



FLÁVIA REGINA GIRARDI MONTAGNER

ECOLOGIA DE MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE) EM CRIADOUROS
ARTIFICIAIS EM OITO ÁREAS VERDES DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE,
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biodiversidade

Orientadora: Dr^a. Simone Mundstock Jahnke

Coorientadora: Dr^a Onilda Santos da Silva

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2014

ECOLOGIA DE MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE) EM CRIADOUROS
ARTIFICIAIS EM OITO ÁREAS VERDES DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE,
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

FLÁVIA REGINA GIRARDI MONTAGNER

Aprovada em 30 de maio de 2014.

Dra. Luiza Rodrigues Redaelli

Dr. Demétrio Luis Guadagnin

Dr. Jader da Cruz Cardoso

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Suzana e Luiz Montagner por terem investido na minha educação, desde a escola básica. Pelo apoio, incentivo e carinho e por terem cuidado da Catita nos períodos mais tensos desses últimos dois anos.

À Prof^a. Dr^a. Simone Mundstock Jahnke pela orientação, ensinamentos, paciência e compreensão. Pelo bom humor, carinho e dedicação maternal que dedicou à mim e ao meu trabalho.

À Prof^a. Dr^a Onilda Santos da Silva por aceitar me orientar e acreditar nesse trabalho. Pela ajuda no “arredondamento” dos artigos, as interessantes conversas regadas a café e pelo convite para o doutorado.

À Paula Bandeira Licht pela parceria, por ter suportados às ausências e todo o estresse do último ano. Por gostar de ouvir as histórias sobre os meus amados mosquitos de “comportamento invasor e oportunista” e pela ajuda nas coletas de campo.

À π (Liliane Ferreira), pela incrível ajuda na criação das larvas. Por ter me incentivado e apoiado todos esses anos. Pela amizade e parceria forte!

À Letícia Dadalt pela amizade, incentivo e apoio moral. Por ter contribuído muito nas análises, traduções e revisão.

À Márcia Turra pela amizade, incentivo e pelos momentos de descontração. Por não ter desistido de me convidar para almoçar, jantar, passear, viajar. Prometo que não declinarei mais os teus convites.

À Ana Pressi, por ter me introduzido na “mosquitologia”! Obrigada pela amizade, incentivo, pelos momentos de descontração e troca de ideias.

Ao pessoal do lab., Paola Ramos, Gisele Silva, Márcia Yamada, Viviane Pretz, Leandro Menegon e Leonardo Giraldo pelas conversas, discussões biológicas e profissionais, e por todas as risadas.

À Dra. Fernanda Mello do LACEN/RS pelo acesso à coleção de referência,

À Dra. Márcia Bicudo (USP) e MSc. Betina Westhal (UFPR) pela identificação específica de representantes dos gêneros *Culex* e *Sabethes*.

À CAPES pela concessão de bolsa.

À Patrícia Witt pelo acesso à Reserva Biológica do Lami José Lutzenberger.

Ao pessoal do espaço Econsciência e do Jardim Botânico pelo acesso às áreas.

À Catita Montagner (*Canis lupus familiaris*), por ter me dado carinho, afeto e amor incondicional. Por ter suportado as minhas ausências e o racionamento nos passeios e brincadeiras nesses últimos dois anos.

Aos 4.179 culicídeos coletados nesse estudo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO.....	viii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	5
RESULTADOS GERAIS	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
ARTIGO I: Fauna de Culicidae em áreas verdes associada a diferentes composições da paisagem em Porto Alegre, RS.....	10
ARTIGO II: Ocorrência de vetores potenciais dos vírus da dengue, febre amarela e febre chikungunya em áreas verdes de Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil)	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
ANEXOS	47

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO I	Página
Figura 1: Mapa da área de estudos com indicação das áreas verdes avaliadas de 10/2012 a 03/2013 no município de Porto Alegre, RS.....	25
Figura 2: Armadilha de oviposição utilizada no levantamento de culicídeos em áreas verdes de Porto Alegre, RS.....	26
Figura 3: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em buffer de 100m de raio, em cada estação amostral.....	28
Figura 4: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em buffer de 500m de raio, em cada estação amostral.....	29
Figura 5: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em buffer de 1000m de raio, em cada estação amostral.....	30

LISTA DE TABELAS

	Página
ARTIGO I	
Tabela 1: Classes de uso e cobertura do solo determinadas no Diagnóstico Ambiental de Porto Alegre (Hasenack et al., 2008) e reagrupadas em cinco novas classes, sob a perspectiva do grupo estudado.....	24
Tabela 2: Número de espécimes e constância ((A) = Acidentais, (B) = Acessórias e (C) = Constantes), dominância, abundância relativa (%) de Culicidae capturados com armadilha de oviposição de 10/2012 a 03/2013 em oito áreas verdes de Porto Alegre – RS.....	27
ARTIGO II	
Tabela 1: Número de espécimes e constância ((A) = Acidentais, (B) = Acessórias e (C) = Constantes), dominância, abundância relativa (%) de vetores capturados com armadilha de oviposição de 10/2012 a 03/2013 em oito áreas verdes de Porto Alegre – RS.....	44

RESUMO

Áreas verdes urbanas são ambientes que podem oferecer oportunidade de interação entre reservatórios e vetores dos meios urbano e silvestre, potencializando o risco de transmissão de doenças e de mudanças em seu perfil epidemiológico. Entender como as alterações da paisagem interferem na composição da fauna de culicídeos e conhecer quais espécies de vetores ocorrem nessas áreas, pode auxiliar na predição da distribuição espacial das espécies frente à urbanização, fornecendo importantes ferramentas para o controle de endemias e planejamento urbano. O objetivo desse estudo foi verificar a ocorrência de espécies de mosquitos vetores e avaliar a relação entre os diferentes tipos de uso e cobertura do solo e a composição da fauna de culicídeos. As coletas ocorreram quinzenalmente entre outubro de 2012 a março de 2013 com a utilização de armadilhas de oviposição instaladas em oito áreas verdes com diferentes características de paisagem do município de Porto Alegre, sul do Brasil. Foram coletados 4179 culicídeos de pelo menos 10 espécies. Destas, *Aedes albopictus* e *Limatus durhami* foram eudominante/dominantes, juntos representando 90% do total de indivíduos. Esse estudo foi o primeiro registro de ocorrência de *Sabethes albiprivus* e *Li. durhami* em Porto Alegre. As espécies de culicídeos demonstraram responder de maneira diversa aos tipos de uso e cobertura do solo, indicando que as afinidades mais evidentes se mantêm nas três escalas avaliadas. A abundância relativa de *Ae. albopictus* foi relacionada às áreas verdes mais urbanizadas, enquanto a de *Li. durhami*, *Haemagogus leucocelaenus* e *Toxorhynchites* sp., à presença da mata nativa. A ocorrência de *Aedes aegypti* não demonstrou ser influenciada pelo tipo de uso e cobertura do solo. Foram coletadas três espécies relacionadas à transmissão de febre amarela, febre chikungunya e dengue, *Ae. albopictus*, *Hg. leucocelaenus* e *Ae. aegypti* e verificada a ocorrência simultânea dessas em algumas áreas, o que pode representar a oportunidade para o surgimento de surtos epidêmicos e a mudança do perfil epidemiológico dessas doenças.

Palavras-chaves: Culicidae, área verde, oviposição, urbanização, febre amarela, febre chikungunya, dengue, Porto Alegre

ABSTRACT

Urban green areas can offer opportunity for interactions between reservoirs and vectors of urban and wild environments, increasing the risk of disease transition and changes in their epidemiological profile. The understanding of how changes in the landscape affect the composition of culicid fauna and which vector species occur in these areas may help and prediction the spatial distribution of the species along urbanized areas, providing important tools to control endemic disease. This study aimed to verify the occurrence of mosquito vector species and to evaluate the relationship between different types of land cover and land use with the composition of Culicidae fauna. Sampling occurred biweekly, from October 2012 to March 2013, where oviposition traps were installed in eight green areas with different landscape traits, in Porto Alegre, Southern Brazil. 4179 mosquitoes belonging to at least ten species were sampled. *Aedes albopictus* and *Limatus durhami* were eudominants/dominant representing together 90% of total individuals. This is the first report of *Sabethes albiprivus* and *Li. durhami* occurrence in Porto Alegre. The mosquito species responded differently to types of land use cover and land use, indicating that the most obvious affinities are maintained in three scales evaluated. The relative abundance of *Ae. albopictus* was related to the more urbanized green area, while the abundance of *Li. durhami*, *Haemagogus leucocelaenus* and *Toxorhynchites* sp., was related to the presence of preserved areas. The occurrence of *Aedes aegypti* was not influenced by land use and land cover. Three species related to dengue, chikungunya and yellow fever transmission were sampled, *Ae. albopictus*, *Hg. leucocelaenus* and *Ae. aegypti*. We also verified the simultaneous occurrence of these species, which may represent an opportunity of changes in the epidemiologic of these diseases.

Key words: Culicidae, green areas, oviposition, urbanization, Brazil

INTRODUÇÃO

Os mosquitos da família Culicidae, que pertencem à ordem Diptera e subordem Nematocera, e nos seus 40 gêneros distribuídos nas subfamílias: Anophelinae e Culicinae. Existe cerca de 3350 espécies descritas no mundo, sendo que aproximadamente 490 delas ocorrem no Brasil (WRBU, 2014). Poucos inventários de fauna de culicídeos foram realizados no Rio Grande do Sul ao longo dos anos, mas de acordo com os disponíveis, até o momento, no Rio Grande do Sul já foram identificadas cerca de 83 espécies de Culicinae (Cardoso et al., 2011A; Cardoso et al., 2011B; Cardoso et al., 2010 A; Cardoso et al., 2010 B; Gomes et al, 2007; Cardoso et al., 2005) e 17 de Anophelinae (Cardoso et al. 2012; Cardoso et al., 2011B; Cardoso et al., 2010 A; Cardoso et al., 2004).

As fêmeas de Culicidae, com exceção das do gênero *Toxorhynchites*, são hematófagas, pois necessitam de proteínas do sangue para produzir seus ovos (Harrington et al., 2001). O repasto sanguíneo ocorre pelo aparelho bucal, que é do tipo picador-sugador ou pungitivo (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994), o qual injeta saliva no interior dos vasos sanguíneos dos organismos parasitados (Ribeiro et al., 1984), enquanto o sangue é puncionado. A saliva inoculada contém componentes que podem desencadear reações na pele do hospedeiro, como pápulas, edemas e coceira, que pode causar rupturas na pele, abrindo caminho para infecções secundárias. A saliva, ainda pode veicular patógenos como protozoários (*Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*, da malária), vírus (*Flavivirus*, da dengue e febre amarela; *Alphavirus*, da febre chikungunya) e helmintos (*Wuchereria bancrofti*, elefantíase) (Forattini, 2002), podendo causar consideráveis danos à saúde pública.

A hematofagia também atua na estruturação da fauna de culicídeos, uma vez que algumas espécies apresentam preferência pelo sangue de determinados vertebrados. Exemplo disso é o caso de *Aedeomyia squamipennis* (Theobald, 1901) que depende da disponibilidade de aves para a reprodução (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994). Já o *Aedes aegypti* apresenta marcada preferência por sangue humano (Harrington et al, 2001), e a sua ocorrência normalmente está condicionada à presença humana. Outras espécies são generalistas quando ao hábito hematofago, como o *Aedes taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) que ataca o homem, aves, répteis e mamíferos de grande porte (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994), ocupando um nicho ambiental amplo.

A oferta de criadouros influencia na capacidade de reprodução das espécies, interferindo diretamente na abundância das espécies. No sul e sudeste do Brasil, o aumento na pluviosidade tem se mostrado diretamente relacionada ao crescimento populacional de culicídeos, fazendo aumentar drasticamente os casos de doenças veiculadas, principalmente dengue no Brasil e malária na Amazônia Legal.

A maioria das espécies de Culicidae escolhe em tipos específicos de recipientes para depositar seus ovos, não bastando, dessa forma, a simples existência de água, mas a ocorrência destes recipientes para o sucesso das espécies. De maneira geral, os tipos de recipientes preferidos são: impressões no solo, lagos, buracos nas árvores, bromélia, internódios de bambu e recipientes artificiais. Mudanças na distribuição e oferta de criadouros que ocorrem com as alterações da paisagem favorecem o desenvolvimento de algumas espécies em detrimento de outras.

A adaptação de algumas espécies às modificações da paisagem permite classificar algumas espécies como indicadoras de qualidade ambiental. Dorvillé (1996), propôs grupos de culicídeos como indicadores da intensidade da alteração do ambiente, sendo

Anopheles (Kerteszia) *cruzii* (Dyar & Knab, 1908) representativo de ambiente preservado, *Haemagogus* (Williston, 1896) e *Microculex* (Theobald, 1907) que ovipositam em ocos de árvores de ambientes, representantes de ambientes intermediários e *Aedes scapularis* (Rondani, 1848) e tribo Mansoniini de ambientes altamente alterados.

A urbanização é uma intensa intervenção antrópica no ambiente, em que a paisagem natural é substituída por estruturas típicas do ambiente urbano, como edificações e vias pavimentadas. Nela, a vegetação natural é removida e isolada, fragmentando habitats (McIntyre, 2000), modificando os recursos alimentares (Ruszczyk, 1986) e alterando características físicas do meio, como temperatura (Niemelä, 1999), umidade e poluição. Com isso a estrutura das populações e comunidade são modificadas, através das alterações nos padrões de sucessão ecológica, taxa de crescimento, deriva genética de populações e comunidades, alterações fenológicas e comportamentais dos organismos (McDonnell e Pickett, 1990).

Organismos não são afetados da mesma forma pela urbanização, entretanto é comum a diminuição gradual na riqueza da fauna nativa (Sanford et al., 2009) e o aumento da abundância relativa de espécies exóticas, invasivas e generalistas (McDonnell e Pickett, 1990; McIntyre, 2000; Niemelä, 1999). Com a urbanização da paisagem, áreas verdes atuam na manutenção e conservação de espécies nativas, servindo de refúgio para organismos poucos adaptados ao ambiente urbanizado, incluindo espécies de culicídeos vetores de doenças. O desenvolvimento dessas espécies em áreas entremeadas por áreas de intensa ocupação humana oferece a oportunidade de interação entre reservatórios e vetores do meio urbano e silvestre, potencializando o risco de transmissão de agentes etiológicos e a mudança no perfil epidemiológico de doenças.

Apesar da imensa relevância em saúde pública do tema não existem trabalhos levantando a fauna de culicídeos em áreas verdes urbanas de Porto Alegre, como os que vem sendo realizados em cidades brasileiras como: Florianópolis (Reis et al., 2010); Curitiba (Silva & Lozovei, 1996); Londrina (Zequi et al., 2005); Guarulhos (Taípe-Lagos & Natal, 2003); Rio de Janeiro (Lourenço-de-Oliveira et al., 2004) e Natal (Medeiros et al., 2009).

Poucas pesquisas têm utilizado insetos no estudo dos efeitos da urbanização, entretanto McIntyre (2000) considera os artrópodos o modelo biológico ideal para isto. Segundo a autora, os artrópodos apresentam grande diversidade e, portanto, podem fornecer uma visão instantânea da diversidade biológica global de uma área, respondem rapidamente às mudanças antrópicas por possuírem tempos gerações relativamente curtos e são fáceis de amostrar. Outro aspecto relevante é que, diferente do que acontece com vertebrados, as pessoas não costumam se opor a esse tipo de amostragem.

Levantamentos da fauna de culicídeos em vários locais do país tem sido realizados com o uso de armadilhas de oviposição, que também vem ganhando destaque no controle e monitoramento de vetores urbanos em diversos países (Silva et al., 2009). O princípio básico dessas armadilhas é disponibilizar um recipiente para a oviposição das fêmeas. Essa técnica é rápida e sensível na detecção de larvas de *Ae. aegypti* antes das formas aladas (Fay & Eliason, 1966). O método também é utilizado no levantamento da fauna silvícola de culicídeos, com variados tipos de recipientes, como pneu, bambu, plástico, entre outros (Lopes, 1997, Lozovei, 2001; Lourenço-de-Oliveira et al., 2004; Medeiros et al., 2009; Silva & Lozovei, 1996; Zequi et al. 2005). Existem alguns estudos comparativos entre os diferentes tipos de recipientes, mas não há um consenso sobre qual é mais eficiente.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar a ocorrência de culicídeos em áreas verdes de Porto Alegre e investigar a interação das espécies com diferentes aspectos do meio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar uma lista de espécies de culicídeos ocorrentes nas áreas verdes de Porto Alegre.
- Avaliar a relação entre diferentes tipos de uso e cobertura do solo e a composição da fauna de culicídeos nas oito áreas verdes estudadas
- Verificar a ocorrência de vetores da febre amarela, dengue e febre chikungunya, exclusivos ou compartilhados em áreas verdes do município de Porto Alegre.

RESULTADOS GERAIS

- Foi amostrado um total de 4179 indivíduos de Culicidae no período de outubro de 2012 a março de 2013.
- *Aedes albopictus* e *Limatus durhami* tiveram destaque sendo eudominantes, representando, em conjunto, 90% do total de indivíduos coletados.
- *Toxorhynchites* sp. ocorreu em todas as áreas verdes avaliadas e dividindo armadilha com espécie de importantes vetores, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Haemagogus leucocelaenus*. Assinalando, assim, a potencial utilização do gênero controle biológico de culicídeos.
- Primeiro registro de ocorrência de *Sabethes albiprivus* e *Limatus durhami* em Porto Alegre.

- Espécies de culicídeos que utilizam recipientes artificiais na reprodução, respondem de maneira diversa aos tipos de uso e cobertura do solo, indicando que as afinidades mais evidentes se mantêm nas três escalas avaliadas.
- A abundância relativa de *Aedes albopictus* se mostrou relacionada às áreas verdes mais urbanizadas, enquanto a de *Limatus durhami*, *Haemagogus leucocelaenus* e *Toxorhynchites* sp., à presença da mata nativa.
- A ocorrência de *Aedes aegypti* nas áreas verdes analisadas demonstrou não ser influenciada ao tipo de uso e cobertura do solo.
- Foi evidenciada a ocorrência de três espécies relacionadas à transmissão de dengue, febre amarela e febre chikungunya, *Aedes albopictus*; *Haemagogus leucocelaenus*; *Aedes aegypti*.
- No Jardim Botânico e Morro Santana foi verificada a ocorrência simultânea das três espécies de vetores supracitadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cardoso, J. D. C., Corseuil, E., & Barata, J. M. S. (2004). Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomol Vect*, 11, 159-177.

Cardoso, J. D. C., Corseuil, E., & Barata, J. M. S. (2005). Culicinae (Diptera, culicidae) occurring in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(2), 275-287.

Cardoso, J. D. C., De Almeida, M. A., Dos Santos, E., Da Fonseca, D. F., Sallum, M. A., Noll, C. A., ... & Vasconcelos, P. F. (2010). Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008. *Emerging infectious diseases*, 16(12), 1918.

Cardoso, J. D. C., Paula, M. B. D., Fernandes, A., Santos, E. D., Almeida, M. A. B. D., Fonseca, D. F. D., & Sallum, M. A. M. (2010). New records and epidemiological potential of certain species of mosquito (Diptera, Culicidae) in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43(5), 552-556.

Cardoso, J. D. C., de Paula, M. B., Fernandes, A. R. I. S. T. I. D. E. S., dos Santos, E., de Almeida, M. A. B., da Fonseca, D. F., & Sallum, M. A. M. (2011 A). First Record of *Culex* (*Culex*) *brethesi* (Dyar)(Diptera: Culicidae) in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Neotropical entomology*, 40(1), 145-147.

Cardoso, J. D. C., de Paula, M. B., Fernandes, A., dos Santos, E., de Almeida, M. A. B., da Fonseca, D. F., & Sallum, M. A. M. (2011 B). 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*, 36(1), 175-186.

Cardoso, J. D. C., Bergo, E. S., Oliveira, T. M., Sant'Ana, D. C., Motoki, M. T., & Sallum, M. A. M. (2012). New Records of *Anopheles homunculus* in Central and Serra Do Mar Biodiversity Corridors of the Atlantic Forest, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(1), 1-5.

Consoli, R. A., & de Oliveira, R. L. (1994). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Editora FIOCRUZ.

Dorvillé, L. F. (1996). Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 31(2), 68-78.

Forattini, O. P. (1996). Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia v. 2. Edusp.

Fay, R. W., & Eliason, D. A. (1966). A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq. News*, 26(4), 531-535.

Gomes, A. D. C., Torres, M. A. N., Ferri, L., Costa, F. R. D., & Silva, A. M. D. (2007). Finding of *Haemagogus* (*Conopostegus*) *leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), in the municipality of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(4), 487-488.

Harrington, L. C., Edman, J. D., & Scott, T. W. (2001). Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *Journal of Medical Entomology*, 38(3), 411-422.

Lourenço-de-Oliveira, R., Castro, M. G., Braks, M. A., & Lounibos, L. P. (2004). The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *Journal of vector ecology*, 29, 94-100.

Lopes, J. 1997. Ecologia de mosquitos (Diptera:Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado de Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. *Revista de Saúde Pública*, 31(4), 370-377.

Lozovei, A. L. (2001). Microhabitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em internódios de taquara na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 90, 3-13.

McDonnell, M. J., & Pickett, S. T. (1990). Ecosystem structure and function along urban-rural gradients: an unexploited opportunity for ecology. *Ecology*, 71(4), 1232-1237.

McIntyre, N. E. (2000). Ecology of urban arthropods: a review and a call to action. *Annals of the Entomological Society of America*, 93(4), 825-835.

Medeiros, A. S., Marcondes, C. B., De Azevedo, P. R., Jerônimo, S. M., Silva, V. P. M. E., & De Melo, M. D. F. F. (2009). Seasonal variation of potential flavivirus vectors in an urban biological reserve in Northeastern Brazil. *Journal of medical entomology*, 46(6), 1450-1457.

Niemelä, J. (1999). Ecology and urban planning. *Biodiversity & Conservation*, 8(1), 119-131.

Ruszczyk, A. (1986). Distribution and abundance of butterflies in the urbanization zones of Porto Alegre, Brazil. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 25(3), 157-178.

Ribeiro, J. M., Rossignol, P. A., & Spielman, A. (1984). Role of mosquito saliva in blood vessel location. *Journal of experimental biology*, 108(1), 1-7.

Sanford, M. P., Manley, P. N., & Murphy, D. D. (2009). Effects of urban development on ant communities: implications for ecosystem services and management. *Conservation Biology*, 23(1), 131-141.

Silva, V. C., Serra-Freire, N. M., Silva, J.S., Scherer, P. O., Rodrigues, I., Cunha, S. P., & Alencar, J. (2009). Estudo comparativo entre larvitrapas e ovitrapas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo Grande, Estado do Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(6), 730-731.

Silva, M.A.N., Lozovei, A.L. (1996). Criadouros de imaturos de mosquitos (Díptera, Culicidae) introduzidos em mata preservada na área urbana de Curitiba, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool*, 13(4), 1023-1042

Taipe-Lagos, C.B. and D. Natal. 2003. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. *Revista de Saúde Pública*, 37 (3), 275-279.

WRBU, Walter Reed Biosystematics Unit (2014) Systematic catalog of Culicidae. Disponível em: http://www.mosquitocatalog.org/species/species_profile.asp?ID=3425 (Acesso em abril de 2014)

Zequi, J. A. C., Lopes, J., & Medri, I. M. (2005). Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(3), 656-661

ARTIGO I: FAUNA DE CULICIDAE EM ÁREAS VERDES ASSOCIADA
A DIFERENTES COMPOSIÇÕES DA PAISAGEM EM PORTO ALEGRE,
RS.*

* Segundo as normas do Journal of Vector Ecology (Anexo 1)

FAUNA DE CULICIDAE EM ÁREAS VERDES ASSOCIADA A
DIFERENTES COMPOSIÇÕES DA PAISAGEM EM PORTO ALEGRE,
RS.*

Flávia Regina Girardi Montagner ¹, Onilda Santos da Silva ², Simone Mundstock Jahnke ¹

¹ Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

² ICBS Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Federal University of Rio Grande do Sul

Endereço para correspondência:

Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 – Porto Alegre, RS, Brasil

Tel: 555133086038

Fax: 55 51 33086015

flaviargmontagner@gmail.com

RESUMO

A urbanização modifica a paisagem natural, interferindo na composição e abundância da fauna. Áreas verdes são importantes nesse processo, pois oferecem condições para o desenvolvimento de Culicidae que podem causar problemas a saúde humana. O objetivo desse trabalho foi avaliar a relação entre os diferentes tipos de uso e cobertura do solo e a composição e abundância da fauna de culicídeos. As coletas ocorreram quinzenalmente de outubro de 2012 a março de 2013, com a utilização de armadilhas de oviposição instaladas em oito áreas verdes, com diferentes composições paisagem, no município de Porto Alegre, no sul do Brasil. A abundância relativa dos organismos coletados foi relacionada com o uso e cobertura do solo, em três escalas de paisagem (buffer de 100m, 500m e 1000m), através de análise de redundância (RDA). Foram coletados 4179 culicídeos, de pelo menos 10 espécies, destas, *Aedes albopictus* e *Limatus durhami* foram eudominantes, representando 90% do total de indivíduos coletados. Esse estudo apresenta o primeiro registro de ocorrência de *Sabethes albiprivus* e *Li. durhami* em Porto Alegre. A RDA demonstrou que as espécies de culicídeos respondem de maneira diversa aos tipos de uso e cobertura do solo, indicando que as afinidades mais evidentes se mantêm nas três escalas avaliadas. A abundância relativa de *Ae. albopictus* se mostrou relacionada às áreas verdes mais urbanizadas, enquanto a de *Li. durhami*, *Haemagogus leucocelaenus* e *Toxorhynchites* sp., à presença da mata nativa. A ocorrência de *Aedes aegypti* nas áreas verdes analisadas não demonstrou ser influenciada ao tipo de uso e cobertura do solo.

Palavras-chave: Culicidae, área verde, oviposição, urbanização, Brasil

ABSTRACT

Urbanization alters the natural landscape, and affects the composition and abundance of the fauna. Green areas are important in this process, as they provide conditions for the development of Culicidae that can cause human health problems. The aim of this study is to evaluate the relationship between different types of land cover and use and the composition and abundance of the fauna of Culicidae. Sampling occurred quarterly from October 2012 to March 2013, using oviposition traps installed in eight green areas with different landscape compositions, in Porto Alegre, Southern Brazil. The relative abundance of the collected organisms was related to the use and land cover in three landscape scales (buffer of 100m , 500m and 1000m) , with the use of redundancy analysis (RDA). It was collected 4179 mosquitoes et list from ten species, among these, *Aedes albopictus* and *Limatus durhami* prevailed representing 90% of total individuals. This study presents the first occurrence of *Sabethes albiprivus* and *Li. durhami* in Porto Alegre. RDA has showed that the species of Culicidae respond on a different number of ways depending on the types of land cover and land use, and it indicates that the most obvious affinities are maintained in the three scales evaluated. The relative abundance of *Ae. albopictus* seems to be related to the more urbanized green areas, while *Li. durhami*, *Haemagogus leucocelaenus* and *Toxorhynchites* sp. Show to be related to the presence of native forest. The occurrence of *Aedes aegypti* in the green areas under analyzes seems having suffered no influence by type of use and land cover.

Key words: Culicidae, green areas, oviposition, urbanization, Brazil

INTRODUÇÃO

A urbanização promove alterações no ambiente que interferem na composição da fauna de culicídeos, muitas vezes dificultando e até impedindo a sobrevivência de algumas espécies. O declínio dessas populações torna seu nicho ecológico vago, apto a ser ocupado por outra espécie. Esta poderá desempenhar a mesma função na comunidade ou outra, podendo ainda, dar origem ao quadro epidemiológico de alguma doença infecciosa.

Algumas espécies demonstram grande plasticidade genética e ecológica e, por pressão das modificações antrópicas, podem se adaptar a novos contextos. Isso é especialmente significativo em áreas urbanas que fazem limite com áreas verdes, pois o aumento na oferta de recipientes artificiais e possibilidades de repasto sanguíneo, pessoas e animais domésticos, podem denotar oportunidade para a mudança de hábito (Beier et al., 1983; Luz et al., 1987; Lopes, 1997).

Os mosquitos da família Culicidae, possuem cerca de 3350 espécies descritas no mundo, sendo que aproximadamente 490 delas ocorrem no Brasil (WRBU, 2014). O Rio Grande do Sul, até o estado atual de conhecimento, possui em torno de 100 espécies da família, sendo 83 de Culicinae (Cardoso et al., 2011A; Cardoso et al., 2011B; Cardoso et al., 2010 A; Cardoso et al., 2010 B; Gomes et al, 2007; Cardoso et al., 2005) e 17 de Anophelinae (Cardoso et al. 2012; Cardoso et al., 2011B; Cardoso et al., 2010 A; Cardoso et al., 2004).

Armadilhas de oviposição vêm sendo utilizadas como método de captura desses organismos, como nos estudos realizados nos Estados do Paraná (Lopes et al.,1995; Lopes,1997; Lozovei, 2001; Zequi et al., 2005) e Rio Grande do Norte (Medeiros et al., 2009). Segundo os pioneiros dessa técnica, Fay e Eliason (1966), a mesma é um método barato e rápido na detecção de larvas. Além disso, são fáceis de transportar e de instalar. Sua construção não requer grande habilidade e pode ser feita com a utilização de diversos materiais de descarte, sendo uma opção para práticas de educação ambiental. Mas a característica mais marcante desse método de coleta, é a facilidade com que se consegue padronizar a amostra, podendo-se, com baixo custo e pouca manutenção, coletar durante longos períodos, sem que variações nas habilidades dos coletores. Como as armadilhas permanecem durante todo o período de amostragem em campo, as condições climáticas, como vento e chuva, no momento da coleta não interferem nos resultados, como acontece com outros métodos.

Entender como as alterações da paisagem influenciam a composição e abundância da fauna de culicídeos pode auxiliar na predição da distribuição espacial de espécies frente à urbanização, fornecendo importantes ferramentas para o controle de endemias e planejamento urbano. Assim, com esse trabalho avaliar a relação entre os diferentes tipos de uso e cobertura do solo em três escalas de paisagem, com a composição e abundância da fauna de culicídeos que utilizam recipientes artificiais para a oviposição, em áreas verdes de Porto Alegre. Esse trabalho é pioneiro no Estado do Rio Grande do Sul no levantamento de culicídeos em áreas verdes urbanas e na utilização armadilha de oviposição.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram determinadas oito áreas verdes, distribuídas em diferentes regiões do município de Porto Alegre, da área mais central à zona rural do município (Figura 1 e

Tabela 1). Neste trabalho considerou-se como área verde a reunião de vegetação arbórea e arbustiva, composta por espécies nativas e exóticas de origem natural, sucessão secundária, ou, plantada.

O Parque Farroupilha (PF; 22J, 478925.00, 6677169), Parque Marinha do Brasil (PM; 22J, 477655.89, 6675151.10) e Jardim Botânico (JB; 22J 482989.01, 6675651.87), são inseridos na região central da cidade e possuem estrutura de parques, formados por bosques de árvores esparsas, dossel contínuo e campo; Grupo Silk (GS; 22J 489947.02, 6679643.06) é um fragmento de mata nativa preservado em uma área particular no extremo norte da cidade; Parque Knijnik (PK; 22J 480451.90, 6669719.02), Morro Santana (MS; 487932.01, 6673829.11) e Morro São Pedro (SP; 22J, 490116.00, 6661360.00) são fragmentos de Mata Atlântica em área de preservação permanente em morros graníticos, sendo este último o maior fragmento de mata nativa de Porto Alegre; e a Reserva Biológica do Lami José Lutzenberger (RL; 22J, 490759.04, 6655009.08) que é formada por mata de restinga nativa, no extremo sul do município.

Nas coletas foram utilizadas armadilhas de oviposição (Figura 2) construídas de garrafas PET de 2L (Coca-Cola[®]), com duas aberturas laterais de 15 cm x 8,5 cm, feitas na altura do rótulo, e pintadas externamente com tinta spray preto fosco (Chemicolor[®]). No interior foi inserida uma paleta de Eucatex[®], com 15 cm x 5 cm, parcialmente submersa em 600 mL de água destilada. Em cada uma das oito áreas verdes foram instaladas três armadilhas, ao nível do solo, a um metro de distância uma da outra, em disposição triangular.

As armadilhas permaneceram por todo o período em campo. Nas coletas, ocorridas quinzenalmente durante seis meses (outubro de 2012 a março de 2013), o conteúdo das armadilhas era filtrado, larvas e pupas coletadas e a água devolvida à armadilha. Quando necessário o volume de água era reestabelecido até 600mL. As larvas de quarto ínstar foram sacrificadas imediatamente após a coleta. As larvas de primeiro a terceiro instares eram criadas em recipientes plásticos de 135 mL, cobertos com tecido voile, em água destilada e alimentadas com ração de peixe (Tatramin[®]), até atingirem o quarto ínstar. As pupas foram mantidas em água destilada até a emergência. A identificação de larvas de quarto ínstar e adultos foi feita segundo Lane (1953) e Forattini(2002). Os gêneros foram abreviados de acordo com Reinert (2009). A confirmação das espécies foi feita por

especialistas ou pela comparação direta com exemplares da coleção entomológica de referência do LACEN-RS.

A análise da paisagem teve como base o mapeamento de cobertura do solo do Diagnóstico Ambiental de Porto Alegre (Hasenack et al., 2008), realizado a partir de imagens de satélite QuickBird. Para cada uma das oito áreas avaliadas, foi calculada a porcentagem de cada classe de uso e cobertura do solo em três escalas espaciais, *buffers* circulares com raios de 100m, 500m e 1000m, usando o software ArcView 3.2 (ESRI). As vinte classes de uso cobertura do solo da publicação original foram reagrupadas em cinco categorias, afim de representar classes relevantes ao estudo (Tabela 1). A classe “água” foi reagrupada como “inóspito”, pois os culicídeos coletados costumam utilizar coleções hídricas do solo, a que se refere a classe sugerida por Hasenack et al. (2008), como local de oviposição. A distância de dispersão de culicídeos costuma ser de poucas centenas de metros, raramente ultrapassando 1000m, por esse motivo essa foi o raio máximo de *buffer* analisado.

As espécies foram classificadas como constantes (presentes em mais de 50% das coletas), acessórias (presentes entre 25-50% das coletas) e acidentais (presentes em menos de 25% das coletas), segundo Bödenheimer (1955). A dominância (Dom.) foi definida de acordo com Friebe (1983), a partir da abundância relativa de cada espécie no total da amostra, sendo: eudominante $\geq 10\%$, dominante $5 \leq 10\%$, subdominante $2 \leq 5\%$, recessiva $1 \leq 2\%$ e rara $< 1\%$.

Foi realizado análise de redundância (RDA) para verificar qual frequência e abundância da fauna de culicídeos capturáveis por armadilha de oviposição é explicada pelo tipo de uso e cobertura do solo, em três escalas de paisagem (*buffers com* raio de 100m, 500m e 1000m). A abundância das espécies foi submetida à transformação de Hellinger (Legendre and Legendre, 2012), para reduzir das espécies muito abundantes (Peres-Neto et al., 2006). As análises de redundância foram realizadas no programa R Core Team (2012).

RESULTADOS

Foram coletados, no total das amostragens, 4179 culicídeos distribuídos em seis gêneros e pelo menos 10 espécies diferentes, quantificadas em cada área verde analisada (Tabela 2). *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) e *Limatus durhami* (Theobald, 1901)

apresentaram as maiores abundâncias relativas e estiveram presentes em todas as áreas amostradas. Quanto à dominância *Ae. albopictus* se destacou, sendo constante em todas as áreas verdes analisadas. *Limatus durhami* foi acidental no PM, acessória no PK e PF e constante nas demais. Ainda se apresentam de maneira constante *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924) no SP e *Toxorhynchites* sp. no PK e SP. *Culex quinquefasciatus* e *Sabethes albiprivus* (Theobald, 1903) foram considerada acidentais, a última com um único exemplar coletado.

A RDA (Análise de Redundância) demonstrou que o tipo de uso e cobertura do solo no *buffer* de 100m de raio explica 76% da variação da composição e abundância relativa das espécies coletadas (Figura 3). Sendo 55% da variação composição da fauna explicado pelo eixo 1 e 13% pelo eixo 2. O tipo e uso e cobertura do solo no *buffer* de 500m de raio explicou 79% da variação dos dados, de acordo com a RDA (Figura 4). Sendo 50% da variação da composição e abundância da fauna explicada pelo eixo 1 e 21% pelo eixo 2. A RDA realizada com os dados do *buffer* de 1000m de raio (Figura 5) mostrou que a variação do tipo de uso e cobertura do solo explicara 73% da variação dos dados. Destes, 45% representados no eixo 1 e 21%, no eixo dois.

Nas três escalas de paisagem, o eixo 1, que proporciona a maior porcentagem da explicação, sempre relacionou positivamente URB (0.82, 0.68 e 0.67), INO (0.82, 0.74 e 0.53) MAT (0.56, 0.49 e 0.62) e negativamente NAT (-0.75, -0.89 e - 0.30). Assim, os dados referentes às espécies de mosquitos e às áreas verdes dispostas na área esquerda das ordenações, nos gráficos, são as mais silvestres, estando mais relacionadas à mata nativa, mais estruturada, preservada e menos impactada. No outro sentido, espécies e áreas verdes relacionadas positivamente nas RDA's, são mais adaptadas às áreas verdes mais impactadas, com menor sombreamento e maior trânsito de pessoas. As espécies plotadas na região central do gráfico, próximas ao eixo 1, mostraram não se relacionar à essa dicotomia, ou, possuíram abundância relativa muito baixa, que impediu que a análise de redundância a qual se baseia na distância euclidiana. Avaliando a resposta dos culicídeos às áreas e classes de cobertura do solo, as espécies *Li. durhami*, *Hg. leucocelaenus* e *Toxorhynchites* sp., respondem à presença da mata nativa em um gradiente, estando a primeira espécie mais relacionada e, a última, menos. No outro curso aparece *Ae. albopictus*, nas três escalas, se opondo à mata nativa. *Culex dolosus* nas três ordenações foi descrito pelo eixo 2, que explica a menor porção da variedade de dados, estando mais

relacionado ao MS e PK. Considerando as áreas em relação às classes de uso e cobertura de solo, MS, SP, JB e RL, nas três escalas de paisagem, relacionam-se negativamente, sendo essas áreas mais influenciadas pela mata nativa. As demais áreas, PK PF, PM e GS, estiveram positivamente relacionadas, estando mais suscetíveis à influência antrópica do ambiente urbano.

DISCUSSÃO

O presente trabalho registra a primeira notificação de ocorrência de *Sa. albiprivus* e *Li. durhami* em Porto Alegre. A ocorrência de *Sa. albiprivus* no RS era conhecida em Derrubadas, Garruchos e Santo Antônio (Cardoso et al., 2005). Enquanto que para *Li. durhami*, existiam registros para os municípios de Nova Bassano e Nova Petrópolis (Cardoso et al., 2005), e Maquiné (Cardoso et al., 2011 B).

O presente estudo demonstrou a dominância de *Ae. albopictus* na áreas verdes estudadas. Isso pode ser justificado pela conhecida adaptação da espécie ao ambiente de transição entre o meio silvestre e urbano. De acordo com Forattini (2002) esse comportamento é resultado de sua capacidade de utilizar com versatilidade criadouros e fontes de repasto sanguíneo de ambos os ambientes. A alta incidência de *Ae. albopictus* em áreas verdes urbanas, como a observada nesse trabalho, confirma outros estudos (Lourenço-de-Oliveira et al., 2004 e Medeiros et al., 2009).

Limatus durhami e *Hg. leucocelaenus* são as espécies mais associadas ao ambiente silvestre de acordo com a análise de RDA, estando a primeira mais inclinada ao ambiente de mata nativa. Entretanto, quando analisados os dados brutos (Tabela 2), essa tendência não é clara, uma vez que apresentou maior abundância no SP, que compõe o maior fragmento de mata nativa do município, e menor no JB, pequena área verde inserida em meio urbano, com pouca porção de mata nativa. Lopes et al. (1997), ao comparar as duas espécies, atribuiu ao *Li. durhami* “forte tendência a domiciliação”, baseado na sua maior habilidade em utilizar recipientes artificiais na reprodução, enquanto *Hg. leucocelaenus* teria dificuldade em utilizar esse tipo de recipientes, preferindo buracos em árvores e internódios de bambus para a oviposição (Forattini, 2002). Essa característica reprodutiva deve ter influenciado na elevada abundância e constância nas áreas avaliadas, conferindo a *Li. durhami* mais afinidade à mata nativa do que à *Hg. leucocelaenus*.

Toxorhynchites sp. esteve presente em todas as áreas verdes avaliadas, inclusive nas com maior influência urbana, demonstrando sua capacidade natural de se estabelecer em

ambientes antropizados. Durante as coletas, foram registrados em recipientes com a presença de larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Hg. leucocelaenus*. Tendo em vista que espécies deste gênero apresentam comportamento predador na fase larval (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994; Forattini, 2002; Albeny et al., 2010), pode-se supor que exerçam pressão negativa no crescimento populacional desses importantes vetores do vírus da dengue, febre chikungunya e febre amarela. Espécies deste gênero têm sido avaliadas para o controle biológico (Steffan e Evenhuis, 1981; Jones e Schreiber, 1994; Collins e Blackwell, 2000), pois além de serem predadoras de larvas de culicídeos vetores, suas fêmeas adultas não são hematófagas (Steffan e Evenhuis, 1981; Collins e Blackwell, 2000; Forattini, 2002; Focks, 2007; Albeny et al., 2010), não atuando na veiculação de agentes patogênicos para o homem ou outros vertebrados.

A coleta de *Sa. albiprivus* em armadilha de oviposição foi excepcional, pois a espécie não costuma utilizar esse tipo de recipiente na reprodução, escolhendo águas acumuladas em ocos de árvores, internódios de bambus, bromélias e axila de folhas (Forattini, 2002). A ocorrência de *Ae. aegypti* foi verificada em cinco das áreas avaliadas (PM, PF, GS, JB e MS). Embora áreas verdes não constituam o habitat típico dessa espécie, outros trabalhos também têm reportado sua presença nesse tipo de ambiente, em cidades como Natal (Medeiros et al., 2009), Londrina (Zequi et al., 2005) e Rio de Janeiro (Lourenço-de-oliveira et al., 2003). Embora não existam dúvidas quanto à propensão urbana de *Ae. aegypti* (Lourenço-de-Oliveira et al., 2003, Zequi et al., 2005), nenhuma das RDA's expressou uma intensa relação com o ambiente mais antropizado. Observou-se, inclusive, uma tendência mais silvestre do que *Ae. albopictus*, conhecido por habitar o ambiente periurbano. Essa discrepância nos resultados demonstra que a ocorrência de *Ae. aegypti* nas áreas verdes examinadas não é determinada pelo tipo de uso e cobertura do solo, sendo que outros fatores devem explicar a presença da espécie.

No PF, JB, PM, GS, onde as armadilhas estavam instaladas a menos de 100m de áreas habitadas, a distribuição da espécie poderia ser justificada pela presença de fontes de repasto sanguíneo humanas próximas, considerando que a distância média máxima de voo das fêmeas durante a vida é normalmente de até 100m (Forattini, 2002). No MS, entretanto, não foi observado trânsito constante de pessoas no seu interior e as armadilhas estavam a mais e 370m das áreas de ocupação humana. Assim, entende-se que outros fatores estejam determinando sua dispersão para o interior dessa área. Segundo Russell et

al. (2005) e Reiter et al. (1995), a dispersão de *Ae. aegypti* é fortemente influenciada pela indisponibilidade de locais para a oviposição, fator que pode estar determinando sua no interior do MS. O manejo de criadouros de culicídeos, ou seja, a retirada de recipientes com água acumulada nas residências, é a principal ferramenta empregada no controle de vetores urbanos de Porto Alegre e de outros municípios. Por poder contribuir na dispersão de *Ae. aegypti* a eficácia dessa metodologia de controle de mosquitos, nas proximidades de áreas verdes, foi questionada por Forattini, (2002), Lourenço-de-Oliveira et al. (2004) e Reiter et al. (1995).

A disponibilidade de criadouros artificiais, representados por lixo e recipientes utilizados em rituais religiosos abandonados, principalmente nas bordas de matas também podem contribuir para a presença de *Ae. aegypti* em fragmentos, como o MS. Segundo Lourenço-de-Oliveira (2004), os remanescentes florestais urbanos podem atuar como refúgio da espécie, fornecendo condições para a recolonização com o descuido no controle de vetores.

A marcada preferência em utilizar sangue humano para o repasto (Harrington et al., 2001) e recipientes artificiais na oviposição provavelmente explicam a ampliação de habitat de *Ae. aegypti* para o ambiente de mata próxima a centros urbanos. Assim, sua captura no interior do MS possivelmente não representa o flagrante da adaptação tardia da espécie ao meio silvestre, mas sim, outro aspecto do seu conhecido comportamento oportunista, utilizando essas áreas para a reprodução e abrigo.

A baixa riqueza observada nesse estudo demonstra a seletividade do método de coleta empregado, sub amostrando as espécies menos sensíveis ao método como *Cx. quinquefasciatus*, *Hg. leucocelaenus* e *Sa. albiprivus* e hiper amostrando as mais sensíveis, como *Ae. albopictus*, *Li. durhami* e *Ae. aegypti*. A sensibilidade do método não afetou o objetivo desse estudo, entretanto, para se obter uma perspectiva mais ampla da diversidade, sua utilização deve ser consociada com métodos, que utilizam diferentes atrativos, como luz e presença humana/animal. De qualquer forma, as armadilhas de oviposição se mostraram bem sensíveis para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, culicídeos que mais causa prejuízo à saúde humana em área urbana do país, além de permitir a coleta de espécies não hematófagas e com vocação controle biológico do gênero *Toxorhynchites*.

Os resultados desse trabalho demonstraram que diferentes espécies de culicídeos respondem, de forma diversa, aos tipos de uso e cobertura do solo, indicando afinidades, as

quais, sendo mais evidentes, se mantêm nas três escalas avaliadas. O estudo também amplia a área de ocorrência de *Sa. albiprivus* e *Li. durhami* e as notificações de ocorrência de *Ae. aegypti* em áreas verdes urbanas. Assim, estimula a questionamentos acerca da eficácia de métodos que utilizam a supressão de criadouros no controle populacional de culicídeos vetores em áreas próximas a áreas verdes urbanas. Além disso, registra a ocorrência de *Toxorhynchites*, gênero que alberga espécies predadoras com capacidade de explorar os mesmo recursos e áreas de importantes espécies vetoras, assinalando o potencial desta no controle biológico.

Agradecimentos

À Dra. Fernanda Mello do LACEN/RS pelo acesso à coleção de referência, à Dra. Márcia Bicudo (USP) e MSc. Betina Westhal (UFPR) pela identificação específica de representantes dos gêneros *Culex* e *Sabethes*. À CAPES pela concessão de bolsa à primeira autora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albeny, D.S., Cassiano S.R., Ataíde L.M.S. and Vilela E.F. 2010. Primeiro registro do gênero *Toxorhynchites* (Theobald) (Diptera, Culicidae) em Mata Atlântica, Viçosa, MG. *Ceres* 57: 181-184

Beier, J. C., Patricoski, C., Travis, M., and Kranzfelder, J. 1983. Influence of water chemical and environmental parameters on larval mosquito dynamics in tires. *Environmental Entomology*, 12: 434-438.

Bödenheimer, T. S. 1955. *Précis d'écologie animale*. 1 ed. Paris: Payot; 315pp.

Cardoso, J. da C., E. Corseuil, and J.M.S. Barata. 2004. Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomol. Vectores* 11:159-177.

Cardoso, J. da C., E. Corseuil, and J.M.S. Barata. 2005. Culicinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Entomol.* 49:275-287.

Cardoso, J. da C., M.A.B. de Almeida, E. dos Santos, D.F. da Fonseca, M.A.M. Sallum, C.A. Noll. H.A. de O. Monteiro, A.C.R. Cruz, V.L. Carvalho, E.V. Pinto et al.

2010. Yellow Fever Virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, Southern Brazil, 2008. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 1918-1924.

Cardoso, J. D. C., Paula, M. B. D., Fernandes, A., Santos, E. D., Almeida, M. A. B. D., Fonseca, D. F. D., & Sallum, M. A. M. 2010 B. New records and epidemiological potential of certain species of mosquito (Diptera, Culicidae) in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43: 552-556.

Cardoso, J. D. C., de Paula, M. B., Fernandes, A., Santos, E., de Almeida, M. A. B., da Fonseca, D. F., Sallum, M. A. M. 2011 A. First Record of *Culex* (*Culex*) *brethesi* (Dyar)(Diptera: Culicidae) in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Neotropical entomology*, 40:145-147.

Cardoso, J. D. C., de Paula, M. B., Fernandes, A., dos Santos, E., de Almeida, M. A. B., da Fonseca, D. F., Sallum, M. A. M. 2011 B. 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*, 36: 175-186.

Cardoso, J. D. C., Bergo, E. S., Oliveira, T. M., Sant'Ana, D. C., Motoki, M. T., Sallum, M. A. M. 2012. New Records of *Anopheles homunculus* in Central and Serra Do Mar Biodiversity Corridors of the Atlantic Forest, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28: 1-5.

Collins, L.E. and Blackwell, A. 2000. The biology of *Toxorhynchites* mosquitoes and their potential as biocontrol agents. *Biocontrol News and Information*, 21:105-116.

Consoli, R.A.G.B. and R. Lourenço-de-Oliveira. 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, 225 pp.

Forattini, O.P. 2002. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. v. 2. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 860 pp.

Fay R.W. and Eliason D.A. 1966. A preferred oviposition sites as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News*. 26:531-535

Friebe, B. 1983. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens: 3. Die Kaferfauna. *Carolinea, Karlshue*, 41:45-80.

Focks, D.A. 2007. *Toxorhynchites* as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23:118-127.

Gomes A.C., Torres M.A.N., Ferri L., Costa F.R., Silva A.M.. 2007. Finding of *Haemagogus* (Conopostegus) *leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), in the municipality of Porto Alegre, state of Rio Grande Do Sul. Rev Soc Bras Med Trop 40: 487-488.

Harrington, L. C., Edman, J. D., & Scott, T. W. 2001. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? Journal of medical entomology, 38:411-422.

Hasenack, H. 2008. *Diagnóstico Ambiental de Porto Alegre: geologia, solos, drenagem, vegetação, ocupação e paisagem*. Porto Alegre. Secretaria Municipal do Meio Ambiente. 88pp.

Jones, C.J. and Schreiber, E.T. 1994. The carnivores, *Toxorhynchites*. Wing Beats, 5:4-7.

Lane, J. 1953. *Neotropical Culicidae*. Editora da Universidade de São Paulo, v.1, p. 548pp.

Legendre, P., & Legendre, L. 2012. *Numerical ecology*. v.24 . Elsevier.106pp.

Lourenço-de-Oliveira, R., Vazeille, M., Filippis, A.M.B. and Failloux, A.B. 2003. *Aedes albopictus* from Brazil and southern United States: genetic variation and vector competence for dengue and yellow fever viruses. Am J Trop Med Hyg 69: 105-114.

Lourenço-de-Oliveira R., Castro M.G., Braks M.A.H., Lounibos L.P. 2004. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. J Vector Ecol 29: 94-100.

Lopes, J., Navarro-Silva, M.A., Oliveira, V.D.R.B., Borsato, A.M. and Braga, M.C.P. 1995. Ecologia de mosquitos (Diptera:Culicidae) em criadouros naturais e artificiais em área rural do norte do estado do Paraná, Brasil. III. Viabilização de recipientes como criadouros. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde.16:238-243.

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

Luz, E., Consolim, J., Barbosa, O. C., Torres, P. B. 1987. Larvas de *Anopheles* (sub gênero *Kerteszia*) Theobald 1905 encontradas em criadouros artificiais, no Estado do Paraná, Brasil. Rev. Saúde Pública, 21: 466-468.

Lozovei, A.L. 2001. Microhabitats de mosquitos (diptera, culicidae) em internódios de taquara na mata atlântica, Paraná, Brasil. Iheringia, Série Zoologia. 90: 3-13.

Medeiros, A.S., Marcondes, C.B., Azevedo, P.R.M., Jerônimo, S.M.B., Macedo, V.P.S. and Ximenes, M.F.F.M. 2009. Seasonal variation of potential flavivirus vectors in an urban biological reserve in Northeastern Brazil. *J Med Entomol.* 46:1450-1457

Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., Borcard, D. 2006. Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology*, 87: 2614-2625.

Reinert, J. F. 2009. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *European Mosquito Bulletin*, 27: 68-76.

Reis, M., Müller, G.A., Marcondes, C.B. 2010. Inventário de mosquitos (Diptera: Culicidae) da Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Biota Neotrop.* 10: 33-337.

R Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>

Steffan, W.A. and Evenhuis, N.L.1981. Biology of Toxorhynchites. *Annual Review of Entomology*, 26:159-181.

Reiter, P., M. A. Amador, R. A. Anderson & G. G. Clark. 1995. Short report: Dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 52: 177-179.

Russell, R. C., Webb, C. E., Williams, C. R., & Ritchie, S. A. 2005. Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *Medical and veterinary entomology*. 19: 451-457.

WRBU (Walter Reed Biosystematics Unit) 2014 Systematic catalog of Culicidae. Disponível em: http://www.mosquitocatalog.org/species/species_profile.asp?ID=3425 (Acesso em abril de 2014)

Zequi, A.C., Lopes, J., Medri, I.M. 2005. Imaturos de Culicidae (Diptera) encontrados em recipientes instalados em mata residual no município de Londrina, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22:656-661

Tabela 1: Classes de uso e cobertura do solo determinadas no Diagnóstico Ambiental de Porto Alegre (Hasenack et al., 2008) e reagrupadas em cinco novas classes, sob a perspectiva do grupo estudado.

Classes Originais	Classes Reagrupadas
Cultivo permanente Vegetação arbustiva Bosque Mata degradada	Bosque
Banhado Cultivo temporário Campo manejado Campo nativo	Campo
Casas Casas isoladas Edificações rurais diversas Edifícios Edifícios e casas Pavilhões Ocupação espontânea	Urbano
Afloramento rochoso Pavimento Solo exposto Água	Inóspito
Mata Nativa	Mata Nativa

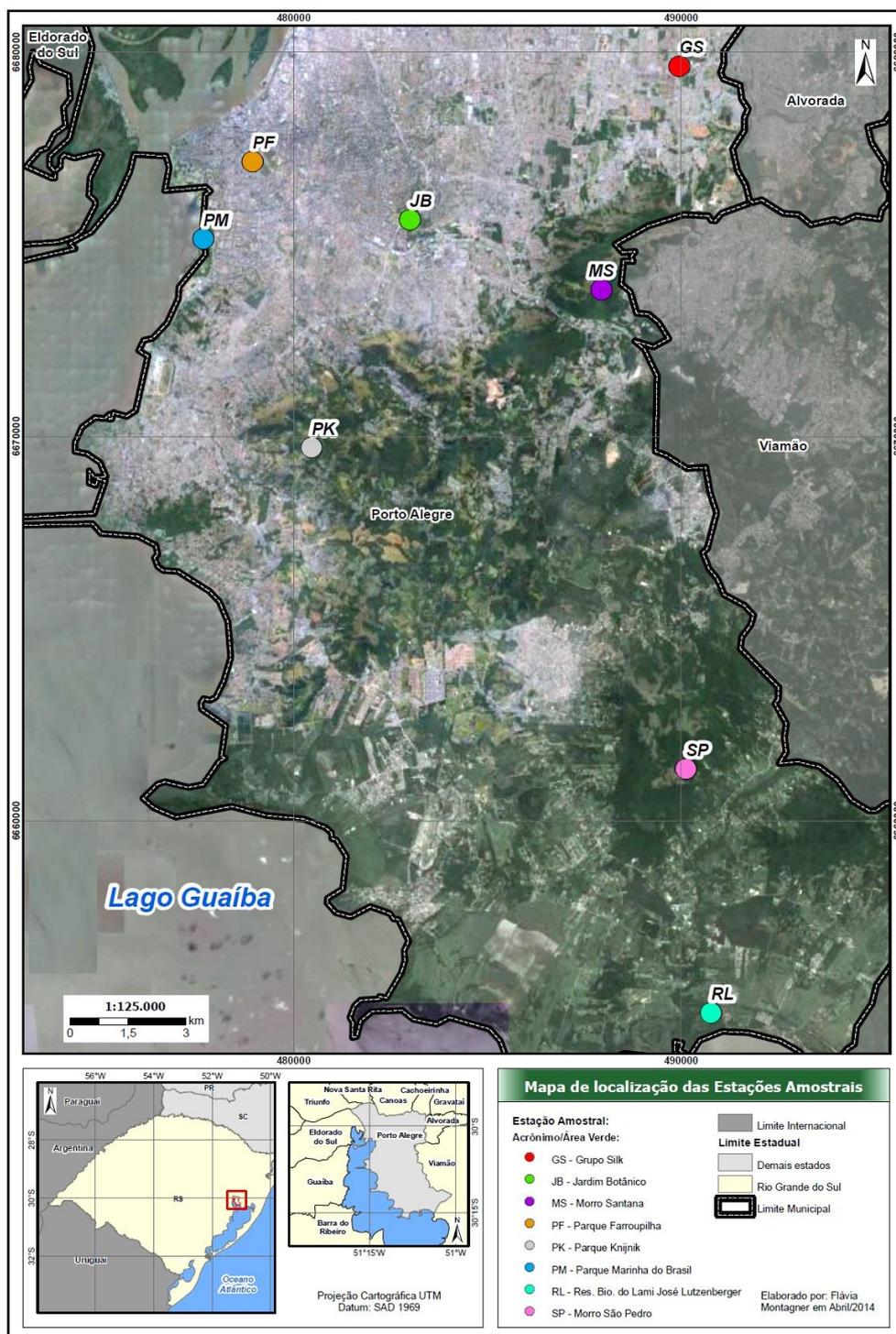


Figura 1: Mapa da área de estudos com indicação das áreas verdes avaliadas de 10/2012 a 03/2013 no município de Porto Alegre, RS

Tabela 2: Número de espécimes e constância ((A) = Acidentais, (B) = Acessórias e (C) = Constantes), dominância, abundância relativa (%) de Culicidae capturados com armadilha de oviposição de 10/2012 a 03/2013 em oito áreas verdes de Porto Alegre – RS

	GS	PF	PM	JB	MS	SP	RL	PK	Total	Dom.	%	Acr.
<i>Aedes albopictus</i>	643 (C)	470 (C)	649 (C)	223(C)	44 (C)	96 (C)	259 (C)	105 (C)	2489	EUD	59,56	Ae.alb.
<i>Limatus durhami</i>	73 (C)	4 (A)	25 (B)	398 (C)	254 (C)	106 (C)	401 (C)	8 (A)	1269	EUD	30,37	Lm.dur.
<i>Aedes aegypti</i>	8 (B)	35 (C)	28 (A)	5 (A)	17 (A)				93	SUB	2,23	Ae.aeg.
<i>Aedes</i> sp.						2 (A)			2	RAR	0,05	Ae.sp.
<i>Aedes fluviatilis</i>			20 (B)	6 (A)		2 (A)			28	RAR	0,67	Ae.flu.
<i>Culex dolosus</i>				10 (A)	26 (A)			69 (A)	105	SUB	2,51	Cx.dol.
<i>Culex quinquefasciatus</i>			34 (A)						34	RAR	0,81	Cx.qui.
<i>Haemagogus leucoceleanus</i>				3 (A)	15 (B)	84 (C)			102	SUB	2,44	Hg.leu.
<i>Toxorhynchites</i> sp.	13 (B)	1 (A)	2 (A)	3 (A)	7 (B)	12 (C)	5 (B)	13 (C)	56	REC	1,34	Tox.sp.
<i>Sabethes albiprivus</i>					1 (A)				1	RAR	0,02	Sa.alb.
									4179		100	



Figura 2: Armadilha de oviposição utilizada no levantamento de culicídeos em áreas verdes de Porto Alegre, RS.

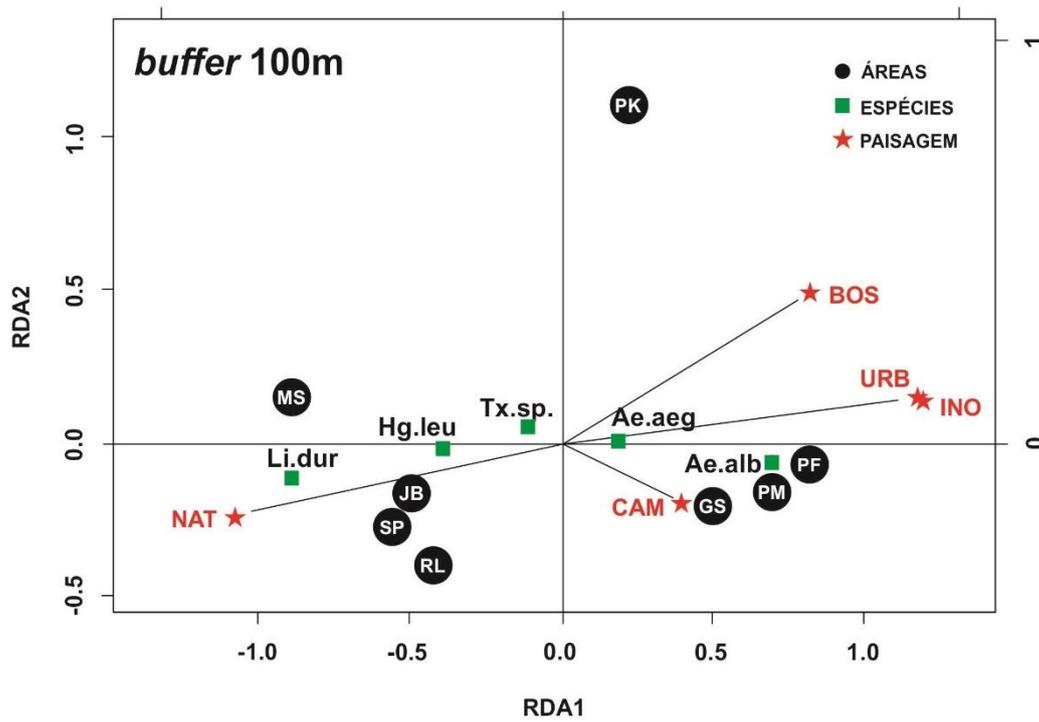


Figura 3: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em *buffer* de 100m de raio, em cada estação amostral.

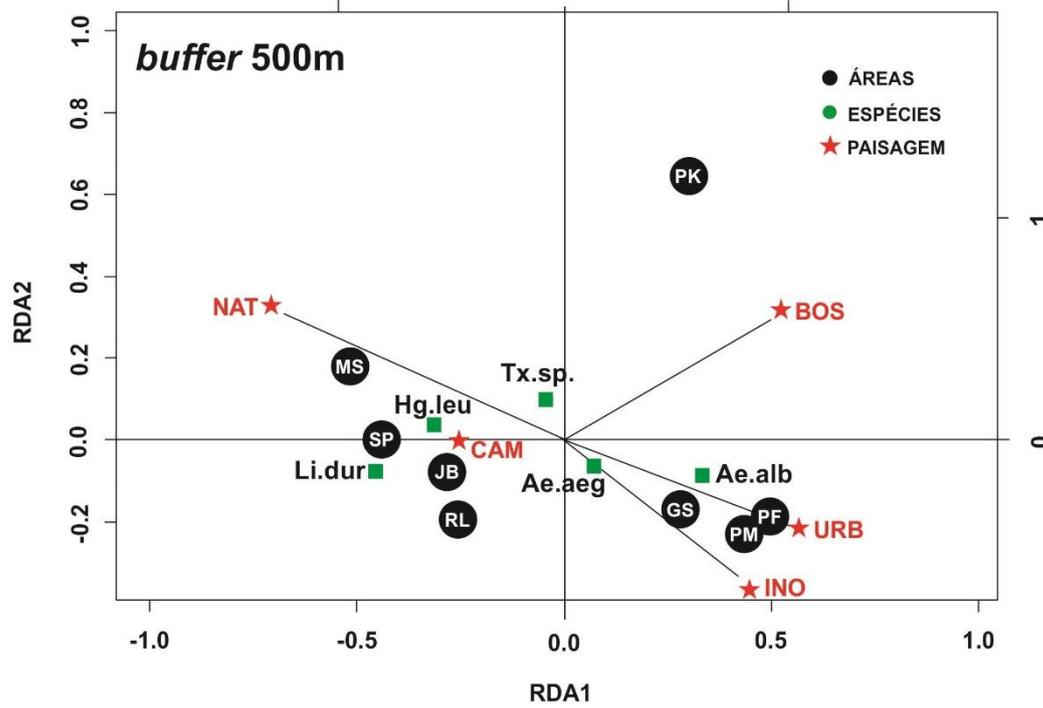


Figura 4: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em *buffer* de 500m de raio, em cada estação amostral.

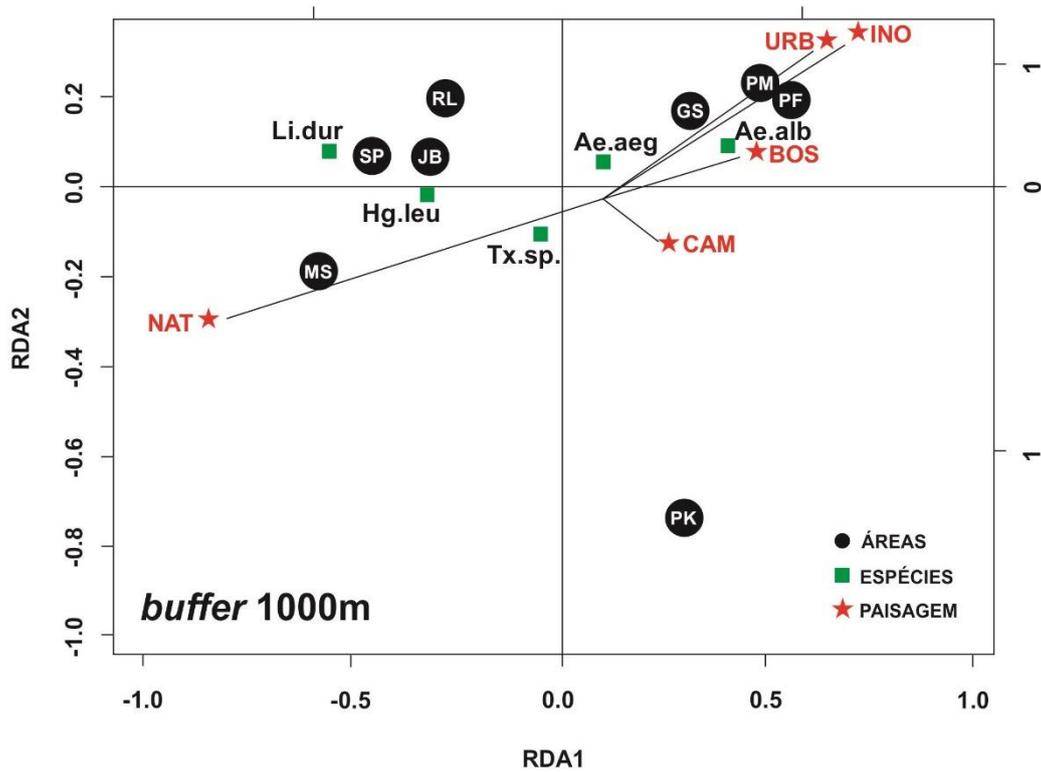


Figura 5: RDA (Análise de Redundância) realizada entre abundância de culicídeos, submetidos à transformação de Hellinger, e a porcentagem da área ocupada pelas classes de uso e cobertura do solo (Tabela 1), em *buffer* de 1000m de raio, em cada estação amostral.

ARTIGO II: OCORRÊNCIA DE VETORES POTENCIAIS DOS VÍRUS DA DENGUE, FEBRE AMARELA E FEBRE CHIKUNGUNYA EM ÁREAS VERDES DE PORTO ALEGRE (RIO GRANDE DO SUL-BRASIL).*

* Submetido à Caderno de Saúde Pública (Anexo 2 e 3)

OCORRÊNCIA DE VETORES POTENCIAIS DOS VÍRUS DA DENGUE, FEBRE AMARELA E FEBRE CHIKUNGUNYA EM ÁREAS VERDES DE PORTO ALEGRE (RIO GRANDE DO SUL-BRASIL).*

Vetores da dengue, febre amarela e febre chikungunya em áreas verdes.

Occurrence of potential vectors of dengue, yellow fever and chikungunya in green areas of Porto Alegre (Rio Grande do Sul- Brasil).

Ocurrencia de vectores de la dengue, fiebre amarilla y fiebre de chikungunya em áreas verdes de Porto Alegre (Rio Grande do Sul- Brasil).

Flávia Regina Girardi Montagner¹, Onilda Santos da Silva², Simone Mundstock Jahnke¹

¹ Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

²ICBS Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

Correspondência:

Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 – Porto Alegre, RS, Brasil

Tel: 55 51 33086038

Fax: 55 51 33086015

flaviargmontagner@gmail.com

Palavras-chave: febre amarela, dengue, chikungunya, porto alegre, área verde

Resumo

Esse estudo investiga a ocorrência de vetores da febre amarela, dengue e febre chikungunya, exclusivos ou compartilhados, nessas áreas, buscando diminuir lacunas existentes sobre o conhecimento e interação destes agentes. Oito áreas verdes de Porto Alegre foram avaliadas com coletas quinzenais entre 10/2012 e 03/2013, em armadilhas de oviposição. Foram coletados 2450 culicídeos, relacionados à febre amarela, dengue e chikungunya: *Aedes albopictus* (92 %); *Haemagogus leucocelaenus* (4,2%); *Aedes aegypti* (3,8%). Destes a primeira espécie se destacou, sendo eudominante durante a amostragem e constante nas oito áreas. Foi verificada a ocorrência simultânea dessas espécies em algumas áreas, que pode representar a oportunidade para a introdução do vírus chikungunya e a mudança do perfil epidemiológico de doença, com a urbanização da febre amarela ou tornando a dengue silvestre.

Abstract

*This study investigates the occurrence of yellow fever, chikungunya, and dengue vectors (exclusive or mutual) in urban green areas in order to decrease gaps in knowledge of these agents. We evaluated eight green areas in Porto Alegre, gathering data from oviposition traps biweekly between October 2012 and March 2014. We collected 2450 culicidae belonging to three different species associated with yellow fever and dengue, as follows: *Aedes albopictus* (92%); *Haemagogus leucocelaenus* (4,2%) and *Aedes aegypti* (3,8%). The first species was noteworthy, being eudominant throughout sampling and constant in all eight areas. We recorded the simultaneous occurrence of these species in some areas, which may represent an opportunity for the introduction of the chikungunya virus and potential shift in the epidemiological profile of the diseases at issue, with yellow fever becoming urban and dengue wild.*

Resumen

Este estudio investiga la ocurrencia de vectores de la fiebre amarilla, dengue y fiebre de chikungunya, exclusivos o compartidos, en estas áreas, buscando disminuir las lagunas existentes sobre el conocimiento e interacción de estos agentes. Ocho áreas verdes de Porto Alegre fueron evaluadas con colectas quincenales entre 10/2012 y 03/2013, en trampas de oviposición. Fueron colectados 2450 culícidos, relacionados a la fiebre amarilla, dengue e fiebre de chikungunya: *Aedes albopictus* (92%); *Haemagogus leucocelaenus* (4,2%); *Aedes aegypti* (3,8%). De estas, la primera especie se destacó, siendo eudominante durante el muestreo y constante en las ocho áreas. Fue verificada la ocurrencia simultánea de dichas especies en algunas áreas, lo que puede representar una oportunidad para la

introducción del vírus chikungunya y el cambio del perfil epidemiológico de la enfermedad, con la urbanización de la fiebre amarilla o tornando el dengue silvestre.

INTRODUÇÃO

Representantes dos gêneros *Flavivirus* e *Alphavirus* tem grande importância em saúde pública uma vez que utilizam insetos vetores para a manutenção de seu ciclo biológico. Normalmente, as diferentes espécies circulam em ambiente silvestre e, ocasionalmente, podem afetar humanos e animais domésticos que penetram nesse meio. A ocorrência do grupo é mais expressiva em países tropicais, onde o clima oferece condições favoráveis para o desenvolvimento¹. No Brasil representantes destes gêneros são responsáveis por pelo menos doze tipos de infecções: Bussuquara, Cacipacore, dengue sorotipos 1, 2, 3 e 4, Iguape; Ilheus, Rocio; encefalite Saint Louis; febre amarela e febre chikungunya.

Dengue é a mais importante arbovirose em todo o mundo. A Organização Mundial de Saúde estima que de 50-100 milhões de casos ocorram no mundo anualmente e que mais de 2,5 bilhões de pessoas correm o risco de infecção^{2,3}. Além disso, é a doença que mais causa morbidez e mortalidade em comparação com outras infecções virais transmitidas por artrópodes⁴. No Rio Grande do Sul (RS), o primeiro caso autóctone de dengue foi registrado em 2007, na região noroeste do Estado. Dois anos mais tarde, um surto atingiu a mesma região, com o envolvimento de 64 municípios. Segundo dados da Secretaria Estadual de Saúde do RS, em 2013 foram notificados 424 casos de dengue no RS, destes, 220 ocorreram em Porto Alegre, sendo 151 autóctones e 69 importados⁹.

A febre amarela tem ampla distribuição em países tropicais e subtropicais dos continentes africano, europeu e americano⁵. A transmissão do vírus envolve primatas não humanos, humanos e mosquitos pertencentes aos gêneros *Aedes*, *Haemagogus* e *Sabethes*^{6,7,8}. A febre amarela se apresentava restrita à região norte e centro oeste do Brasil até 1999, posteriormente o perfil epidemiológico da doença foi alterado e a área epizootica passou a incluir os estados da Bahia, Minas Gerais, Paraná, Piauí, Santa Catarina, São Paulo e RS¹⁰. Depois de quatro décadas sem notificação de eventos envolvendo febre amarela no RS, a partir de 2001 eles voltaram a ocorrer. A partir de 2001 foram feitos vários registros de morte de bugios (*Alouatta* sp.) pelo vírus amarílico, que levaram, em 2013, a redefinição da região noroeste do estado como área de transição desta doença. Entre 2008 e 2009, um

surto de febre amarela atingiu o Estado, atingindo 67 municípios ¹¹, além de 21 casos humanos ^{11 12}, dos quais nove evoluíram a óbito. A partir daí, foi estabelecida uma Área com Recomendação de Vacinação abrangendo 293 municípios ¹² incluindo a zona rural de Porto Alegre devido a notificação de óbito por febre amarela de dois bugios no município vizinho, Guaíba.

Com relação ao vírus da febre chikungunya, o primeiro caso relatado no Brasil ocorreu no Rio de Janeiro em 2012 ¹³. De acordo com o Ministério da Saúde¹⁴ (2014) já foram conformados 79 casos de Febre Chikungunya no Brasil, até o dia 27 de setembro deste ano. Destes, 38 são importados de pessoas que viajaram para países com transmissão da doença, como República Dominicana, Haiti, Venezuela, Ilhas do Caribe e Guiana Francesa. Os outros 41 foram diagnosticados em pessoas sem registro de viagem internacional para países onde ocorre a transmissão. Desses casos, chamados de autóctones, oito foram registrados no município de Oiapoque (AP) e 33 no município de Feira de Santana (BA).

Flavivirose e alfavirose, assim como outras arboviroses, se mantêm na natureza através de ciclos de transmissão que se desenvolvem entre mosquitos vetores e hospedeiros vertebrados ¹⁵. Humanos são os principais hospedeiros intermediários nas epidemias urbanas e hospedeiros acidentais nas silvestres. Assim, conhecer as áreas de ocorrência dos vetores é imprescindível para a compreensão da dinâmica das infecções, oferecendo subsídios para o desenvolvimento de políticas públicas que visem sua prevenção e controle.

Áreas verdes inseridas em meio urbano são especialmente importantes para essas infecções, pois oferecem a oportunidade para o contato entre vetores e agentes infecciosos dos meios urbano e silvestre. Esses ambientes costumam ser negligenciados em programas de monitoramento e controle de vetores urbanos. Entretanto, alguns estudos investigam a ocorrência de vetores nesses ambientes, principalmente em cidades situadas em remanescentes de Mata Atlântica, onde essa característica de paisagem é frequente, como em Florianópolis ¹⁶ e Natal ¹⁷.

Porto Alegre está situada na região de transição entre o bioma Pampa e Mata Atlântica, e, assim como as cidades supracitadas, possui áreas verdes em meio urbano, formadas por fragmentos de Mata Atlântica, parques e outros tipos de formação. Mesmo sendo cada vez mais estreita a relação do município com arboviroses, seja pelo seu envolvimento no surto de febre amarela silvestre de 2008-2009, pelo aumento na ocorrência de casos autóctones de dengue, ou por ser considerado alto o risco de

introdução do vírus da chikungunya, não existem publicações de levantamentos de vetores em suas áreas verdes. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de vetores de dengue, febre amarela e febre chikungunya, exclusivos ou compartilhados, em áreas verdes de Porto Alegre, buscando diminuir lacunas existentes sobre o conhecimento e interação destes agentes.

Material e Métodos

Foram determinadas oito áreas verdes de Porto Alegre, distribuídas da região central à zona rural do município: Parque Farroupilha (PF- UTM 478925 22J 6677169); Parque Marinha do Brasil (PM- UTM 477656 22J 6675151); Jardim Botânico (JB – UTM 482989 22J 6675652); Grupo Silk (GS- UTM 489947 22J 6679643); Parque Knijnik (PK- UTM 480452 22J 6669719); Morro Santana (MS – UTM 487932 22J 6673829); Morro São Pedro (SP- UTM 490116 22J 6661360); Reserva Biológica do Lami José Lutzenberger (RL- UTM 490759 22J 6655009). Para esse trabalho foi considerado como área verde o espaço ocupado por vegetação arbórea ou arbustiva, de origem nativa ou exótica.

Nas coletas foram utilizadas armadilhas de oviposição construídas de garrafas PET de 2L (Coca-Cola[®]), com duas aberturas laterais de 15 cm x 8,5 cm, feitas na altura do rótulo, e pintadas externamente com tinta spray preto fosco (Chemicolor[®]). No interior foi inserida uma paleta de Eucatex[®], com 15 cm x 5 cm, parcialmente submersa em 600 mL de água destilada. Em cada uma das oito áreas verdes foram instaladas três armadilhas, ao nível do solo, a um metro de distância uma da outra, em disposição triangular.

Nas coletas, ocorridas quinzenalmente durante seis meses (outubro de 2012 a março de 2013), o conteúdo das armadilhas era filtrado, larvas e pupas coletadas e a água devolvida à armadilha. Quando necessário o volume de água era reestabelecido até 600mL. As larvas de quarto ínstar foram sacrificadas imediatamente após a coleta. As larvas de primeiro a terceiro instares eram criadas em recipientes plásticos de 135 mL, cobertos com tecido voile, em água destilada e alimentadas com ração de peixe (Tatramin[®]), até atingirem o quarto ínstar. As pupas foram mantidas em água destilada até a emergência. A identificação de larvas de quarto ínstar e adultos foi feita segundo Lane (1953)¹⁸ e Forattini(2002)¹⁹. Os gêneros foram abreviados de acordo com Reinert (2009)²⁰. A confirmação das espécies ocorreu pela comparação direta com exemplares da coleção entomológica de referência do LACEN-RS.

As espécies foram classificadas como constantes (presentes em mais de 50% das coletas), acessórias (presentes entre 25-50% das coletas) e acidentais (presentes em menos

de 25% das coletas), segundo Bödenheimer²¹. A dominância (Dom.) foi definida de acordo com Friebe (1983)²², a partir da abundância relativa de cada espécie no total da amostra, sendo: eudominante $\geq 10\%$, dominante $5 \leq 10\%$, subdominante $2 \leq 5\%$, recessiva $1 \leq 2\%$ e rara $< 1\%$.

RESULTADOS

Foram coletados 2.450 culicídeos, de três espécies relacionadas à transmissão dos vírus da dengue, febre amarela e chikungunya (tabela 1): 2450 *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894), 93 *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e 102 *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924).

Aedes albopictus foi a única espécie eudominante (tabela 1), estando presente em todas as áreas amostradas. Em relação às ocasiões amostrais, foi constante em todas as áreas, sendo que no GS, PF e PM apresentou 100% de constância, isto é, presente em todas as coletas. *Haemagogus leucocelaenus* foi coletado em três das áreas verdes, sendo subdominante em relação ao levantamento total, e acidental no JB (8,3%), acessória no MS (25%) e constante no SP (58,3%). *Aedes aegypti* apresentou-se subdominante em relação às outras espécies e constante no PF (66,7%) e PM (66,7%), acessória no GS (33,7%) e acidental no JB (16,7%) e MS (16,7%).

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou a dominância de *Ae. albopictus* nas áreas verdes estudadas. Isso pode ser justificado pela conhecida adaptação da espécie ao ambiente de transição entre o meio silvestre e urbano¹⁹, que é resultado da sua capacidade de utilizar com versatilidade criadouros e fontes de repasto sanguíneo de ambos os ambientes¹⁹. A alta incidência de *Ae. albopictus* em áreas verdes urbanas, como a observada nesse trabalho, é consistente com os observados em outros^{17 23 24}.

A confirmação da ocorrência de *Hg. leucocelaenus* no MS, corrobora a notificação feita por Gomes et al. (2007)²⁵, com espécimes coletados em 2006 na mesma área verde. Além disso, o nosso levantamento ampliou a distribuição da espécie em Porto Alegre para o SP e JB. Segundo Cardoso²⁶(2010), *Hg. leucocelaenus* é o principal vetor do vírus da febre amarela silvestre no RS. A constatação da sua presença na área SP como espécie constante é problemática, uma vez que esse fragmento de mata comporta a maior densidade de bugios (*Alouatta* sp.) do município. Considerando que esses primatas não

humanos raramente sobrevivem à infecção por esta doença ²⁷, esse relato expõe a vulnerabilidade desses organismos frente a um surto de febre amarela silvestre. A presença de *Hg. leucocelaenus* em áreas verdes urbanas, como o JB e MS são preocupantes, pois aumentam as chances de interação entre vetores e humanos, criando o risco potencial de envolvimento da população humana no ciclo da febre amarela silvestre ²⁵. No JB, que é um ponto turístico da cidade, ainda existe a possibilidade do vírus amarílico ser introduzido através de visitantes doentes. Embora essa possibilidade seja remota, por depender da ocorrência simultânea de vários fatores, não deve ser desprezada, sendo necessária dar atenção às excursões provenientes de regiões em que estejam ocorrendo surtos da doença.

Cinco das áreas amostradas (PM, PF, GS, MS e JB) apresentaram *Ae. aegypti*. Sua presença em ambiente urbano é conhecida há bastante tempo em Porto Alegre ²⁸. Embora seu habitat preferencial seja ambientes intensamente urbanizados, mas alguns trabalhos, como Natal¹⁷ e Rio de Janeiro²⁴, vem flagrando sua presença também no interior de áreas verdes urbanas.

A coexistência de *Ae. aegypti*, *Hg. leucocelaenus* e *Ae. albopictus* observada nas áreas MS e JB, pode representar a oportunidade para a alteração do perfil epidemiológico de doenças como a febre amarela e dengue. No Brasil das últimas décadas a febre amarela tem se manifestado apenas na forma silvestre. Entretanto, vem sendo discutida a possibilidade de ressurgimento da forma urbana da doença ^{27 29}, extinta no país desde a década de 40. Johnson et al. (2003) ³⁰ e Gomes et al. (2008) ³¹ acreditam que *Ae. albopictus* possa atuar como elo entre os dois ciclos da febre amarela. Esse culicídeo, então, poderia levar o vírus do meio silvestre para o urbano, em razão da sua comprovada competência vetorial ^{30 32} e por habitar o ambiente de transição entre os dois meios¹⁹. A febre amarela urbana seria então mantida em um ciclo envolvendo humanos e *Ae. aegypti*, o clássico vetor urbano da doença. Sob essa perspectiva, a dominância de *Ae. albopictus* nas áreas verdes analisadas, somada à sobreposição de habitat com *Hg. leucocelaenus* em três delas, à ampla distribuição de *Ae. aegypti* nas áreas intensamente urbanizadas da cidade e ao aumento da incidência de epizootias de febre amarela silvestre no Estado nos últimos tempos, criam um cenário potencialmente perigoso para a reurbanização dessa doença.

O crescente número de notificações de casos autóctones de dengue ⁹ (SES, 2014) e a presença de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Hg. leucocelaenus* em áreas verdes do município estudado suscitam a possibilidade para o desenvolvimento de um ciclo silvestre da infecção. Isso porque, embora a doença, em princípio, tenha um caráter estritamente urbano nas Américas, com os vírus circulando entre humanos e *Ae. aegypti*, algumas novas

evidências de maior abrangência deste estão sendo apontadas. Um destas é o isolamento do vírus da dengue em larvas de *Hg. leucocelaenus* e *Ae. albopictus*³³ no Brasil e numa série de mamíferos selvagens da Guiana Francesa³⁴. Também foram notificados casos de dengue em numa tribo de índios da Bolívia, onde aparentemente não há a presença de *Ae. aegypti*³⁵. Esses registros vêm fomentando questionamentos acerca do risco da ocorrência de dengue silvestre no continente, assim como ocorre na Ásia e África³⁶.

A ocorrência simultânea das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, oferece ainda oferece a oportunidade para a introdução das duas linhagens conhecidas do vírus chikungunya: linhagem asiática, mais suscetível a *Ae. aegypti*³⁷ no meio urbano e a africana, mais suscetível a *Ae. albopictus*³⁷. Ocorrendo a introdução do vírus no município, a presença desses vetores em concomitância com animais silvestres, como os primatas do gênero *Alouatta*, (SP e RL), podem favorecer o estabelecimento do ciclo enzoótico da febre chikungunya, como acontece na África. Naquele continente, além de ocorrer o ciclo urbano, existe um ciclo enzoótico, envolvendo vetores acrodendrófilos e primatas não humanos como hospedeiros amplificadores³⁸, com dinâmica semelhante à febre amarela silvestre nas Américas. A febre chikungunya ainda não tem vacina ou terapias antivirais específicas. Assim, a única forma de controlá-la é reduzindo as populações de vetores e o contato destes com humanos³⁹, do modo como é realizado para o controle da dengue em meio urbano. Nesse cenário, o desenvolvimento do ciclo enzoótico da doença em Porto Alegre teria consequências imprevisíveis devido à dificuldade de se controlar o desenvolvimento de vetores em ambientes de mata. Soma-se a isso, a falta de conhecimento acerca da vulnerabilidade das populações de vertebrados nativos à infecção e à capacidade vetorial dos culicídeos presentes nessas áreas.

Com esse trabalho ampliamos o conhecimento acerca da ocorrência de vetores exclusivos e compartilhados da febre amarela, dengue e febre chikungunya em Porto Alegre, fornecendo subsídios para o melhor entendimento da dinâmica desses vetores em áreas verdes do município. Além disso, verificamos a vulnerabilidade das populações de *Alouatta* sp. do SP frente a um surto de febre amarela silvestre, os riscos da mudança no perfil epidemiológico de dengue e febre amarela, e de introdução do vírus chikungunya. A constatação da ocorrência de *Hg. leucocelaenus* em áreas verdes urbanas mostram a necessidade de se estudar a capacidade de dispersão desses organismos na paisagem de Porto Alegre e a sua consequente capacidade de disseminar o vírus da febre amarela durante um surto da doença.

Atualmente a crescente antropização da paisagem e as modificações climáticas preocupam quanto à transmissão de agentes patogênicos por insetos vetores. O aumento de temperatura e da incidência de chuvas, somada ao aumento dos adensamentos humanos, favorecem o desenvolvimento de vetores urbanos. Futuramente, Porto Alegre pode se tornar uma cidade de transmissão de arboviroses importantes como febre amarela e febre chikungunya, além de continuar registrando casos autóctones de dengue.

COLABORADORES

Flávia Regina Girardi Montagner colaborou com a revisão bibliográfica, concepção do estudo, coleta e identificação entomológica, análise de dados e redação do artigo. Onilda Santos da Silva contribuiu com a revisão bibliográfica, concepção do estudo e revisão e ajustes do artigo. Simone Mundstock Jahnke colaborou com concepção do estudo, análise de dados, revisão e ajustes do artigo.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor e à Dra. Fernanda Mello pelo acesso à coleção de referência do LACEN/RS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Figueiredo, LTM. The Brazilian Flaviviruses. *Microbes Infect.* 2000; 2: 1643-1649.
2. World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. World Health Organization; 2009 (WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1)
3. World Health Organization. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. World Health Organization, 2012.
4. Scott TW, Takken W. Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission. *Trends Parasit* 2012; 28: 114-121.
5. Jonker EFF, Visser, LG, Roukens AHE. Advances and controversies in yellow fever vaccination. *Ther Adv Vaccines.* 2013; 1: 144–152.
6. Camargo-Neves VI, Poletto DW, Rodas LA, Pachioli ML, Cardoso RP, Scandar SA, et al. 2005. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2005; 2:1278-86.

7. Tranquilin MV, Lehmkuhl RC, Maron A, Silva LR, Ziliotto L, Seki MC, et al. First report of yellow fever virus in non-human primates in the state of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013; 46:522-524.
8. Lira-Vieira AR, Gurgel-Gonçalves R, Moreira IM, Yoshizawa MA, 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.
9. Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul <http://www.saude.rs.gov.br/> (acessado em Out/2014).
10. Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Revpan-Amaz*. 2011; 2: 11-26.
11. Almeida, MABD, Santos ED, Cardoso JDC, Fonseca DFD, Noll CA, Silveira VR, et al. Yellow fever outbreak affecting *Alouatta* populations in southern Brazil (Rio Grande Do Sul State), 2008–2009. *American Journal of Primatology* 2012; 74:68-76.
12. Almeida MA, Cardoso JDC, Santos E, Fonseca DF, Cruz LL, Faraco FJ, et al. Surveillance for yellow fever virus in non-human primates in southern Brazil, 2001–2011: a tool for prioritizing human populations for vaccination. *Plos Neglected Tropical Diseases* 2014; 8:E2741.
13. Albuquerque IG, Marandino R, Mendonça AP, Nogueira RM, Vasconcelos PF, Guerra LR, et al. Chikungunya virus infection: report of the first case diagnosed in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45:128-129.
14. Ministério da Saúde. <http://Portalsaude.Saude.Gov.Br/Index.Php/Cidadao/Principal/Agencia-Saude/15001-Chikungunya-Casos-Serao-Confirmados-Por-Criterio-Clinico> (acessado em Out/2014).
15. Figueiredo LTM, Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Tro*. 2007; 40:224-229.
16. Reis M, Müller GA, Marcondes CB. Inventário de mosquitos (Diptera: Culicidae) da Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Biota Neotrop* 2010; 10:333-337.

17. Medeiros AS, Marcondes CB, Azevedo PRM, Jerônimo SMB, Silva VPM, Ximenes MFFM. Seasonal variation of potential flavivirus vectors in an urban biological reserve in northeastern Brazil. *J Med Entomol* 2009; 46:1450-1457.
18. Lane, J. Neotropical Culicidae. v2 . São Paulo: Edusp; 1953.
19. Forattini OP. *Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia*. 2 ed. São Paulo: Edusp; 2002.
20. Reinert, JF. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *European Mosquito Bulletin* 2009; 27: 68-76.
21. BÖDENHEIMER, T. S. *Précis d'écologie animale*. 1 ed. Paris: Payot; 1955
22. FRIEBE B. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens: 3. Die Kaferfauna, *Karlsruhe*, n 41; 1983.
23. Honorio NA, Castro MG, DE Barros FS, Magalhaes MDE A, Sabroza PC. The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio De Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica* 2009; 25:1203-1214
24. Lourenço-de-Oliveira R, Castro MG, Braks MAH, Lounibos LP. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J Vector Ecol* 2004; 29:94-100.
25. Gomes AC, Torres MAN, Ferri L, Costa FR, Silva AM. Finding of *Haemagogus* (Conopostegus) *leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), in the municipality of Porto Alegre, state of Rio Grande Do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40: 487-488.
26. Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E, Fonseca DF, Sallum MAM, Noll CA, et al. Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008. *Emerg Infect Dis* 2010; 16:1918-1924.
27. Vasconcelos PFDC. Yellow fever. *Ver Soc Bras Med Tro* 2003; 36:275-293.
28. Cardoso JDC, Corseuil E, Barata JMS. Culicinae (Diptera, Culicidae) occurring in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Bras Entomol* 2005; 49: 275-287.
29. Monath TP. Yellow fever: an update. *Lancet Infect Dis*. 2001; 1: 11-20.
30. Johnson BW, Chambers TV, Crabtree MB, Filippis AMB, Vilarinhos PTR, Resende MC, et al. Vectors Competence of brazilian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* for brazilian yellow fever virus isolate. *T Roy Soc Trop Med H*. 2003; 96: 611-613.

31. Gomes ADC, Torres MAN, Gutierrez MFDC, Lemos FL, Lima MLN, Martins JF, et al. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizoóticas de febre amarela das regiões sudeste e sul do Brasil (Diptera: Culicidae). *Epidemiol Serv Saúde* 2008;17: 71-76.
32. Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filippis AMB, Failloux AB. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69:105-114.
33. Figueiredo ML, Gomes AC, Amarilla AA, Leandro AS, Orrico AS, Araujo RF, et al. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. *Virol J* 2010; 12:152.
34. Thoisy BD, Lacoste V, Germain A, Muñoz-Jordán J, Colón C, Mauffrey JF, et al. Dengue infection in neotropical forest mammals. *Vector-Borne Zoon Dis* 2009; 9:157-170.
35. Roberts DR, Peyton EL, Pinheiro FP, Balderrama F, Vargas R. Associations of arbovirus vectors with gallery forests and domestic environments in southeastern Bolivia. *Bull Pan Am Health Organ* 1984; 98:417-430
36. Marcondes CB, Tauil, PL. Dengue Silvestre: Devemos Nos Preocupar? *Ver Soc Bras Med Tro.* 2011; 44:263-264.
37. Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, et al. Two chikungunya isolates from the outbreak of la Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. *Plos One* 2007; 2:e1168.
38. Caglioti C, Lalle E, Castilletti C, Carletti F, Capobianchi MR, Bordi L. Chikungunya Virus Infection: an overview. *New Microbiol* 2013; 36:211–227.
39. WEAVER SC. Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health. *PloS Negl Trop Dis* 2014; 8:1-4

Tabela1: Número de espécimes e constância ((A) = Acidentais, (B) = Acessórias e (C) = Constantes), dominância, abundância relativa (%) de vetores capturados com armadilha de oviposição de 10/2012 a 03/2013 em oito áreas verdes de Porto Alegre – RS

	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Hg. leucoceleanus</i>	<i>Ae. aegypti</i>
GS	643 (C)		8 (B)
PF	470 (C)		35 (C)
PM	649 (C)		28 (C)
JB	223 (C)	3 (A)	5 (A)
MS	44 (C)	15 (B)	17 (A)
SP	96 (C)	84 (C)	
RL	25 (C)		
PK	105 (C)		
Total	2255	102	93
Dom.	EUD	SUB	SUB
Fr. %	92,0	4,2	3,8

(A) = Acidentais, (B) = Acessórias e (C) = Constantes

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A paisagem de Porto Alegre, composta por fragmentos de Mata Atlântica e parques inseridos numa matriz de forte ocupação urbana, somada à sobreposição de habitat de vetores importantes, criam um cenário favorável para a ocorrência de epidemias e a mudança no perfil epidemiológico de doenças. Agrava essa situação o fato de Porto Alegre apresentar significativo fluxo de pessoas oriundas de outras regiões do Brasil e outros países, que faz aumentar o risco de introdução de doenças não ocorrentes na região.

Mesmo esse estudo utilizando um método de coleta bastante seletivo, foi possível registrar novas ocorrências de espécies de Culicidae para Porto Alegre. Isso demonstra o quanto o conhecimento da fauna de culicídeos é limitado para o município.

Isso ocorre porque não existem centros de pesquisas dedicados à taxonomia e ecologia de Culicidae no Rio Grande do Sul (RS), além disso, a vigilância entomológica de Culicidae no RS é focada em espécies urbanas que provocam maior dano à saúde, principalmente *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

A vigilância entomológica é fundamental para a prevenção de doenças veiculadas por artrópodes ou a mitigação de seus efeitos, mas tão importante quanto conhecer a diversidade de organismos ocorrentes, é conhecer os aspectos moleculares destas. São necessários estudos que abordem aspectos moleculares de vetores ocorrentes no município, bem como no Estado, uma vez que diferentes linhagens da mesma espécie podem possuir diferentes competências vetoriais e exigir métodos de controles distintos.

A constatação da ocorrência de *Ae. aegypti* no interior de áreas verdes de mata preservada evocam questionamentos acerca da eficiência do método de supressão de criadouros em áreas urbanas próximas às verdes. Isso assinala a necessidade de serem implementados métodos que promovam a eliminação de ovos e larvas, através de produtos químicos industrializados, extratos naturais, organismos vivos (controle biológico) ou armadilhas mecânicas, evitando a dispersão de fêmeas grávidas.

Porto Alegre, assim como outras capitais brasileiras, tem vivenciado a expansão de sua fronteira urbana. Na região sul do município esse processo é mais intenso. Lá a paisagem rural composta por áreas de cultivo, campos e matas e vem sendo substituída por loteamentos residenciais, que entre outros impactos, aproxima a população de áreas de mata mais preservada, aumentando o risco de envolvimento desta no ciclo de zoonoses silvestres. A falta de conhecimento relativo à diversidade de vetores potenciais de doenças,

Culicidae e de outros grupos, que ocorrem em ambiente silvestre, é um óbice ao planejamento urbano adequado.

Esse trabalho além de ampliar a lista de espécies ocorrentes em Porto Alegre, redimensionou a ocorrência destas na paisagem local, contribuindo no estreitamento das lacunas de conhecimento relacionadas ao tema. Esses avanços podem contribuir no desenvolvimento de novas tecnologias para o controle de vetores e planejamento urbano.

ANEXO 1



JOURNAL OF VECTOR ECOLOGY

Author Guidelines

Papers may be published as conventional Research Articles or shorter Scientific Notes, which are less than 8 typed pages and do not require an Abstract. Manuscripts should be organized under the following headings: Title Page, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments (if appropriate), References Cited, tables in spreadsheet format, figure legends, and figures. The title page should contain the names of all authors and their affiliations as well as the corresponding author's mailing address, e-mail, and fax number. The abstract should also include a keyword index containing no more than six words that best describe the paper. Illustrations that are submitted must be of high quality and remain legible after reduction. References should be formatted to conform to the style in recent volumes. Authorship is confined only to those directly involved in the conduct, analysis, and writing of the manuscript, and all authors should have knowledge of and approval for its submission.

Manuscripts to be considered for publication should be submitted on-line at <http://mc.manuscriptcentral.com/jve>. Review of manuscripts generally takes 8 weeks before a decision for publication is reached.



COPYRIGHT TRANSFER AGREEMENT

Date: _____ Contributor name: _____

Contributor address: _____

Manuscript number (if known): _____

Re: Manuscript entitled _____

_____ (the "Contribution")

for publication in _____ (the "Journal")

published by _____ ("Wiley-Blackwell").

Dear Contributor(s):

Thank you for submitting your Contribution for publication. In order to expedite the editing and publishing process and enable Wiley-Blackwell to disseminate your Contribution to the fullest extent, we need to have this Copyright Transfer Agreement signed and returned as directed in the Journal's instructions for authors as soon as possible. If the Contribution is not accepted for publication, or if the Contribution is subsequently rejected, this Agreement shall be null and void. **Publication cannot proceed without a signed copy of this Agreement.**

A. COPYRIGHT

1. The Contributor assigns to Wiley-Blackwell, during the full term of copyright and any extensions or renewals, all copyright in and to the Contribution, and all rights therein, including but not limited to the right to publish, republish, transmit, sell, distribute and otherwise use the Contribution in whole or in part in electronic and print editions of the Journal and in derivative works throughout the world, in all languages and in all media of expression now known or later developed, and to license or permit others to do so.

2. Reproduction, posting, transmission or other distribution or use of the final Contribution in whole or in part in any medium by the Contributor as permitted by this Agreement requires a citation to the Journal and an appropriate credit to Wiley-Blackwell as Publisher, and/or the Society if applicable, suitable in form and content as follows: (Title of Article, Author, Journal Title and Volume/Issue, Copyright © [year], copyright owner as specified in the Journal). Links to the final article on Wiley-Blackwell's website are encouraged where appropriate.

B. RETAINED RIGHTS

Notwithstanding the above, the Contributor or, if applicable, the Contributor's Employer, retains all proprietary rights other than copyright, such as patent rights, in any process, procedure or article of manufacture described in the Contribution.

C. PERMITTED USES BY CONTRIBUTOR

1. **Submitted Version.** Wiley-Blackwell licenses back the following rights to the Contributor in the version of the Contribution as originally submitted for publication:

- a. After publication of the final article, the right to self-archive on the Contributor's personal intranet page or in the Contributor's institution's/employer's institutional intranet repository or archive. The Contributor may not update the submission version or replace it with the published Contribution. The version posted must contain a legend as follows: This is the pre-peer reviewed version of the following article: FULL CITE, which has been published in final form at [Link to final article].
- b. The right to transmit, print and share copies with colleagues.

2. **Accepted Version.** Reuse of the accepted and peer-reviewed (but not final) version of the Contribution shall be by separate agreement with Wiley-Blackwell. Wiley-Blackwell has agreements with certain funding agencies governing reuse of this version. The details of those relationships, and other offerings allowing open web use are set forth at the following website: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>. NIH grantees should check the box at the bottom of this document.

3. **Final Published Version.** Wiley-Blackwell hereby licenses back to the Contributor the following rights with respect to the final published version of the Contribution:

- a. Copies for colleagues. The personal right of the Contributor only to send or transmit individual copies of the final published version to colleagues upon their specific request provided no fee is charged, and further-provided that there is no systematic distribution of the Contribution, e.g. posting on a listserve, website or automated delivery. For those Contributors who wish to send high-quality e-prints, purchase reprints, or who wish to distribute copies more broadly than allowed hereunder (e.g. to groups of colleagues or mailing lists), please contact the publishing office.
- b. Re-use in other publications. The right to re-use the final Contribution or parts thereof for any publication authored or edited by the Contributor (excluding journal articles) where such re-used material constitutes less than half of the total material in such publication. In such case, any modifications should be accurately noted.
- c. Teaching duties. The right to include the Contribution in teaching or training duties at the Contributor's institution/place of employment including in course packs, e-reserves, presentation at professional conferences, in-house training, or distance learning. The Contribution may not be used in seminars outside of normal teaching obligations (e.g. commercial seminars). Electronic posting of the final published version in connection with teaching/training at the Contributor's institution/place of employment is permitted subject to the implementation of reasonable access control mechanisms, such as user name and password. Posting the final published version on the open Internet is not permitted.
- d. Oral presentations. The right to make oral presentations based on the Contribution.

4. **Article Abstracts, Figures, Tables, Data Sets, Artwork and Selected Text (up to 250 words).**

- a. Contributors may re-use unmodified abstracts for any non-commercial purpose. For on-line uses of the abstracts, Wiley-Blackwell encourages but does not require linking back to the final published versions.
- b. Contributors may re-use figures, tables, data sets, artwork, and selected text up to 250 words from their Contributions, provided the following conditions are met:
 - (i) Full and accurate credit must be given to the Contribution.
 - (ii) Modifications to the figures, tables and data must be noted. Otherwise, no changes may be made.
 - (iii) The reuse may not be made for direct commercial purposes, or for financial consideration to the Contributor.
 - (iv) Nothing herein shall permit dual publication in violation of journal ethical practices.

D. CONTRIBUTIONS OWNED BY EMPLOYER

1. If the Contribution was written by the Contributor in the course of the Contributor's employment (as a "work-made-for-hire" in the course of employment), the Contribution is owned by the company/employer which must sign this Agreement (in addition to the Contributor's signature) in the space provided below. In such case, the company/employer hereby assigns to Wiley-Blackwell, during the full term of copyright, all copyright in and to the Contribution for the full term of copyright throughout the world as specified in paragraph A above.

2. In addition to the rights specified as retained in paragraph B above and the rights granted back to the Contributor pursuant to paragraph C above, Wiley-Blackwell hereby grants back, without charge, to such company/employer, its subsidiaries and divisions, the right to make copies of and distribute the final published Contribution internally in print format or electronically on the Company's internal network. Copies so used may not be resold or distributed externally. However the company/employer may include information and text from the Contribution as part of an information package included with software or other products offered for sale or license or included in patent applications. Posting of the final published Contribution by the institution on a public access website may only be done with Wiley-Blackwell's written permission, and payment of any applicable fee(s). Also, upon payment of Wiley-Blackwell's reprint fee, the institution may distribute print copies of the published Contribution externally.

E. GOVERNMENT CONTRACTS

In the case of a Contribution prepared under U.S. Government contract or grant, the U.S. Government may reproduce, without charge, all or portions of the Contribution and may authorize others to do so, for official U.S. Govern-

ment purposes only, if the U.S. Government contract or grant so requires. (U.S. Government, U.K. Government, and other government employees: see notes at end.)

F. COPYRIGHT NOTICE

The Contributor and the company/employer agree that any and all copies of the final published version of the Contribution or any part thereof distributed or posted by them in print or electronic format as permitted herein will include the notice of copyright as stipulated in the Journal and a full citation to the Journal as published by Wiley-Blackwell.

G. CONTRIBUTOR'S REPRESENTATIONS

The Contributor represents that the Contribution is the Contributor's original work, all individuals identified as Contributors actually contributed to the Contribution, and all individuals who contributed are included. If the Contribution was prepared jointly, the Contributor agrees to inform the co-Contributors of the terms of this Agreement and to obtain their signature to this Agreement or their written permission to sign on their behalf. The Contribution is submitted only to this Journal and has not been published before. (If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, the Contributor will obtain written permission from the copyright owners for all uses as set forth in Wiley-Blackwell's permissions form or in the Journal's Instructions for Contributors, and show credit to the sources in the Contribution.) The Contributor also warrants that the Contribution contains no libelous or unlawful statements, does not infringe upon the rights (including without limitation the copyright, patent or trademark rights) or the privacy of others, or contain material or instructions that might cause harm or injury.

CHECK ONE BOX:

Contributor-owned work

ATTACH ADDITIONAL SIGNATURE
PAGES AS NECESSARY

Contributor's signature _____

Date _____

Type or print name and title _____

Co-contributor's signature _____

Date _____

Type or print name and title _____

Company/Institution-owned work
(made-for-hire in the
course of employment)

Company or Institution (Employer-for-Hire) _____

Date _____

Authorized signature of Employer _____

Date _____

U.S. Government work

Note to U.S. Government Employees

A contribution prepared by a U.S. federal government employee as part of the employee's official duties, or which is an official U.S. Government publication, is called a "U.S. Government work," and is in the public domain in the United States. In such case, the employee may cross out Paragraph A.1 but must sign (in the Contributor's signature line) and return this Agreement. If the Contribution was not prepared as part of the employee's duties or is not an official U.S. Government publication, it is not a U.S. Government work.

U.K. Government work
(Crown Copyright)

Note to U.K. Government Employees

The rights in a Contribution prepared by an employee of a U.K. government department, agency or other Crown body as part of his/her official duties, or which is an official government publication, belong to the Crown. U.K. government authors should submit a signed declaration form together with this Agreement. The form can be obtained via <http://www.opsi.gov.uk/advice/crown-copyright/copyright-guidance/publication-of-articles-written-by-ministers-and-civil-servants.htm>

Other Government work

Note to Non-U.S., Non-U.K. Government Employees

If your status as a government employee legally prevents you from signing this Agreement, please contact the editorial office.

NIH Grantees

Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of Contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate.

Anexo 2

Cadernos de Saúde Pública- CSP

Instructions to authors

Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health (CSP) publishes original articles of high scientific merit, which contribute with the study of public health in general and related disciplines. We recommend the authors to carefully read the instructions before submitting their articles to CSP.

As the abstract of the article achieves more visibility and distribution than the article per se, we suggest the specific recommendations for its writing be carefully read.

ABSTRACT

The Abstract achieves more visibility and distribution than the article per se, and this is why it should present the essential information of the article. In the CSP, the Summary is limited to 1,100 characters (including spaces), which makes its writing a challenge. The Abstract is written after the article is ready, but it is not a copy and paste of loose sentences. It is a summary of what is most important, and should draw the reader to read the full article. Often it is the only section of the article that is read. CSP does not adopt a structured summary, because it receives different types of articles. Typically, the Abstract should present the goals, the method, the main results and the conclusion. In the conclusion, avoid clichés such as "more research on the theme is necessary", "the results should be taken with caution" or "the results of this study may be useful for the design of strategies for prevention". At the end of the Abstract, describe in one sentence your conclusion about how your results helped responding to the goals of the study. Try to indicate the contribution of the results from this study for the knowledge about the theme that was investigated.

1. CSP ACCEPTS PAPERS FOR THE FOLLOWING SECTIONS:

1.1 - Article: resulting from research of empirical nature (maximum of 6.000 words and 5 illustrations). Among the different types of empirical studies, we present two models: article on etiological research in epidemiology, and article using qualitative methodology;

1.2 - Review: Critical review of the literature on themes related to Collective Health, maximum of 8.000 words and 5 illustrations.

1.3 - Essay: original text where an argument on a well-circumscribed theme is developed and it may have up to 6000 words;

1.4 – Brief Communication: reporting preliminary research results, or results from original studies that can be presented abridged (maximum of 1.700 words and 3 illustrations);

1.5 - Discussion: analysis of relevant themes in the field of Population Health, followed by critical comments made by guest authors invited by the Editors, and the response of the author of the main article (maximum of 6.000 words e 5 illustrations);

1.6 – Thematic Section: section destined to the publication of 3 to 4 articles or a little debate about a common theme that is relevant for Collective Health. Those interested in submitting papers for this Section should consult the Editors;

1.7 - Perspective: analysis of convergent themes, of short-term interest, and of importance for

Population Health (maximum of 1.600 words);

1.8 – Methodological Questions: articles focused on the discussion, comparison or assessment of important methodological aspect for the field, whether about study design, data analysis or qualitative methods (maximum of 6.000 words and 5 illustrations); articles about epidemiologic measurement tools should be submitted to this Section, preferably in accordance with the rules for Brief Communication (maximum of 1.700 words and 3 illustrations);

1.9 – Book Reviews: critical review of books related to the field of the CSP, published in the past two years (maximum of 1.200 words);

1.10 - Letters: criticism of article published in a previous issue of CSP (maximum of 700 words).

2. PRESENTATION OF MANUSCRIPTS

2.1 - CSP only considers publishing original, previously unpublished manuscripts that are not being reviewed simultaneously for publication by any other journal. Authors must state these conditions in the submission process. In case previous publication or simultaneous submission to another journal is identified, the article will be rejected. Duplicate submission of a scientific manuscript constitutes a serious breach of ethics by the author(s).

2.2 - Submissions are accepted in Portuguese, Spanish, or English.

2.3 - Footnotes and appendices will not be accepted.

2.4 - The word count includes only the body of the text and references (see item 12.13).

2.5 – All authors of articles accepted for publication will automatically be included in the journal's database of consultants, and the authors agree to participate as peer reviewers of articles submitted on the same theme as their own.

3. PUBLICATION OF CLINICAL TRIALS

3.1 Manuscripts presenting partial or complete results of clinical trials must include the number and name of the agency or organization where the clinical trial is registered.

3.2 This requirement complies with recommendations by BIREME/PAHO/WHO on the Registration of Clinical Trials to be published based on the guidelines of the World Health

Organization (WHO), the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), and the ICTPR Workshop.

3.3 Agencies and organizations that register clinical trials according to ICMJE criteria include:

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR)
- ClinicalTrials.gov
- International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN)
- Nederlands Trial Register (NTR)
- UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR)
- WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)

- FUNDING SOURCES

4.1 Authors must disclose all sources of institutional or private funding or support for conducting the study.

4.2 Suppliers of free or discount materials or equipment should be disclosed as funding sources, including the origin (city, state, and country).

4.3 If the study has been performed without institutional and/or private funding, the authors should state that the research did not receive any funding.

- CONFLICTS OF INTERESTS

5.1 Authors must disclose any potential conflicts of interest, including political and/or financial interests associated with patents or property and manufacturer's supply of materials and/or inputs and equipment used in the study.

- AUTHORS

6.1 The various authors' individual contributions to the elaboration of the article should be specified.

6.2 We emphasize that the authorship criteria should be based on the uniform requirements of the ICMJE, which establish the following: recognition of authorship should be based on substantial contributions to the following: 1. conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2. drafting the article or revising it critically for important intellectual content; 3. final approval of the version to be published. 4.

Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Authors should meet all four conditions.

- ACKNOWLEDGMENTS

7.1 Potential acknowledgments include institutions that in some way allowed or facilitated the research and/or persons that collaborated with the study but fail to meet the authorship criteria.

- REFERENCES

8.1 References should be numbered consecutively in the order in which they first appear in the text. They should be identified by superscript Arabic numerals (e.g.: Silva 1).

References cited only in tables and figures should be numbered starting after the last reference cited in the text. Cited references should be listed at the end of article, in numerical order, following the *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*.

8.2 All references should be presented in correct and complete form. The veracity of the information contained in the list of references is the responsibility of the author(s).

8.3 If using a references management software (EndNote, for example), the authors should convert the references to text.

- NOMENCLATURE

9.1 The manuscript should comply with the rules of zoological and botanical nomenclature, as well as with the abbreviations and conventions adopted in the specialized fields.

- ETHICS IN RESEARCH INVOLVING HUMAN SUBJECTS

10.1 The publication of articles with results of research involving human subjects is conditioned on compliance with the ethical principles contained in the *Helsinki Declaration* (1964, revised in 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, and 2008), of the World Medical Association.

10.2 In addition, the research must comply with the specific legislation (when existing) of the country in which the research was performed.

10.3 Articles that present the results of research involving human subjects must contain a clear statement of this compliance (this statement should be the last paragraph of the manuscript's Methodology section).

10.4 After the manuscript is accepted for publication, all the authors must sign a specific form, to be provided by the Editorial Secretariat of CSP, stating their full compliance with the ethical principles and specific legislations.

10.5 The Editorial Board of CSP reserves the right to request additional information on the ethical principles adopted in the research.

- ON-LINE SUBMISSION PROCESS

11.1 Articles should be submitted electronically through the System for Article Review and Management (SAGAS), available at: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>.

11.2 No other forms of submission will be accepted. The following are complete instructions for submission. In case of doubt, kindly contact the SAGAS support system at the following e-mail: csp-artigos@ensp.fiocruz.br.

11.3 The author should begin by entering SAGAS. Next, key in the user name and password to go to the restricted article management area. New users of SAGAS should register through the "Register" link on the homepage. In case you have forgotten your password, request that it be sent automatically as follows: "Forget your password? Click here".

11.4 For new users of SAGAS. After clicking on "Register", you will be directed to the SAGAS registry. Key in your name, address, e-mail, telephone, and institution.

- SENDING THE ARTICLE

12.1 On-line submission is done in the restricted article management area. The author should access "Author Central" and select the link "Submit a new article".

12.2 The first stage in the submission process consists of checking the CSP Instructions to Authors. The manuscript will only be considered by the CSP Editorial Secretariat if it meets all the uniform requirements for publication.

12.3 During the second stage, all data referring to the article will be keyed in: title, short title, field, key words, disclosure of funding and conflicts of interest, abstracts, and acknowledgments when necessary. If they wish, authors may suggest potential peer reviewers (name, e-mail, and institution) whom they consider capable of reviewing the manuscript.

12.4 The complete title (in Portuguese, English and Spanish) should be concise and informative, with a maximum of 150 characters with spaces.

12.5 The short title (in the original language) may contain a maximum of 70 characters with spaces.

12.6 The key words (minimum of 3, maximum of 5, in the article's original language) should appear in the Biblioteca Virtual em Saúde/Virtual Health Library (BVS).

12.7 *Abstract.* With the exception of contributions submitted to the Book Review, Letters, or Perspectives sections, all articles submitted should include an abstract in Portuguese, English and Spanish. The abstract should have a maximum of 1,100 characters with spaces.

12.8 *Acknowledgments.* The acknowledgements of institutions and/or individuals may contain a maximum of 500 characters with spaces.

12.9 The third stage includes the full name(s) of the article's author(s) and respective institutions(s), with the complete address, telephone, and e-mail, as well as a specification of each author's contribution. The author that registers the article will automatically be included as an author. The order of the authors' names should be the same as in the publication.

12.10 The fourth stage is the file transfer with the body of the text and references.

12.11 The file containing the manuscript text should be formatted in DOC (Microsoft Word),

RTF (Rich Text Format), or ODT (Open Document Text), and may not exceed 1 MB.

12.12 The text should be formatted with 1.5cm spacing, font Times New Roman, size 12.

12.13 The text file should contain only the body of the article and the bibliographic references. The following items should be inserted in separate fields during the submission process: abstracts; name(s) of the author(s), plus institutional affiliation or

any other information that identifies the author(s); acknowledgments and contributions; illustrations (photographs, flowcharts, maps, graphs, and tables).

12.14 The fifth stage includes transferring the files with the article's illustrations (photographs, flowcharts, maps, graphs, and tables), when necessary. Each illustration should be sent in a separate file, clicking on "Transfer".

12.15 *Illustrations*. Illustrations should be kept to a minimum, as specified in item 1 (photographs, flowcharts, maps, graphs, and tables).

12.16 Authors will cover the costs of illustrations that exceeds this limit, as well as any extra costs for publishing color figures.

12.17 Authors should obtain written authorization from any respective copyright holders to reproduce previously published illustrations.

12.18 *Tables*. Tables may be 17cm wide, considering a size 9 font. They should be submitted in text file: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format), or ODT (Open Document

Text). Tables should be numbered (Arabic numerals) according to the order in which they appear in the text.

12.19 *Figures*. The following types of figures will be allowed by CSP: Maps, Graphs, Satellite Images, Photographs, Flow Diagrams, and Flowcharts.

12.20 Maps should be submitted in vector format, and the following types of files are allowed: WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsulated PostScript), or SVG (Scalable Vectorial Graphics). Note: maps originally generated in raster or image format and later exported to vector format will not be accepted.

12.21 Graphs should be submitted in vector format and will be allowed in the following types of files: XLS (Microsoft Excel), ODS (Open Document Spreadsheet), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsulated PostScript), or SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.22 Satellite images and photographs should be submitted in the following types of files: TIFF (Tagged Image File Format) or BMP (Bitmap). Minimum resolution should be 300dpi (dots per inch), with a minimum width of 17.5cm.

12.23 Flow diagrams and flowcharts should be submitted in text file or in vector format and will be allowed in the following types of files: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format), ODT (Open Document Text), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsulated PostScript), or SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.24 Figures should be numbered (Arabic numerals) according to the order in which they appear in the text.

12.25 Titles and legends of figures should be presented in a text file separate from the figure files.

12.26 *Vector format*. A vector drawing is generated based on geometric descriptions of shapes and normally consists of curves, ellipses, polygons, text, and other elements, i.e., using mathematical vectors for its description.

12.27 *Completion of submission*. Upon completing the entire file transfer process, click on "Complete Submission".

12.28 *Confirmation of submission*. After completing the submission, the author will receive an e-mail message confirming receipt of the article by CSP. In case you do not receive the e-mail confirmation within 24 hours, contact the CSP Editorial Secretariat by e-mail: msp-artigos@ensp.fiocruz.br.

- MONITORING THE ARTICLE REVIEW PROCESS

13.1 Authors can monitor the article's editorial flow through the SAGAS system. Decisions on the article will be communicated by e-mail and made available in the SAGAS system.

- SENDING NEW VERSIONS OF ARTICLES

14.1 New versions of the article may be submitted by using the restricted article management area (<http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>) in the SAGAS system, accessing the article and clicking on the "Submit New Version".

- ELECTRONIC PROOF

15.1 Following acceptance of the article, an electronic proof will be sent to the corresponding author by e-mail. Adobe Reader is needed to view the proof. This software can be downloaded free of cost from: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html> .

15.2 The revised proof and properly signed declarations should be sent to the CSP Editorial Secretariat by e-mail (cadernos@ensp.fiocruz.br) or fax +55(21)2598-2737, within 72 hours after receipt by the corresponding author.