C) Município de Nova Iguaçu; Localização dos pontos de coleta (A-H) dividido em níveis (Level 1-4), com a área de Mata Atlântica contínua destacada em verde.

Cada ponto de coleta foi selecionado conforme as diferentes características de vegetação e distância do ponto central (última residência na área de coleta) com as seguintes descrições: Ponto A: encosta com diversas árvores e arbustos próximos a um sítio com presença constante de pessoas (22°39'01" S / 43°31'54" W). Ponto B: fragmento de mata ombrófila densa entre duas estradas de acesso, próximo as residências (22°39'01" S / 43°31'57" W). Ponto C: área com arbustos sem árvores de grande porte a aproximadamente 60 metros ao lado direito da estrada principal (22°38'39" S / 43°31'31" W). Ponto D: Pequeno bambuzal na margem do riacho a 50m a esquerda da estrada principal (22°38'36" S / 43°31'42" W). Ponto E: próximo a uma antiga estrada desativada e com mata secundária recente no local, nota-se presença de diversas bromélias nos galhos das árvores maiores (22°38'16" S / 43°31'28" W). Ponto F: mata densa com um leito de córrego seco, próximo à estrada de acesso (22°38'19" S / 43°31'25" W). Ponto G: local com a mata mais densa e aparentemente com maior densidade de espécies nativas em relação aos demais pontos (22°38'10" S / 43°31'18" W). Ponto H: local mais distante das áreas com casas e conseqüentemente o mais inserido na mata ombrófila densa, com uma encosta com uma grande declividade e próximo a um grande bambuzal (22°38'03" S / 43°31'17" W).

As coletas foram realizadas com armadilha luminosa do tipo CDC com adição do atrativo de gelo seco para liberação de CO₂ (Figura 7), instaladas a 1,80 metros de altura e permaneceram no local por aproximadamente 24 horas, em cada ponto (A-H) escolheu-se uma árvore de referência para instalação das armadilhas, de forma que não houvesse alteração de local, totalizando oito armadilhas instaladas mensalmente por um período de 12 meses.



FIGURA 7: Instalação de armadilha do tipo CDC luminosa, com aditivo de CO₂ na caixa de isopor. Foto: Araujo-Oliveira 2019.

Depois do período aproximado de 24 horas, as armadilhas foram retiradas e os espécimes coletados foram transportados para o Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera (LIVEDIH) do Instituto Oswaldo Cruz e identificados com auxílio de chaves dicotômicas elaboradas por Arnell (1973), Forattini (2002) e Marcondes & Alencar (2010) e adicionalmente consultando descrições/diagnoses específicas respectivas.

Após a determinação específica, todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz. As abreviaturas dos nomes genéricos e subgenéricos seguem a proposta de Reinert (2009).

Para análise de diversidade e equitabilidade foram utilizados os índices de Shannon-Weaver e Pielou Evenness. Para comparar as relações entre as variáveis climáticas temperatura e precipitação mensais (obtida através do site do INMET), e dos níveis (transectos) (level 1-4) com as espécies encontradas foram utilizados a Análise de

Componentes Principais (PCA) biplots, bem como as mesmas comparações em períodos secos e chuvosos.

3. RESULTADOS

Durante o período de amostragem foram coletados 4048 espécimes de mosquitos, abrangendo ao todo 20 espécies, pertencentes a 9 gêneros diferentes. Dentre os mosquitos encontrados foi constatada a presença de algumas espécies de grande importância epidemiológica na transmissão arbovírus, como por exemplo, *Ae. (Stg.) albopictus*, Skuse 1894, *Aedes (Grg.) fluviatilis* Lutz, 1904, *Aedes (How.) fulvithorax* Lutz, 1904, *Aedes (Och.) scapularis* Rondani, 1848, *Aedes (Och.) serratus* Theobald, 1901, *Aedes (Pro.) terrens* Walker, 1856, *Haemagogus (Hag.) janthinomys* Dyar, 1921, *Haemagogus (Con.) leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924, *Sabethes (Sab.) albiprivus* Theobald, 1903, *Sabethes (Sbn.) intermedius* Lutz, 1904, *Sabethes (Sab.) purpureus* Theobald, 1907, *Sabethes (Pey.) undosus* Coquillett, 1906. Entre os táxons mais abundantes estão os espécimes do gênero *Culex*, subgênero *Microculex* perfazendo 67,51% do total de espécimes capturados.

Considerando todos os pontos de capturas, foi constatado que a maior abundância de espécimes foi observada nos pontos amostrais C e E, apresentando respectivamente 1010 (24,29%) e 968 (23,91%) (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies encontradas com as quantidades por ponto de coleta e nível, com seus respectivos percentuais na área verde fronteiriça da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécies	Pontos (A-H)								Totais	(%)
	Nível 1		Nível 2		Nível 3		Nível 4			
	A	B	C	D	E	F	G	H		
<i>Aedes (Grg.) fluviatilis</i> (Lutz, 1904)	8	0	5	1	0	0	0	0	14	(0,35)
<i>Aedes (How.) fulvithorax</i> (Lutz, 1904)	1	2	0	0	1	2	0	0	6	(0,15)
<i>Aedes (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	8	8	1	0	3	0	4	0	24	(0,59)
<i>Aedes (Och.) serratus</i> (Theobald, 1901)	0	2	2	0	0	0	0	0	4	(0,10)
<i>Aedes (Pro.) terreus</i> (Walker, 1856)	0	0	7	0	0	0	0	0	7	(0,17)
<i>Aedes (Stg.) albopictus</i> (Skuse, 1894)	14	45	2	2	1	0	4	0	68	(1,68)
<i>Aedes</i> sp.	2	0	3	0	3	0	0	0	8	(0,20)
<i>Culex (Aedinus)</i> sp.	10	7	134	12	0	2	1	0	166	(4,10)
<i>Culex (Anoedioporpa)</i> sp.	3	29	1	5	105	0	15	1	159	(3,93)
<i>Culex (Carrollia)</i> sp.	4	0	0	3	0	0	0	1	8	(0,20)
<i>Culex (Culex)</i> sp.	0	0	82	37	54	0	0	0	173	(4,27)
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp.	3	1	0	3	170	0	0	15	192	(4,74)
<i>Culex (Microculex)</i> sp.	298	229	728	167	572	89	286	364	2733	(67,51)
<i>Culex</i> sp.	38	25	19	9	27	15	19	57	209	(5,16)
<i>Haemagogus (Con.) leucocelaenus</i> (Dyar and Shannon, 1924)	0	5	2	3	3	6	3	4	26	(0,64)
<i>Haemagogus (Hag.) janthinomys</i> (Dyar, 1921)	0	2	0	0	3	0	0	2	7	(0,17)
<i>Haemagogus</i> sp.	0	0	0	1	0	0	0	0	1	(0,02)
<i>Limatus durhamii</i> (Theobald, 1901)	12	23	3	9	3	29	12	6	97	(2,40)
<i>Mansonia</i> sp.	27	3	2	0	0	0	0	1	33	(0,82)
<i>Psorophora (Gra.) dimidiata</i> (Cerqueira, 1943)	0	14	1	0	0	0	0	0	15	(0,37)
<i>Psorophora (Gra.) varinervis</i> (Edwards, 1922)	0	2	0	0	0	0	0	0	2	(0,05)
<i>Psorophora (Jan.) lanei</i> (Shannon and Cerqueira, 1943)	0	0	2	0	0	0	0	0	2	(0,05)
<i>Psorophora (Pso.) ciliata</i> (Fabricius, 1794)	0	4	0	0	0	0	0	0	4	(0,10)
<i>Psorophora (Pso.) saeva</i> (Dyar and Knab, 1906)	0	1	2	1	0	0	0	0	4	(0,10)

<i>Psorophora</i> sp.	0	1	1	0	0	0	0	0	2	(0,05)
<i>Sabethes (Pey.) undosus</i> (Coquillett, 1906)	0	0	0	0	0	0	2	0	2	(0,05)
<i>Sabethes (Sab.) albiprivus</i> (Theobald, 1903)	0	0	0	0	0	0	1	1	2	(0,05)
<i>Sabethes (Sab.) purpureus</i> (Theobald, 1907)	0	0	0	3	0	0	0	4	7	(0,17)
<i>Sabethes (Sbn.) intermedius</i> (Lutz, 1904)	0	1	0	0	0	1	0	1	3	(0,07)
<i>Sabethes</i> sp.	1	2	0	1	3	1	0	0	8	(0,20)
<i>Wyeomyia (Pho.)</i>	1	0	3	0	7	0	0	0	11	(0,27)
<i>Wyeomyia (Pho.) fuscipes</i> (Edwards, 1922)	3	8	6	1	13	0	2	5	38	(0,94)
<i>Wyeomyia (Who.) arthrostigma</i> (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	0	0	3	3	(0,07)
<i>Wyeomyia</i> sp.	1	1	4	1	0	1	1	1	10	(0,25)
Total por Ponto	434	415	1010	259	968	146	350	466	4048	(100,00)
Percentual por Ponto	10,7%	10,3%	24,9%	6,4%	23,9%	3,6%	8,7%	11,5%	100%	
Percentual por Nível	20,97%		31,35%		27,52%		20,16%		100%	

Embora exista essa abundância de espécimes com valores mais elevados nestes pontos amostrais, as maiores diversidades foram encontradas nos pontos B ($H' = 1,755$) e D ($H' = 1,386$). O ponto amostral B em conjunto com o ponto A formam o nível com maior abundância de espécies ($H' = 1,617$) entre todos comparados. Os pontos amostrais com menor homogeneidade ou equitabilidade foram aqueles que se encontraram mais inseridos na mata e conseqüentemente, mais distantes das residências (Pontos G e H), (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados da quantidade de espécies encontradas (S), diversidade (H') e equitabilidade (J') nos pontos (A-H) e nos níveis (1-4), área verde fronteiriça da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Índices	Pontos (A-H)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Quantidade de espécies (S):	17	22	21	17	15	9	12	15
Shannon-Weaver (H'):	1,315	1,755	1,049	1,386	1,333	1,208	0,826	0,882
Pielou evenness (J'):	0,464	0,568	0,345	0,489	0,492	0,550	0,332	0,326
	Nível 1		Nível 2		Nível 3		Nível 4	
Quantidade de espécies (S):	26		26		18		19	
Shannon-Weaver (H'):	1,617		1,159		1,428		0,909	
Pielou evenness (J'):	0,496		0,356		0,494		0,309	

Analisando comparativamente a quantidade de mosquitos capturados por mês, observa-se uma tendência de aumento nos meses chuvosos, mas com uma clara “anormalidade” nos meses de dezembro (10), janeiro (1) e fevereiro (67), valores distantes dos apresentados em março (943) e abril (797) e maio (641) que são os que compõem o período chuvoso da região (novembro a abril) (Figura 8).

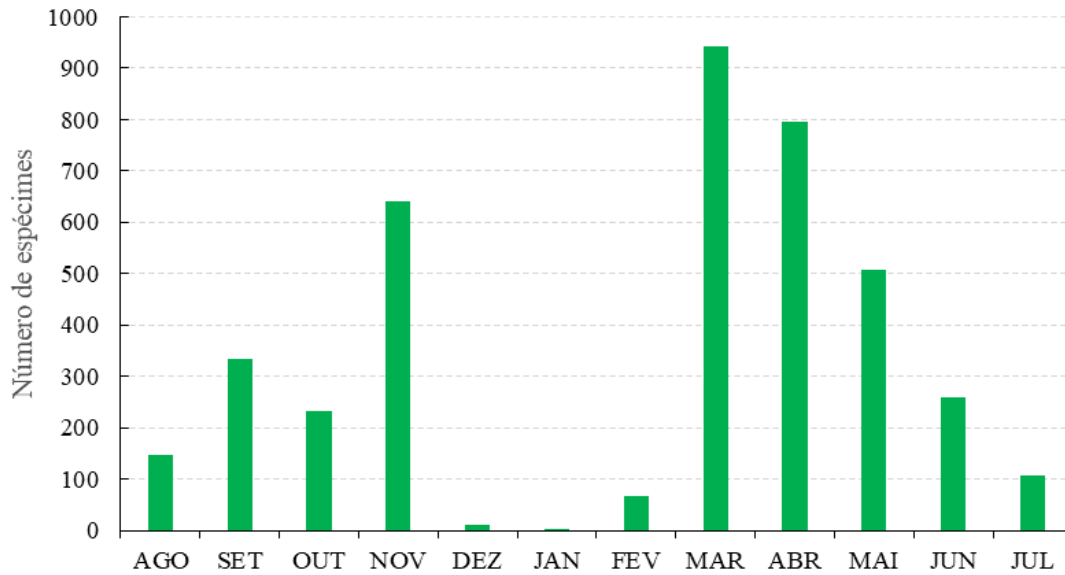


FIGURA 8: Número de espécimes encontrados em todos os pontos por mês na área verde fronteira da Reserva Biológica do Tinguá (REBIO), Município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Durante o período chuvoso da região alguns meses apresentaram atipicamente uma estiagem prolongada, como ocorreram nos meses de Dezembro (114,4 mm) e Janeiro (109,1 mm), contrastando com os meses seguintes de Fevereiro (271,7 mm) e Março (239,9 mm), neste mesmo período de coleta foi observado uma amplitude térmica incomum no mês de Dezembro ($\pm 24,8$ °C) com uma média máxima de 38,8 °C e média mínima de 14 °C. Com algumas exceções conhecidas, como intervalos de tempo sem chuva no período chuvoso ou uma grande redução na precipitação como observado no período de coleta (Figura 9).

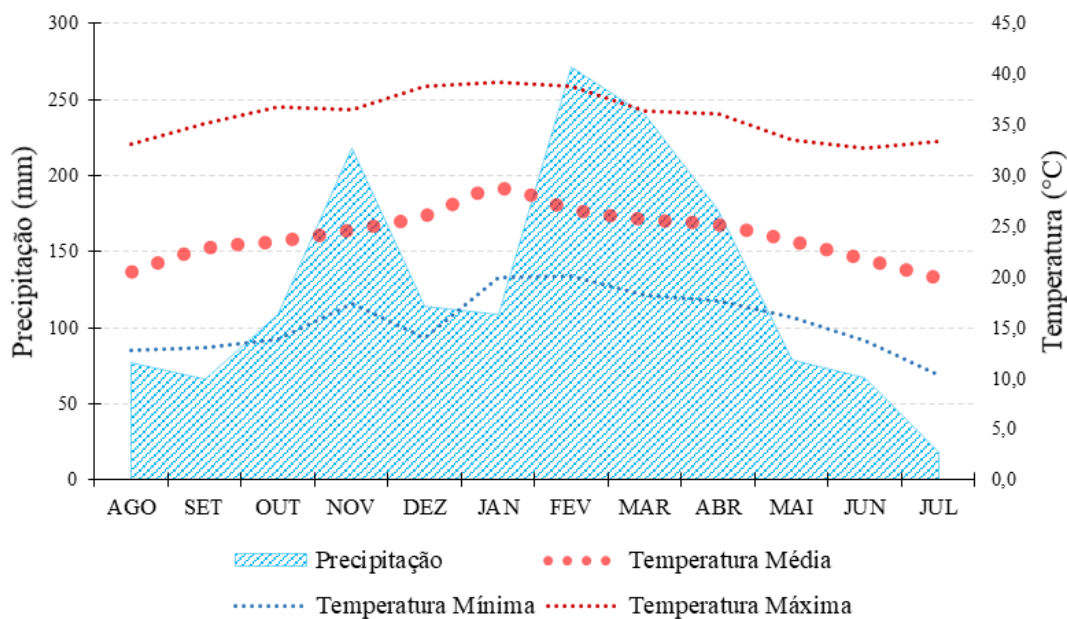


FIGURA 9: Precipitação total e temperatura (média, máxima e mínima) por mês, ao longo do período de coleta na região.

Correlacionando o número de espécimes coletadas mensalmente em comparação com a precipitação e a temperatura registrada no período, foi possível observar através de uma correlação biplot onde o componente principal explica 81,8%, a discrepância dos meses de Dezembro e Janeiro, no entanto, formou-se um conjunto separado (intermediário) estando mais associados à temperatura que com a precipitação como ocorreram com os outros registros de meses chuvosos (pontos azuis), e se distinguem dos meses no período seco (quadrados vermelhos) com baixa precipitação e temperatura (Figura 10).

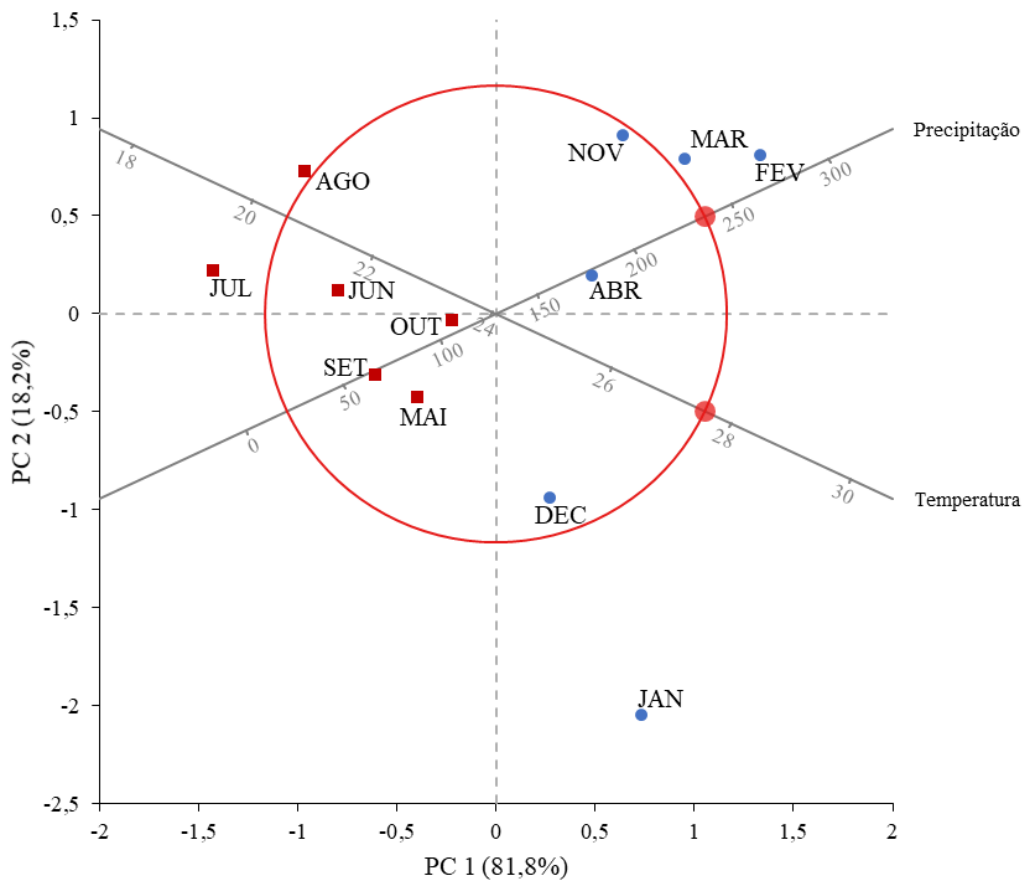


FIGURA 10: Gráfico Biplot com os resultados de precipitação e temperatura e a distribuição da quantidade de espécimes coletadas por mês, (meses secos) quadrados vermelhos e (meses chuvosos) pontos azuis.

Analisando comparativamente as espécies encontradas em todo o período de coleta e correlacioná-las aos locais encontrados obtém-se 70,6% de explicação dos componentes principais, algumas espécies apresentam uma associação expressiva, como por exemplo *Hg. leucocelaenus* está relacionada majoritariamente aos níveis 3 e 4, enquanto *Ae. albopictus* aos níveis 1 e 2 (Figura 11).

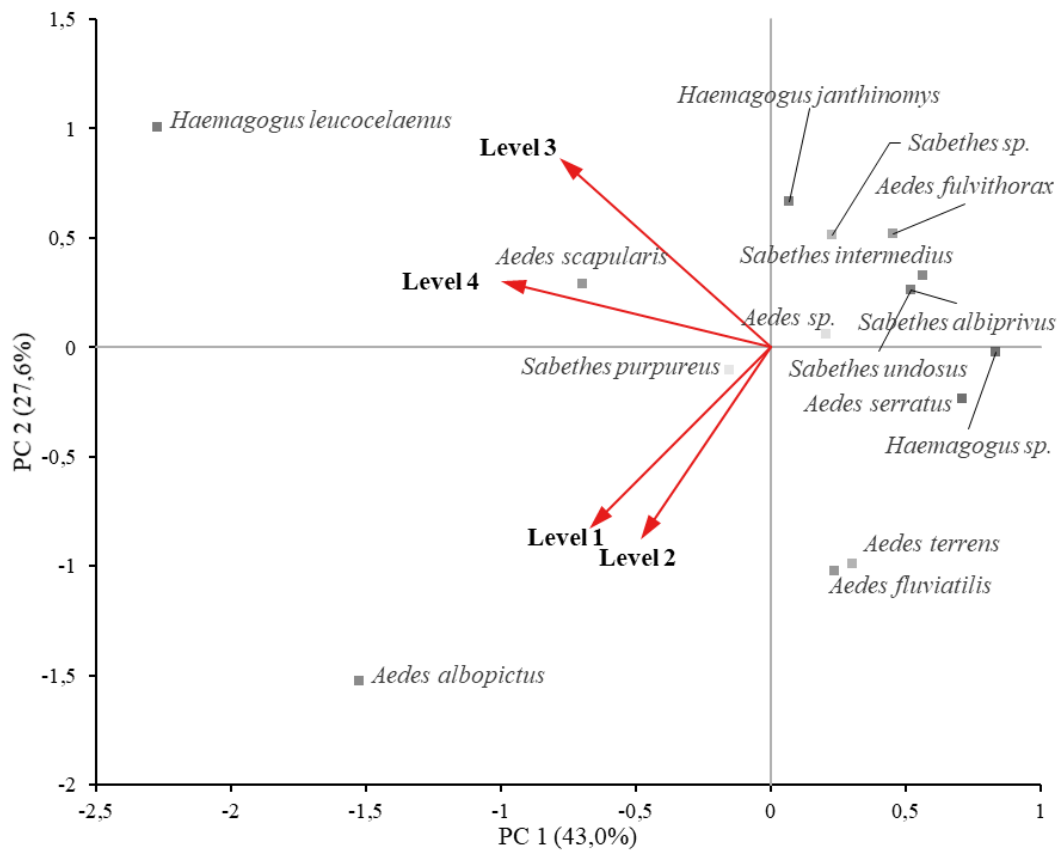


FIGURA 11: PCA Biplot (70,6%) do período total de coleta, correlacionando as espécies de importância médica encontradas com os níveis.

Examinando de forma separada a análise Biplot em períodos distintos de precipitação, com os períodos seco e chuvoso, é possível observar que no período seco os níveis 3 e 4 apresentam características que os deixam estatisticamente em condições semelhantes, impossibilitando diferenciar como ocorreu com os níveis 1 e 2 neste mesmo período, a espécie associada a estes dois pontos amostrais (3 e 4), repetidamente é *Hg. leucocelaenus*. Foi observado que o nível 1 se destoa dos outros níveis e novamente *Ae. albopictus* apresentou uma maior associação com esse nível (Figura 12).

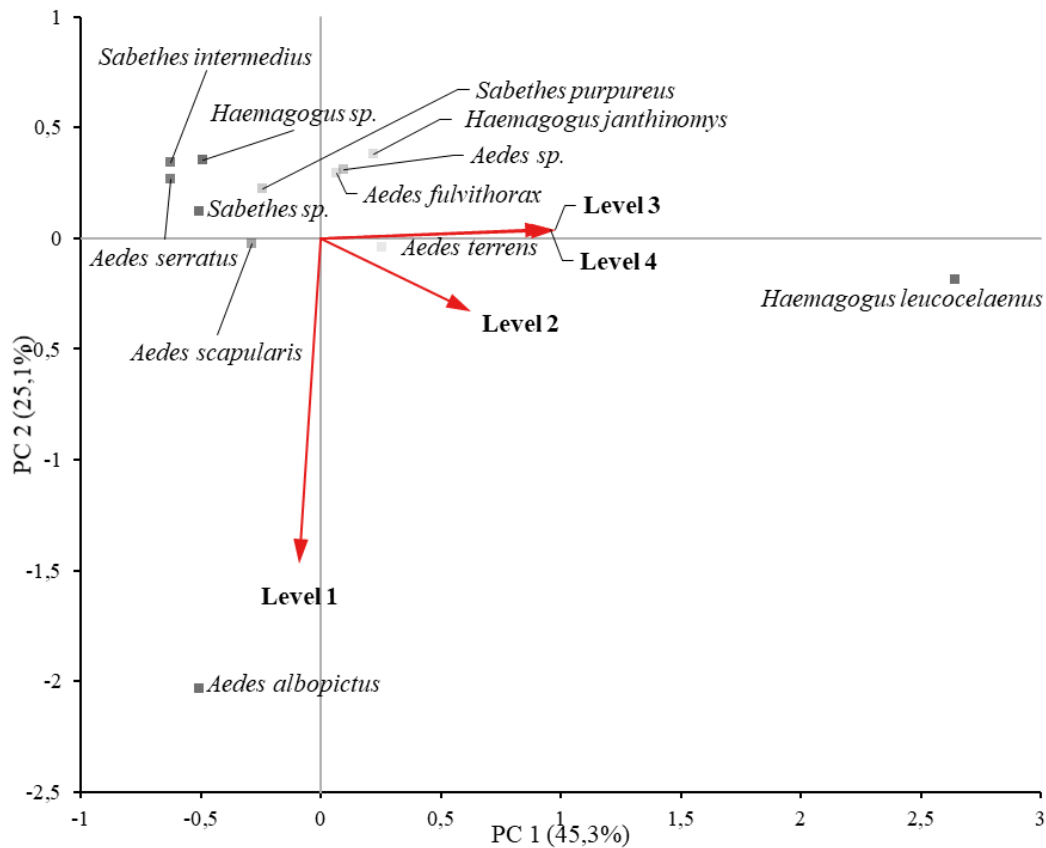


FIGURA 12: PCA Biplot (70,5%) apenas do período seco (maio a outubro), correlacionando as espécies de importância médica encontradas com os níveis, com destaque para os níveis 3 e 4 com forte semelhança.

No período chuvoso cada nível assume uma posição e se distingue dos demais, e algumas espécies que não apresentavam associação anteriormente agora aparecem, como por exemplo *Ae. scapularis* no nível 4 e *Ae. fluviatilis* ao nível 2, além das associações ocorridas no período seco como *Hg. leucocelaenus* com o nível 3 e *Ae. albopictus* com o nível 1 (Figura 13).

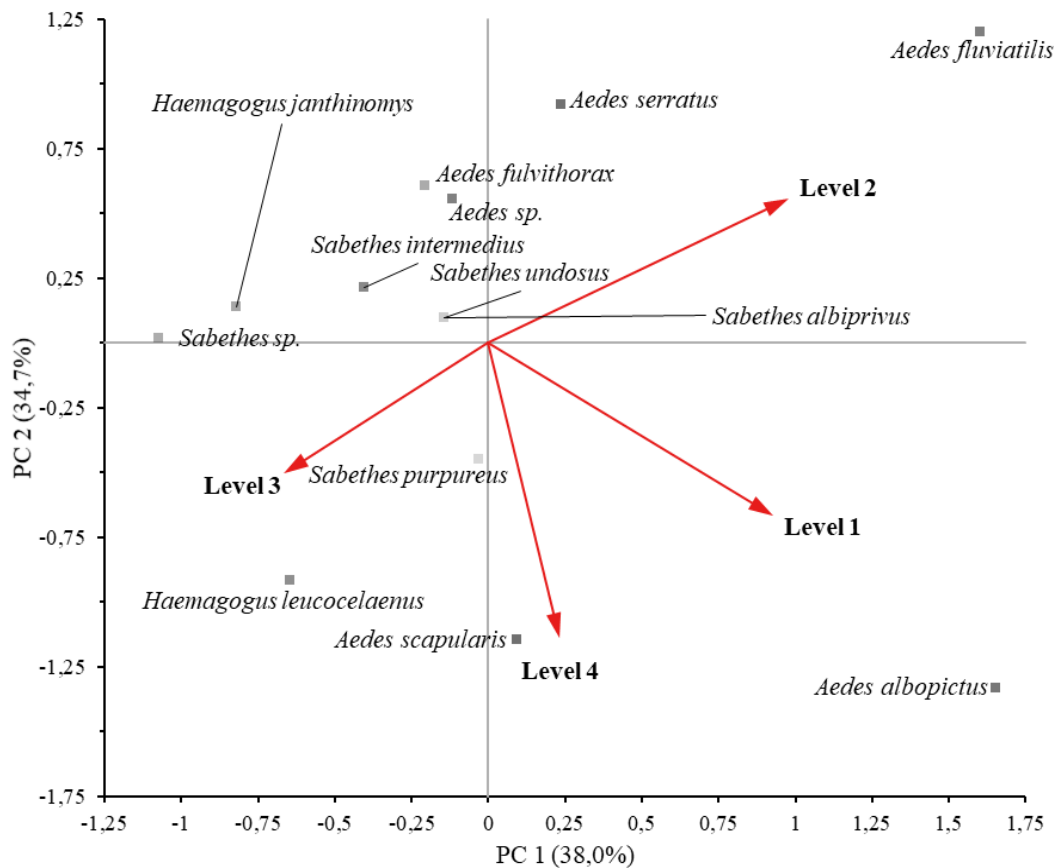


FIGURA 13: PCA Biplot (72,7%), correlacionando apenas do período chuvoso (novembro a abril) e as espécies de importância médica encontradas com os respectivos níveis.

Algumas espécies encontradas não ocorreram especificamente em algum nível, tanto nos períodos secos e chuvosos como na análise total do período, como exemplo, *Ae. serratus*, *Sa. albiprivus*, *Sa. intermedius* e *Sa. undosus*.

4. DISCUSSÃO

As lacunas na compreensão dos vetores de arbovírus selvagens são evidentes e qualquer estudo à luz de indicadores entomológicos devem considerar o status taxonômico e os hábitos característicos da competência vetorial. Essa suposição segue a lógica da não dissociação da pesquisa entomológica da avaliação do processo adaptativo do vetor a ambientes modificados.

Assim, devemos considerar que a presença humana, com seus artefatos essenciais a sua sobrevivência, oferece condições favoráveis a determinadas espécies de mosquitos. Abrigo, alimentação constante, fatores climáticos moderados e contínuos e, em alguns casos, o habitat larval facilitado são algumas dessas circunstâncias atraentes. Algumas espécies de *Culex* têm uma capacidade bem desenvolvida de se adaptar a ambientes alterados antropogenicamente, sobretudo nas áreas ainda cercadas por matas nativas (Forattini et al. 1995, Alencar et al. 2020), *Culex spp.* tendem a ser facilmente capturados em armadilhas luminosas com atrativo de CO₂ (Carvalho et al. 2017). No entanto, embora alguns deste gênero sejam importantes vetores de agentes etiológicos causadores de doenças em humanos e/ou animais, principalmente arboviroses em diversos países (Dehghan et al. 2016), não há relato de transmissão silvestre para o YFV (Evangelista et al. 2013). Nasci et al. (2001) e Brugman et al. (2018) relataram que algumas espécies são vetores para outros patógenos virais na América do Norte e Europa, como o vírus do Nilo Ocidental (WNV).

Espécies comumente consideradas vetores do YFV foram destacadas anteriormente por representar um risco imediato para os moradores locais e nas proximidades. Este é principalmente o caso de *Ae. albopictus* e *Hg. leucocelaenus*, que foram os mais abundantes entre essas espécies vetores.

Detectamos a presença de *Aedes albopictus* próximo às residências associadas a todos os cenários estudados de períodos secos, chuvosos e de amostragem total. Essa associação também foi relatada por Santos (2003) e Gomes et al. (2008), destacando a ampla disseminação da espécie pelos municípios brasileiros. Cavalcante e Tauil (2017) também apontaram o risco de reurbanização da febre amarela por esse vetor.

A espécie mais associada aos níveis mais distantes das residências em todo o cenário e, portanto, à floresta com menor interferência humana, foi *Hg. leucocelaenus*.

Esta espécie possui alta competência para infecção natural por YFV (Abreu et al. 2019, Couto-Lima et al. 2020). Detectamos *Hg. leucocelaenus* em aproximação ao nível 3 durante a estação chuvosa. No entanto, como não foi observada diferença entre os níveis 3 e 4 durante o período seco, portanto não é possível afirmar qualquer deslocamento da espécie durante o período analisado.

Também observamos uma associação mais significativa de *Ae. scapularis* no nível 4 apenas na estação chuvosa, embora Silva & Menezes (1996) definam esta espécie como bem adaptada a ambientes antropizados, a qual neste atual estudo mostrou-se que *Ae. scapularis* está mais relacionado a áreas florestais mais preservadas. Durante a estação chuvosa também, houve associação de *Ae. fluviatilis* com nível 2, área sem cobertura florestal nativa ou mesmo secundária. Caragata et al. (2017) e Cândido et al. (2019) indicaram que a espécie ocorre em áreas periurbanas e urbanas com alto risco de transmissão de doenças, como dengue (Multini et al. 2016, Silva et al. 2017).

Aedes fulvithorax e *Ae. serratus*, potenciais vetores do YFV (Ortega-Morales et al. 2019), bem como *Hg. janthinomys* (Abreu et al. 2019), *Sa. albiprivus* (Goenaga et al. 2012), *Sa. intermedius*, e *Sa. undosus* (Cano et al. 2021) não apresentaram associação estatisticamente relevante com os níveis em que foram coletados, ou por possuírem um tamanho amostral pequeno ou por terem sido encontrados igualmente nos níveis mais próximos e mais distantes.

5. CONCLUSÃO

De forma holística, sob as condições observadas, as populações de mosquitos do presente estudo foram diretamente influenciadas pelos períodos secos e chuvosos, e dessa forma é possível que ocorram alterações nos locais de maior atividade por parte

dos mosquitos. Cabe ressaltar, que era expectável encontrar uma maior diversidade de culicídeos nos níveis mais distantes dos locais com residências, conseqüentemente com a mata mais preservada e maior dificuldade de acesso. Em contraposição foi observado o oposto. Todavia, a interação ecológica entre fauna de culicídeos e cobertura vegetal carecem de estudos mais aprofundados que possam encontrar relações sobre essas alterações que favoreceram a diversidade, como as encontradas neste estudo.

REFERÊNCIAS

Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A, Santos AAC, Miranda RM, Bonelly IS, et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. *Emerg Microbes Infect* 2019; 8:218-231.

Alencar J, Ferreira ZM, Lopes CM, Serra-Freire NM, Mello RP, Silva JS, et al. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Entomol* 2011; 48:223-231.

Alencar J, Mello CF, Barbosa LS, Gil-Santana HR, Maia DA, Marcondes CB, et al. Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016; 49:351-356.

Alencar J, Mello CF, Guimarães AÉ, Gil-Santana HR, Silva JS, Santos- Mallet JR, et al. Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE* 2015; 10:e0122268.

Alencar J, Mello CF, Guimarães AÉ, Maia DA, Balbino VQ, Freitas MTS, et al. The first detection of a population of *Aedes aegypti* in the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Zool* 2020; 33:77-82.

Arnell JH. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contrib Amer Ent Inst* 1973; 10:1-174.

Bartlow AW, Manore C, Xu C, Kaufeld KA, Valle S, Ziemann A, et al. Forecasting Zoonotic Infectious Disease Response to Climate Change: Mosquito Vectors and a Changing Environment. *Vet Sci* 2019; 6:40.

Brugman VA, Hernández-Triana LM, Medlock JM, Fooks AR, Carpenter S, Johnson N. The Role of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) in Virus Transmission in Europe. *Int J Environ Res Public Health* 2018; 15(2):389.

Cândido EL, Silva UM, Cavalcanti LPG. New record and extended geographical distribution of *Aedes fluviatilis* (Lutz, 1904) in Ceará, northeastern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2019; 52:e20180286.

Cano ME, Marti GA, Balsalobre A, Muttis E, Bruno EA, Rossi G, et al. Database of Sabethes and Haemagogus (Diptera: Culicidae) in Argentina: Sylvatic Vectors of the Yellow Fever Virus. J Med Entomol 2021; 58:1762-1770.

Caragata EP, Pais FS, Baton LA, Silva JBL, Sorgine MHF, Moreira LA. The transcriptome of the mosquito *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae), and transcriptional changes associated with its native Wolbachia infection. BMC Genom 2017; 18:6.

Carvalho GC, Ceretti-Junior W, Barrio-Nuevo KM, Wilk-da-Silva R, Christie RO, Paula MB, et al. Composition and diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in urban parks in the South region of the city of São Paulo, Brazil. Biota Neotrop 2017; 17:e20160274.

Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Risk of re-emergence of urban yellow fever in Brazil. Epidemiol Serv Saude 2017; 26:617-620.

Couto-Lima D, Andreatzi CS, Leite PJ, Bersot MIL, Alencar J, Lourenço-de-Oliveira R. Seasonal population dynamics of the primary yellow fever vector *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon) (Diptera: Culicidae) is mainly influenced by temperature in the Atlantic Forest, southeast Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2020; 115:e200218.

Dehghan H, Sadraei J, Moosa-Kazemi SH, Abolghasemi E, Solimani H, Nodoshan AJ, et al. A Pictorial Key for *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) In Iran. J Arthropod-Borne Dis 2016; 10:291-302.

Evangelista J, Cruz C, Guevara C, Astete H, Carey C, Kochel TJ, et al. Characterization of a novel flavivirus isolated from *Culex* (Melanoconion) *ocossa* mosquitoes from Iquitos, Peru. J Gen Virol 2013; 94:1266-1272.

Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 10 - survey of adult behaviour of *Culex nigripalpus* and other species of *Culex* (*Culex*) in South-Eastern Brazil. Rev Saude Publica 1995; 29:271-278.

Forattini OP. Culicidologia Médica: identificação, biologia, epidemiologia. São Paulo: Editora da USP; 2002.

Garai I, Rizzini CM. A Floresta Atlântica de Tabuleiros: diversidade funcional da cobertura arbórea. Rio de Janeiro: Vozes; 2003.

Goenaga S, Fabbri C, Dueñas JC, Gardenal CN, Rossi GC, Calderon G, et al. Isolation of yellow fever virus from mosquitoes in Misiones province, Argentina. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012; 12:986-993.

Gomes AC, Torres MAN, Gutierrez MFC, Lemos FL, Lima MLN, Martins JF, et al. *Aedes albopictus* Appearance in Epizootic Areas of Jungle Yellow Fever in South-Eastern and Southern Regions of Brazil (Diptera: Culicidae). *Epidemiol Serv Saude* 2008; 17:71-76.

Guimarães AÉ, Gentile C, Lopes CM, Sant'Anna A, Jovita AM. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra da Bocaina National Park, Brazil. I - Habitat distribution. *Rev Saude Publica* 2000; 34:243-250.

Lyimo IN, Ferguson HM. Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors. *Trends Parasitol* 2009; 25:189-196.

Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus williston* (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed* 2010; 21:221-238.

Mascheretti M, Tengan CH, Sato HK, Suzuki A, Souza RP, Maeda M, et al. Yellow fever: reemerging in the state of Sao Paulo, Brazil, 2009. *Rev Saude Publica* 2013; 47:881-889.

Multini LC, Wilke ABB, Suesdek L, Marrelli MT. Population Genetic Structure of *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *PLoS ONE* 2016; 11:e0162328.

Nasci RS, Savage HM, White DJ, Miller JR, Cropp BC, Godsey MS, et al. West Nile Virus in Overwintering Culex Mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:742-744.

Ortega-Morales AI, Méndez-López R, Garza-Hernández JA, González-Álvarez VH, Ruiz-Arrondo I, Huerta-Jiménez H, et al. The mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Tabasco, Mexico. *J Vector Ecol* 2019; 44:57-67.

Possas C, Lourenço-de-Oliveira R, Tauil PL, Pinheiro FP, Pissinatti A, Cunha R. et al. Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunization. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2018; 113:e180278.

Reinert JF. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *Eur Mosq Bull* 2009; 27:68-76.

Santos RC. Updating of the distribution of *Aedes albopictus* in Brazil (1997-2002). *Rev Saude Publica* 2003; 37:671-673.

Silva AM, Menezes RMT. Occurrence of *Aedes scapularis* (Diptera:Culicidae) in artificial breeding area of Southern Brazil. *Rev Saude Publica* 1996; 30:103-104.

Silva CP, Quinino LRM, Rego CP, Silva JF. A bibliographic study about yellow fever diseases in Brazil. *Rev Bras Meio Ambiente* 2018; 2:27-41.

Silva JS, Lopes CM, Guimarães AÉ, Mello CF, Alencar J. Diversity of Mosquitoes at the Itatiaia National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 2017; 33:270-275.

Vasconcelos PFC. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco de reurbanização. *Rev Bras Epidemiol* 2002; 5:244-258.

WHO (World Health Organization). *A Global Brief on Vector-Borne Diseases*. Geneva: WHO; 2014.

Wilkerson RC, Linton YM, Fonseca DM, Schultz TR, Price DC, Strickman DA. Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. *PLoS ONE* 2015; 10(7):e0133602.

CAPÍTULO II

(Publicado: Vector-Borne and Zoonotic Diseases)

Araujo-Oliveira A, Gil-Santana HR, Teixeira CSB, Santos-Mallet JRD, Alencar J. Evaluation of the Diversity of Culicidae Vectors of the Sylvatic Yellow Fever Virus in Atlantic Forest Remnants with the Use of Ovitrap and Bamboo Traps. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2021; 21(11):875-883.

**AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE DE CULICÍDEOS VETORES DO VÍRUS DA
FEBRE AMARELA SILVESTRE EM REMANECENTES DA MATA
ATLÂNTICA COM O USO DE OVITRAMPAS E BAMBUTRAPS**

Alexandre de Araujo-Oliveira^{1,2}; Hécio Reinaldo Gil-Santana³; Carolina de Souza
Brandão Teixeira¹; Jacenir Reis dos Santos-Mallet^{1,4}; Jeronimo Alencar³.

¹ Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera,
Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz),
Rio de Janeiro, Brasil.

³ Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

⁴ Universidade Iguazu (Unig), Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

Os mosquitos transmitem diversos patógenos em regiões tropicais, principalmente em áreas florestais. As doenças causadas por esses patógenos incluem malária e vários arbovírus, dentre eles a febre amarela. O Brasil possui a maior área endêmica do mundo para febre amarela. Muitos fatores podem afetar o ciclo silvestre da doença, deslocando-a para áreas habitadas por humanos. Este estudo tem como objetivo examinar o comportamento de oviposição de espécies de mosquitos que são vetores efetivos ou potenciais do vírus da febre amarela e que colonizam armadilhas de bambu e ovitampas instaladas em diferentes alturas. As posições das armadilhas nos estratos foram trocadas a cada 15 dias. A coleta dos estágios imaturos (ovos, larvas e pupas) foi realizada a cada 2 semanas durante 12 meses de agosto de 2018 a julho de 2019 na cidade de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, Brasil, em uma área próxima a Reserva Biológica do Tinguá (REBIO) nos distritos de Adrianópolis e Rio D'ouro. Testes estatísticos foram utilizados para comparar a oviposição em cada estrato, e testes de correlação mostraram a relação entre a presença de ovos e imaturos (larvas e pupas) e temperatura, precipitação e tipo de armadilha. A diversidade foi calculada para cada tipo de armadilha e altura, bem como os períodos seco e chuvoso. Durante o período de amostragem, foram coletados 3.929 ovos e 4.953 larvas e pupas. As armadilhas instaladas nos estratos superiores permaneceram vazias quando as armadilhas do solo foram instaladas ao mesmo tempo, mas não quando foram instaladas sozinhas. Os resultados obtidos com esta nova proposta de metodologia sugerem que a diversidade é maior na estação chuvosa e nas armadilhas de bambu para ambos os estratos. Além disso, este estudo sugere que os mosquitos começam a procurar locais de reprodução no nível do solo. Níveis mais altos podem ser ocupados devido à ausência ou impermanência de outros habitats larvais.

ABSTRACT

Mosquitoes transmit several pathogens in tropical regions, especially in forest areas. The diseases caused by these pathogens include malaria and several arboviruses such as yellow fever. Brazil has the largest endemic area in the world for yellow fever. Many factors can affect the sylvatic cycle of the disease, shifting it into human-inhabited areas. This study aims to examine the oviposition behavior of mosquito species that are effective or potential vectors of the yellow fever virus and which colonize bamboo traps and ovitraps installed at different heights. The positions of the traps in the strata were changed every 15 days. The collection of immature stages (eggs, larvae, and pupae) was performed every 2 weeks for 12 months from August 2018 to July 2019 in the city of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro, Brazil, in an area near the Tinguá Biological Reserve (REBIO) in the districts of Adriano'polis and Rio D'ouro. Statistical tests were used to compare oviposition at each stratum, and correlation tests showed the relationship between the presence of eggs and immature mosquitoes (larvae and pupae) and temperature, precipitation, and trap type. The diversity was calculated for each trap type and height, as well as the dry and rainy seasons. During the sampling period, 3929 eggs and 4953 larvae and pupae were collected. The traps installed in the high strata remained empty when traps on the ground were installed at the same time, although not when they were installed on their own. The results obtained with this new proposed methodology suggest that diversity is greatest in the rainy season and in bamboo traps for either stratum. Furthermore, this study suggests that mosquitoes begin searching for breeding sites at ground level. Higher levels may be occupied due to the absence or impermanence of other breeding sites.

1. INTRODUÇÃO

Os principais mosquitos capazes de se infectar e transmitir o vírus da febre amarela silvestre (FAS) são espécies dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, considerados vetores biológicos e responsáveis pela manutenção do ciclo natural dessa zoonose nas áreas de florestas das Américas (Vasconcelos 2003, Marcondes & Alencar 2010). De fato, mosquitos encontrados nestas áreas são os principais vetores de outros arbovírus e malária (Barnett 2007, Muñoz & Navarro 2012, Altamiranda-Saavedra et al. 2018).

Estima-se que a FAS seja endêmica em 34 países na África e 13 nas Américas Central e do Sul (Barrett & Higgs 2007, Marcondes 2011, WHO 2021).

Haemagogus leucocelaenus é uma espécie muito frequente no Brasil e apontada como vetor primário da FAS no sudeste do país (Abreu et al. 2019). Sua distribuição geográfica se estende desde a ilha de Trinidad até o sul do Brasil, e são encontrados em abundância principalmente nos estados de Mato Grosso, Goiás, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul (Zavortink 1972). De forma interessante, a espécie tem sido apontada como a que possui uma maior capacidade de adaptação a ambientes modificados (Camargo-Neves et al. 2005, Alencar et al. 2016a).

Mosquitos transmissores de FAS são encontradas em ambientes de matas relativamente preservadas, com pouca alteração em seus ecossistemas, onde podem completar seu ciclo larval em habitats larvais temporários, que retêm água por curtos períodos, suficiente, entretanto, para o desenvolvimento das larvas. Tais habitats larvais temporários são comuns em ambientes silvestres. Por outro lado, devido a fatores relacionados ao próprio ambiente, tais como o desaparecimento e o surgimento de novos locais, as diversas espécies de mosquitos são forçadas a uma busca constante por diferentes habitats larvais (Alencar et al. 2013).

O desmatamento derivado das atividades humanas, tais como a agricultura tradicional e a de subsistência alteram os ambientes florestais e conseqüentemente o comportamento dos mosquitos, que são muito sensíveis a essas grandes variações (Afrane et al. 2008, Naranjo-Díaz et al. 2019).

As modificações na temperatura e umidade, causadas por essas atividades podem produzir alterações na ecologia florestal que possivelmente afetam a viabilidade dos habitats larvais (Yasuoka & Levins 2007). Induzindo os mosquitos a adaptações antes desnecessárias e impactando na dinâmica das doenças transmitidas por esses insetos (Molyneux 2003).

Pertencente à família Flaviviridae, gênero *Flavivirus* (Vasconcelos 2002), o vírus da Febre Amarela causa uma doença febril que em casos graves pode evoluir para uma febre hemorrágica com complicações hepáticas e renais, que pode culminar com o óbito do indivíduo (Cavalcante & Tauil 2016). Os primatas não humanos estão envolvidos no ciclo silvestre da doença e são os mais acometidos por ela. A mortalidade observada entre esses animais serve como sinais de alerta da circulação do vírus em uma determinada área e o perigo para os seres humanos que podem ser infectados ocasionalmente através da picada do mosquito (Araújo et al. 2011).

O Brasil tem a maior área endêmica do mundo para a febre amarela. Muitos fatores podem atuar no ciclo silvestre da doença, deslocando-a de seu foco natural, para um que envolva humanos, incluindo a disponibilidade de locais apropriados e a capacidade de oviposição por parte dos vetores. Esses fatores podem, portanto, explicar a expansão da área epizootica para além das áreas de risco pré-estabelecidas (Costa et al. 2011, Brito et al. 2014).

O presente estudo teve como objetivo analisar o comportamento de oviposição das espécies de mosquitos vetores efetivos ou potenciais do vírus da FAS, colonizando

dois diferentes tipos de armadilhas, instaladas em diferentes alturas em relação ao nível do solo, em um remanescente de Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas das formas imaturas (ovos, larvas e pupas) foram realizadas quinzenalmente por doze meses, entre Agosto/2018 a Julho/2019 no município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, em uma área próxima da Reserva Biológica (REBIO) do Tinguá no Distrito de Adrianópolis, bairro do Rio D'ouro (22°39'00.9" S / 43°31'19.4" W) localizado a 63 km a noroeste da cidade do Rio de Janeiro. Inserida na unidade geomorfológica da Serra dos Órgãos, Sistema da Serra do Mar, o local apresenta a cobertura vegetal típica de Floresta Ombrófila densa Montana e Sub-Montana (Garai & Rizzini 2003), apresentando clima tropical úmido, sem a presença de uma estação seca definida. As médias mensais de temperatura variam em torno de 17,3°C e 25,8°C e a umidade relativa do ar entre 83% e 85%.

Para a coleta foram selecionados seis pontos de amostragens, também com diferentes coberturas vegetais, porém apenas entre os níveis 3 e 4 com a menor influência humana possível, nomeados de A a F cada qual com suas características: Ponto A: possui mata ombrófila densa em uma encosta com uma certa declividade e próximo a um bambuzal. Ponto B: margem do riacho com uma construção próxima e mata ombrófila densa na outra margem. Ponto C: próximo a uma antiga estrada de ferro desativada e com mata secundária recente no local. Ponto D: na mata densa, próximo à estrada de acesso. Ponto E: trecho com córrego e mata densa, com árvores altas. Ponto F: local com a mata mais densa e aparentemente com maior densidade de espécies nativas em relação aos demais pontos.

As coletas foram realizadas com armadilhas do tipo bambutrap e ovitrampas (Figura 14). As armadilhas bambutrap consistem em internódio de bambu gigante com aproximadamente 30 cm de altura, abertura de 9 cm de diâmetro, cortados para possibilitar o acúmulo de até 350 ml de água, possibilitando assim a oviposição das diversas espécies de mosquito (Figura 14B).



FIGURA 14: Armadilha para coleta de imaturos (ovos, larvas e pupas) do tipo (A) bambutrap para larvas e pupas e do tipo (B) ovitrampas para ovos, larvas e pupas.

Nessas armadilhas são coletadas somente as larvas e as pupas de mosquitos, pois o espaço estreito entre as paredes do bambu torna inviável a coleta e a contagem de ovos ali depositados sem danificar a armadilha.

Para coleta de ovos, foram usadas ovitrampas que consiste em um recipiente preto com capacidade de 400 ml sem tampa, como um vaso de planta, que continham duas paletas de madeira para oviposição (3,0 x 12,5 cm), presas verticalmente dentro da armadilha por um clipe. Nos potes adicionaram-se água e serrapilheira local, visando reproduzir um ecossistema mais próximo do natural (Figura 14A).

Em seguida, foram instaladas armadilhas ao nível do solo e no estrato superior, início da copa das árvores selecionadas, cuja altura variou entre 4,20 e 6,00 metros. Em cada ponto (A-F) escolheu-se duas árvores de referência para instalação das armadilhas

(duplicata), as posições das armadilhas nos estratos foram trocadas a cada quinze dias, com colocação das mesmas nas seguintes posições: em dois pontos apenas no alto, em outros dois apenas ao nível do solo e nos dois restantes em ambos (solo e superior), totalizando assim, em todos os pontos (A-F), 24 armadilhas ovitrampas e 24 do tipo bambutrap.

A finalidade desse rodízio de posições entre superior, solo e em ambos os estratos a cada quinze dias foi avaliar a possível tendência das espécies em realizar oviposição ao longo do período amostrado (Figura 15).

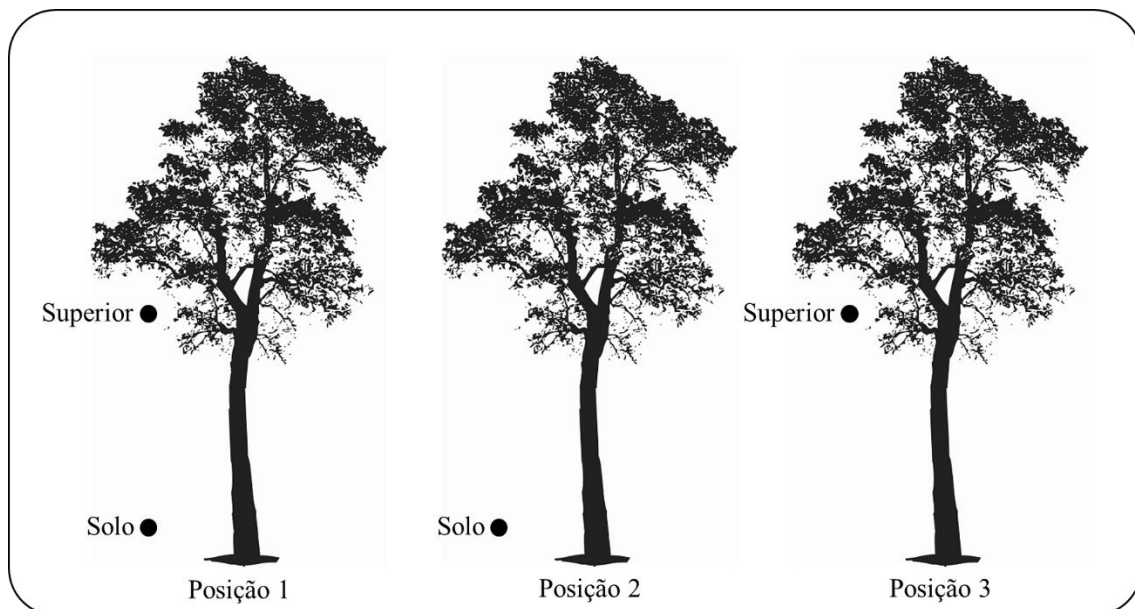


FIGURA 15: Posicionamento das armadilhas (bambutrap e ovitrampas) nas árvores selecionadas.

As variáveis abióticas temperatura e umidade relativa do ar foram mensuradas em tempo real utilizando um sensor “Modelo RHT 10- EXTECH” para o microclima do local e a variação da temperatura e umidade nos pontos próximos de coleta de imaturos. A medida de precipitação e variação de temperatura, a nível regional, foi obtida por consulta ao banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) no mesmo período de coleta.

Após o seu recolhimento, as palhetas de madeira nas ovitrampas eram acondicionadas em uma caixa de polietileno e enviadas ao Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera (LIVEDIH) do Instituto Oswaldo Cruz. As palhetas positivas (contendo ovos) eram separadas, submetidas à contagem dos ovos e imersas em copos transparentes contendo água desclorada (+/- 300 ml). Em seguida os ovos foram colocados em ambiente experimental controlado, por exemplo em estufa com termoperíodo e fotoperíodo regulada à temperatura de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 75 a 90% e fotoperíodo de 12 horas, mantendo-se os espécimes vivos para permitir que atingissem a fase adulta para determinação específica, conforme metodologia descrita por Alencar et al. (2016b).

As larvas e pupas encontradas na água das armadilhas bambutrap e ovitrampa foram coletadas com o auxílio de uma pipeta, transferidas para sacos plásticos de 250 ml (Whirl-Pak bags, BioQuip), em laboratório foram transferidas para copos plásticos e aplicados os mesmos procedimentos anteriormente mencionados e todas as larvas foram alimentadas com ração para peixes da marca TetraMin. Houve um monitoramento dos imaturos diariamente até que atingissem o estágio adulto para melhor identificação da espécie.

A determinação específica foi realizada com auxílio de chaves dicotômicas elaboradas por Arnell (1973), Forattini (2002) e Marcondes & Alencar (2010) e adicionalmente consultando descrições/diagnoses específicas respectivas. Após a determinação específica, todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz. As abreviaturas dos nomes genéricos e subgenéricos seguem a proposta de Reinert (2009).

3. RESULTADOS

Durante o período amostral, com auxílio das armadilhas ovitrampas e bambutrap, foram coletados 3.929 ovos e 4.953 larvas e pupas. As armadilhas localizadas do estrato superior permaneceram zeradas quando instaladas simultaneamente com as do solo (Tabela 3). Entretanto, o resultado zerado das armadilhas no estrato superior não se manteve quando as armadilhas ovitrampa e bambutrap foram instaladas individualmente em cada estrato, ou seja, sem estar simultâneas com as do estrato superior com as do solo (Tabela 4).

Tabela 3: Quantidade de ovos e imaturos (larvas e pupas) na ovitrampas e quantidade de imaturos na bambutrap instaladas simultaneamente nas posições de solo e no estrato superior.

Meses/Ano	Ovitrampas						Bambutrap		
	Ovos			Imaturos			Imaturos		
	Solo	(%)	Superior *	Solo	(%)	Superior *	Solo	(%)	Superior *
Agosto/2018	0	(0.0%)	0	22	(1.6%)	0	3	(0.5%)	0
Setembro/2018	36	(4.2%)	0	46	(3.3%)	0	0	(0.0%)	0
Outubro/2018	50	(5.8%)	0	110	(7.9%)	0	95	(17.1%)	0
Novembro/2018	163	(18.9%)	0	109	(7.8%)	0	2	(0.4%)	0
Dezembro/2018	221	(25.7%)	0	38	(2.7%)	0	31	(5.6%)	0
Janeiro/2019	61	(7.1%)	0	357	(25.5%)	0	136	(24.4%)	0
Fevereiro/2019	72	(8.4%)	0	73	(5.2%)	0	43	(7.7%)	0
Março/2019	159	(18.5%)	0	163	(11.6%)	0	135	(24.2%)	0
Abril/2019	41	(4.8%)	0	132	(9.4%)	0	27	(4.8%)	0
Mai/2019	15	(1.7%)	0	97	(6.9%)	0	46	(8.3%)	0
Junho/2019	40	(4.6%)	0	164	(11.7%)	0	30	(5.4%)	0
Julho/2019	3	(0.3%)	0	90	(6.4%)	0	9	(1.6%)	0
Total	861	(100.0%)	0	1401	(100.0%)	0	557	(100.0%)	0

* todas as armadilhas instaladas nos estratos superiores permaneceram zeradas durante o período de coleta, quando instaladas simultaneamente com as do solo.

Tabela 4: Quantidade de ovos e imaturos (larvas e pupas) nas ovitrampas e quantidade de imaturos na bambutrap instaladas individualmente no solo e no estrato superior.

Mês/Ano	Solo				Superior							
	Ovitrampas				Bambutraps							
	Ovos (%)	Imaturos (%)	Imaturos (%)		Ovos (%)	Imaturos (%)	Imaturos (%)					
Agosto/2018	0	(0.0%)	110	(7.1%)	8	(1.3%)	41	(2.7%)	0	(0.0%)	39	(8.3%)
Setembro/2018	29	(1.9%)	82	(5.3%)	26	(4.4%)	50	(3.3%)	1	(0.3%)	5	(1.1%)
Outubro/2018	54	(3.5%)	23	(1.5%)	20	(3.4%)	125	(8.3%)	33	(9.0%)	24	(5.1%)
Novembro/2018	619	(39.9%)	553	(35.5%)	142	(23.8%)	255	(16.8%)	3	(0.8%)	54	(11.4%)
Dezembro/2018	235	(15.1%)	44	(2.8%)	44	(7.4%)	318	(21.0%)	1	(0.3%)	76	(16.1%)
Janeiro/2019	212	(13.7%)	109	(7.0%)	36	(6.0%)	194	(12.8%)	34	(9.2%)	75	(15.9%)
Fevereiro/2019	143	(9.2%)	68	(4.4%)	7	(1.2%)	113	(7.5%)	38	(10.3%)	11	(2.3%)
Março/2019	151	(9.7%)	178	(11.4%)	245	(41.0%)	197	(13.0%)	172	(46.7%)	79	(16.7%)
Abril/2019	92	(5.9%)	168	(10.8%)	42	(7.0%)	118	(7.8%)	52	(14.1%)	28	(5.9%)
Mai/2019	6	(0.4%)	84	(5.4%)	21	(3.5%)	59	(3.9%)	25	(6.8%)	70	(14.8%)
Junho/2019	4	(0.3%)	73	(4.7%)	3	(0.5%)	34	(2.2%)	9	(2.4%)	3	(0.6%)
Julho/2019	8	(0.5%)	66	(4.2%)	3	(0.5%)	11	(0.7%)	0	(0.0%)	8	(1.7%)
Total	1553	(100.0%)	1558	(100.0%)	597	(100.0%)	1515	(100.0%)	368	(100.0%)	472	(100.0%)

A distribuição dos ovos em todo período de amostragem foi de 1.115 (38,6%) no estrato superior, 1.553 (39,5%) no solo, e 861 (21,9%) quando as armadilhas ovitrampas estavam simultaneamente em ambos os estratos, superior e solo, porém com somente o solo positivo (Figura 16). Conforme teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) não houve diferença significativa ($p = 0,3810$) entre a distribuição de ovos nestes estratos.

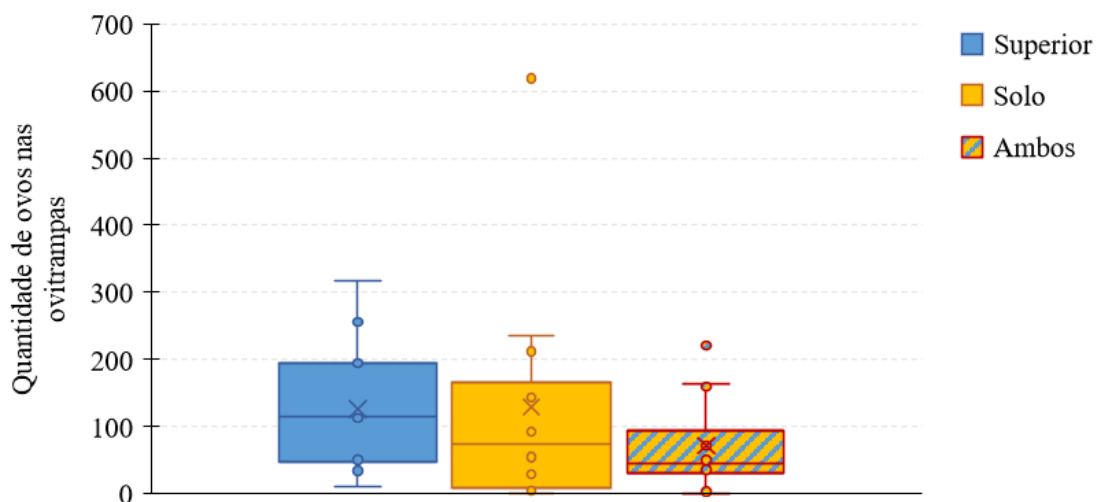


FIGURA 16: Quantidade de ovos coletados nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (superior, solo e em ambos) em todo o período de coleta.

Ao todo foram coletadas 3.327 larvas e pupas na água retida diretamente nas armadilhas ovitrampas e a variação nos estratos foram de 368 (11,1%) no superior, 1.558 (46,8%) no solo e 1.401 (42,1%) quando ambas (superior e solo) armadilhas estavam instaladas. Foi constatada uma diferença significativa no teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos nas armadilhas instaladas no estrato superior $p = 0,0012$ em comparação as outras duas posições (Figura 17).

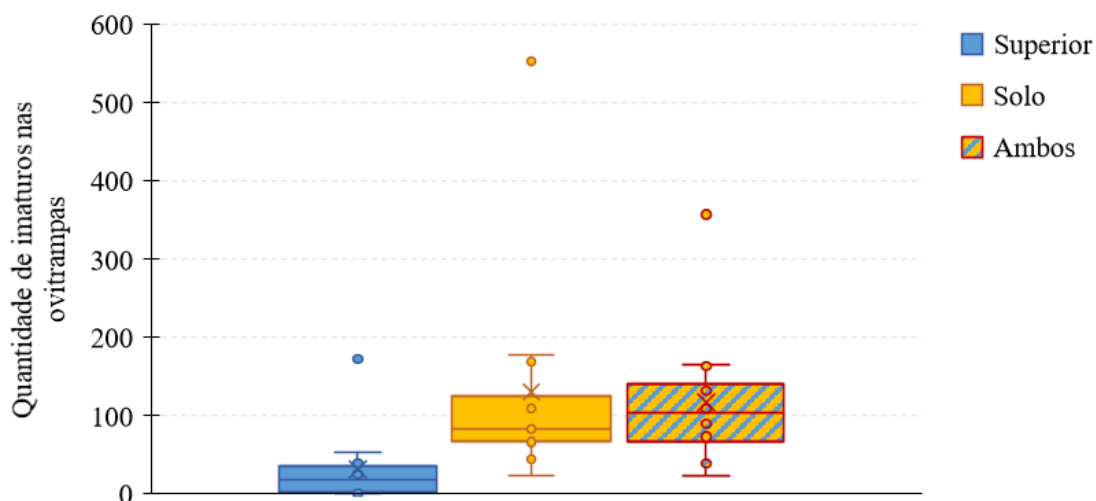


FIGURA 17: Quantidade de imaturos coletados apenas nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (superior, solo e ambos) em todo período de coleta.

Nas armadilhas de bambutrap foram constatados um total de 475 (29,0%) imaturos no estrato superior, 597 (36,7%) no solo e 557 (34,3%) em armadilhas instaladas em ambos os estratos (porém somente com o solo positivo), totalizando 1.626 imaturos nesse tipo de armadilha ao longo de todo período (Figura 18).

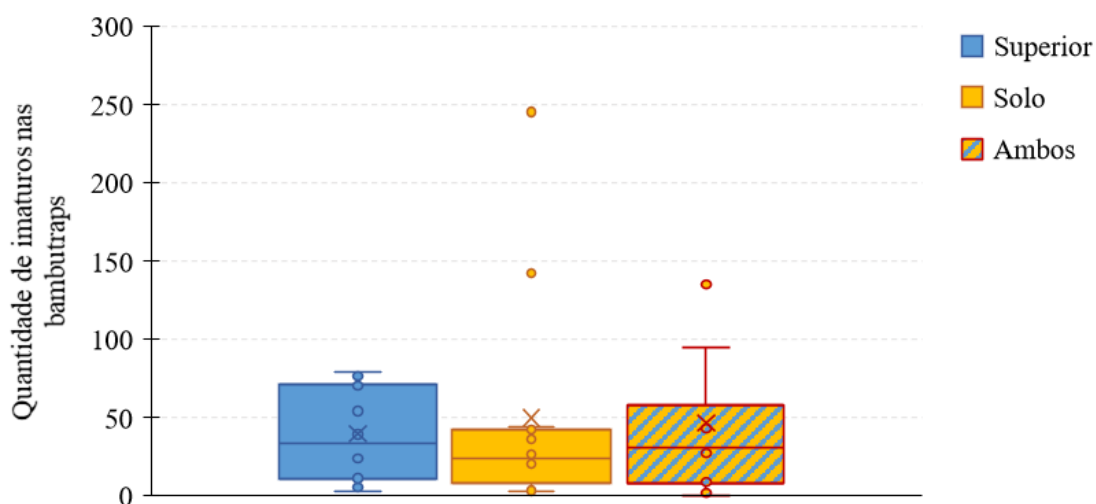


FIGURA 18: Quantidade de imaturos coletados apenas nas armadilhas bambutrap nos diferentes estratos (superior, solo e ambos) em todo período de coleta.

Conforme o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) não houve diferença significativa ($p = 0,9003$) entre os resultados encontrados nos estratos. Considerando o período total

de coleta (doze meses), os meses com maiores quantidades de ovos nas armadilhas foram novembro (1037 ovos) e dezembro (774 ovos), responsáveis por 46,1% de todos os ovos coletados (Figura 19).

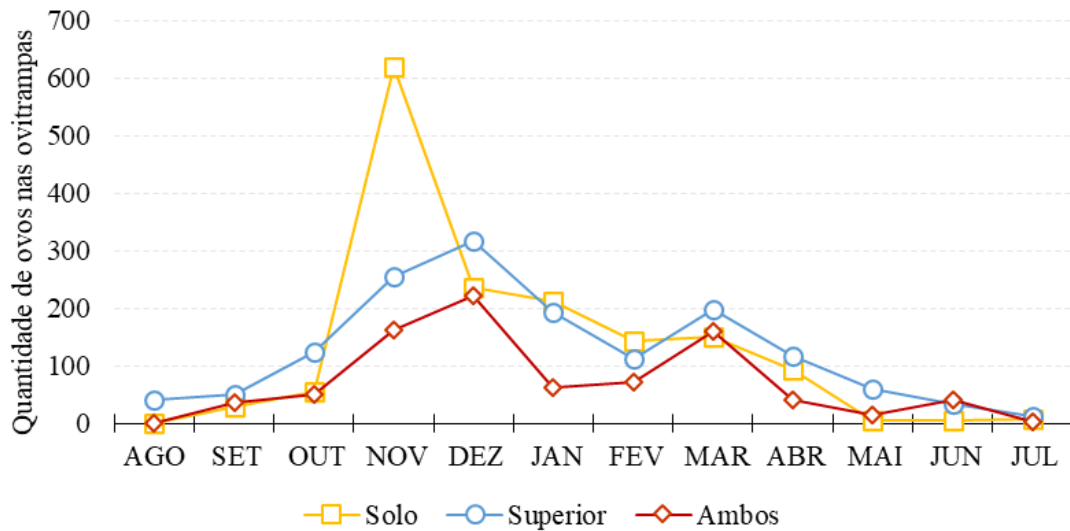


FIGURA 19: Quantidade de ovos coletados mensalmente nas armadilhas ovitrampas nos diferentes estratos (solo, superior e ambos) em todo período de coleta.

Nas armadilhas instaladas no estrato próximo ao solo foram as que se coletaram comparativamente uma maior quantidade de espécimes, tanto ovos como larvas e pupas, com destaque para os meses de novembro janeiro e março nas armadilhas ovitrampas e março nas armadilhas bambutrap (Figura 20).

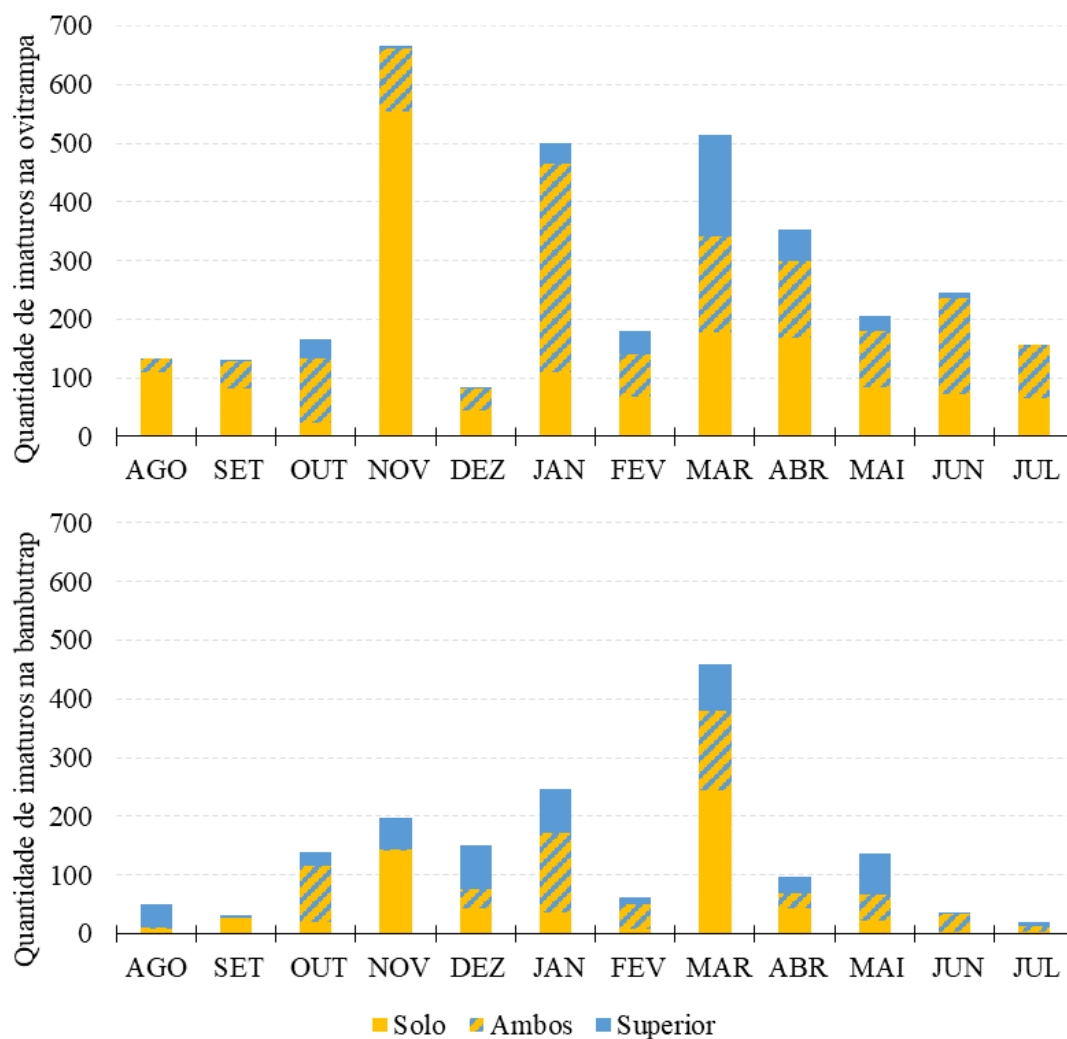


FIGURA 20: Quantidade de imaturos coletados mensalmente nas armadilhas ovitrampas e bambutrap nos diferentes estratos (solo, ambos e superior) em todo o período de coleta.

Na região da área de estudo apresentou, de forma incomum, meses secos durante a estação chuvosa, como ocorreu em Dezembro (114,4 mm) e Janeiro (109,1 mm), contrastando com Fevereiro (271,7 mm) e Março (239,9 mm). Além disso, Dezembro registrou também uma amplitude térmica elevada (+/- 24,8° C) com médias máximas e mínimas de 38,8° C e 14,0° C respectivamente (Figura 21).

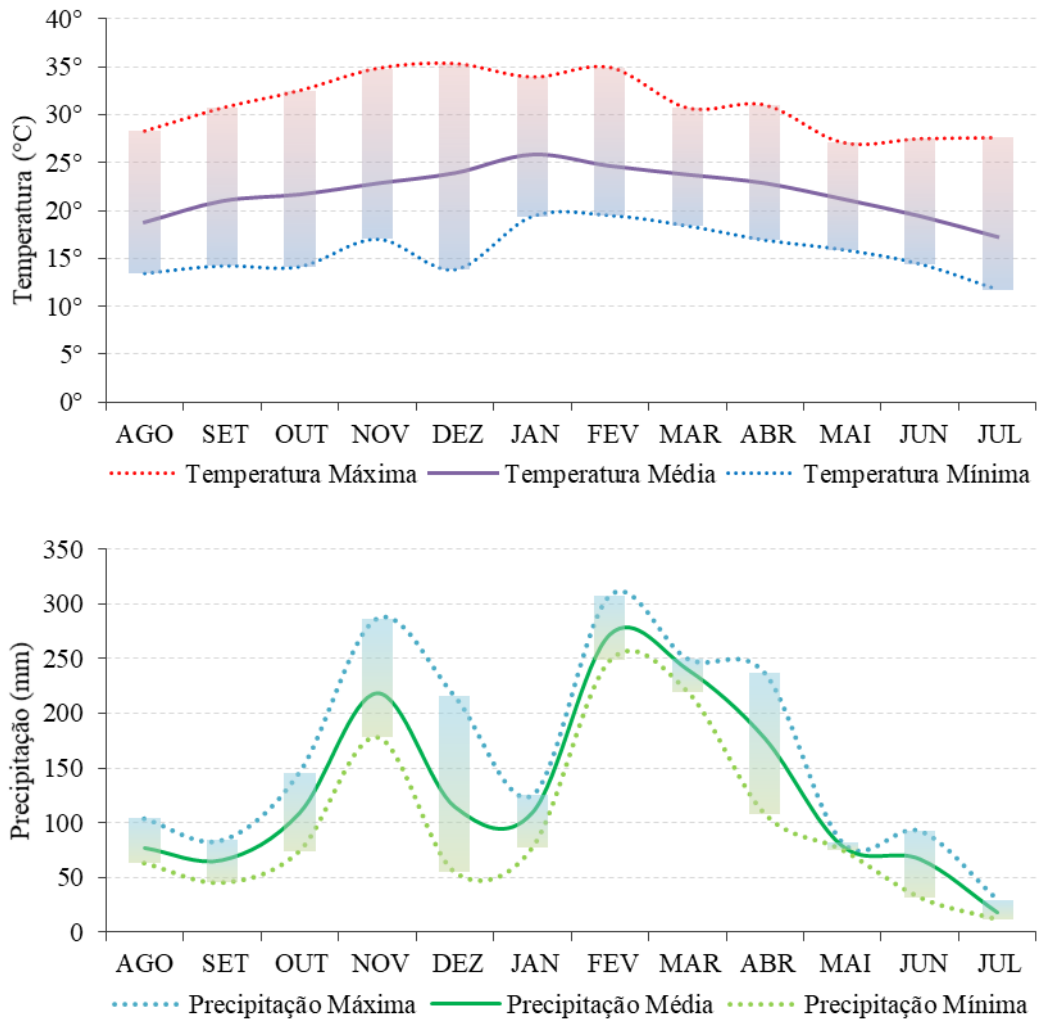


FIGURA 21: Temperatura e precipitação mensal na região de coleta ao longo do período de amostragem.

A realização do teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$) entre os resultados das capturas de ovos e imaturos por estrato (superior, solo e em ambos) nas duas armadilhas em comparação a temperatura e a precipitação mostraram resultados significativos entre a variação de temperatura e precipitação e a quantidade de ovos coletados nas armadilhas ovitrampas (Tabela 5).

Tabela 5: Resultado do teste de correlação de Spearman sobre o (A) número de ovos coletados nas armadilhas ovitrampas por estrato, (B) imaturos (larvas e pupas) coletadas nas armadilhas ovitrampas, (C) imaturos (larvas e pupas) coletados nas armadilhas bambutraps, em relação a temperatura e precipitação.

A: Ovos				
Estratos	Temperatura		Precipitação	
	p	r	p	r
Superior	0.005*	0.770	0.007*	0.746
Solo	0.002*	0.816	0.011*	0.715
Ambos	0.002*	0.802	0.003*	0.788
Total	0.001*	0.848	0.002*	0.809

B: Imaturos (ovitrampas)				
Estratos	Temperatura		Precipitação	
	p	r	p	r
Superior	0.022*	0.661	0.013*	0.703
Solo	0.543	0.194	0.289	0.333
Ambos	0.371	0.283	0.568	0.182
Total	0.216	0.385	0.100	0.501

C: Imaturos (bambutraps)				
Estratos	Temperatura		Precipitação	
	p	r	p	r
Superior	0.057	0.569	0.080	0.529
Solo	0.042*	0.602	0.052	0.579
Ambos	0.073	0.541	0.215	0.385
Total	0.010*	0.724	0.014*	0.697

* resultados significativos no teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$).

O total de imaturos coletados para os períodos considerados secos e chuvosos mostrou uma maior quantidade nas armadilhas ovitrampas em comparação com as armadilhas do tipo bambutraps (Figura 22).

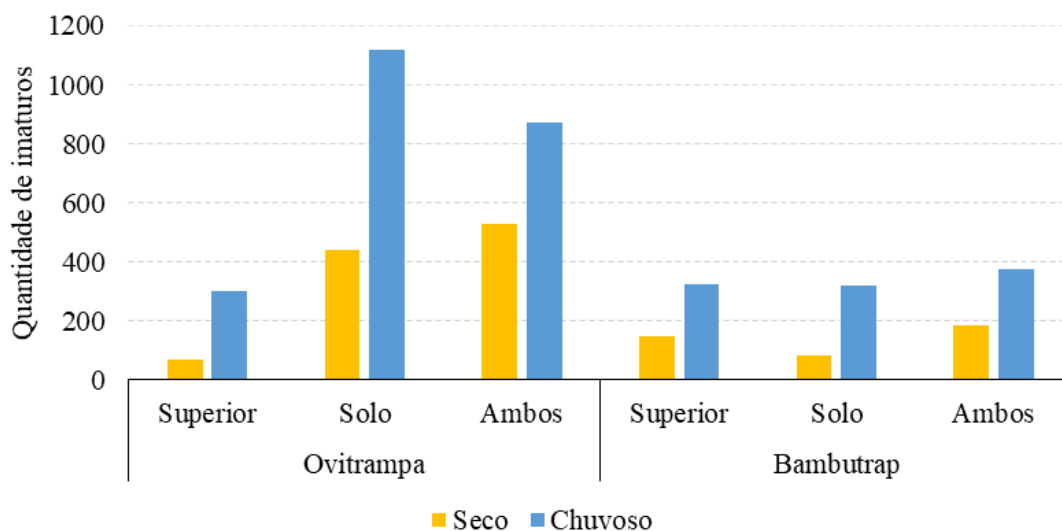


FIGURA 22: Quantidade de imaturos (larvas e pupas) coletados nas armadilhas ovitrampas e bambutrap, nos diferentes estratos (superior, solo e em ambos) nos períodos seco e chuvoso.

Destaca-se a presença de diversas espécies nos estratos a qual foram instaladas as armadilhas, com grande frequência de *Limatus durhamii* (44,4%), *Aedes albopictus* (16,0%), *Limatus flavisetosus* (14%) e *Haemagogus leucocelaenus* (8,7%) sobre o total de espécimes coletadas (Tabela 6).

Tabela 6: Espécies coletadas pela armadilha em cada estrato ao longo do período de amostragem (Agosto 2018 a Julho 2019) em Rio D'ouro - Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.

Espécies	Ovitrampas		Bambutraps	
	Superior (%)	Solo (%)	Superior (%)	Solo (%)
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> Skuse, 1894	37 (27.4%)	61 (10.1%)	25 (15.5%)	54 (26.9%)
<i>Ae. (How.) fulvithorax</i> Lutz, 1904	0 (0.0%)	1 (0.2%)	12 (7.5%)	5 (2.5%)
<i>Ae. (Och.) scapularis</i> Rondoni, 1848	1 (0.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<i>Ae. (Pro.) terrens</i> Walker, 1856	0 (0.0%)	3 (0.5%)	0 (0.0%)	12 (6.0%)
<i>Hg. (Hag.) janthinomys</i> Dyar, 1921	0 (0.0%)	1 (0.2%)	1 (0.6%)	6 (3.0%)
<i>Hg. (Con.) leucocelaenus</i> Dyar & Shannon, 1924	6 (4.4%)	12 (2.0%)	35 (21.7%)	43 (21.4%)
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	53 (39.3%)	375 (61.9%)	18 (11.2%)	44 (21.9%)
<i>Limatus flavisetosus</i> Oliveira Castro, 1935	27 (20.0%)	108 (17.8%)	5 (3.1%)	15 (7.5%)
<i>Wy. (Pho.) fuscipes</i> Edwards, 1922	0 (0.0%)	1 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<i>Sa. (Sbo.) chloropterus</i> Humboldt, 1819	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	1 (0.5%)
<i>Sa. (Sab.) albiprivus</i> Theobald, 1903	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)
<i>Tx. (Ank.) hexacis</i> Martini, 1931	0 (0.0%)	2 (0.3%)	0 (0.0%)	2 (1.0%)
<i>Culex</i> spp.	10 (7.4%)	13 (2.1%)	19 (11.8%)	23 (11.4%)
<i>Psorophora</i> spp.	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0 (0.0%)
<i>Wyeomyia</i> spp.	1 (0.7%)	13 (2.1%)	12 (7.5%)	37 (18.4%)
Others	0 (0.0%)	16 (2.6%)	30 (18.6%)	1 (0.5%)
TOTAL	135 (100.0%)	606 (100.0%)	161 (100.0%)	201 (100.0%)
Shannon-Weaver index (H')	1.448	1.251	2.067	2.055
Pielou index (J')	0.744	0.503	0.862	0.801

4. DISCUSSÃO

Em relação aos estudos com os imaturos, os resultados obtidos estão em conformidade com outros experimentos de mesma abordagem, nos quais as armadilhas localizadas em estrato superior foram positivas para *Hg. leucocelaenus*, *Hg. jantynomys*, *Ae. terreus* e *Ae. albopictus* (Alencar et al. 2013; Alencar et al. 2016). Entretanto, o desenho experimental das respectivas avaliações ocorreram com as armadilhas fixadas por longos períodos nos pontos amostrais, sem a utilização de rotatividade de armadilhas como desenvolvido no presente trabalho.

Tátilla-Ferreira et al. (2017) sugerem que a disponibilidade de alimento e habitats larvais são um dos principais fatores para a abundância nos diferentes estratos e observaram também que não ocorreram diferenças significativas na quantidade dos espécimes entre a oviposição por estrato, cabendo ressaltar, que as armadilhas foram fixadas nos pontos amostrais e permaneceram de forma contínua por 12 meses nesses mesmos locais.

A permanência das armadilhas constitui uma espécie de “memória” para algumas espécies de mosquitos, que tendem a buscar os mesmos locais para realizar a oviposição, essa característica foi observada por Abreu et al. (2015) com fêmeas de *Aedes aegypti*, que embora apresente o hábito de oviposição em salto, e mesmo com a disponibilidade de outros habitats larvais, depositavam parte de seus ovos em um “criadouro favorito”.

A qualidade e a longevidade potencial dos habitats larvais são avaliadas por mecanismos utilizados por culicídeos que estão para depositar seus ovos. A disponibilidade de habitat é de extrema importância para determinar o local de oviposição e conseqüentemente o sucesso no desenvolvimento das formas imaturas (Bentley & Day 1989; Day 2016). Assim sendo, a oferta de habitats larvais influencia a

capacidade de reprodução das espécies, interferindo diretamente na abundância, com isso, alterações na paisagem podem favorecer algumas espécies em detrimento de outras (Montagner 2014).

Alencar et al. (2013) relataram que a riqueza e a diversidade das espécies foram maiores nas armadilhas localizadas ao nível do solo e reduziam a diversidade e a abundância com o aumento na altura de instalação dessas armadilhas. Fêmeas de *Hg. janthinomys* foram observadas realizando o repasto ao nível do solo, ficando assim próximas a qualquer indivíduo que porventura acesse o ambiente de mata, bem como relatado por Alencar et al. (2005).

Ae. albopictus, *Li. durhamii* e *Hg. leucocelaenus* foram as espécies mais frequentemente encontradas nas armadilhas do tipo bambutrap, notoriamente a quantidade de espécimes encontradas de *Hg. leucocelaenus* no estrato superior e no solo foram próximas. Segundo a literatura a acrodendrofilia é apenas uma parte do hábito de *Hg. leucocelaenus*, tendo em vista que esta espécie é constantemente encontrada ao nível do solo (Gomes et al. 2010).

Nas armadilhas do tipo ovitrampa há a presença quase que constante de *Li. durhamii* e *Li. flavisetosus*, mesmo tendo essas espécies de mosquitos a característica de ovipor diretamente na água (Lopes et al. 1983, Lopes 1997), assim como reportado por Honório et al. (2006), espécies de *Limatus* tem sido encontradas com alta taxa de prevalência em recipientes artificiais coabitando com espécies de outros gêneros, e.g. *Aedes*.

A distribuição vertical dentro de cada grupo de espécie irá depender do tipo de cobertura vertical que o local apresenta, a distribuição tendendo a ser maior em florestas mais densas e com árvores altas (Lira-Vieira et al. 2013).

A quantidade de espécimes coletados nas ovitrampas seguiram uma tendência de alta com aumento de temperatura e precipitação, no presente estudo houve uma forte influência destes fatores quanto a oviposição nas ovitrampas e a quantidade de larvas e pupas coletadas das armadilhas do tipo bambutrap. Gomes et al. (2010) e Couto-Lima et al. (2020) também relataram o aumento de ocorrência de *Hg. leucocelaenus* em períodos quentes e chuvosos, conforme observado por Tatila-Ferreira et al. (2017) para a mesma espécie, considerando a disponibilidade de habitats larvais um dos fatores mais importantes para a distribuição das espécies.

A definição dos períodos seco e chuvoso foi baseada nos estudos de Brito et al. (2017) no estado do Rio de Janeiro onde apontam que os meses predominantemente chuvosos são aqueles entre novembro e abril, com algumas exceções conhecidas como intervalos de tempo sem chuva no período chuvoso (“veranicos” *sensu* Brito et al. 2017) os quais ficaram bem evidenciados nos meses de dezembro e janeiro. Um período prolongado de dias chuvosos pode prejudicar a busca por habitat larvais, bem como postura de ovos e conseqüentemente reduzir a quantidade de imaturos por um breve período (Chaves & Kitron 2011). Por outro lado, os ovos depositados possuem uma maior probabilidade de eclosão de larvas, devido à submersão e o surgimento de novos habitats larvais, ocasionando um conseqüente pico de casos de febre amarela no período (Costa et al. 2011).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com essa nova proposta metodológica sugerem que a busca por habitats larvais por parte dos culicídeos inicia-se ao nível do solo e a ocupação de novos habitats larvais em níveis mais elevados pode ocorrer devido à ausência de outros habitats larvais e/ou a permanência destes por longos períodos, como

visto em diversos trabalhos. A busca de fatores que contribuem para o entendimento da dinâmica da distribuição dos vetores de doenças, como a febre amarela, em ambientes de florestas é de suma importância para o conhecimento geral de sua transmissão e a identificação de possíveis áreas de risco.

REFERÊNCIAS

Abreu FVS, Moraes MM, Ribeiro SP, Eiras AE. Influence of breeding site availability on the oviposition behaviour of *Aedes aegypti*. Mem Inst Oswaldo Cruz 2015; 110:669–676.

Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A, Santos AAC, Miranda RMD, Bonelly IDS, et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016-2018. Emerg Microb Infect 2019; 8(1):218-231.

Afrane YA, Little TJ, Lawson BW, Githeko AK, Yan G. Deforestation and vectorial capacity of *Anopheles gambiae* Giles mosquitoes in malaria transmission, Kenya. Emerg Infect Dis 2008; 14(10):1533-1538.

Alencar J, Lorosa ES, Dégallier N, Serra-Pierre NM, Pacheco JB, Guimarães AÉ. Feeding patterns of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. J Med Entomol 2005; 42(6):981–985.

Alencar J, Mello CF, Barbosa LS, Gil-Santana HR, Maia DDA, Marcondes CB, et al. Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2016a; 49:351-356.

Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AE, Almeida SAS, Gleiser RM. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). J Vector Ecol 2016b; 41(1):18–26.

Alencar J, Morone F, Mello CF, Dégallier N, Lucio PS, Serra-Freire NM, et al. Flight height preference for oviposition of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors of sylvatic yellow fever virus near the hydroelectric reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. J Med Entomol 2013; 50(4):791-795.

Altamiranda-Saavedra M, Porcasi X, Scavuzzo CM, Correa MM. Downscaling incidence risk mapping for a Colombian malaria endemic region. Trop Med Int Health 2018; 23:1101-1109.

Araújo FAA, Ramos DG, Santos AL, Passos PHO, Elkhoury ANSM, Costa ZGA, et al. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2011; 20(4):527-536.

Arnell JH. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contrib Amer Ent Inst* 1973; 10:1-174.

Barnett ED. Yellow fever: Epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis* 2007; 44:850-856.

Barrett ADT, Higgs S. Yellow fever: A disease that has yet to be conquered. *Ann Rev Entomol* 2007; 52:209-229.

Bentley MD, Day JF. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annu Rev Entomol* 1989; 34:401-421.

Brito LBM, Santos JA, Gomes ALP, Marcos AJF. Febre Amarela: Uma Revisão de Literatura. *Brazil J Surg Clin Res* 2014; 8:61-65.

Brito TT, Oliveira-Júnior JF, Lyra GB, Gois G, Zeri M. Multivariate analysis applied to monthly rainfall over Rio de Janeiro state, Brazil. *Meteorology and Atmospheric Physics* 2017; 129(5):469-478.

Camargo-Neves VL, Poletto DW, Rodas LA, Pachioli L, Cardoso RP, Scandar SA. et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in Sao Paulo State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1278-1286.

Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil, 2000-2012. *Epidemiol Serv Saúde* 2016; 25:11-20.

Chaves LF, Kitron UD. Weather variability impacts on oviposition dynamics of the southern house mosquito at intermediate time scales. *Bull Entomol Res* 2011; 101:633-641.

Costa ZGA, Elkhoury ANM, Romano APM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* 2011; 2:11-26.

Couto-Lima D, Andreazzi CS, Leite PJ, Bersot MIL, Alencar J, Lourenço-de-Oliveira R. Seasonal population dynamics of the primary yellow fever vector *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon) (Diptera: Culicidae) is mainly influenced by temperature in the Atlantic Forest, southeast Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2020; 115:e200218.

Day JF. Mosquito oviposition behavior and vector control. Insects 2016; 7:65.

Forattini OP. Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: Editora da USP; 2002.

Garai I, Rizzini CM. A Floresta Atlântica de Tabuleiros: Diversidade Funcional da Cobertura Arbórea. Petrópolis: Vozes; 2003.

Gomes AC, Torres MAN, Paula MB, Fernandes A, Marassá AM, Consales CA, et al. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. Epidemiol Serv Saúde 2010; 19:101–113.

Honório NA, Cabello PH, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Preliminary data on the performance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* immatures developing in water-filled tires in Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101:225–228.

Lira-Vieira AR, Gurgel-Gonçalves R, Moreira IM, Yoshizawa MAC, Coutinho ML, Prado PS, et al. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the gallery forest of Brasília National Park, Brazil, with an emphasis on potential vectors of yellow fever. Rev Soc Bras Med Trop 2013; 46:566–574.

Lopes J, Arias JR, Yood JDC. Evidências preliminares de estratificação vertical de postura de ovos por alguns culicidae (Diptera), em floresta no município de Manaus - Amazonas. Acta Amazônica 1983; 13:431–439.

Lopes J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. Rev Saúde Pública 1997; 31:370–377.

Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus williston* (Diptera: Culicidae) do Brasil. Rev Biomed 2010; 21:221-238.

- Marcondes CB. Entomologia Médica e Veterinária. São Paulo: Atheneu; 2011.
- Molyneux DH. Common themes in changing vector-borne disease scenarios. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97:129-132.
- Montagner FR. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros artificiais em oito áreas verdes do município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação [Mestrado em Biologia Animal] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2014.
- Muñoz M, Navarro JC. Virus Mayaro: Un arbovirus reemergente en Venezuela y Latinoamérica. *Biomédica* 2012; 32:286-302.
- Naranjo-Díaz N, Altamiranda-Saavedra M, Correa MM. Anopheles species composition and entomological parameters in malaria endemic localities of North West Colombia. *Acta Tropica* 2019; 190:13–21.
- Reinert JF. List of abbreviations for currently valid generic level taxa in family Culicidae (Diptera). *Eur Mosq Bull* 2009; 27:68-76.
- Tátilla-Ferreira A, Maia DDA, Abreu FVSD, Rodrigues WC, Alencar J. Oviposition behavior of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: culicidae), a vector of wild yellow fever in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2017; 59:e60.
- Vasconcelos PFC. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:275-293.
- Vasconcelos PFC. Febre amarela: Reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco de reurbanização. *Rev Bras Epidemiol* 2002; 5:244-258.
- WHO (World Health Organization) Yellow Fever, Population at risk. [Acesso em 25 nov 2021] Disponível em: www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever
- Yasuoka J, Levins R. Impact of deforestation and agricultural development on anopheline ecology and malaria epidemiology. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76:450-460.
- Zavortink TJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXVIII. The New World Species formerly placed in *Aedes* (Finlaya). *Contrib Amer Ent Inst* 1972; 8:1-206.

CAPÍTULO III

(Publicado: Journal of the American Mosquito Control Association)

Oliveira AA, Gil-Santana HR, Alves RJV, Alencar J. *Aedes aegypti* Invades Trindade Island, 1,140 km from the Brazilian Coast, in the South Atlantic. J Am Mosq Control Assoc. 2020 Jun 1;36(2):112-114.

***Aedes aegypti* invade a Ilha da Trindade, a 1.140 km do litoral brasileiro, no Atlântico Sul**

Alexandre A. Oliveira¹; Hécio R. Gil-Santana²; Ruy J. Válka Alves³; Jeronimo Alencar²;

1 Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

2 Laboratório de Díptera, Instituto Oswaldo Cruz, (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

3 Laboratório de Florística e Biogeografia Insular e Montana, Departamento de Botânica, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

Aqui relatamos a primeira chegada registrada de *Aedes aegypti* na Ilha da Trindade, a aproximadamente 1.140 km da costa brasileira, apresentando potenciais riscos à saúde de seus habitantes humanos. A coleta dos mosquitos foi feita de agosto a outubro de 2019 por meio de busca ativa de adultos, ovos e larvas por meio do levantamento de objetos com água acumulada e implantação de 23 ovitrampas em diferentes regiões da ilha. Como resultado, coletamos 33 adultos de *Ae. aegypti* via busca ativa no interior de edifícios. Um total de 433 ovos de *Ae. aegypti* também foram obtidos das ovitrampas, todas as quais atingiram posteriormente a fase adulta. Nenhuma outra espécie de Culicidae foi encontrada.

ABSTRACT

Herein we report the first recorded arrival of *Aedes aegypti* on Trindade Island, approximately 1,140 km from the Brazilian coast, posing potential health risks to the human inhabitants thereof. The collection of mosquitoes was done from August to October 2019 via an active search for adults, eggs, and larvae by surveying objects with accumulated water and implantation of 23 ovitraps in different regions of the island. As a result, we collected 33 adults of *Ae. aegypti* via active search inside buildings. A total of 433 eggs of *Ae. aegypti* were also obtained from the ovitraps, all of which subsequently reached the adult stage. No other species of Culicidae was found.

1. INTRODUÇÃO

Aedes aegypti (Linnaeus) é o mosquito de maior impacto para a saúde pública atualmente. E no Brasil é o único vetor comprovado do vírus da Dengue há mais de 30 anos e de dois outros arbovírus emergentes recentemente introduzidos no Novo Mundo, o vírus Zika (ZIKV) e o vírus Chikungunya (CHIKV). Todas as respectivas doenças (Dengue, Zika e Febre Chikungunya) têm sido responsáveis por um grave impacto na saúde humana (Patterson et al. 2016, Carvalho & Moreira 2017, Donalisio et al. 2017).

Acredita-se que o mosquito *Ae. aegypti* foi introduzido no Novo Mundo há mais de quatro séculos a partir de seu habitat ancestral na África Ocidental, dentro de navios, por meio do comércio europeu de escravos (Powell et al. 2018). Se *Ae. aegypti* deve realmente ser considerado como “o animal mais perigoso do mundo” (Powell 2016) é discutível, mas certamente tem sido causa de imenso sofrimento humano ao longo dos séculos (Powell 2018) e é amplamente distribuído em várias regiões do mundo bem como no continente brasileiro (e.g., Kotsakiosi et al. 2017, Powell et al. 2018).

Recentemente, várias ilhas invadidas por *Ae. aegypti* tem sido relatados em todo o mundo, com o aumento do risco associado de transmissão de arbovírus, ou em alguns casos, infelizmente, provocando surtos de doenças transmitidas por esse mosquito (e.g., Mavian et al. 2018, Seixas et al. 2018, Ryan et al. 2019, Salgueiro et al. 2019).

Trindade é uma ilha oceânica do Atlântico Sul, que fica a aproximadamente 1.140 e 2.400 km das costas brasileira e africana, respectivamente, entre as coordenadas geográficas 20° 29' a 20° 31,7' S e 29° 17,7' a 29° 20,7' W (Alves et al. 2011, SECIRM 2017) (Figura 23).

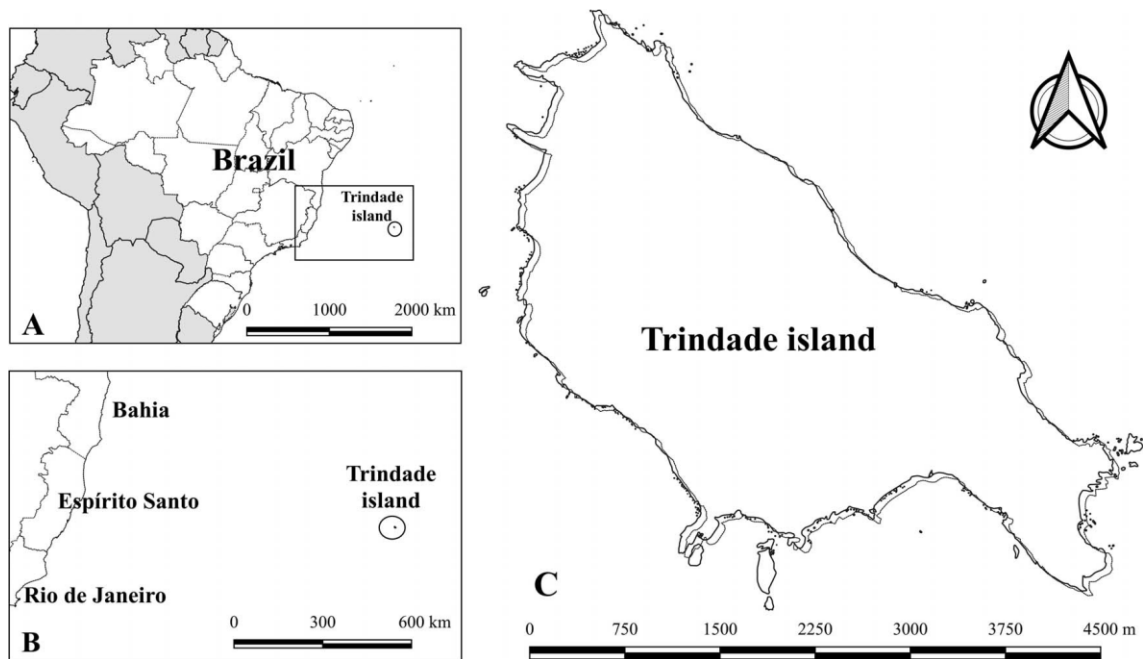


FIGURA 23: Ilha da Trindade. (A) Posição da Ilha da Trindade em relação ao Brasil indicada por um círculo no Oceano Atlântico Sul; (B) Visão mais próxima da área no retângulo do painel A mostra as costas vizinhas dos estados brasileiros da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro; (C) Contorno da Ilha da Trindade.

A ilha possui uma estação oceanográfica composta por 30 militares da Marinha do Brasil e uma estação de pesquisa recém-construída para acomodar até oito cientistas. Navios da Marinha transportam pessoal e suprimentos para a ilha em intervalos de aproximadamente 60 dias. As viagens partindo do Rio de Janeiro à ilha costumavam durar no mínimo quatro dias, dependendo da embarcação, e com a renovação parcial da frota atualmente as viagens duram cerca de três dias.

Apesar da longa e complexa história de ocupação da ilha de cinco séculos (além de uma única ocorrência não confirmada de uma espécie indeterminada de mosquito culicídeo, anotada pelo falecido Prof. Johann Becker (Alves 1998:137), nunca houve relatos de seus ocupantes humanos sendo picado por mosquitos, até novembro de 2018, quando sua presença e atividades de repasto sanguíneo nas pessoas foram percebidas pelos militares.

Alertou-os a buscar a identificação da espécie, muito mais pela situação endêmica das arboviroses, que ocorrem atualmente em vários estados continentais brasileiros (Donalisio et al. 2017). Após contato do terceiro autor (RJVA) com o segundo autor (HRG-S), foi realizado um intenso esforço de coleta de mosquitos na ilha da Trindade realizada de 12 de agosto de 2019 a 11 de outubro de 2019.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os métodos de coleta incluíram 1) busca ativa de adultos dentro e ao redor de locais de presença humana constante; 2) levantamento de ovos e larvas em objetos com água acumulada, como pneus abandonados e outros tipos de recipientes abandonados; e 3) monitoramento realizado com armadilhas de oviposição.

Cada armadilha do tipo ovitrampa consistia em um pote preto de 400 ml sem tampa e 4 paletes de compensado (placas Eucatext, Eucatex S/A, São Paulo, Brasil), medindo 2,5 x 3 x 14 cm, fixados verticalmente no interior da armadilha com cliques de metal (Alencar et al. 2016). Água natural e água com infusão de feno foram adicionadas à armadilha para gerar um ecossistema semelhante ao natural. Ao todo 23 ovitrampas foram instaladas em diferentes locais da ilha, examinadas e trocadas a cada 4 dias de 17 de agosto a 4 de outubro de 2019 (48 dias).

3. RESULTADOS

O número em relação a cada respectivo período de 4 dias está representado na Figura 24. Os ovos foram criados e todos resultaram em *Ae. aegypti*. Nenhuma outra espécie de Culicidae foi encontrada. A determinação das espécies foi realizada com observação direta de caracteres morfológicos usando um estereomicroscópio (Zeiss

Stemi SV6, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Munique, Alemanha) e consultando a literatura pertinente, e.g., Forattini (2002).

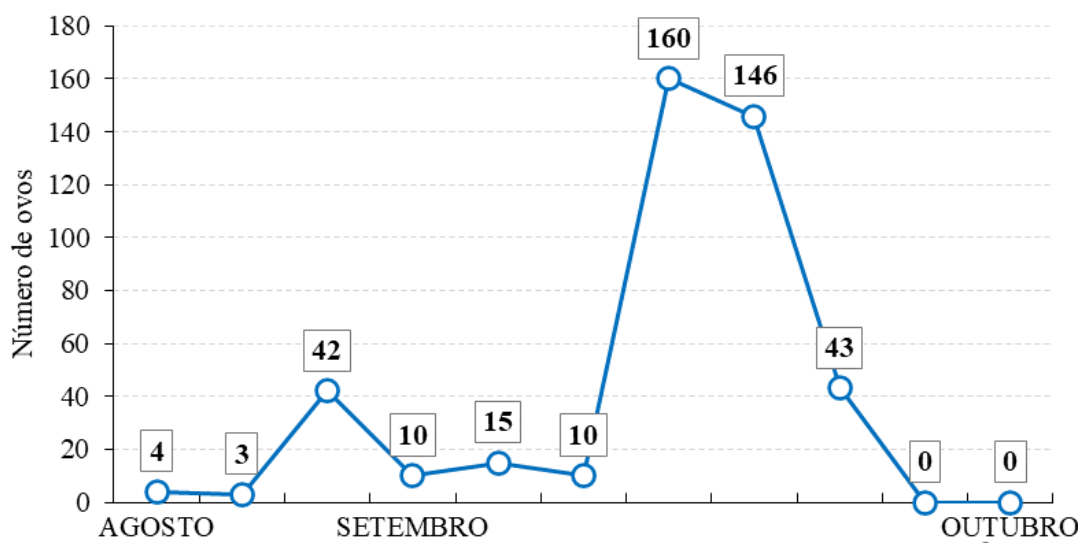


FIGURA 24: número de ovos coletados no período de 17 de agosto a 4 de outubro de 2019. Os 4 dias período entre o qual as ovitrampas foram examinadas e alterado corresponde ao intervalo entre cada traço na linha horizontal.

Todos os exemplares identificados foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz). Embora possa parecer um número baixo de espécimes, dois fatores podem influenciar os resultados obtidos.

Primeiro, antes do estudo realizado por nossa equipe na ilha, os militares já haviam iniciado algumas medidas de combate aos mosquitos e; Segundo, o estudo foi realizado nos meses mais frios do ano, período em que a espécie é naturalmente menos abundante.

4. DISCUSSÃO & CONCLUSÃO

A presença comprovada de *Ae. aegypti* na Ilha da Trindade representa um grande perigo para os militares e pesquisadores, tendo em vista o papel desta espécie como vetor de arbovírus potencialmente perigosos, atualmente endêmicas no continente sul-americano.

Portanto, como conclusão do trabalho, uma lista de medidas sugestivas para a erradicação e prevenção de futuras infestações por *Ae. aegypti* na estação foi apresentado aos militares (Anexo III). Por um lado, até onde sabemos, a espécie deve ter chegado à ilha por meio de navios militares, semelhante à forma que se acredita que essa mesma espécie tenha chegado ao Novo Mundo séculos atrás (Powell et al. 2018).

Por outro lado, vale ressaltar que como dito anteriormente, com a renovação parcial da frota, os navios chegam atualmente em cerca de 3 dias do continente, o que pode ter facilitado a sobrevivência do mosquito na viagem e colonização da ilha.

Para a manutenção do processo de erradicação do *Ae. aegypti* no POIT, um treinamento foi realizado com o destacamento presente na ilha (Figura 25), ao qual foram discutidas as ações viáveis de serem executadas além de curiosidades sobre a biologia e comportamento culicinae, bem como uma intensa troca de experiência entre os participantes, com adaptações que podem ser realizadas em seus próprios domicílios.



FIGURA 25: Treinamento e capacitação para ações de erradicação aos mosquitos *Ae. aegypti* na POIT em 26 de setembro de 2019. Foto: Araujo-Oliveira 2019.

Os autores agradecem a colaboração do Comando da Marinha do Brasil, Capitão-de-Mar-e-Guerra (RM1-T) José Marques Gomes Barbosa e Suboficial (RM1-FN-IF) Ruy Barreto dos Santos, que prestaram apoio logístico a este trabalho, e dos oficiais da Marinha, Capitão-de-Coveta (T) Antonio Sival Torres Guerreiro e Capitão-Tenente (AFN) Alessandres de Azevedo Marques, que possibilitaram a realização deste trabalho na estação oceanográfica da Trindade com total apoio e sem quaisquer restrições ao trabalho de campo.

REFERÊNCIAS

- Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AE, Almeida SA, Gleiser RM. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol* 2016; 41:18–26.
- Alves RJV, Silva NG, Aguirre-Muñoz A. Return of endemic plant populations on Trindade Island, Brazil, with comments on the fauna. In: Veitch CR, Clout MM, Towns DR, eds. *Island invasives: eradication and management*. Gland, Switzerland: IUCN & Auckland, New Zealand: CBB; 2011.
- Alves RJV. *Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz - Um Ensaio Geobotânico*. Niterói: Serviço de Documentação da Marinha do Brasil; 1998.
- Carvalho FD, Moreira LA. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so successful as a species? *Neotrop Entomol* 2017; 46:243–255.
- Donalisio MR, Freitas ARR, Von Zuben APB. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. *Rev Saude Publica* 2017; 51:30.
- Forattini OP. *Culicidologia médica. Identificação, biologia, epidemiologia*. (vol2) São Paulo: Editora da USP; 2002.
- Kotsakiozi P, Gloria-Soria A, Caccone A, Evans B, Schama R, Martins AJ, et al. Tracking the return of *Aedes aegypti* to Brazil, the major vector of the dengue, chikungunya and Zika viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11:e0005653.
- Mavian C, Dulcey M, Munoz O, Salemi M, Vittor AY, Capua I. Islands as hotspots for emerging mosquito-borne viruses: a one-health perspective. *Viruses* 2018; 11:11.
- Patterson J, Sammon M, Garg M. Dengue, Zika and Chikungunya: emerging arboviruses in the New World. *West J Emerg Med* 2016; 17:671–679.
- Powell JR, Gloria-Soria A, Kotsakiozi P. Recent history of *Aedes aegypti*: vector genomics and epidemiology records. *BioScience* 2018; 68:854–860.

Powell JR. Mosquito-borne human viral diseases: why *Aedes aegypti*? 2018. Am J Trop Med Hyg 2018; 98:1563–1565.

Powell JR. New contender for most lethal animal. Nature 2016; 540:525.

Ryan SJ, Lippi CA, Nightingale R, Hamerlinck G, Borbor-Cordova MJ, Cruz BM, et al. Socio-ecological factors associated with Dengue risk and *Aedes aegypti* presence in the Galápagos Islands, Ecuador. Int J Environ Res Public Health 2019; 16:682.

Salgueiro P, Serrano C, Gomes B, Alves J, Sousa CA, Abecasis A, et al. Phylogeography and invasion history of *Aedes aegypti*, the Dengue and Zika mosquito vector in Cape Verde islands (West Africa). Evol Appl 2019; 12:1797–1811.

SECIRM (Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar). Protrindade: programa de pesquisas científicas na Ilha da Trindade. 10 anos de pesquisas. Brasília: Serviço de Documentação da Marinha do Brasil; 2017.

Seixas G, Salgueiro P, Bronzato-Badial A, Gonçalves Y, Reyes-Lugo M, Gordicho V, et al. Origin and expansion of the mosquito *Aedes aegypti* in Madeira Island (Portugal). Sci Rep 2019; 9:2241.

4. CONCLUSÃO

A busca de fatores que contribuem para o entendimento da dinâmica da distribuição dos vetores de doenças, como a febre amarela, em ambientes de florestas é de suma importância para o conhecimento geral de sua transmissão e a identificação de possíveis áreas de risco. Desta forma, foi observado que as populações de mosquitos do presente estudo foram diretamente influenciadas pelos períodos secos e chuvosos sob as condições apresentadas e que seja possível que ocorram alterações nos locais de maior atividade por parte das espécies de mosquitos, como visto no Capítulo I.

Tratando-se das espécies capturadas, esperava-se encontrar uma maior diversidade nas áreas mais distantes dos locais com residências, consequentemente com a mata mais preservada e maior dificuldade de acesso. Porém foi observado o oposto, sinalizando que a interação ecológica entre fauna de culicídeos e cobertura vegetal carecem de estudos mais aprofundados que possam encontrar relações sobre essas alterações que favoreceram a diversidade.

Os resultados da nova proposta metodológica de rodízio de posição armadilhas (ovitrapam e bambutrap) apresentadas no Capítulo II, sugerem que a busca por habitats larvais por parte dos culicídeos inicia-se ao nível do solo e a ocupação de novos locais para oviposição em níveis mais elevados pode ocorrer devido à ausência de outros habitats larvais e/ou a permanência destes por longos períodos, como visto em diversos trabalhos. Assim sendo, a presente constatação possibilita um melhor entendimento sobre o comportamento das populações de mosquitos em ambiente de Mata Atlântica. Em síntese afigura-se de fundamental importância o incremento de investigações da epidemiologia e bioecologia de mosquitos vetores de agentes etiológicos em fragmentos deste bioma.

Na ilha da Trindade, não foi encontrada quaisquer outras espécies de culicídeos, a não ser *Ae. aegypti*, desta forma podemos acreditar que a espécie tenha chegado ao local da mesma forma que ocorreu séculos atrás no continente, através de ovos depositados em materiais transportados. Todavia, o treinamento e uma lista de medidas sugestivas para a erradicação e prevenção de futuras infestações por *Ae. aegypti* no Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade foi apresentado ao Comando da Marinha do Brasil no 1º Distrito Naval (ANEXO III).

REFERÊNCIAS

Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A, Santos AAC, Miranda RM, Bonelly IS, et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018, *Emerging Microbes & Infections* 2019; 8(1):218-231.

Abreu FVSD, Ferreira-de-Brito A, Azevedo ADS, Linhares JHR, Oliveira Santos V, Hime Miranda E, et al. Survey on non-human primates and mosquitoes does not provide evidences of spillover/spillback between the urban and sylvatic cycles of yellow fever and Zika viruses following severe outbreaks in southeast Brazil. *Viruses* 2020; 12(4):364.

Afrane YA, Little TJ, Lawson BW, Githeko AK, Yan G. Deforestation and vectorial capacity of *Anopheles gambiae* Giles mosquitoes in malaria transmission, Kenya. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(10):1533-1538.

Albeny-Simões D, Silva PG, Breaux JA, Hernández MIM. Inside-container effects drive mosquito community structure in Brazilian Atlantic forest. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 2019; 167(6):566-576.

Alencar J, Dégallier N, Hannart A, Santos Silva J, Pacheco JB, Guimarães AÉ. Circadian and seasonal preferences for hematophagy among *Haemagogus capricornii*, *Hg. janthinomys*, and *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. *Journal of Vector Ecology* 2008; 33(2):389-392.

Alencar J, Ferreira ZM, Lopes CM, Serra-Freire NM, Mello RP, Silva JS, et al. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Entomol* 2011; 48:223-231.

Alencar J, Mello CF, Barbosa LS, Gil-Santana HR, Maia DA, Marcondes CB, et al. Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016a; 49(3):351-356.

Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AE, Almeida SAA, Gleiser RM. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology* 2016b; 41(1):18-26.

Alencar J, Mello CF, Guimarães AÉ, Gil-Santana HR, Silva JS, Santos-Mallet JR, et al. Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE* 2015; 10: e0122268.

Alencar J, Mello CF, Guimarães AE, Maia DA, Balbino VQ, Freitas MTS, et al. The first detection of a population of *Aedes aegypti* in the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Zool* 2020b; 33:77-82.

Alencar J, Mello CF, Rodríguez-Planes L, Santos Silva J, Gil-Santana HR, Bastos AQ, et al. Ecosystem diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a remnant of Atlantic Forest, Rio de Janeiro state, Brazil. *Austral Entomology* 2021; 60(1):244-256.

Alencar J, Mello CF, Rodríguez-Planes L, Silva JS, Gil-Santana HR, Bastos AQ et al. Ecosystem diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a remnant of Atlantic Forest, Rio de Janeiro state, Brazil. *Austral Entomology* 2020a; 60(1):244–256.

Altamiranda-Saavedra M, Porcasi X, Scavuzzo CM, Correa MM. Downscaling incidence risk mapping for a Colombian malaria endemic region. *Tropical Medicine and International Health* 2018; 23(10):1101-1109.

Alves RJV. Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz - Um Ensaio Geo-botânico. Niterói: Serviço de Documentação, Marinha do Brasil; 1998.

Aragão MB. Algumas medidas microclimáticas, em mata da região " Bromélia-malária", em Santa Catarina, Brasil: I - temperatura do ar, umidade relativa e evaporação. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1958; 56(2):415-451.

Aragão MB. Sobre a distribuição vertical dos criadouros de Anopheles do subgênero *Kerteszia*, no sul do Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1968; 66(2):131-144.

Araújo FAA, Ramos DG, Santos AL, Passos PHO, Elkhoury ANSM, Costa ZGA, et al. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2011; 20(4):527-536.

Arjona, AC. La fiebre amarilla en Colombia: una investigación seminal. *Revista De Salud Pública* 1999; 1(2):137-151.

Bamou R, Mayi MPA, Djiappi Tchamen B, Nana Ndjangwo SM, Nchoutpouen E. An update on the mosquito fauna and mosquito-borne diseases distribution in Cameroon. *Parasites Vectors* 2021; 14:527.

Barbosa AA, Silva MAN. Preferência por local de oviposição de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae), em relação à presença de imaturos da própria espécie, sob condições de laboratório. *Rev Bras Zool* 2002; 19:1147-1152.

Barbosa MG, Fé NF, Marcião AHR, Silva APT, Monteiro WM, Guerra MVF, et al. Registro de Culicidae de importância epidemiológica na área rural de Manaus, Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41:658-663.

Barnett ED. Yellow Fever: Epidemiology and Prevention. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44:850-856.

Barreto ML, Teixeira MG. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. *Estudos avançados* 2008; 22:53-72.

Barrett ADT, Higgs S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. *Ann Rev Entomol* 2007; 52:209-229.

Benchimol JL. História da febre amarela no Brasil. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* 1994; 1(1):121-124.

Bentley MD, Day JF. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annual review of Entomol* 1989; 34(1):401-421.

Beserra EB, Fernandes CR, Ribeiro PS. Relação entre densidade larval e ciclo de vida, tamanho e fecundidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae) em laboratório. *Neotropical Entomology* 2009; 38(6):847-852.

Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2007; 16(2):113-118.

BRASIL (Ministério da Saúde) Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 11 de 2022 [recurso eletrônico]. Coordenação-Geral de Vigilância das Arboviroses do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis da Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2022. [Acesso em 4 abr 2022] Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/edicoes/2022/boletim-epidemiologico-vol-53-no11.pdf>

BRASIL (Ministério da Saúde) Febre de chikungunya: manejo clínico. 2015. [Acesso em: 18 dez 2021] Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/fevereiro/19/febre-de-chikungunya-manejo-clinico.pdf>

BRASIL (Ministério da Saúde) Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico]. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. [Acesso em 3 abr 2022] Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sul/husm-ufsm/saude/nveh/guia-de-vigilancia-epidemiologico-2019.pdf>

BRASIL (Ministério da Saúde) Manual de manejo clínico da febre amarela [recurso eletrônico]. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde; 2020. [Acesso em 18 dez 2021] Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_manejo_clinico_febre_amarela.pdf

Braz ARP, Bringel KKMC, Oliveira LDAP, Oliveira Filho IJC, Oliveira Trajano IL, Júnior ALRC, et al. Caracterização dos casos de malária na região extra amazônica brasileira entre 2012 a 2017. *Journal of Management & Primary Health Care* 2020; 12:1-15.

Brito LBM, Santos JA, Gomes ALP, Marcos AJF. Febre Amarela: Uma Revisão de Literatura. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research* 2014; 8(3): 61-65.

Brito TT, Oliveira-Júnior JF, Lyra GB, Gois G, Zeri M. Multivariate analysis applied to monthly rainfall over Rio de Janeiro state, Brazil. *Meteorol Atmos Phys* 2016; 129:469-478.

Bryant JE, Holmes EC, Barrett ADT. Out of Africa: A Molecular Perspective on the Introduction of Yellow Fever Virus into the Americas. *PLoS Pathogens* 2007; 3(5):e75.

Burkett-Cadena ND. Mosquitoes of the Southeastern United States. Tuscaloosa: The University of Alabama Press; 2013.

Câmara FP, Gomes ALBB, Carvalho LMFD, Castello LGV. Dynamic behavior of sylvatic yellow fever in Brazil (1954-2008). *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44:297-299.

Camargo-Neves VL, Poletto DW, Rodas LA, Pachioli L, Cardoso RP, Scandar SA, et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in Sao Paulo State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1278-1286.

Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015; 21(10):1-5.

Cardoso JDC, Paula MB, Fernandes A, Santos E, Almeida MAB, Fonseca DF, et al. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic forest area on the north coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Journal of Vector Ecology* 2011; 36(1):175-186.

Causey OR, Dos Santos GV. Diurnal mosquitoes in an area of small residual forests in Brazil. *Annals of the Entomological Society of America* 1949; 42(4):471-482.

Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil, 2000-2012. *Epidemiol Serv Saúde* 2016; 25(1):11-20.

Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Risk of re-emergence of urban yellow fever in Brazil. *Epidemiol Serv Saude* 2017; 26:617-620.

Cecílio AB, Campanelli ES, Souza KPR, Figueiredo LB, Resende MC. Natural vertical transmission by *Stegomyia albopicta* as dengue vector in Brazil. *Braz J Biol* 2009; 69(1):123-127.

Chaves LF, Hamer GL, Walker ED, Brown WM, Ruiz MO, Kitron UD. Climatic variability and heterogeneity impact urban mosquito diversity and vector abundance and infection. *Ecosphere* 2011; 2(6):1-21.

Consoli RA, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1994.

Copatti CE, Gasparetto FM. Diversidade de insetos em diferentes tipos de borda em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista. *Revista Biociências* 2012; 18(2):32-40.

Corrêa PRL, França E, Bogutchi TF. Infestação pelo *Aedes aegypti* e ocorrência da dengue em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Rev Saúde Pública* 2005; 39(1):33-40.

Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2011; 2(1):16-16.

Couto-Lima D, Andreazzi CS, Leite PJ, Bersot MIL, Alencar J, Lourenço-de-Oliveira R. Seasonal population dynamics of the primary yellow fever vector *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon) (Diptera: Culicidae) is mainly influenced by temperature in the Atlantic Forest, southeast Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2020; 115:e200218.

Couto-Lima D, Madec Y, Bersot MI, Campos SS, Motta MA, Santos FB, et al. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. *Sci Rep* 2017; 7(1):1-12.

Dantas MS, Almeida NV, Santos Medeiros I, Silva MD. Diagnóstico da vegetação remanescente de Mata Atlântica e ecossistemas associados em espaços urbanos. *Journal of Environmental Analysis and Progress* 2017; 2(1):87-97.

Davis DE. A Comparison of Mosquitoes captured with an avian Bait at 3 different vegetational Levels. *Revista de Entomologia* 1944; 15(1-2):209-215.

Day JF. Mosquito Oviposition Behavior and Vector Control. *Insects* 2016; 7(65).

Dehghan H, Sadraei J, Moosa-Kazemi SH, Abolghasemi E, Solimani H, Nodoshan AJ, Najafi MH. A Pictorial Key for *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) In Iran. J Arthropod-Borne Dis 2016; 10(3):291-302.

Didham RK. An overview of invertebrate responses to forest fragmentation. Forests and insects 1997; 303-320.

Dorvillé, LFM. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in Southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. Studies on Neotropical Fauna & Environment 1996; 31(2):68-78.

Fay RW, Perry AS. Laboratory Studies of Ovipositional Preferences of *Aedes aegypti*. Mosquito News 1965; 25(3):276-281.

Ferguson NM. Challenges and opportunities in controlling mosquito-borne infections. Nature 2018; 559(7715):490-497.

Ferreira KV, Rocha KC, Caputto LZ, Fonseca ALA, Fonseca FLA. Histórico da febre amarela no Brasil e a importância da vacinação anti-amarela. Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde 2011; 36(1).

Figueiredo LTM. The Brazilian flaviviruses. Microbes and Infection 2000; 2(13):1643-1649.

Fontenille D, Diallo M, Mondo M, Ndiaye M, Thonnon J. First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 1997; 91(5):533-535.

Fontes G, Leite AB, Lima ARV, Freitas H, Ehrenberg JP, Rocha EMM. Lymphatic filariasis in Brazil: epidemiological situation and outlook for elimination. Parasites & vectors 2012; 5(1):1-11.

Forattini OP, Gomes AC, Santos JLF, Galati EAB, Rabello EX, Natal D. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae, em mata residual no Vale do Ribeira, S. Paulo, Brasil. Rev Saúde Pública 1981; 15(6):557-586.

Forattini OP, Gomes ADC, Galati EAB, Rabello EX, Iversson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no sistema da Serra do Mar, Brasil: 1 - Observações no ambiente extradomiciliar. Rev Saúde Pública 1978a; 12(4):297-325.

Forattini OP, Gomes ADC, Galati EAB, Rabello EX, Iversson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema da Serra do Mar, Brasil: 2 - Observações no ambiente domiciliar. Rev Saúde Pública 1978b; 12(4):476-496.

Forattini OP, Kakitani I, Sallum MAM, Rezende L. Produtividade de criadouro de *Aedes albopictus* em ambiente urbano. Rev Saúde Pública 1997; 31(6):545-555.

Forattini OP, Lopes ODS, Rabello EX. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Pública 1968; 2(2):111-173.

Forattini OP. Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia (vol.2). São Paulo: Editora da USP; 2002.

Forattini OP. Culicidologia médica: Princípios Gerais, Morfologia, Glossário Taxonômico. Vol. 1. São Paulo: Editora da USP; 1996.

Foster WA, Walker ED. Mosquitos (Culicidae). In: Mullen G, Durden L. (Editors) Medical and Veterinary Entomology. San Diego: Academic Press; 2002.

Franco O. História da febre-amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1969.

Garai I, Rizzini CM. A Floresta Atlântica de Tabuleiros: diversidade funcional da cobertura arbórea. Petrópolis: Vozes; 2003.

Gomes AC, Forattini OP, Kakitani I, Marques GRA, Marques CC, Marucci D, et al. Microhabitats de *Aedes albopictus* (Skuse) na região do Vale do Paraíba, estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Pública 1992; 26:108-118.

Gomes AC, Souza JMP, Bergamaschi DP, Santos JLF, Andrade VR, Leite OF. Atividade antropofílica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área sob controle e vigilância. Rev Saude Publica 2005; 39(2):206-210.

Gomes AS, Sciavico CJS, Eiras AE. Periodicidade de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em laboratório e campo. Rev Soc Bras Med Trop 2006; 39:327-332.

Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3):480-96.

Guedes MLP. Culicidae (Diptera) no Brasil: Relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. Oecol Aust 2012; 16(2):283-296.

Guedes MLP. Fauna de Culicidae (Diptera) em remanescente do bioma de Mata Atlântica, Antonina, Paraná. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] – Universidade Federal do Paraná; 2010.

Guimarães AÉ, Arlé M, Machado RNM. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil: II. Distribuição vertical. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1985; 80:171-185.

Guimarães AÉ, Arlé M. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro, Brasil: I-distribuição estacional. Mem Inst Oswaldo Cruz 1984; 79:309-323.

Guimaraes AÉ, Gentile C, Almeida JRD. Ecologia de bioindicadores na Floresta Atlântica: I Influência dos fatores climáticos na dinâmica populacional de mosquitos (Diptera, Culicidae) da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro. Ann Brasil Ciências Ambientais 1994; 1.

Guimarães AÉ, Gentile C, Lopes CM, Sant'Anna A, Jovita AM. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra da Bocaina National Park, Brazil. I - Habitat distribution. Rev. Saude Publica 2000; 34:243-250.

Guimarães AÉ, Motta MDA, Arlé M, Machado RM, Goncalves LD. Bionomics of mosquitoes (Diptera-Culicidae) in areas of the Atlantic Forest of Itaguaí municipality, Rio de Janeiro state, Brazil: I. intra, peri and extradomiciliary frequency. Mem Inst Oswaldo Cruz 1989; 84:243-254.

Harbach RE. Mosquito Taxonomic Inventory [Acesso em 11 feb 2022]. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>

Harbach RE. The subgenus *Sabethinus* of *Sabethes* (Diptera: Culicidae). *Systematic Entomology* 1994; 19(3):207-234.

Hayes EB. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(9):1347-1350.

Henry A, Thongsripong P, Fonseca-Gonzalez I, Jaramillo-Ocampo N, Dujardin JPP. Wing shape of dengue vectors from around the world. *Infect Genet Evol* 2010; 10:207-214.

Honório NA, Cabello PH, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Preliminary data on the performance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* immatures developing in water-filled tires in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(2):225-228.

Hutchings RSG, Sallum MA, Ferreira RL, Hutchings RW. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. *Medical and Veterinary Entomology* 2005; 19:428-441.

Hutchings RSG, Sallum MAM, Hutchings RW. Mosquito (Diptera: Culicidae) diversity of a forest-fragment mosaic in the Amazon rain forest. *Journal of Medical Entomology* 2011; 48:173-187.

Juliano SA, O'Meara GF, Morrill JR, Cutwa MM. Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. *Oecologia* 2002; 130(3):458-469.

Laporta GZ, Ribeiro MC, Ramos DG, Sallum MAM. Spatial distribution of arboviral mosquito vectors (Diptera, Culicidae) in Vale do Ribeira in the South-eastern Brazilian Atlantic Forest. *Cad Saúde Pública* 2012; 28(2):229-238.

Laurance WF, Bierregaard Jr RO. *Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities*. Chicago: University of Chicago Press; 1997.

Laurance WF, Lovejoy TE, Vasconcelos HL, Bruna EM, Didham RK, Stouffer PC, et al. 2002. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: a 22-year investigation. *Conservation biology* 2002; 16(3):605-618.

Lima-Camara TN. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. Rev Saúde Pública 2016; 50:36.

Liria J, Navarro JC. Cibarial Morphology in *Psorophora* Robineau-Desvoidy Subgenera (Diptera: Culicidae). Neotropical Entomology, 2007; 36(6):902-909.

Lopes N, Nozawa C, Linhares REC. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde 2014; 5(3):10-10.

Lourenço-de-Oliveira R, Castro MG, Braks MA, Lounibos LP. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. Journal of Vector Ecology 2004; 29:94-100.

Lourenço-de-Oliveira R. Transmissão Vetorial. In: Valle D, Pimenta DN, Cunha RV. (Org.) Dengue: Teorias e práticas. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2015.

Lozovei AL. Mosquitos dendrícolas (Diptera, Culicidae) em internódios de taquara da floresta atlântica, serra do mar e do primeiro planalto, Paraná, Brasil. Brazilian Archives of Biology and Technology 1998; 41:501-510.

Maciel GBML, Oliveira EC. Entomological and epidemiological profile of malaria in a gold mining region in northern Mato Grosso, Brazil, 2011. Epidemiol Serv Saúde 2014; 23(2):355-360.

Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus williston* (Diptera: Culicidae) do Brasil. Rev Biomed 2010; 21(3):221-238.

Marcondes CB, Mafra H. A new technique for the study of the mosquito (Diptera: Culicidae) fauna in bamboo internodes, with preliminary results. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36(6).

Marcondes CB. Entomologia Médica e Veterinária. São Paulo: Atheneu; 2001.

Marques GR, Forattini OP. Culicídeos em bromélias: diversidade de fauna segundo influência antrópica, litoral de São Paulo. Rev Saúde Pública 2008; 42:979-985.

Mascheretti M, Tengan CH, Sato HK, Suzuki A, Souza RP, Maeda M, et al. Yellow fever: reemerging in the state of Sao Paulo, Brazil, 2009. Rev Saude Publica. 2013; 47:881-889.

Massad E, Forattini OP. Culicidae Vectors and Anthropic Changes in a Southern Brazil Natural Ecosystem. *Ecosystem Health* 1998; 4(1):9-19.

Méio BB, Freitas CV, Jatobá L, Silva MEF, Ribeiro JF, Henriques RPB. Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado sensu stricto. *Revista Brasileira de Botânica* 2003; 26(4):437-444.

Miyazaki RD, Ribeiro ALM, Pignatti MG, Campelo Júnior JH, Pignati M. Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(4):392-397.

Molyneux DH. Common themes in changing vector-borne disease scenarios. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97(2):129-132.

Mondet B, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Travassos da Rosa ES, Rodrigues SG, Travassos da Rosa JFS, et al. Isolation of yellow fever virus from nulliparous *Haemagogus* (*Haemagogus*) *janthinomys* in eastern Amazonia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 2002; 2(1):47-50.

Mondet B. Condições de sobrevivência em laboratório de *Haemagogus janthinomys* Dyar, 1921 (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 1997; 30:11-14.

Mondet B. Yellow fever epidemiology in Brazil. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 2001; 94(3):260-267.

Montagner FR. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros artificiais em oito áreas verdes do município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação [Mestrado em Biologia Animal] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2014.

Monteiro MRDCC, Ribeiro MC, Fernandes SC. Aspectos clínicos e epidemiológicos da malária em um hospital universitário de Belém, Estado do Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2013; 4(2):11-11.

Montes J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 2005; 39(4):578-648.

Mori A, Tsuda Y, Takagi M, Higa Y, Severson DW. Multiple QTL Determine Dorsal Abdominal Scale Patterns in the Mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Heredity* 2016; 107(5):438-444.

Muñoz M, Navarro JC. Virus Mayaro: un arbovirus reemergente en Venezuela y Latinoamérica. *Biomédica* 2012; 32:286-302.

Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clinical Microbiology and Infection* 2014; 20(10):595-596.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 2000; 403(6772):853-858.

Naranjo-Díaz N, Altamiranda-Saavedra M, Correa MM. Anopheles species composition and entomological parameters in malaria endemic localities of North West Colombia. *Acta Tropica* 2019; 190:13–21.

Noronha TGD, Camacho LAB. Controvérsias sobre a ampliação das áreas com vacinação de rotina contra a febre amarela no Brasil. *Cad Saúde Pública* 2017; 33:e00060917.

Oliveira Júnior JC, Dias HCT. Precipitação efetiva em fragmento secundário da Mata Atlântica. *Revista Árvore* 2005; 29(1):9-15.

Oliveira-Christe R, Medeiros-Sousa AR, Fernandes A, Júnior WC, Marrelli MT. Distribution of *Culex* (*Microculex*) (*Diptera*: *Culicidae*) in forest cover gradients. *Acta Tropica* 2019; 202:105264.

PAHO (Pan American Health Organization) Atualização epidemiológica febre amarela, 6 de outubro de 2021. Brasília: OPAS/OMS; 2021. [Acessado em: 20 dez 2021] Disponível em: ris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/55180/EpiUpdate6out2021_por.pdf

PAHO (Pan American Health Organization) Manual de Entomologia da Malária Para Técnicos de Entomologia e Controlo de Vetores (Nível Básico). USAID; 2012.

Pancetti FGM, Honório NA, Urbinatti PR, Lima-Camara TN. Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2015; 48(1):87-89.

Ree, HI. Taxonomic Review and Revised Keys of the Korean Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Entomological Research* 2003; 33:39-52.

Rezende CL, Scarano FR, Assad ED, Joly CA, Metzger JP, Strassburg BBN, et al. From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in ecology and conservation* 2018; 16(4):208-214.

Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological conservation* 2009; 142(6):1141-1153.

Ruiz MO, Walker ED, Foster E, Haramis L, Kitron UD. Association of West Nile virus illness and urban landscapes in Chicago and Detroit. *International Journal of Health Geographics* 2007; 6(1):1-11.

Sant'Ana AL, Lozovei AL. Influência do ciclo lunar na captura de *Aedes scapularis* (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica do Paraná. *Iheringia, Série Zoologia* 2001; 90:175-182.

Sant'Ana DC. Comparação de três armadilhas automáticas para coleta de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas rurais no bioma de Mata Atlântica, sudeste do Estado de São Paulo, Brasil Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] - Universidade de São Paulo; 2013.

Santos RC. Updating of the distribution of *Aedes albopictus* in Brazil (1997-2002). *Rev Saude Publica* 2003; 37:671-673.

Santos-Mallet JR, Balthazar TD, Oliveira AA, Marques WA, Bastos AQ, Freitas SPC. The External Morphology of the Eggs of *Culex* (*Culex*) *saltanensis* (Diptera: Culicidae) Under Scanning Electron Microscopy. *J Med Entomol* 2021; 58(3):1134-1137.

Santos-Neto LG, Lozovei AL. Aspectos ecológicos de *Anopheles cruzii* e *Culex ribeirensis* (Diptera, Culicidae) da Mata Atlântica de Morretes, Paraná, Brasil. Rev Bras Entomol 2008; 52(1):105-111.

SECIRM (Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar). Protrindade: programa de pesquisas científicas na Ilha da Trindade. 10 anos de pesquisas. Brasília: SECIRM; 2017.

Silva JMC, Casteleti CHM. Status of the biodiversity of the Atlantic Forest of Brazil. The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Threats, and Outlook. Washington: CABS and Island Press; 2003.

Silva KS, Pinto IDS, Leite GR, Virgens TM, Santos CB, Falqueto A. Ecology of anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the central Atlantic Forest biodiversity corridor, southeastern Brazil. Journal of medical entomology 2013; 50(1):24-30.

Silva SOF, Mello CF, Figueiró R, Docile T, Serdeiro M, Fumian FF. Oviposition behavior of wild yellow fever vector mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic Forest fragment, Rio de Janeiro state, Brazil. Scientific Reports 2021; 11(1):1-7.

Small ST, Labbé F, Coulibaly YI, Nutman TB, King CL, Serre D, et al. Human migration and the spread of the nematode parasite *Wuchereria bancrofti*. Molecular Biology and Evolution 2019; 36(9):1931-1941.

Souza-Neto JA, Powell JR, Bonizzoni M. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. Infection, genetics and evolution 2019; 67:191-209.

Tabarelli M, Pinto LP, Silva JMC, Hirota MM, Bedê LC. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. Megadiversidade 2005; 1(1):132-138.

Talapko J, Škrlec, I, Alebić T, Jukić M, Včev A. Malaria: the past and the present. Microorganisms 2019; 7(6):179.

Tátilla-Ferreira A, Maia DA, Abreu FVS, Rodrigues WC, Alencar J. Oviposition behavior of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: culicidae), a vector of wild yellow fever in Brazil. Rev Inst Med Trop 2017; 59:e60.

- Tauil PL. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad Saúde Pública* 2001; 17:99-102.
- Teixeira MG, Andrade AMS, Costa MCN, Castro JSM, Oliveira FLS, Goes CSB. East/Central/ South African genotype Chikungunya virus, Brazil. *Emerging Infectious Disease* 2015; 21:906-907.
- Thomas IM. The reactions of mosquito larvae to regular repetitions of shadows as stimuli. *Australian Journal of Biological Sciences* 1950; 3(1):113-123.
- Tubaki RM, Carréri-Bruno GM, Glasse CM, Ciaravolo RMC. Biting Activity of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera Culicidae) in domiciliary habitats in the southern atlantic forest, Peruíbe, State of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Entomol* 1993; 569-575.
- Vargas A, Saad E, Dimech GS, Santos RH, Sivini MAVC, Albuquerque LC, et al. Características dos primeiros casos de microcefalia possivelmente relacionados ao vírus Zika notificados na Região Metropolitana de Recife, Pernambuco. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2016; 25:691-700.
- Vasconcelos PF, Sperb AF, Monteiro HA, Torres MA, Sousa MR, Vasconcelos HB, et al. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2003; 97(1):60-62.
- Vasconcelos PFC. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2015; 6(2):9-10.
- Vasconcelos PFC. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(2):275-293.
- Vasconcelos PFC. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco de reurbanização. *Rev Bras Epidemiol* 2002; 5:244-258.
- Vieira G, Bersot MIL, Pereira GR, Abreu FVS, Nascimento-Pereira AC, Neves MSAS, et al. High Speed Video Documentation of the Mosquito *Sabethes albiprivus* Egg-Catapulting Oviposition Behavior (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology* 2020; 49(5):662-667.

Virgens TMD, Rezende HR, Pinto IS, Falqueto A. Fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) na Floresta Nacional de Goytacazes e área adjacente, estado do Espírito Santo, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica* 2018; 18.

Weaver SC, Charlier C, Vasilakis N, Lecuit M. Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. *Annual review of medicine* 2018; 69: 395-408.

WHO (World Health Organization) [homepage da internet]. Yellow Fever, Population at risk. (Acesso em 25 jan 2021). Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/yellow-fever>

WHO (World Health Organization) Chikungunya. WHO; 2017. [Acesso em 15 dez 2021] Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en>

WHO (World Health Organization) Special Programme for Research, Training in Tropical Diseases, World Health Organization. Department of Control of Neglected Tropical Diseases, World Health Organization. Epidemic, & Pandemic Alert. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO; 2009. [Acesso em 17 nov 2021]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188>

WHO (World Health Organization). A Global Brief on Vector-Borne Diseases. Geneve: WHO; 2014.

Wilk-da-Silva R, Diniz MMCSL, Marrelli MT, Wilke ABB. Wing morphometric variability in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from different urban built environments. *Parasites & Vectors* 2018; 11:561.

Wilkerson RC, Linton YM, Fonseca DM, Schultz TR, Price DC, Strickman DA. Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe *Aedini* that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. *PLoS ONE* 2015; 10(7):e0133602.

Yasuoka J, Levins R. Impact of deforestation and agricultural development on anopheline ecology and malaria epidemiology. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(3):450-460.

Zahiri N, Rau ME. Oviposition responses of *Aedes aegypti*. Jour Med Entomol 1998; 35(5):782-787.

Zanluca C, Melo VCA, Mosimann ALP, Santos GIV, Santos CND, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2015; 110(4):569-572.

Zara ALDSA, Santos SMD, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. Epidemiologia e Serviços de Saúde 2016; 25:391-404.

Zavortink TJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXVIII. The New World Species formerly placed in *Aedes* (Finlaya). Contrib. Amer Ent Inst 1972; 8(3):1-206.

Zequi JAC, Oliveira AA, Santos, FP, Lopes J. Monitoramento e controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) com uso de ovitrampas. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde 2018; 39(2):93-102.

Evaluation of the Diversity of Culicidae Vectors of the Sylvatic Yellow Fever Virus in Atlantic Forest Remnants with the Use of Ovitrap and Bamboo Traps

Alexandre de Araujo-Oliveira,^{1,2} Hécio Reinaldo Gil-Santana,³ Carolina de Souza Brandão Teixeira,¹ Jacenir Reis dos Santos-Mallet,^{1,4} and Jeronimo Alencar³

Abstract

Mosquitoes transmit several pathogens in tropical regions, especially in forest areas. The diseases caused by these pathogens include malaria and several arboviruses such as yellow fever. Brazil has the largest endemic area in the world for yellow fever. Many factors can affect the sylvatic cycle of the disease, shifting it into human-inhabited areas. This study aims to examine the oviposition behavior of mosquito species that are effective or potential vectors of the yellow fever virus and which colonize bamboo traps and ovitraps installed at different heights. The positions of the traps in the strata were changed every 15 days. The collection of immature stages (eggs, larvae, and pupae) was performed every 2 weeks for 12 months from August 2018 to July 2019 in the city of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro, Brazil, in an area near the Tinguá Biological Reserve (REBIO) in the districts of Adrianópolis and Rio D'ouro. Statistical tests were used to compare oviposition at each stratum, and correlation tests showed the relationship between the presence of eggs and immature mosquitoes (larvae and pupae) and temperature, precipitation, and trap type. The diversity was calculated for each trap type and height, as well as the dry and rainy seasons. During the sampling period, 3929 eggs and 4953 larvae and pupae were collected. The traps installed in the high strata remained empty when traps on the ground were installed at the same time, although not when they were installed on their own. The results obtained with this new proposed methodology suggest that diversity is greatest in the rainy season and in bamboo traps for either stratum. Furthermore, this study suggests that mosquitoes begin searching for breeding sites at ground level. Higher levels may be occupied due to the absence or impermanence of other breeding sites.

Keywords: ovitrap, bamboo trap, strata, breeding, mosquito

Introduction

THE MAIN MOSQUITOES CAPABLE OF CONTRACTING and transmitting the wild yellow fever virus (YFV) are species of the genera *Haemagogus* and *Sabethes*, considered biological vectors, and responsible for maintaining the natural cycle of the virus in forested areas of the Americas (Vasconcelos 2003, Marcondes and Alencar 2010). Indeed, mosquitoes living in these areas are the primary vectors of other arboviruses and malaria (Barnett 2007, Muñoz and Navarro 2012, Altamiranda-Saavedra et al. 2018). It is estimated that wild yellow fever is endemic in 34 countries in Africa and 13 in Central and South America (Barrett and Higgs 2007, Marcondes 2011, WHO 2021).

Haemagogus leucocelaenus is the most common species in Brazil and has been identified as the primary vector of YFV in the southeastern region of the country (Abreu et al. 2019). Its geographical distribution extends from the island of Trinidad to the south of Brazil, where it is especially abundant in the states of Mato Grosso, Goiás, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, and Rio Grande do Sul (Zavortink 1972). Interestingly, the species has been reported to have a considerable capacity to adapt to modified environments (Camargo-Neves et al. 2005, Alencar et al. 2016a).

YFV-transmitting mosquitoes are found in relatively well-preserved forest environments with fairly stable ecosystems, where they complete the larval cycle in temporary breeding sites, which may only retain water for short periods. Such

¹Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil.

²Postgraduate Program in Tropical Medicine, Oswaldo Cruz Institute (FioCruz), Rio de Janeiro, Brazil.

³Diptera Laboratory, Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil.

⁴Universidade Iguaçu—Unig, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brazil.

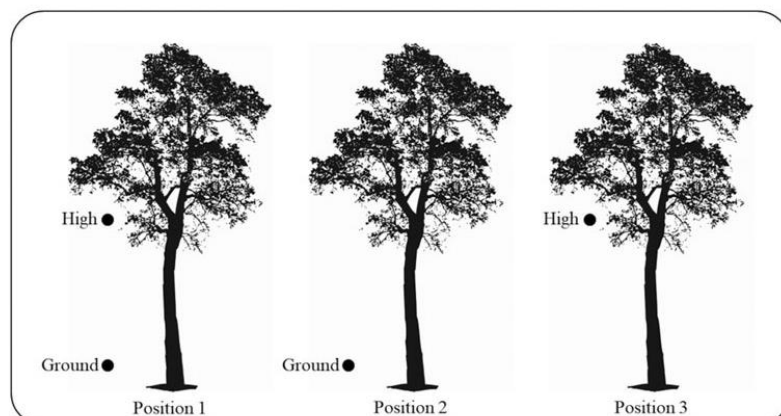


FIG. 1. Positioning of the traps in the selected trees in Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.

temporary breeding sites are common in wild environments. Meanwhile, due to environmental change within their habitats, these species are forced to constantly search for different breeding sites (Alencar et al. 2013). Deforestation caused by human activities such as traditional and subsistence agriculture changes forest environments and the behavior of mosquitoes, which are very sensitive to altered habitats (Afrane et al. 2008, Naranjo-Díaz et al. 2019). Changes in temperature and humidity can produce changes in forest ecology that can, in turn, affect breeding viability (Yasuoka and Levins 2007). Mosquitoes must then alter their behavior, which can impact the dynamics of the diseases they transmit (Molyneux 2003).

Belonging to the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus* (Vasconcelos 2002), YFV causes a febrile disease that in severe cases is presented as a hemorrhagic fever with liver and kidney complications, which can be fatal (Cavalcante

and Taulil 2016). Nonhuman primates are involved in the sylvatic cycle of the disease and are the most affected by it. Mortality among primates thus serves as a warning sign of the circulation of the virus in a particular area and the danger of human infection through mosquito bites (Araújo et al. 2011).

Brazil contains the largest area with endemic yellow fever in the world. Many factors can cause the disease to shift from a primarily sylvatic cycle to one involving humans, including the availability of appropriate locations and the oviposition capacity of the vectors. These factors may therefore explain the spread of the epizootic area beyond existing risk areas (Costa et al. 2011, Brito et al. 2014).

This study aims to examine the oviposition behavior of confirmed or potential mosquito vectors of YFV. Specifically, it examines colonization activity on two different types of traps installed at different heights in a remnant of the Atlantic Forest of the state of Rio de Janeiro, Brazil.

TABLE 1. QUANTITY OF EGGS AND IMMATURES (LARVAE AND PUPAE) IN OVITRAP AND QUANTITY OF IMMATURES IN BAMBOO-TRAP PLACED SIMULTANEOUSLY IN THE GROUND AND HIGH STRATA POSITIONS FROM AUGUST 2018 TO JULY 2019

Months, year	Ovitrap						Bamboo-traps		
	Eggs			Immatures			Immatures		
	Ground	%	High ^a	Ground	%	High	Ground	%	High ^a
August, 2018	0	0.0	0	22	1.6	0	3	0.5	0
September, 2018	36	4.2	0	46	3.3	0	0	0.0	0
October, 2018	50	5.8	0	110	7.9	0	95	17.1	0
November, 2018	163	18.9	0	109	7.8	0	2	0.4	0
December, 2018	221	25.7	0	38	2.7	0	31	5.6	0
January, 2019	61	7.1	0	357	25.5	0	136	24.4	0
February, 2019	72	8.4	0	73	5.2	0	43	7.7	0
March, 2019	159	18.5	0	163	11.6	0	135	24.2	0
April, 2019	41	4.8	0	132	9.4	0	27	4.8	0
May, 2019	15	1.7	0	97	6.9	0	46	8.3	0
June, 2019	40	4.6	0	164	11.7	0	30	5.4	0
July, 2019	3	0.3	0	90	6.4	0	9	1.6	0
Total	861	100		1401	100		557	100	

^aAll traps in the high strata at all points remained zero for the entire collection period, when installed simultaneously with the ground traps.

TABLE 2. QUANTITY OF EGGS AND IMMATURES (LARVAE AND PUPAE) IN OVITRAP AND QUANTITY OF IMMATURES IN BAMBOO-TRAP PLACED INDIVIDUALLY IN THE GROUND AND HIGH STRATA POSITIONS FROM AUGUST 2018 TO JULY 2019

Month, year	Ground			High		
	Ovitrap		Bamboo-traps	Ovitrap		Bamboo-traps
	Eggs (%)	Immatures (%)	Immatures (%)	Eggs (%)	Immatures (%)	Immatures (%)
August, 2018	0 (0.0)	110 (7.1)	8 (1.3)	41 (2.7)	0 (0.0)	39 (8.3)
September, 2018	29 (1.9)	82 (5.3)	26 (4.4)	50 (3.3)	1 (0.3)	5 (1.1)
October, 2018	54 (3.5)	23 (1.5)	20 (3.4)	125 (8.3)	33 (9.0)	24 (5.1)
November, 2018	619 (39.9)	553 (35.5)	142 (23.8)	255 (16.8)	3 (0.8)	54 (11.4)
December, 2018	235 (15.1)	44 (2.8)	44 (7.4)	318 (21.0)	1 (0.3)	76 (16.1)
January, 2019	212 (13.7)	109 (7.0)	36 (6.0)	194 (12.8)	34 (9.2)	75 (15.9)
February, 2019	143 (9.2)	68 (4.4)	7 (1.2)	113 (7.5)	38 (10.3)	11 (2.3)
March, 2019	151 (9.7)	178 (11.4)	245 (41.0)	197 (13.0)	172 (46.7)	79 (16.7)
April, 2019	92 (5.9)	168 (10.8)	42 (7.0)	118 (7.8)	52 (14.1)	28 (5.9)
May, 2019	6 (0.4)	84 (5.4)	21 (3.5)	59 (3.9)	25 (6.8)	70 (14.8)
June, 2019	4 (0.3)	73 (4.7)	3 (0.5)	34 (2.2)	9 (2.4)	3 (0.6)
July, 2019	8 (0.5)	66 (4.2)	3 (0.5)	11 (0.7)	0 (0.0)	8 (1.7)
Total	1553 (100)	1558 (100)	597 (100)	1515 (100)	368 (100)	472 (100)

Materials and Methods

The collection of eggs, larvae, and pupae was performed every 2 weeks for 12 months from August 2018 to July 2019 in the city of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro, in an area near the Tinguá Biological Reserve (REBIO) in the districts of Adrianópolis and Rio D'ouro (22°39'00.9" S 43°31'19.4" W) located 63 km northwest of the city of Rio de Janeiro, Brazil. The study site is located in the geomorphological unit of Serra dos Órgãos, Serra do Mar system, with vegetation cover typical of dense montane and submontane rainforest (Garai and Rizzini 2003). The climate is humid and tropical, without a defined dry season.

The average monthly temperature at the study site varies between 17.3°C and 25.8°C, and relative humidity ranges between 83% and 85%. Sampling points with different vegetation covers were selected and assigned a letter from A to F. Their characteristics are as follows. Point A: dense rainforest on a hillside with a slight slope and close to a bamboo grove. Point B: borders a stream with a nearby building and dense rainforest on the other side. Point C: close to an old, inactive road and recent

secondary forest. Point D: in a dense forest near the access road. Point E: stretch with a stream and dense forest with tall trees. Point F: location with the densest forest, which appears to have a higher density of native species than the other points.

The collections were carried out with bamboo traps and ovitraps. Bamboo traps are composed of a giant bamboo internode ~30 cm in height and 9 cm in diameter. The bamboo section is cut so as to allow the accumulation of up to 350 mL of water, enabling the oviposition of several mosquito species. In these traps, only mosquito larvae and pupae are captured since the narrow space between the bamboo walls makes it impossible to collect and count the eggs deposited there without damaging the trap.

For egg collection, we used ovitraps consisting of a 400 mL black container without a lid, resembling a plant vase, and containing two wooden oviposition paddles (3.0 × 12.5 cm) held upright in the trap by a clip. We added natural water and litter to each ovitrap to recreate a natural microecosystem. The ovitraps were then installed at ground level and at a high

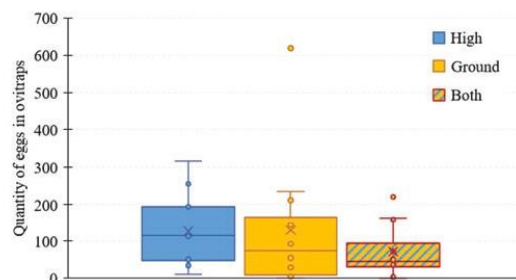


FIG. 2. Distribution of eggs collected by position of the traps in the high stratum (individually), ground stratum (individually), and in both strata installed (but only the positive ground) from August 2018 to July 2019, considering all points in the Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

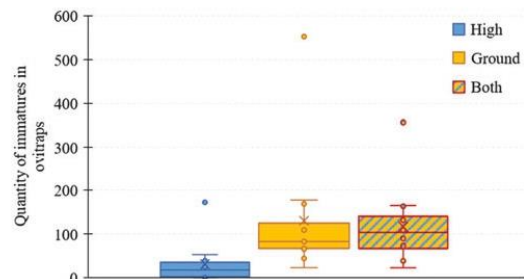


FIG. 3. Distribution of immatures (larvae and pupae) collected in the water of the ovitraps in the positions of the high stratum (individually) and ground stratum (individually) and in both strata installed (but with only the positive ground) from August 2018 to July 2019, considering all points in the Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

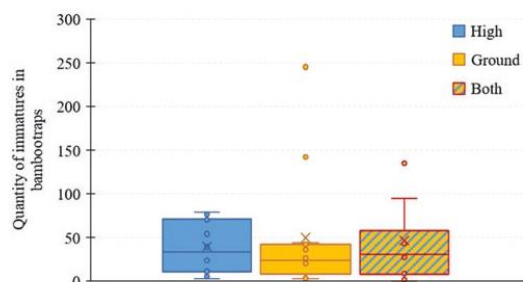


FIG. 4. Distribution of immatures collected in ovitrap in the positions of the high stratum (individually) and ground stratum (individually) and both strata, from August 2018 to July 2019, considering all points at Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

stratum, which was defined as the beginning of the crown of the selected trees. The height of these traps varied between 4.20 and 6.00 meters. At each point, two reference trees were chosen for installing the traps (duplicate). The positions of the traps in the strata were changed every 15 days such that only high-stratum traps were present at two sites and only ground-level traps at two other sites, and both ground-level and high-stratum traps at the remaining two sites. In total, 24 ovitrap and 24 bamboo traps were present across the 6 sampling points.

The 15-day rotation of trap position was done to evaluate possible trends in oviposition throughout the sampling period (Fig. 1).

Temperature and relative humidity were measured in real-time using a Model RHT 10—EXTECH microclimate sensor. A regional measure of precipitation levels was obtained from the database of Brazil's National Institute of Meteorology (INMET).

After being collected, the ovitrap were packed in a polyethylene box and sent to the Interdisciplinary Laboratory for Entomological Surveillance in Diptera and Hemiptera (LIVEDIH) of the Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro. Positive wooden oviposition paddles (containing eggs) were separated, after which the eggs were counted and immersed in transparent trays containing dechlorinated water. The eggs were then placed in a controlled experimental environment, consisting of a controlled environment growth cabinet with a thermoperiod and photoperiod regulated at a

temperature of $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, relative humidity of 75% to 90%, and a photoperiod of 12h. The specimens were kept alive to allow them to reach the adult stage for species identification, following the methodology described by Alencar et al. (2016a).

The larvae and pupae found immersed in the water of the bamboo traps were collected with a pipette and transferred into 250 mL plastic bags (Whirl-Pak bags; BioQuip). The larvae were fed TetraMin brand fish food. Juveniles were monitored daily until they reached the adult stage.

Species identification was performed using dichotomous keys produced by Arnell (1973), Forattini (2002), and Marcondes and Alencar (2010), as well as by consulting the respective species descriptions and diagnoses. Following species identification, all specimens were incorporated into the Entomological Collection of the Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz. Abbreviations of generic and subgeneric names follow Reinert (2009). All research was performed in accordance with scientific license number 34911-2 provided by the Ministry of Environment (MMA), Chico Mendes Institute of Biodiversity Conservation (ICMBio), Biodiversity Information and Authorization System (SISBIO). Mosquitoes were collected with the consent and cooperation of property owners, householders, and local authorities. All members of the collection team were vaccinated against YFV and aware of the potential risks in the areas under study.

Data analysis

The Shapiro–Wilk test was used to analyze the normality of the data; all of the data were non-normally distributed. The Kruskal–Wallis test was used to compare oviposition between strata, while the Spearman's correlation test was used to compare counts of eggs and juveniles (larvae and pupae) across different types of traps and in relationship to temperature and precipitation. The Shannon–Weaver index (H') and the Pielou index (J') were used to compare the diversity and evenness of the species found. For all significance tests, a threshold of $p < 0.05$ was applied.

Results

During the sampling period, 3929 eggs and 4953 larvae and pupae were collected across all sites and both trap types. When traps were set at both elevations, those in the upper

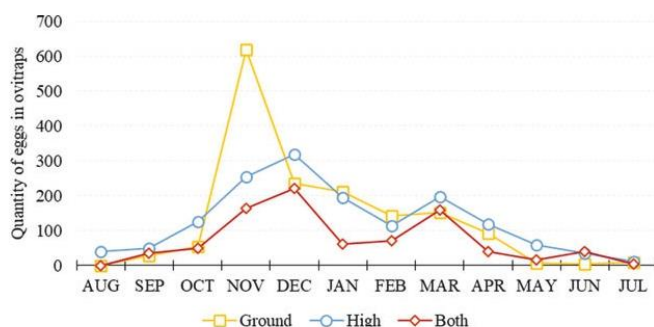


FIG. 5. Number of eggs collected per month in each stratum, high and ground (individually) and in both (simultaneously) from August 2018 to July 2019, in Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

FIG. 6. Number of immatures collected in ovitrap and bamboo-trap per month in each stratum: high and ground (individually) and in both (simultaneously) from August 2018 to July 2019, in Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

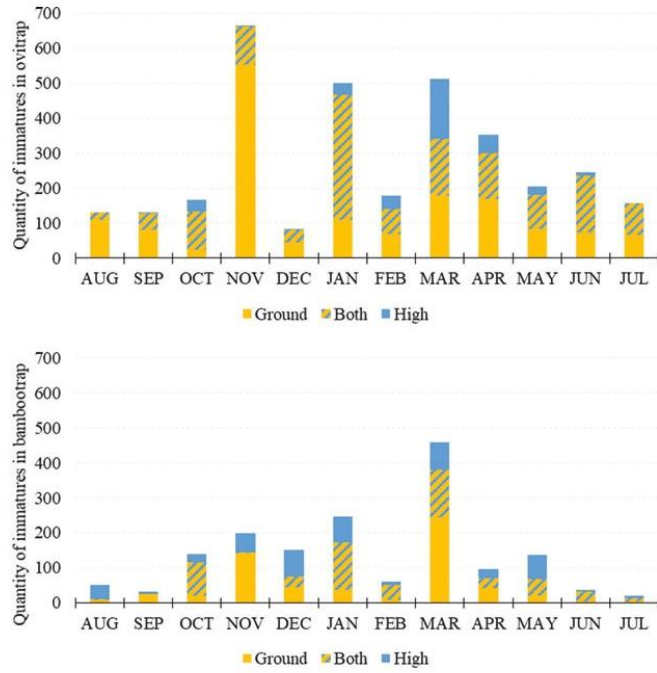
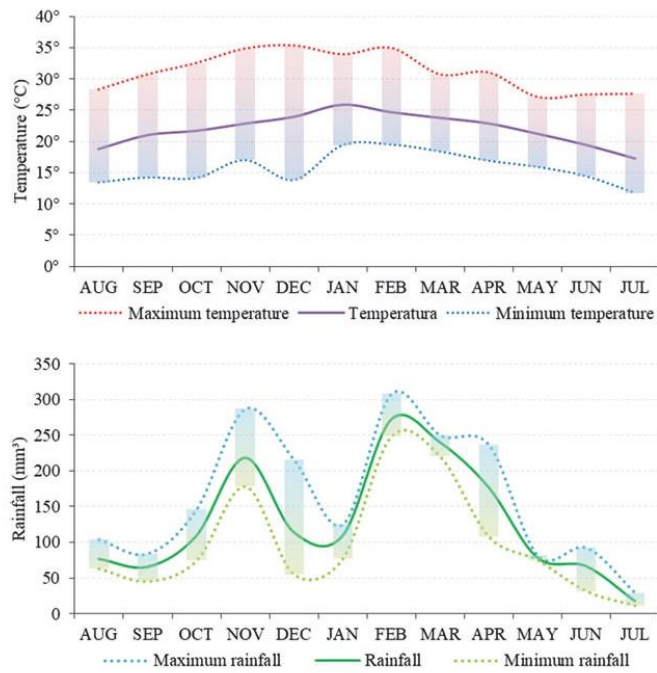


FIG. 7. Variation in temperature and precipitation from August 2018 to July 2019, in the region of the Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.



stratum were consistently free of any oviposition (Table 1), although oviposition was observed when high-stratum traps were used on their own (Table 2).

Overall, 1115 (38.6%) eggs were found in sampling points with only high-stratum traps present, 1553 (39.5%) when only ground-level traps were present, and 861 (21.9%) when ovitraps were located at both elevations (Fig. 2). No significant difference ($p=0.3810$) was found between the distribution of eggs across strata.

Of the 3327 larvae and pupae collected in the water of the ovitraps, 368 (11.1%) were found at sampling points with only high-stratum traps, 1558 (46.8%) with only ground-level traps, and 1401 (42.1%) when both traps were installed. The difference between high-stratum only sites and the remaining sites was significant ($p=0.0012$; Fig. 3).

In the bamboo traps, 475 (29.0%) juveniles were found in sites with only high-stratum traps, 597 (36.7%) in sites with only ground-level traps, and 557 (34.3%) in sites with both types, for a total of 1626 juveniles recorded over the entire period (Fig. 4). No significant difference ($p=0.9003$) was found between the different sites. There was a noticeable peak in the abundance of eggs in November (1037 eggs) and December (774 eggs), which together accounted for 46.1% of all eggs collected (Fig. 5).

More specimens (larvae and pupae) were found in ground-level traps than in high-stratum traps. Peaks were observed in November, January, and March in ovitraps and in March in bamboo traps (Fig. 6).

The temperature during the collection period was typical for the region, with high temperatures during the southern hemisphere summer months of December, January, and February and the lowest in winter months of June, July, and August. Precipitation was lowest in December and January (114.4 and 109.1 mm, respectively) and highest in November (218 mm) and February (239 mm) (Fig. 7).

There was a significant correlation between temperature and precipitation and the number of eggs collected in the ovitrap (Table 3). Meanwhile, the total number of juveniles was higher in ovitraps than in bamboo traps and was more diverse in the rainy season ($H'=1.915$ and $J'=0.747$) than in the dry season ($H'=1.619$ and $J'=0.703$; Fig. 8).

The presence of several species in the traps installed is noteworthy, with the most abundant species being *Limatus durhamii* (44.4% of all specimens), *Aedes albopictus* (16.0%), *Limatus flavisetosus* (14.0%), and *Hg. leucocelaenus* (8.7%). Although overall abundance was higher in ovitraps, diversity was higher in bamboo traps, both in the high strata ($H'=2.067$, vs. 1.448 in ovitraps) and at ground level ($H'=2.055$, vs. 1.251). The evenness was also higher in the bamboo traps in the high and ground strata ($J'=0.862$ and $J'=0.801$) relative to ovitraps ($J'=0.744$ and $J'=0.503$; Table 4).

Discussion

Our results are consistent with other experiments that take the same approach, where the traps located in the high stratum were positive for *Hg. leucocelaenus*, *Haemagogus janthinomys*, *Aedes terrens*, and *Ae. albopictus* (Alencar et al. 2013, 2016b). However, these studies involved traps that were fixed for long periods at the sample points without rotating the position of the traps.

TABLE 3. SPEARMAN'S CORRELATION TEST RESULTS ON (A) THE NUMBER OF EGGS COLLECTED IN THE STRATUM OVITRAPS, (B) IMMATURES (LARVAE AND PUPAE) COLLECTED IN THE STRATUM OVITRAPS, AND (C) IMMATURES (LARVAE AND PUPAE) COLLECTED IN BAMBOO-TRAPS BY STRATUM, IN RELATIONSHIP TO TEMPERATURE AND RAINFALL

A: Eggs				
Strata	Temperature		Rainfall	
	p	r	P	r
High	0.005*	0.770	0.007*	0.746
Ground	0.002*	0.816	0.011*	0.715
Both	0.002*	0.802	0.003*	0.788
Total	0.001*	0.848	0.002*	0.809
B: Immatures (ovitraps)				
Strata	Temperature		Rainfall	
	p	r	p	r
High	0.022*	0.661	0.013*	0.703
Ground	0.543	0.194	0.289	0.333
Both	0.371	0.283	0.568	0.182
Total	0.216	0.385	0.100	0.501
C: Immatures (bamboo-traps)				
Strata	Temperature		Rainfall	
	p	r	p	r
High	0.057	0.569	0.080	0.529
Ground	0.042*	0.602	0.052	0.579
Both	0.073	0.541	0.215	0.385
Total	0.010*	0.724	0.014*	0.697

*Significant results in the Spearman correlation test ($p<0.05$).

Tátilla-Ferreira et al. (2017) suggested that the availability of food and breeding sites are one of the main factors that affect mosquito abundance in different strata, noting that there were no significant differences in the number of eggs between oviposition per stratum. It should be noted, however, that the traps were set out continuously for 12 months.

The permanence of traps results in a kind of "memory" forming among some species of mosquitoes, which tend to

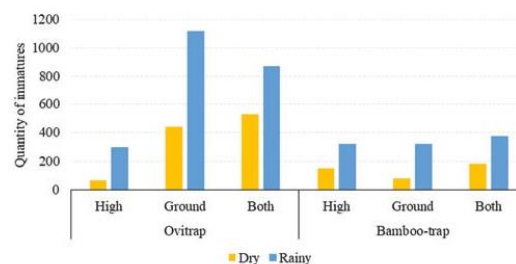


FIG. 8. Comparison of immatures collected by type of trap in each stratum and by climatic period from August 2018 to July 2019, at the Rio D'ouro—Nova Iguaçu, Rio de Janeiro. Color images are available online.

TABLE 4. SPECIES CAUGHT BY TRAP IN EACH STRATUM THROUGHOUT THE SAMPLING PERIOD (AUGUST 2018 TO JULY 2019) IN THE RIO D'OURO—NOVA IGUAÇU, RIO DE JANEIRO

Species	Ovitrap		Bamboo-traps	
	High (%)	Ground (%)	High (%)	Ground (%)
<i>Aedes (Stg.) albopictus</i> (Skuse, 1894)	37 (27.4)	61 (10.1)	25 (15.5)	54 (26.9)
<i>Aedes (How.) fulvithorax</i> (Lutz, 1904)	0 (0.0)	1 (0.2)	12 (7.5)	5 (2.5)
<i>Aedes (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Aedes (Pro.) terrens</i> (Walker, 1856)	0 (0.0)	3 (0.5)	0 (0.0)	12 (6.0)
<i>Haemagogus (Hag.) janthinomys</i> (Dyar, 1921)	0 (0.0)	1 (0.2)	1 (0.6)	6 (3.0)
<i>Haemagogus (Con.) leucocelaenus</i> (Dyar and Shannon, 1924)	6 (4.4)	12 (2.0)	35 (21.7)	43 (21.4)
<i>Limatus durhamii</i> (Theobald, 1901)	53 (39.3)	375 (61.9)	18 (11.2)	44 (21.9)
<i>Limatus flavisetosus</i> (Oliveira Castro, 1935)	27 (20.0)	108 (17.8)	5 (3.1)	15 (7.5)
<i>Wyeomyia (Pho.) fuscipes</i> (Edwards, 1922)	0 (0.0)	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Sabethes (Sbo.) chloropterus</i> (Humboldt, 1819)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)	1 (0.5)
<i>Sabethes (Sab.) albiprivus</i> (Theobald, 1903)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)
<i>Toxorhynchites (Ank.) hexacis</i> (Martini, 1931)	0 (0.0)	2 (0.3)	0 (0.0)	2 (1.0)
<i>Culex</i> spp.	10 (7.4)	13 (2.1)	19 (11.8)	23 (11.4)
<i>Psorophora</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)	0 (0.0)
<i>Wyeomyia</i> spp.	1 (0.7)	13 (2.1)	12 (7.5)	37 (18.4)
Others	0 (0.0)	16 (2.6)	30 (18.6)	1 (0.5)
Total	135 (100)	606 (100)	161 (100)	201 (100)
Shannon-Weaver index (H')	1.448	1.251	2.067	2.055
Pielou index (J')	0.744	0.503	0.862	0.801

seek the same places to carry out oviposition. This characteristic was observed by Abreu et al. (2015) with females of *Aedes aegypti*, although it has a skip oviposition habit. Even when other breeding sites were available, these mosquitoes deposited part of their eggs in a favored breeding place.

Breeding quality and the potential longevity of a water source are both aspects that mosquitoes consider when laying their eggs. Habitat availability is extremely important for determining an oviposition site and, consequently, the successful development of immature forms (Bentley and Day 1989, Day 2016). The supply of breeding sites thus influences the species' reproduction capacity and abundance. Changes in the landscape may therefore favor some species to the detriment of others (Montagner 2014).

Alencar et al. (2013) reported that species richness and diversity were higher in traps located at ground level and decreased with the height of the traps. Females of *Haemagogus janthinomys* were observed performing the blood repeat at ground level, meaning that they would come into contact with individuals entering the forest environment, as reported by Alencar et al. (2005).

Aedes albopictus, *Li. durhamii*, and *Hg. leucocelaenus* were the most frequent species found in the bamboo trap. Interestingly, the number of specimens of *Hg. leucocelaenus* was similar across both strata. According to the literature, acrodendrophilia is only part of the behavior of *Hg. leucocelaenus* since the species is constantly found at ground level (Gomes et al. 2010).

In ovitraps, there was an almost constant presence of *Li. durhamii* and *Li. flavisetosus*, although these species generally deposit their eggs directly in the water (Lopes et al. 1983, Lopes 1997). As reported by Honório et al. (2006), *Limatus* species have been found in large numbers in artificial containers cohabiting with species of other genera such as *Aedes*.

The vertical distribution within each group of species will depend on the site's vegetation cover, with diversity tending to be greater in denser forests with tall trees (Lira-Vieira et al.

2013). In a survey in the Amazon forest with different types of traps, Almeida et al. (2020) found that ovitraps installed at 1 meter from the ground had higher levels of diversity than bamboo traps. This stands in contrast to the results of this study, where greater diversity was observed in traps with more natural characteristics (bamboo traps) than in artificial ones (ovitraps). We also found that diversity was greater in traps in the high stratum, consistent with observations by Rezende et al. (2011) in a forest environment.

In the present study, there was a strong influence of abiotic factors on oviposition in the ovitraps and the number of larvae and pupae collected from the bamboo traps. The number of specimens collected in the ovitraps followed an upward trend with increased temperature and precipitation. Gomes et al. (2010) and Couto-Lima et al. (2020) also reported an increase in the occurrence of *Hg. leucocelaenus* in warm and rainy periods, as observed by Tátala-Ferreira et al. (2017) for the same species. The availability of breeding sites is considered one of the most important factors for species distribution.

A study conducted in a semiarid region of northeastern Brazil by Silva-Inácio et al. (2020) confirms the correlation between rainy periods and higher mosquito populations. Although a preserved Caatinga environment has distinct characteristics from an Atlantic Forest biome, species that coexist were found, for example, *Hg. leucocelaenus*, *Ae. albopictus*, *Aedes fulvithorax*, *Ae. terrens*, and *Aedes scapularis* (Martes et al. 2017, Silva-Inácio et al. 2020).

The definition of the dry and rainy periods was based on studies by Brito et al. (2016) in the state of Rio de Janeiro, which indicate that the predominantly rainy months fall between November and April, although the rainy season is interspersed with dry spells called *veranicos* ("little summers"; *sensu* Brito et al. 2016), which we observed during December and January. An extended period of rainy days can impair the search for breeding sites, as well as egg laying, and consequently, reduce the number of juveniles found over a short

period (Chaves and Kitron 2011). On the contrary, deposited eggs have a higher probability of hatching during the rainy season due to submersion and the appearance of new breeding sites, causing a consequent peak of yellow fever cases (Costa et al. 2011).

Conclusion

The results obtained with this new methodology suggest that the search for mosquito breeding sites starts at the ground level, and the occupation of new breeding sites at higher levels may occur due to the absence or impermanence of breeding sites at ground level. Exploring the dynamics behind the distribution of the insect vectors of yellow fever is of paramount importance for predicting transmission and identifying possible risk areas.

Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

Funding Information

This work was supported by the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ; grant number E-26/202.658/2018; E-26/010.101076/2018), and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (301707/2017-0).

References

- Abreu FVS, Moraes MM, Ribeiro SP, Eiras AE. Influence of breeding site availability on the oviposition behaviour of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015; 110:669–676.
- Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A, Santos AAC, et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. *Emerg Microb Infect* 2019; 8:218–231.
- Afrane, YA, Little, TJ, Lawson, BW, Githeko, AK, et al. Deforestation and vectorial capacity of *Anopheles gambiae* Giles mosquitoes in malaria transmission, Kenya. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:1533–1538.
- Alencar J, Lorosa ES, Dégallier N, Serra-Pierre NM, et al. Feeding patterns of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. *J Med Entomol* 2005; 42:981–985.
- Alencar J, Mello CF, Barbosa LS, Gil-Santana HR, et al. Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016a; 49:351–356.
- Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AE, et al. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol* 2016b; 41:18–26.
- Alencar J, Morone F, De Mello CF, Dégallier N, et al. Flight height preference for oviposition of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors of sylvatic yellow fever virus near the hydroelectric reservoir of Simplicio, Minas Gerais, Brazil. *J Med Entomol* 2013; 50:791–795.
- Almeida JF, Belchior HCM, Ríos-Velásquez CM, Pessoa FAC. Diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in different type of larvitrap in an Amazon rural settlement. *PLoS One* 2020; 15:e0235726.
- Altamiranda-Saavedra M, Porcasi X, Scavuzzo CM, Correa MM. Downscaling incidence risk mapping for a Colombian malaria endemic region. *Trop Med Int Health* 2018; 23:1101–1109.
- Araújo FAA, Ramos DG, Santos AL, Passos PHO, et al. Epizootics in nonhuman primates during reemergence of the yellow fever virus in Brazil, 2007 and 2009. (In Portuguese). *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2011; 20:527–536.
- Arnell JH. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contrib Amer Ent Inst* 1973; 10:1–174.
- Barnett ED. Yellow fever: Epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis* 2007; 44:850–856.
- Barrett ADT, Higgs S. Yellow fever: A disease that has yet to be conquered. *Ann Rev Entomol* 2007; 52:209–229.
- Bentley MD, Day JF. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annu Rev Entomol* 1989; 34:401–421.
- Brito LBM, Santos JA, Gomes ALP, Marcos AJF. Yellow fever: a literature review. (In Portuguese). *Brazil J Surg Clin Res* 2014; 8:61–65.
- Brito TT, Oliveira-Júnior JF, Lyra GB, Gois G, et al. Multivariate analysis applied to monthly rainfall in the state of Rio de Janeiro, Brazil. (In Portuguese). *Meteorol Atmos Phys* 2016; 129:469–478.
- Camargo-Neves VL, Poletto DW, Rodas LA, Pachioli L, et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in Sao Paulo State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1278–1286.
- Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil, 2000–2012. *Epidemiol Serv Saúde* 2016; 25:11–20.
- Chaves LF, Kitron UD. Weather variability impacts on oviposition dynamics of the southern house mosquito at intermediate time scales. *Bull Entomol Res* 2011; 101:633–641.
- Costa ZGA, Elkhoury ANM, Romano APM, Flannery B. Historical evolution of epidemiology surveillance and control of yellow fever in Brazil. (In Portuguese). *Rev Pan-Amaz Saude* 2011;2:11–26.
- Couto-Lima D, Andreazzi CS, Leite PJ, Bersot MIL, et al. Seasonal population dynamics of the primary yellow fever vector *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon) (Diptera: Culicidae) is mainly influenced by temperature in the Atlantic Forest, southeast Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2020; 115:e200218.
- Day JF. Mosquito oviposition behavior and vector control. *Insects* 2016; 7:65.
- Forattini OP. Medical research on mosquitoes: identification, biology and epidemiology. (In Portuguese). São Paulo: Editora da USP, 2002.
- Garai I, Rizzini CM. Tablelands of the Atlantic Forest: functional diversity of tree covers. (In Portuguese). *Voices*, 2003.
- Gomes AC, Torres MAN, Paula MB, Fernandes A, et al. Ecology of *Haemagogus* and *Sabethes* (Diptera: Culicidae) in regions with yellow fever epizootic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. (In Portuguese). *Epidemiol Serv Saúde* 2010; 19:101–113.
- Honório NA, Cabello PH, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Preliminary data on the performance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* immatures developing in water-filled tires in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101:225–228.
- Lira-Vieira AR, Gurgel-Gonçalves R, Moreira IM, Yoshizawa MAC, et al. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the gallery forest of Brasília National Park,

- Brazil, with an emphasis on potential vectors of yellow fever. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013; 46:566–574.
- Lopes J. Mosquito (Diptera: Culicidae) ecology of natural and artificial breeding sites in a rural area in northern Paraná, Brazil. V. Collection of larvae in artificial vessels installed in a ciliary forest. (In Portuguese). *Rev Saúde Pública* 1997; 31: 370–377.
- Lopes J, Arias JR, Yood JDC. Preliminary evidence of vertical stratification of egg laying by some Culicidae (Diptera), in a forest in the city of Manaus state of Amazonas. (In Portuguese). *Acta Amazônica* 1983; 13:431–439.
- Marcondes CB. Medical and veterinary entomology. (In Portuguese). São Paulo: Atheneu, 2011.
- Marcondes CB, Alencar J. A review of *Haemagogus* Williston mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Brazil. (In Portuguese). *Rev Biomed* 2010; 21:221–238.
- Marteis LS, Natal D, Sallum MAM, Medeiros-Sousa AR, et al. Mosquitoes of the Caatinga: 1. Adults stage survey and the emerge of seven news species endemic of a dry tropical forest in Brazil. *Acta Tropica* 2017; 166:193–201.
- Molyneux DH. Common themes in changing vector-borne disease scenarios. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97:129–132.
- Montagner FR. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from artificial breeding sites in eight green areas of the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Master's thesis. Graduate program in Animal Biology at the University Federal of Rio Grande do Sul. (In Portuguese). 2014. Available at <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/117915/000965968.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Muñoz M, Navarro JC. Mayaro Virus: A re-emerging arbovirus in Venezuela and Latin America. (In Portuguese). *Biomédica* 2012; 32:286–302.
- Naranjo-Díaz N, Altamiranda-Saavedra M, Correa MM. Anopheles species composition and entomological parameters in malaria endemic localities of North West Colombia. *Acta Tropica* 2019; 190:13–21.
- Reinert JF. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *Eur Mosq Bull* 2009; 27:68–76.
- Rezende HR, Virgens TM, Liberato MA, Valente FI, et al. Ecological aspects of immature culicids collected from larvitrap in a forest and its surrounding anthropic environment in the city of Linhares, state of Espírito Santo, Brazil. (In Portuguese). *Epidemiol. Serv. Saúde* 2011; 20: 385–391.
- Silva-Inacio CL, Paiva AAP, Araújo JMG, Ximenes MFFM. Ecological relationships of *Haemagogus spegazzinii* (Diptera: Culicidae) in a semiarid area of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020; 53:e20200502.
- Tátilla-Ferreira A, Maia DA, Abreu FVS, Rodrigues WC, et al. Oviposition behavior of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), a vector of wild yellow fever in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2017; 59:e60.
- Vasconcelos PFC. Yellow fever. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:275–293.
- Vasconcelos PFC. Yellow fever: Reflections on the disease, the perspectives for the XXI century, and the risk of re-urbanization. *Rev Bras Epidemiol* 2002; 5:244–258.
- WHO. Yellow Fever, Population at risk. 2021. Available at www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever
- Yasuoka J, Levins R. Impact of deforestation and agricultural development on anopheline ecology and malaria epidemiology. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76:450–460.
- Zavortink TJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXVIII. The New World Species formerly placed in *Aedes* (*Finlaya*). *Contrib Amer Ent Inst* 1972; 8:1–206.

Address correspondence to:

Jeronimo Alencar
Diptera Laboratory
Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ)
Av. Brazil 4365, Manguinhos
Rio de Janeiro 21040-360
Brazil

E-mail: jalencar@ioc.fiocruz.br

ANEXO II

Journal of the American Mosquito Control Association, 36(2):112–114, 2020
Copyright © 2020 by The American Mosquito Control Association, Inc.

SCIENTIFIC NOTE

Aedes aegypti INVADES TRINDADE ISLAND, 1,140 KM FROM THE BRAZILIAN COAST, IN THE SOUTH ATLANTIC

ALEXANDRE A. OLIVEIRA,¹ HÉLCIO R. GIL-SANTANA,² RUY J. VÁLKA ALVES³ AND JERONIMO ALENCAR^{2,4}

ABSTRACT. Herein we report the first recorded arrival of *Aedes aegypti* on Trindade Island, approximately 1,140 km from the Brazilian coast, posing potential health risks to the human inhabitants thereof. The collection of mosquitoes was done from August to October 2019 via an active search for adults, eggs, and larvae by surveying objects with accumulated water and implantation of 23 ovitraps in different regions of the island. As a result, we collected 33 adults of *Ae. aegypti* via active search inside buildings. A total of 433 eggs of *Ae. aegypti* were also obtained from the ovitraps, all of which subsequently reached the adult stage. No other species of Culicidae was found.

KEY WORDS *Aedes aegypti*, geographic distribution, island, ovitraps

Aedes aegypti (Linnaeus) is a mosquito posing a major impact on public health in Brazil. In this country, *Ae. aegypti* has been the unique proven vector of Dengue virus for more than 30 years and of the recently introduced emerging arboviruses in the New World, namely, Zika virus and Chikungunya virus. All the respective diseases (Dengue, Zika, and Chikungunya fevers) have become a global health concern (Patterson et al. 2016, Carvalho and Moreira 2017, Donalisio et al. 2017). It is believed that *Ae. aegypti* was introduced to the New World more than 4 centuries ago from its ancestral habitat in West Africa, within ships via the European slave trade (Powell et al. 2018). Whether *Ae. aegypti* should really be considered “the most dangerous animal in the world” (Powell 2016) is debatable, but it certainly has been a cause of immense human suffering over the centuries (Powell 2018).

Aedes aegypti is distributed in several regions of the world including the South American continent (e.g., Kotsakiosi et al. 2017, Powell et al. 2018). Recently, several island invasions by *Ae. aegypti* have been reported worldwide, with the associated risk of transmission of arboviruses, or in some cases, unfortunately, triggering outbreaks of diseases transmitted by this mosquito (e.g., Mavian et al. 2018,

Ryan et al. 2019, Salgueiro et al. 2019, Seixas et al. 2019).

Trindade is an oceanic island in the South Atlantic Ocean, lying approximately 1,140 and 4,270 km from the Brazilian and African coasts, respectively, between the geographical coordinates 20°29' to 20°31.7'S and 29°17.7' to 29°20.7'W (Alves et al. 2011, SECIRM 2017) (Fig. 1). The island has an oceanographic station manned by military staff of the Brazilian Navy, and a recently built research station designed to accommodate up to eight scientists. Navy ships transfer personnel and supplies to the island at roughly 60-day intervals. The trips from Rio de Janeiro to the island used to take a minimum of 4 days depending on the vessel, but with a partial renewal of the fleet with new vessels, it is possible to reach the island from the continent in only 3 days.

Despite the island's 5 centuries long and complex occupation history, apart from a single unconfirmed occurrence of an undetermined culicid mosquito species, annotated by the late Prof. Johann Becker (Alves 1998:137), there had never been reports of its human occupants being bitten by mosquitoes. However, in November 2018, the presence of mosquitoes and their blood-sucking activities on people were noticed by the military personnel, which alerted them to seek the identification of species. This was also called for because of the endemic nature of arboviruses, which are currently occurring in several states of Brazil (Donalisio et al. 2017).

After the third author (RJVA) contacted the second author (HRG-S), an intensive effort of mosquito collection on Trindade Island was performed from August 12, 2019, to October 11, 2019. The collection methods included 1) active search for adults in and around places of constant human presence; 2) egg and larval survey in objects with accumulated water, such as abandoned tires and other kinds of neglected receptacles; and 3) monitoring performed using oviposition traps. Each trap consist-

¹ Laboratório Interdisciplinar em Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21040-360, Rio de Janeiro, Brazil.

² Laboratório de Díptera, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21040-360, Rio de Janeiro, Brazil.

³ Laboratório de Florística e Biogeografia Insular e Montana, Departamento de Botânica, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista s. no., São Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁴ To whom correspondence should be addressed.

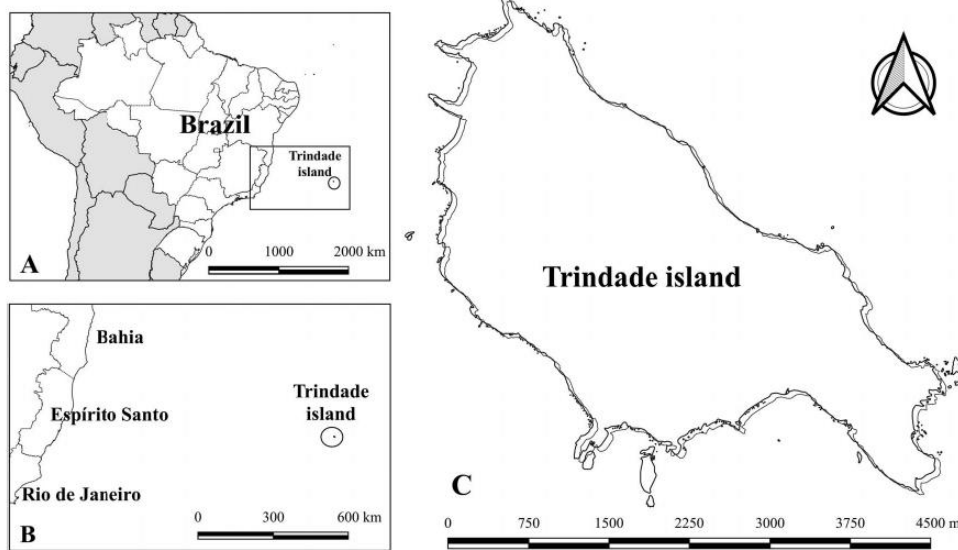


Fig. 1. Trindade Island. (A) Position of Trindade Island in relation to Brazil indicated by a circle in the South Atlantic Ocean; (B) Closer view of the area in the rectangle from panel A shows the neighboring coasts of the Brazilian states of Bahia, Espírito Santo, and Rio de Janeiro; (C) Trindade Island outline.

ed of a 400-ml-capacity black pot without a lid and 4 plywood pallets (Eucatex® plates, Eucatex S/A, São Paulo, Brazil), measuring 2.5 × 14 cm, fixed vertically inside the trap with paper clips (Alencar et al. 2016). Natural water and water with hay infusion were added to the trap to generate an ecosystem similar to the natural one. Twenty-three ovitraps were installed in different places on the island. The ovitraps were examined and changed every 4 days from August 17 to October 4, 2019 (48 days).

As a result, 33 adults of *Ae. aegypti* were collected via active search inside buildings. A total of 433 eggs were obtained in the ovitraps, and the relative

number in relation to each respective 4-day period is represented in Fig. 2. The eggs were reared, and all of them resulted in adult *Ae. aegypti*. No other species of Culicidae was found. Species determination was performed with direct observation of morphological characters using a stereomicroscope (Zeiss Stemi SV6, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Munich, Germany) and consulting the pertinent literature, e.g., Forattini (2002). All identified specimens were incorporated into the Entomological Collection of the Oswaldo Cruz Institute (Fiocruz).

Although it may seem a low number of specimens, 2 factors may influence the results obtained. First, before the study performed by our team in the island, the military personnel had already begun some measures to combat the mosquitoes and, second, this study was conducted in the cooler months of the year, a period when the species is naturally less abundant. Yet the proven presence of *Ae. aegypti* on Trindade Island poses a great danger to the military personnel, taking into account the role of this species as a vector of potentially dangerous arboviruses, currently endemic on the South American continent.

Therefore, as a conclusion of the work, a list of suggestive measures for the eradication and prevention of future infestations by *Ae. aegypti* in the station was presented to the military personnel. On the one hand, as far as we can tell, *Ae. aegypti* must have reached the island carried via military ships, similar to how this species is believed to have reached the New World centuries ago (Powell et al. 2018). On the

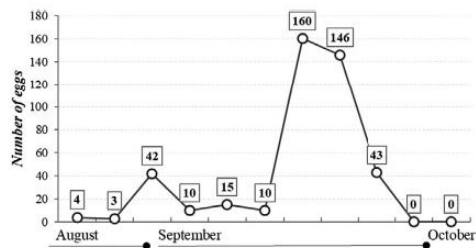


Fig. 2. The number of eggs (in squares) collected by month from August 17 to October 4, 2019. The 4-day period between which the ovitraps were examined and changed corresponds to the interval between each trace on the horizontal line.

other hand, it is noteworthy that with a partial renewal of the fleet, the ships currently arrive in about 3 days from the continent, which may have made it easier for the mosquito to survive the voyage and colonize the island.

The authors thank the collaboration provided by the Brazilian Navy Command, Colonel (RM1-T) José Marques Gomes Barbosa and Petty Officer (RM1-FN-IF) Ruy Barreto dos Santos, who provided logistic support to this work, and naval officers Major (T) Antonio Sival Torres Guerreiro and Captain (AFN) Alexsandes de Azevedo Marques, who made it possible to carry out this work at the Trindade oceanographic station with their full support and without any restrictions on the fieldwork.

REFERENCES CITED

- Alencar J, Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AÉ, Almeida SA, Gleiser RM. 2016. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol* 41:18–26.
- Alves RJV. 1998. *Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz—Um Ensaio Geobotânico*. Niterói, Brazil: Serviço de Documentação, Marinha do Brasil (Documentation Service, Brazilian Navy).
- Alves RJV, Silva NG, Aguirre-Muñoz A. 2011. Return of endemic plant populations on Trindade Island, Brazil, with comments on the fauna. In: Veitch CR, Clout MM, Towns DR, eds. *Island invasives: eradication and management*. Gland, Switzerland: IUCN and Auckland, New Zealand: CBB. p 259–263.
- Carvalho FD, Moreira LA. 2017. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so successful as a species? *Neotrop Entomol* 46:243–255.
- Donalisio MR, Freitas ARR, Von Zuben APB. 2017. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. *Rev Saude Publica* 51:30.
- Forattini OP. 2002. *Culicidologia médica. Vol. 2. Identificação, biologia, epidemiologia*. São Paulo, Brazil: Editora da Universidade de São Paulo.
- Kotsakiozi P, Gloria-Soria A, Caccone A, Evans B, Schama R, Martins AJ, Powell JR. 2017. Tracking the return of *Aedes aegypti* to Brazil, the major vector of the dengue, chikungunya and Zika viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 11:e0005653.
- Mavian C, Dulcey M, Munoz O, Salemi M, Vittor AY, Capua I. 2018. Islands as hotspots for emerging mosquito-borne viruses: a one-health perspective. *Viruses* 11:11.
- Patterson J, Sammon M, Garg M. 2016. Dengue, Zika and Chikungunya: emerging arboviruses in the New World. *West J Emerg Med* 17:671–679.
- Powell JR. 2016. New contender for most lethal animal. *Nature* 540:525.
- Powell JR. 2018. Mosquito-borne human viral diseases: why *Aedes aegypti*? 2018. *Am J Trop Med Hyg* 98:1563–1565.
- Powell JR, Gloria-Soria A, Kotsakiozi P. 2018. Recent history of *Aedes aegypti*: vector genomics and epidemiology records. *BioScience* 68:854–860.
- Ryan SJ, Lippi CA, Nightingale R, Hamerlinck G, Borbor-Cordova MJ, Cruz BM, Ortega F, Leon R, Waggoner E, Stewart-Ibarra AM. 2019. Socio-ecological factors associated with Dengue risk and *Aedes aegypti* presence in the Galápagos Islands, Ecuador. *Int J Environ Res Public Health* 16:682.
- Salgueiro P, Serrano C, Gomes B, Alves J, Sousa CA, Abecasis A, Pinto J. 2019. Phylogeography and invasion history of *Aedes aegypti*, the Dengue and Zika mosquito vector in Cape Verde islands (West Africa). *Evol Appl* 12:1797–1811.
- SECIRM [Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar]. 2017. *Protrindade: programa de pesquisas científicas na Ilha da Trindade. 10 anos de pesquisas*. Brasília, Brazil: Marinha do Brasil (Brazilian Navy).
- Seixas G, Salgueiro P, Bronzato-Badial A, Gonçalves Y, Reyes-Lugo M, Gordicho V, Ribolla P, Viveiros B, Silva AC, Pinto J, Sousa CA. 2019. Origin and expansion of the mosquito *Aedes aegypti* in Madeira Island (Portugal). *Sci Rep* 9:2241.

ANEXO III



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Sugestões direcionadas ao Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade (POIT)

1. Organizar e armazenar adequadamente o material próximo aos botes na Calheta.
2. É necessária a construção de um abrigo ou cobertura (não há necessidade de paredes), no antigo heliporto, essa necessidade é altamente recomendada, pois constantemente o material fica armazenado no local a espera de embarque, exposto as chuvas e com muita possibilidade de reter água.
3. As caixas de transporte ou “marfinites” presentes no Paiol de Mergulho devem ser melhores reposicionadas de forma que em nenhum momento essas fiquem expostas a chuva.
4. Algumas latas de lixo ou latões devem ter o seu fundo perfurado para não reter água, aquelas que não puderem ser perfuradas, devem ser inspeccionadas semanalmente, e caso exista água em seu interior a mesma deve ser retirada.
5. Todos os pneus não utilizados da ilha devem estar em local protegido e não exposto ao tempo. Aqueles que por algum motivo não puderem ficar em local protegido, devem ter seu interior preenchido com areia, a fim de evitar que haja acúmulo de água. É aconselhado o furo para escoamento de água somente nos pneus acoplados aos botes.
6. Não é recomendado o uso de lonas impermeáveis para cobrir material ao relento. Esse tipo de material pode acumular água em suas dobras e bordas, caso seja necessário o uso deste material, suas bordas devem estar posicionadas de forma que não retenha água da chuva.
7. É recomendado o aumento na área de cobertura da “casinha de compostagem”, caso não seja possível esse aumento, é necessário reduzir a quantidade de material para que todo ele caiba sob a cobertura do local, evitando assim que fiquem expostos ao tempo.
8. É de grande importância o término da construção para abrigar os tonéis de combustível na parte de trás da oficina e dos geradores, o acúmulo de água sobre esses tonéis tem sido constante, possibilitando a postura de ovos por parte dos mosquitos.
9. Todas as calhas de chuva devem ser inspeccionadas e limpas semanalmente.
10. Alguns objetos devem ser descartados ou armazenados. Esses objetos são considerados lixos por estarem abandonados na vala a 50 metros à esquerda das oficinas, os que estão ao relento ao redor do Paiol do Mestre, e os que estão presentes na área que vai desde a “Cabrita Velha” até o Incinerador.



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ações complementares:

1. Os “marfinites” ou caixas de transporte vindos do continente devem ser completamente lavados assim que sua carga é retirada, e em seguida colocados para secar ao sol por um período de apenas um dia e somente depois armazenados em locais protegidos de chuva.
2. É recomendado o uso de repelentes nos próximos dois meses após a retirada das armadilhas ovitrampas e também inseticidas dentro das instalações. O uso de inseticida requer moderação (uma vez por semana) e cuidados com pessoas alérgicas e/ou sensíveis ao produto; no momento da aplicação o ambiente deve estar vazio (sem pessoas) e livre de circulação por 45 minutos após a aplicação do produto.
3. É importante destacar uma equipe de 2 ou 3 militares (uma) vez por semana para busca de criadouros, remoção e organização de material ao relento que possa acumular água; desde o heliporto novo (antes do campo de futebol) até o incinerador.
4. Cada pessoa (militares, pesquisadores ou qualquer outro visitante) presente no POIT tem a responsabilidade de evitar a proliferação do mosquito *Aedes aegypti*, mantendo a vigilância que deve ser constante e contínua.

Todas as informações coletadas e disponibilizadas nestas capturas geraram uma conclusão específica e ações que podem ser aplicadas em um cenário único: o do Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade (POIT).



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Agradeço & Destaco

A colaboração realizada entre Comando da Marinha do Brasil no 1º Distrito Naval e a Fundação Oswaldo Cruz.

Ao Capitão de Mar e Guerra (RM1-T) José Marques Gomes **BARBOSA** e ao Suboficial (RM1-FN-IF) **RUY** Barreto dos Santos que organizaram e cuidaram para que este trabalho pudesse ser realizado.

Ao **Dr. Jerônimo Alencar** (Laboratório de Díptera - IOC/Fiocruz) e **Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet** (Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera - IOC/Fiocruz).

A todos os militares servindo na Ilha da Trindade no período de execução desta missão.

E um agradecimento especial aos oficiais da Marinha: Capitão de Corveta (T) Antônio **SIVAL** Torres Guerreiro e ao Capitão Tenente (AFN) **ALEXSANDRES** de Azevedo Marques que possibilitaram a realização deste trabalho no POIT com todo apoio e sem quaisquer restrições as ações a serem realizadas.

Alexandre de Aranjo Oliveira
Biólogo (CRBio: 91425)

Doutorando Medicina Tropical IOC/Fiocruz
(Mat: 170728016) LABDIP e LIVEDIH