



Universidade de Brasília (UnB)
Faculdade de Ciências da Saúde
Especialização em Entomologia Médica

**Infecção natural e ocorrência de mosquitos (Diptera: Culicidae)
em áreas com epizootias de febre amarela em Goiânia-GO,
2020-2021**

Aluno: Bruno Sérgio Alves Silva
Orientador: Marcos Takashi Obara

Brasília

2022

AGRADECIMENTOS

Aos docentes do curso de Especialização em Entomologia Médica da Faculdade de Ciências da Saúde da UNB pelo brilhante curso e dedicação mesmo com todas as adversidades. Em especial ao Professor Dr. Andrey Andrade pelo auxílio na elaboração do pré-projeto.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Marcos Takashi Obara, pelas orientações, ensinamentos e contribuições para a elaboração deste projeto.

Aos gestores da Secretaria Municipal de Saúde do Município de Goiânia-GO (SMS-Goiânia) e da Secretaria Estadual de Saúde do Estado de Goiás. Em especial ao Welington Tristão da Rocha, Gerente de Animais Sinantrópicos da SMS-Goiânia; Fabrício Augusto, Coordenador Estadual de Zoonoses; Carmecy Elias e Cristiano Gomes Nogueira da Seção de Entomologia do LACEN-GO.

Ao colegas da Diretoria de Vigilância em Zoonoses da SMS-Goiânia pelo apoio no desenvolvimento das ações do projeto. Em especial ao colega Daniel Ferreira Soares que auxiliou durante todo o trabalho e ao colega Wilian Pires de Oliveira que se empenhou para a estruturação e funcionamento do nosso Laboratório de Entomologia.

Aos colegas da Seção de Entomologia do LACEN-GO, da FIOCRUZ e Ministério da Saúde que nos auxiliaram na execução das ações em nosso município, assumindo o protagonismo e capacitando nossos servidores. Em especial aos colegas Filipe Abreu e Maycon Neves, pelos ensinamentos.

Aos discentes desta especialização, pela parceria, cooperação e amizade ao longo do curso.

À banca examinadora, Dr. Tatiana Mingote F. Ázara, Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto e Dr. Marcos Takashi Obara, por aceitarem o convite para participarem da defesa deste trabalho e contribuírem para meu crescimento profissional, com possibilidades do retorno através do serviço prestado à sociedade.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Distribuição das espécies capturadas em 10 pontos de coleta no município de Goiânia/GO conforme tipo de vegetação durante o período de circulação do vírus da FA, 2020-2021..... | 13 |
|--|----|

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa com definição das ASRV e ACRV no Brasil e municípios afetados com a circulação do vírus da FA, 2014-2020..... 03
- Figura 2** – Fotografia das áreas selecionadas para captura de vetores da FA. A) Área de mata primária. B) Área de mata degradada. C) Área de mata ciliar preservada. D) Área de mata ciliar degradada..... 07
- Figura 3** – Fotografia dos métodos de coletas realizados para captura de vetores da FA. A) Técnica de atração humana e coleta com puçá entomológico. B) Homem em copa. C) Armadilha BG-sentinela. D) Uso do capturador de Castro e gaiola entomológica..... 08
- Figura 4** – Procedimentos de identificação taxonômica dos culicídeos. A) Estereomicroscópio em mesa refrigerada. B) Mesa refrigerada com os espécimes. C) Identificação de *Sa. glaucodaemon*. D) Identificação de *Hg. leucocelaenus*..... 09
- Figura 5** – Distribuição da abundância relativa (%) dos culicídeos capturados em 10 pontos selecionados no município de Goiânia-GO, 2020-2021..... 12
- Figura 6** – Ocorrência das espécies de culicídeos no município de Goiânia/GO, durante a investigação entomológica de vetores da FA, 2020-2021..... 14
- Figura 7** – Distribuição das principais espécies de culicídeos capturados, por tipo de vegetação nos pontos das coletas, município de Goiânia-GO, 2020-2021. 15
- Figura 8** – Mapeamento da distribuição das epizootias confirmadas segundo espécie do PNH (laranja) e pontos de coletas de mosquitos (roxos), no município de Goiânia/GO, 2020-2021..... 17
- Figura 9** – Distribuição das principais espécies vetoras de FA conforme a ocorrência nos 10 pontos de coleta, município Goiânia/GO, 2020-2021. Os valores em negrito representam a somatória das espécies dos gêneros..... 18
- Figura 10** – Mapa da distribuição dos potenciais vetores da FA por pontos das coletas, município de Goiânia-GO, 2020-2021. 18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACRV – Áreas com recomendação de vacinação

APPs – Áreas de preservação permanente

ASRV – Áreas sem recomendação de vacinação

FA – Febre Amarela

Fig. – Figura

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

GO – Goiás

g – gramas

IEC – Instituto Evandro Chagas

IOC – Instituto Oswaldo Cruz

LACEN-GO – Laboratório de Saúde Pública

μ – Microlitros

Min – minutos

PNH – Primata não humano

PNHs – Primatas não humanos

RNA – Ácido ribonucleico

RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase em tempo real

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. Introdução..... | 01 |
| 1.1 Epidemiologia da febre amarela..... | 01 |
| 1.2 Ciclos de transmissão da FA..... | 03 |
| 1.3 Biologia dos vetores da FA..... | 03 |
| 2. Justificativa..... | 05 |
| Perguntas..... | 05 |
| Hipótese..... | 05 |
| 3. Objetivo Geral..... | 06 |
| 3.1 Objetivos Específicos..... | 06 |
| 4. Metodologia..... | 06 |
| 4.1 Tipo de estudo..... | 06 |
| 4.2 Áreas do estudo..... | 06 |
| 4.3 Coletas de mosquitos..... | 07 |
| 4.4 Identificação dos culicídeos..... | 09 |
| 4.5 Detecção do DNA Viral..... | 10 |
| 4.6 Mapeamento das epizootias e pontos de coletas de mosquitos..... | 11 |
| 5. Resultados e Discussão..... | 12 |
| 5.1 Ocorrência de mosquitos vetores de FA..... | 12 |
| 5.2 Detecção viral..... | 15 |
| 5.3 Mapeamento das epizootias e pontos de coletas de mosquitos..... | 16 |
| 6. Conclusão..... | 20 |
| 7. Referências Bibliográficas..... | 21 |
| Anexo 1. Espécies de primatas não humanos (PNHs) com epizootias confirmadas, setores selecionados para investigação entomológica e caracterização das áreas das coletas..... | 25 |

Resumo

Introdução: O Ministério da Saúde confirmou no período de julho de 2014 a junho de 2019, a ocorrência de 2.260 casos humanos de Febre Amarela (FA), com 773 óbitos no Brasil. Destes, 10 casos humanos ocorreram no Estado de Goiás, sendo um caso humano no município de Goiânia/GO. Já no ano período de julho de 2020 a junho de 2021, no Estado de Goiás foram confirmadas 21 epizootias de primatas não humanos (PNHs), sendo 11 destas no município de Goiânia/GO. Não houve confirmação de casos humanos. A detecção recorrente da circulação viral no município exige uma ampliação da vigilância de casos humanos e entomológica, visando identificar oportunamente os potenciais vetores e monitorar o risco de reurbanização. **Objetivo:** Analisar a ocorrência e a infecção natural das espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) coletados em áreas com epizootias de PNH confirmadas, no município de Goiânia, no período de monitoramento de julho de 2020 a junho 2021. **Metodologia:** Trata-se de um estudo ecológico, descritivo, retrospectivo, quantitativo e qualitativo da fauna de mosquitos potencialmente vetores de arboviroses, realizado em áreas no município de Goiânia/GO durante a ocorrência de epizootias confirmadas para FA em PNH. As coletas de culicídeos foram realizadas no período de 18/11/2020 a 27/04/2021, das 09:00 às 15:00 horas, em 10 áreas que possuíam condições ecológicas e ambientais favoráveis a presença do vírus da FA. A identificação dos mosquitos foi realizada no mesmo dia da coleta com uso de microscópio estereoscópico em mesa refrigerada. Posteriormente, foram encaminhados ao Laboratório Central da Saúde Pública de Goiás (LACEN-GO) para envio aos laboratórios de referência da rede. O diagnóstico molecular do vírus amarelo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas e Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz). A localização das espécies de mosquitos coletados foi mapeada por meio do *software* "Google My Maps" associado aos dados georreferenciados das epizootias no sistema de informação em saúde silvestre - SISS-Geo. **Resultados:** Foram coletados 2787 culicídeos, distribuídos em 08 gêneros e 23 espécies. As espécies do gênero *Haemagogus* ocorreram em 100% das áreas coletadas, *Sabethes* em 80% e *Aedes albopictus* e/ou *Aedes aegypti* em 90% das localidades. *Hg. janthinomys*

e *Hg. leucocelaenus* foram coletados principalmente em áreas de mata primária com abundância de 2,66% (74) e 4,49% (125), respectivamente. *Sabethes albiprivus* com abundância de 1% (28), foram coletados em proporções semelhantes nas áreas de mata primária e degradada. *Sabethes chlopterus* com 0,1% (03) e *Sabethes glaucodaemon* com 0,29% (08) foram detectadas em mata degradada. Registra-se a ocorrência inédita dessa última espécie no município de Goiânia/GO. *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* foram coletados principalmente em área de mata degradada com abundância de 3,88% (108) e 19,66% (548), respectivamente. A infecção natural nos mosquitos não foi detectada nas amostras analisadas. O mapeamento dos pontos de coletas permitiu a classificação das áreas receptivas e vulneráveis para circulação do vírus da FA que deverão ser monitoradas de forma permanente. **Conclusões:** O município de Goiânia/GO apresentou elevada vulnerabilidade e receptividade para a circulação do vírus da FA, tendo em vista que *Hg. janthinomys*, *Hg. leucocelaenus*, *Sa. albiprivus*, *Sa. chlopterus* e *Sa. glaucodaemon* foram detectados nas áreas com epizootias confirmadas de PNHs. A não detecção do vírus da FA em mosquitos demonstra a necessidade de coletas em tempo oportuno para auxiliar na tomada de decisões em relação as medidas de vigilância, prevenção e controle da FA.

Palavras-chave: Culicidae, epizootias, mosquitos, vetores, febre amarela, vegetação.

Abstract

Introduction: The Ministry of Health confirmed from July 2014 to June 2019, the occurrence of 2,260 human cases of Yellow Fever (YF), with 773 deaths in Brazil. Of these, 10 human cases occurred in the State of Goiás, with one human case in the municipality of Goiânia/GO. In the period from July 2020 to June 2021, in the State of Goiás, 21 epizootics of non-human primates (NHPs) were confirmed, 11 of these in the municipality of Goiânia/GO. There have been no confirmed human cases. The recurrent detection of viral circulation in the municipality requires an expansion of the surveillance of human and entomological cases, with a view to opportunely identifying the potential vectors and monitoring the risk of reurbanization. **Objective:** To analyze the occurrence and natural infection of mosquito species (Diptera: Culicidae) collected in areas with confirmed NHP epizootics, in the municipality of Goiânia, during the monitoring period from July 2020 to June 2021. **Methodology:** This is ecological, descriptive, retrospective, quantitative and qualitative study of the fauna of mosquitoes potentially vectors of arboviruses, carried out in areas in the municipality of Goiânia/GO during the occurrence of confirmed epizootics for YF in NHP. Culicidae collections were carried out from 11/18/2020 to 04/27/2021, from 9:00 am to 3:00 pm, in 10 areas that had ecological and environmental conditions favorable to the presence of the YF virus. The identification of mosquitoes was performed on the same day of collection using a stereoscopic microscope on a refrigerated table. Subsequently, they were sent to the Central Laboratory of Public Health of Goiás (LACEN-GO) to be sent to the network's reference laboratories. The molecular diagnosis of the yellow fever virus was performed at the Molecular Biology Laboratory of the Arbovirology and Hemorrhagic Fevers Section of the Evandro Chagas Institute and the Flavivirus Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute (IOC/Fiocruz). The location of the collected mosquito species was mapped using the software "Google My Maps" associated with georeferenced data of epizootics in the wild health information system - SISS-Geo. **Results:** 2,787 Culicidae were collected, distributed in 08 genera and 23 species. Species of the genus *Haemagogus* occurred in 100% of the areas collected, *Sabethes* in 80% and *Aedes albopictus* and/or *Aedes aegypti* in 90% of the locations. *Hg. janthinomys* and *Hg. leucoceleaenus* were collected mainly in primary forest areas with an abundance

of 2.66% (74) and 4.49% (125), respectively. *Sabethes albiprivus* with an abundance of 1% (28), were collected in similar proportions in areas of primary and degraded forest. *Sabethes chlopterus* with 0.1% (03) and *Sabethes glaucodaemon* with 0.29% (08) were detected in degraded forest. It is registered the unprecedented occurrence of this last species in the city of Goiânia/GO. *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* were collected mainly in an area of degraded forest with an abundance of 3.88% (108) and 19.66% (548), respectively. Natural infection in mosquitoes was not detected in the analyzed samples. The mapping of the collection points allowed the classification of receptive and vulnerable areas for the circulation of the YF virus that will have to be monitored on a permanent. **Conclusions:** The municipality of Goiânia/GO showed high vulnerability and receptivity to the circulation of the YF virus, considering that *Hg. janthinomys*, *Hg. leucocelaenus*, *Sa. albiprivus*, *Sa. chlopterus* and *Sa. glaucodaemon* were detected in areas with confirmed epizootics of PNHs. The failure to detect the YF virus in mosquitoes demonstrates the need for timely collections to assist in decision-making regarding surveillance, prevention and control measures of YF.

Keywords: Culicidae, epizootics, mosquitoes, vectors, yellow fever, vegetation.

1. Introdução

1.1 Epidemiologia da febre amarela

A febre amarela (FA) é uma doença infecciosa febril aguda, cujo agente etiológico é um arbovírus constituído de RNA de fita simples, do gênero *Flavivírus*, transmitido por meio da picada de mosquitos fêmeas infectadas^{1,2}. Estima-se que as cepas do vírus da febre amarela atuais possuam origem na África há aproximadamente 1.500 anos e surgiram nas Américas há cerca de 400 anos³.

A doença foi responsável por grande número de mortes entre o século XVIII e o início do século XX, com repetidas epidemias nas regiões tropicais da América do Sul e na África, seguidas por surtos em locais mais distantes como América do Norte, Caribe e Europa⁴. No mundo, detecta-se em torno de 200 mil casos de febre amarela por ano, com a estimativa de 30 mil óbitos. Atualmente ocorre em 34 países na África, 11 na América do Sul e dois na América Central⁵.

A introdução da vacina em 1937 e o intenso combate ao vetor proporcionaram a eliminação da FA urbana em 1942 no Brasil. O ciclo de transmissão silvestre tornou-se predominante, desde então⁴. Os processos de reemergência do vírus da FA acompanham extensos surtos de casos humanos e epizootias em primatas não humanos (PNH). As ocorrências de surtos/epizootias, nos últimos anos, foram nos períodos de 1998/1999 na região Norte do país; 2002/2003 na região Sudeste e Sul; 2007/2008 na região Norte e Centro-Oeste; e 2008/2009 na região Sudeste e Sul⁶.

Ressalta-se que as epizootias de PNH são definidas como, a ocorrência de animais doentes, mortos ou seus vestígios, que se caracterizam como evento de alerta do risco da transmissão de FA silvestre. A confirmação da circulação viral se dá por diagnóstico laboratorial em vísceras de PNH ou em mosquitos infectados^{2,7}. A vigilância entomológica e virológica é uma ferramenta que deve ser implantada permanentemente no Brasil para definir rapidamente as áreas receptivas e vulneráveis, além da detecção precoce da circulação do vírus, para auxiliar na tomada de decisões, quanto às ações de imunização da população^{2,8}.

O período mais recente da reemergência da FA no Brasil iniciou-se a partir do ano de 2014, nas regiões norte e centro-oeste, após detecção de epizootias positivas⁸. Após isso, expandiu-se para a região sudeste com

ocorrência de grande quantitativo de casos humanos e epizootias⁸. O Ministério da Saúde, confirmou no período de julho de 2014 a junho de 2019, a ocorrência de 2.260 casos humanos de FA, com 773 óbitos e taxa de letalidade de 34,2%, além de 2.670 epizootias de primatas não humanos (PNH) no Brasil⁸. Destes, 10 casos humanos e 27 epizootias ocorreram no Estado de Goiás, sendo 01 (10%) caso humano e 11 (40%) epizootias no município de Goiânia, capital do estado de Goiás⁹.

O novo ciclo da FA na região extra-amazônica iniciou-se a partir da detecção de epizootias confirmadas no estado de Goiás e no Distrito Federal¹⁰, durante período de monitoramento de julho de 2020 a junho de 2021. Nesse novo ciclo de vigilância foram confirmadas 21 epizootias, sem a confirmação de casos humanos até o momento, no Goiás. Em Goiânia foram detectadas 11 epizootias de 38 investigadas, localizadas em nove áreas diferentes⁹. A situação epidemiológica atual exige uma maior sensibilidade da vigilância epidemiológica, visando identificar oportunamente o risco de reurbanização⁴.

Os principais objetivos da vigilância epidemiológica da FA são detectar a circulação viral ainda no ciclo enzoótico; aplicação oportuna das medidas de prevenção e controle para reduzir o risco de transmissão para a população humana; manter a vigilância e controle sob o risco de reurbanização^{2,4,7}. A detecção precoce da circulação viral por meio da vigilância de epizootia de PNH e entomológica dos culicídeos permitem a delimitação das áreas de risco de transmissão e uso de métodos de modelagem para áreas afetadas, ampliadas e de corredores ecológicos, possibilitando a intensificação das ações e o direcionamento de medidas preventivas às populações sob maior risco^{7,11}.

A principal medida de prevenção aos casos humanos é a vacinação de pessoas ainda não vacinadas que residem ou irão se deslocar para área de risco. As áreas com recomendação da vacina são determinadas pelo Ministério da Saúde, de acordo com o resultado de estudos de vigilância em primatas não humanos e com a ocorrência de surtos na população humana⁴. A ocorrência da doença em Áreas Sem Recomendação de Vacinação (ASRV) nas regiões Sudeste e Sul, onde o impacto da doença foi de elevada magnitude, ampliou-se, a partir de 2020, a Área Com Recomendação de Vacinação (ACRV) para todo o País (Fig. 1)¹¹.

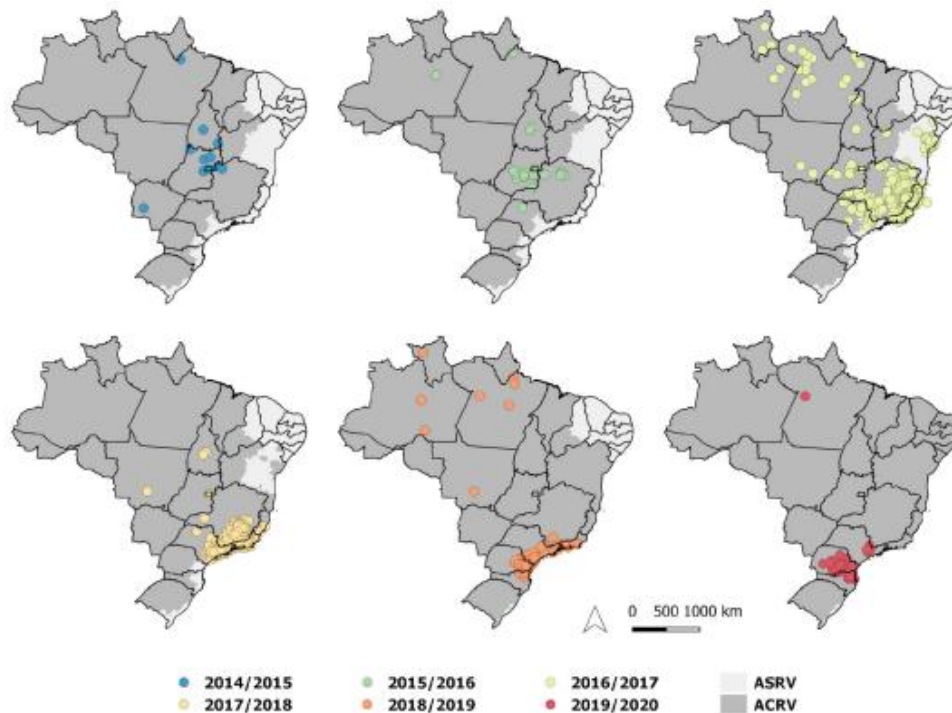


Figura 1 - Mapa com definição das ASRV e ACRV no Brasil e municípios afetados com a circulação do vírus da FA. 2014-2020¹¹

1.2 Ciclos de transmissão da FA

A FA apresenta dois ciclos principais de transmissão, que são influenciados pela circulação viral; o período de viremia curto nos hospedeiros humanos e primatas não humanos (PHNs) e a infecção dos possíveis mosquitos vetores, que possuem hábitos diurnos^{12,13}. O ciclo silvestre de transmissão da febre amarela envolve a infecção natural de vetores dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* que se infectam ao realizarem repasto sanguíneo em PNHs no período de viremia da doença^{12,14}. Estes vetores se alimentam ocasionalmente de humanos que poderão adoecer^{15,16}. Já o ciclo urbano, que não ocorre no Brasil desde 1942, têm como vetor os mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, que após se alimentarem de humanos, podem transmitir o vírus^{16,17}.

1.3 Biologia dos vetores da FA

Os mosquitos (Diptera: Culicidae) vetores do vírus da FA possuem um comportamento acrodendrófilo, ou seja, preferem frequentar as copas das árvores, porém podem descer e alimentar-se ao nível do solo^{15,17,18,19}. A acrodendrofilia pode ser evidenciada com a alta eficácia das coletas em torno de 10 m ou mais do nível do solo²¹. A ocorrência de mosquitos *Haemagogus* e

Sabethes aumenta em abundância ao nível do solo em áreas de mata degradada e em bordas florestais, aumentando assim o risco de contato com humanos^{18,20}. Nesses habitats degradados, o ser humano, PNHs e espécies de mosquitos vetores coexistem, gerando maior vulnerabilidade para ocorrência desta arbovirose^{20,21}. Os mosquitos urbanos *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) e *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1972), podem ser capturados até 100 metros da borda ao interior das matas. Os culicídeos silvestres do gênero *Haemagogus* e *Sabethes* são encontrados no interior e na borda das matas^{20,21}. A sobreposição da distribuição destes vetores poderá atuar como a ponte de transmissão de arboviroses ao se alimentarem de seres humanos e dos PNHs^{20,21}.

As principais espécies destes gêneros com infecção natural detectada e potencial vetorial para transmissão do vírus amarelo nas Américas são *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921, *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924) e *Sabethes chloropterus* (von Humboldt, 1819)^{21,22}.

Um estudo recente possibilitou a realização de coletas e diagnóstico de infecção natural em culicídeos em área com ocorrência de epizootias na região sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo) e Nordeste (Bahia) do Brasil. As espécies, *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar, 1921 e *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924), além de alta abundância apresentaram positividade na detecção viral do vírus amarelo caracterizando-se como vetores primários nas regiões²³. Já *Sa. chloropterus* (von Humboldt, 1819) já foi detectado com menor abundância e detecção de baixa positividade, sendo considerado vetor secundário²².

Ae. (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1972), não foi encontrado infectado nos últimos anos, porém o risco de reurbanização da febre amarela existe devido ao grande número de pessoas não vacinadas que frequentam áreas com circulação do vírus amarelo²⁴.

Na região Centro-Oeste detectou-se a infectividade natural em *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus*, que apresentaram abundância relativa de 23%, caracterizando-os como potenciais vetores primários do vírus da febre amarela^{25,26}. No entanto, ainda são escassas as informações a respeito do perfil de infecção natural de mosquitos vetores de FA no estado de Goiás, tornando-

se imprescindível estudos de detecção de infecção natural em vetores silvestres do vírus amarelo e ocorrência das principais espécies transmissoras de FA.

2. Justificativa

A execução deste projeto se justifica devido a importância da investigação entomológica em ambientes com notificação de epizootias de PNH ligadas a casos de febre amarela. O levantamento e monitoramento de culicídeos é um dos pilares do programa de vigilância da FA e possibilita um estudo da ecoepidemiologia da doença. No estado de Goiás existe a necessidade de execução e publicação de maior número de trabalhos científicos que descrevam as principais espécies levantadas e a infecção natural em mosquitos em áreas de relevância epidemiológica para a transmissão do vírus amarelo. Os resultados alcançados neste estudo permitirão aprimorar as medidas de vigilância, controle e prevenção da FA no estado.

Perguntas

Quais são as espécies de mosquitos, presentes nos locais com epizootias de PNHs infectados pelo vírus amarelo? Quais espécies estão infectadas?

Hipóteses

- 1) Há ocorrência de mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* positivos ou não para o vírus da FA.
- 2) Outras espécies podem estar envolvidas na dinâmica de transmissão do vírus da FA.

3. Objetivo Geral

Analisar a ocorrência e a infecção natural de espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) coletados em áreas com epizootias de PNH confirmadas, no município de Goiânia, no período de monitoramento de julho de 2020 a junho 2021.

3.1 Objetivos Específicos

- Identificar as espécies de mosquitos coletados em áreas com epizootias de PNHs por FA;
- Estimar a infecção natural de espécies de mosquitos vetores do vírus amarelo em áreas com epizootias de PNHs;
- Mapear as espécies de mosquitos coletadas e epizootias confirmadas.

4. Metodologia

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo ecológico, descritivo, retrospectivo, quantitativo e qualitativo da fauna de mosquitos potencialmente vetores de arboviroses, realizado em áreas no município de Goiânia durante a ocorrência de epizootias confirmadas para FA em PNH. Os dados obtidos serão analisados para período de 01/06/2021 a 30/01/2022.

4.2 Áreas do estudo

A população estimada do município de Goiânia-GO é de 1.555.626 habitantes, área total de 728.841 km² e densidade demográfica de 1.776,74 habitantes/km² ^{27,28}.

As principais bacias hidrográficas que compõem a região metropolitana de Goiânia, são do Rio Meia Ponte e do Ribeirão João Leite. A cobertura vegetal das áreas de preservação permanente (APPs) é composta por 27,87% de pastagem. Os impactos antrópicos na área urbana são representados principalmente pela substituição da cobertura vegetal por áreas impermeabilizadas. O relevo plano e suavemente ondulado é composto por planícies de inundação, com altitudes que variam entre 550 a 840 m e

associados à presença de cursos d'água. Já o relevo do tipo ondulado a fortemente ondulado ocorre nas áreas com maiores altitudes, 840 a 1100²⁹.

A vegetação do município é composta por formações florestais, campestres e savanas, pertencente ao bioma cerrado. As áreas selecionadas para coleta estavam classificadas como APPs, presentes principalmente em áreas de hidrografia, de alto potencial erosivo devido declividade e nas Unidades de Conservação, com presença de mata primária, ciliar e degradada (Fig. 2).



Figura 2 – Fotografia das áreas selecionadas para captura de vetores da FA. A) Área de mata primária. B) Área de mata degradada. C) Área de mata ciliar preservada. D) Área de mata ciliar.

4.3 Coletas de mosquitos

As coletas de mosquitos foram realizadas em 10 setores do município de Goiânia (Anexo 1). Foi selecionado apenas uma área por setor que possuía condições ecológicas e ambientais consideradas favoráveis a presença do vírus da FA. As coletas de mosquitos foram distribuídas conforme o tipo de vegetação,

sendo: i) oito coletas em três áreas de mata primária; ii) 22 coletas em seis áreas de mata degradada e iii) uma em área de mata ciliar.

Todas as capturas foram realizadas no período de 18/11/2020 a 27/04/2021, das 09:00 às 15:00 horas, por trio de servidores da Diretoria de Vigilância em Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia-GO.

Os mosquitos foram capturados por meio da técnica de atração humana no solo, com o uso de puçá entomológico (Fig. 3A) e capturador de Castro, em seguida acondicionados em gaiolas entomológicas (Fig. 3D) para serem transportados posteriormente em caixa de isopor refrigerada com gelox. No período de 01/12/2020 a 10/12/2020 durante a realização de treinamento em serviço com participação de servidores do Ministério da Saúde e Fiocruz também foram utilizadas, em cada ponto, 06 armadilhas BG-sentinela no solo com atração por CO₂ (Fig. 3C), além de capturas por homem em copa (Fig. 3B).



Figura 3 – Fotografia dos métodos de coletas realizados para captura de vetores da FA. A) Técnica de atração humana e coleta com puçá entomológico. B) Homem em copa. C) Armadilha BG-sentinela. D) Uso do capturador de Castro e gaiola entomológica.

4.4 Identificação dos vetores

A identificação dos mosquitos foi realizada no mesmo dia da coleta, em seguida foram encaminhados ao Laboratório Central da Saúde Pública de Goiás (LACEN-GO) para envio aos laboratórios de referência da rede (IEC e FIOCRUZ).

As gaiolas foram colocadas em freezer -20 °C para o adormecimento dos mosquitos, as quais foram manipulados em mesa refrigerada calibrada em temperatura abaixo de – 20 °C. A identificação por meio de chaves dicotômicas a nível de gênero e espécie foi realizada individualmente com uso de mesa refrigerada e microscópio estereoscópico (Olympus SZ2-LGB)^{30,31} (Figura 4). Os nomes dos gêneros e das espécies seguem a nomenclatura na classificação de novos mosquitos da Walter Reed Biosystematics Unit³². As amostras foram separadas por espécie, acondicionadas em criotubos, armazenadas em freezer -80 °C e enviadas ao LACEN-GO para serem encaminhadas aos laboratórios da rede.



Figura 4 – Procedimentos de identificação taxonômica dos culicídeos. A) Estereomicroscópio em mesa refrigerada. B) Mesa refrigerada com os espécimes. C) Identificação de *Sa. glaucodaemon*. D) Identificação de *Hg. leucocelaenus*.

4.5 Detecção do DNA Viral

Os pools contendo entre 1 a 14 culicídeos separados por espécie, foram enviados aos laboratórios da rede para realização de diagnóstico molecular do vírus amarelo no Laboratório de Biologia Molecular da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas e Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz-RJ).

A detecção viral realizada pelo laboratório da Fiocruz processou 587 pools, contendo 2539 espécimes. Após a centrifugação (9600 g, 10 min, 4 ° C), o RNA foi extraído de 140 µL de sobrenadante usando o kit Qiagen RNA Viral conforme as recomendações do fabricante. A amostra do RNA dos mosquitos foram analisadas pela técnica de RT-PCR convencional. O conjunto de primers utilizados foram 5'-CTGTGTGCTAATTGAGGTGCATTG-3' e 5'-ATGTCATCAGGCTCTTCTCT-3', com 9 a 663 nucleotídeos, entre as regiões 5' e PrM do genoma do vírus da febre amarela. As infecções foram pesquisadas pela detecção específica deste único amplicon, com o provável tamanho de 650 pares de base. Os amplicons obtidos foram purificados com o kit Qiagen QIAquick PCR conforme recomendação do fabricante.

As reações de sequenciamento dos nucleotídeos foram realizadas utilizando o ABI BigDye Terminator V3.1. O sequenciamento de nucleotídeos foi determinado por eletroforese capilar na unidade de sequenciamento da Fiocruz-RJ (RPT01A – Sequenciamento de DNA - RJ). Os dados sequenciados foram alinhados e editados através do módulo SeqMan do LaserGene (DNASTAR Inc.). As sequências de ácido nucleico obtidas foram comparadas com outras cepas do vírus da febre amarela disponíveis nos dados do Gen-Bank utilizando a ferramenta BLAST.

4.6 Mapeamento das epizootias e pontos de coletas de mosquitos

O Sistema de Informação em Saúde Silvestre (SISS-Geo) é a plataforma computacional essencial ao funcionamento do Centro de Informação em Saúde Silvestre (CISS). Os registros georreferenciados informados pelos usuários geram modelos de alerta de ocorrências de agravos na fauna silvestre. Os modelos gerados são convertidos em informações úteis para a sociedade, pois permitem a previsão de situações ecológicas que contribuem para a emergência de doenças com potencial de acometer humanos. A integração com a Rede de Laboratórios em Saúde Silvestre produz diagnóstico de agentes etiológicos circulantes no País, que permitem ações de vigilância e prevenção da saúde humana e animal e os planos de ação para a conservação das espécies e ecossistemas brasileiros³³.

A localização das espécies de mosquitos coletados, foi mapeada por meio do *software* "Google My Maps" associado aos dados georreferenciados das epizootias no sistema de informação em saúde silvestre - SISS-Geo³³.

5. Resultados e Discussão

5.1 Ocorrência de mosquitos vetores de FA

Foram coletados 2787 espécimes, distribuídos em 08 gêneros e 23 espécies de mosquitos. O maior número de mosquitos foi coletado na área do Jardins Paris, correspondendo a 61% do total. As coletas realizadas na área localizada na Vila Osvaldo Rosa, contribuíram com 17% do total dos mosquitos. Já as outras áreas do estudo somadas representaram 22% da abundância geral (Figura 5).

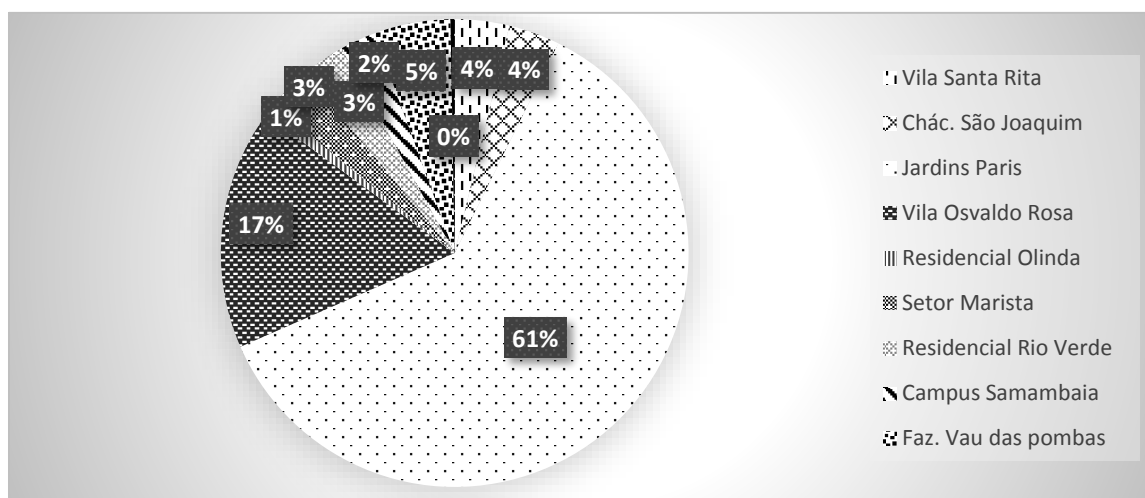


Figura 5 – Distribuição da abundância relativa (%) dos culicídeos capturados em 10 pontos selecionados no município de Goiânia-GO, 2020-2021.

Psorophora albigena foi a espécie de maior ocorrência 43,4% (1212). Porém, em relação aos vetores de FA, *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* foram coletados principalmente em áreas de mata primária com abundância de 2,66% (74) e 4,49% (125), respectivamente. *Sabethes glaucodaemon* com 0,29% (08), *Sabethes chlopterus* com 0,1% (03) e *Sabethes albiprivus* com 1% (28) foram coletados em proporção semelhante em áreas de mata primária ou degradada (Tab. 1). No período de 2016-2018, a abundância relativa das espécies dos mosquitos capturados antes e durante a circulação do vírus da FA em municípios da Região Sudeste do Brasil, foi de 9% para *Hg. leucocelaenus*; 4% para *Hg. janthinomys*; 0,3% para *Sa. chlopterus*; para 3% *Sa. albiprivus*; para 5% *Ae. albopictus* e 0,7% para *Ae. aegypti*²³.

No parque Parque Estadual localizado no Estado de Minas Gerais, em 2017-2018, durante período de circulação viral, obteve-se a abundância de 18,2% para *Hg. janthinomys*, 4,8% para *Hg. leucocelaenus*, 1,8% para *Ae.*

albopictus e 0,5% para *Sa. albiprivus*²⁶. Os resultados assemelham-se a este estudo, exceto para *Hg. janthinomys*, que apresentou 2,66% (Tab. 1).

Os resultados foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, exceto em relação a abundância de 20% da espécie *Aedes aegypti* (Tab. 1) que pode ser explicado devido ao elevado nível de adaptação desta espécie em ambientes modificados, como no caso de alguns pontos selecionados para este trabalho.

Aedes albopictus com uma frequência de 3,88% (108) foi coletado principalmente em área de mata degradada, enquanto que *Aedes aegypti* com 19,66% (548) foi detectado em grande quantidade também nas áreas de mata primária. Esse resultado corrobora com o estudo que detectou esta espécie em distância de até 100 m da borda da mata²⁰.

Tabela 1 – Distribuição das espécies capturadas em 10 pontos de coleta no município de Goiânia/GO conforme tipo de vegetação durante o período de circulação do vírus da FA, 2020-2021.

| Espécies | Nº | Abundância (%) | Tipo de vegetação | | |
|------------------------------|-------------|----------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| | | | Mata primária | Mata ciliar | Mata degradada |
| <i>Ps. albigena</i> | 1212 | 43,49 | 1063 (87,7%) | 52 (4,3%) | 97(8,0%) |
| <i>Ae. aegypti</i> | 548 | 19,66 | 299 (54,6%) | - | 249 (45,4%) |
| <i>Culex sp.</i> | 230 | 8,25 | 15 (6,5%) | - | 215 (93,5%) |
| <i>Ps. ferox</i> | 140 | 5,02 | 55 (39,3%) | 47 (33,6%) | 38 (27,14%) |
| <i>Ae. scapularis</i> | 130 | 4,66 | 104 (80%) | 1 (0,8%) | 25 (19,2%) |
| <i>Hg. leucocelaenus</i> | 125 | 4,49 | 116 (92,8%) | - | 9 (7,2%) |
| <i>Ae. albopictus</i> | 108 | 3,88 | 19 (17,6%) | 1 (0,9) | 88 (81,5%) |
| <i>Hg. janthinomys</i> | 74 | 2,66 | 64 (86,5%) | 2 (2,7%) | 8 (10,8%) |
| <i>Psorophora sp.</i> | 69 | 2,48 | 2 (2,9%) | 39 (56,5%) | 28 (40,6%) |
| <i>Li. durhamii</i> | 62 | 2,22 | 11 (17,7%) | - | 51 (82,3%) |
| <i>Sa. albiprivus</i> | 28 | 1,00 | 16 (57,1%) | - | 12 (42,9%) |
| <i>Ae. fluviatilis</i> | 12 | 0,43 | 3 (25%) | - | 9 (75%) |
| <i>Aedes sp.</i> | 11 | 0,39 | 7 (63,6%) | - | 4 (36,4%) |
| <i>Sa. glaucodaemon</i> | 8 | 0,29 | - | - | 8 (100%) |
| <i>Ae. fulvitorax</i> | 6 | 0,22 | 6 (100%) | - | - |
| <i>Ae. serratus</i> | 7 | 0,25 | - | 5 (71,4%) | 2 (28,6%) |
| <i>Sa. identicus</i> | 2 | 0,07 | - | - | 2 (100%) |
| <i>Ps. albipes</i> | 3 | 0,11 | 2 (66,7%) | - | 1 (33,3%) |
| <i>Sa. chloropterus</i> | 3 | 0,11 | 1 (33,3%) | - | 2 (66,7%) |
| <i>Weyomyia sp.</i> | 3 | 0,11 | - | - | 3 (100%) |
| <i>Ae. fulvus</i> | 1 | 0,04 | - | - | 1 (100%) |
| <i>Sabethes sp.</i> | 2 | 0,07 | - | - | 2 (100%) |
| <i>Cq. venezuelensis</i> | 1 | 0,04 | - | - | 1 (100%) |
| <i>Li. pseudomethysticus</i> | 1 | 0,04 | - | - | 1 (100%) |
| <i>Ps. lutzii</i> | 1 | 0,04 | - | - | 1 (100%) |
| Total | 2787 | 100,00 | 1783 (64,0%) | 147 (5,3%) | 857 (30.7%) |

Na região Centro-Oeste, as espécies *Hg. Janthinomys*, *Hg.leucocelaenus*, *Sa. chlopterus* e *Sabethes albiprivus* já foram detectadas em áreas do Distrito Federal^{25,26}. Esses resultados corroboram com os registros deste estudo, com exceção para *Sabethes glaucodaemon*, cuja ocorrência no município de Goiânia/GO foi identificada pela primeira vez.

Na Fig. 6 observa-se que *Hg. leucocelaenus* (125) e *Hg. janthinomys* (74) ocorreram em maior quantidade quando comparado aos mosquitos do gênero *Sabethes*. Tal fato, pode ser explicado pelo comportamento em descer até o nível do solo, evidenciado principalmente em *Hg. leucocelaenus*³⁴. Outra possível explicação seria o método de coleta utilizado, pois a utilização de puça e capturador de Castro apresenta maior rendimento quando comparada a armadilha BG-sentinela, mas há sinergismo quando se utilizada as duas técnicas³⁴.

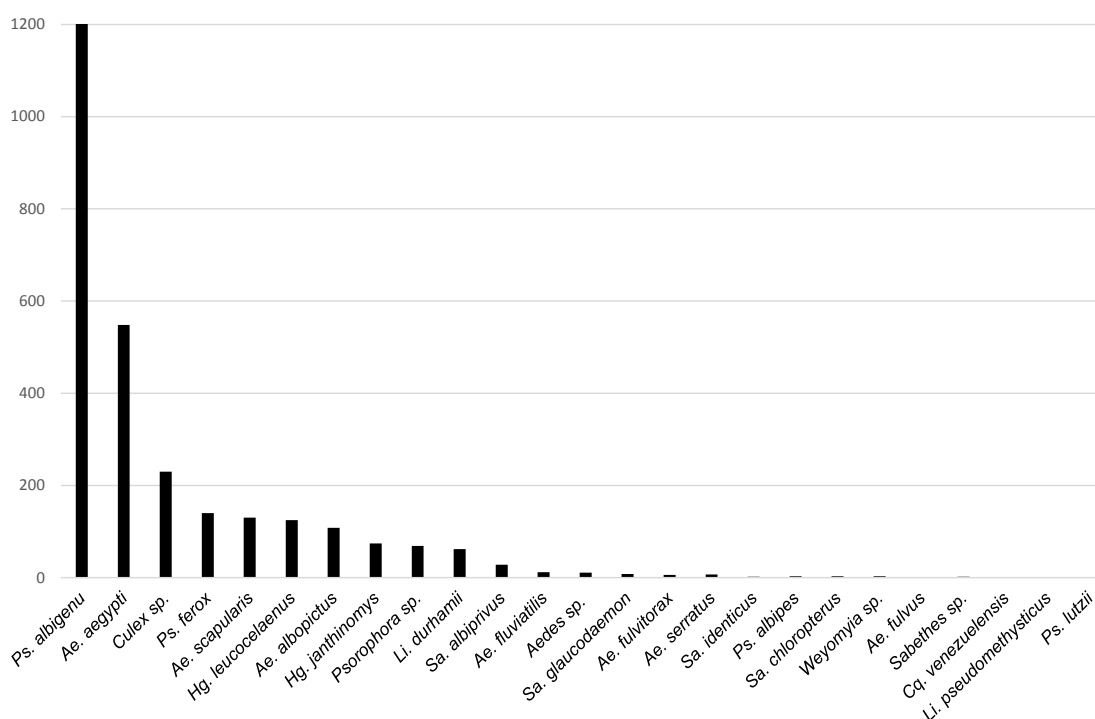


Figura 6. Ocorrência das espécies de culicídeos no município de Goiânia/GO, durante a investigação entomológica de vetores da FA, 2020-2021.

Hg. leucoceleaneus e *Hg. janthinomys* foram mais abundantes nas áreas de mata primária (Fig. 7) corroborando com os registros das últimas três décadas, onde sua ocorrência torna-se maior em áreas verdes urbanas e fragmentos florestais modificados, incluindo pequenas florestas, próximas a áreas cultivadas e pastagens, geralmente associadas pequenos rios e riachos³⁵. Para as espécies do gênero *Sabethes*, os resultados deste estudo (Fig. 7) são próximos aos encontrados em investigações de surto de FA, entre 2016 a 2018, que apontam certa limitação nas condições ecológicas com baixas taxas de distribuição, abundância e infecção³⁵.

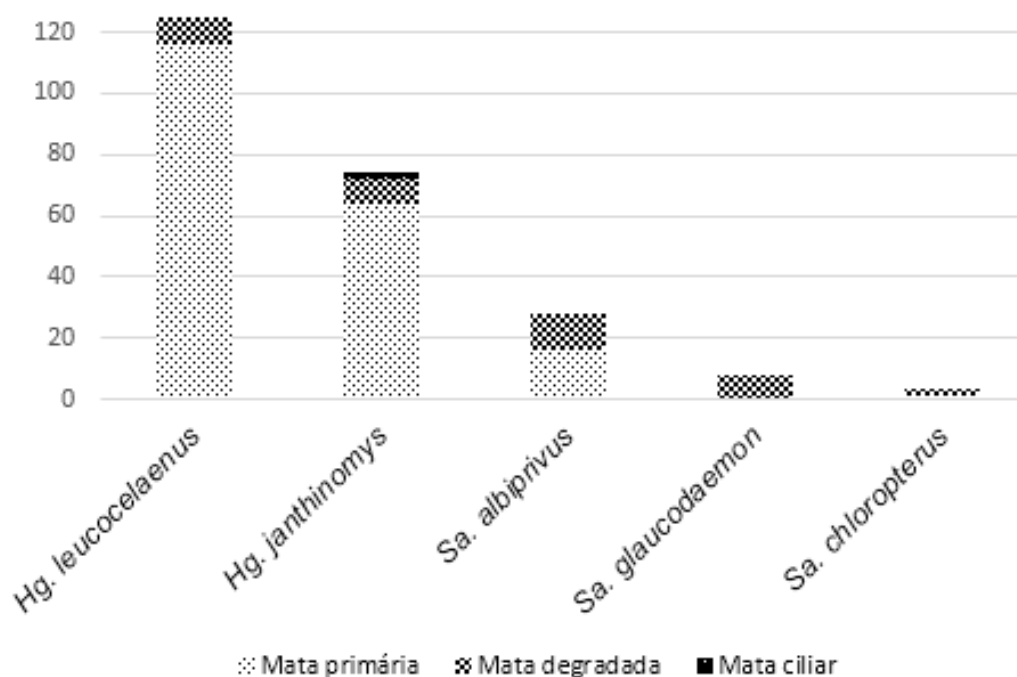


Figura 7. Distribuição das principais espécies de culicídeos capturados, por tipo de vegetação nos pontos das coletas, município de Goiânia-GO, 2020-2021.

5.2 - Detecção viral

O teste RT-PCR foi realizado em pools de mosquitos pertencentes aos gêneros *Aedes spp.*, *Haemagogus spp.*, *Sabethes spp.* e *Psorophora spp.*, todos os resultados das amostras processadas foram negativas para a presença do genoma do vírus amarelógeno.

Durante os períodos com circulação viral do vírus amarelógeno em Altamira no Estado do Pará, região Norte do país, *Hg. janthinomys* apresentou taxa de infecção em torno de 3,6% e 37,8% dos pools positivos. A infecção também foi

detectada em fêmeas nulíparas, o que confirmou a transmissão transovariana do vírus nesta espécie³⁶. Já *Hg. leucocelaenus* foi incriminado como vetor primário nos municípios de Caibaté e Coronel Barros, no Estado do Rio Grande do Sul, após a confirmação da infecção natural nessa espécie, em áreas com ausência do *Hg. janthinomys*³⁷. Na região Centro-Oeste já foi detectada a infecção simultânea nas duas espécies acima citadas, caracterizando-os como potenciais vetores na região²⁵.

A infecção natural em espécies de culicídeos capturados em 43 municípios localizados nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e um município no estado da Bahia, entre 2016-2018, caracterizou *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus* como vetores primários e *Sabethes chloropterus* como secundário²³. Já a pesquisa realizada em Parque Estadual no Estado de Minas Gerais identificou a positividade apenas em *Hg. janthinomys*²⁴.

A investigação entomológica nos municípios de São José do Rio Preto e Ribeirão Preto, no estado de São Paulo, durante a ocorrência de epizootias de PNHs confirmadas e casos humanos de FA, identificou as espécies *Hg. janthinomys*, *Hg. leucocelaenus* e *Sa. chloropterus*. No entanto, não houve a detecção da infecção natural³⁸, de forma semelhante ao presente estudo.

5.3 - Mapeamento das epizootias e pontos de coletas de mosquitos

O mapeamento possibilitou uma avaliação georreferenciada dos pontos das coletas dos culicídeos nas localidades das epizootias confirmadas e nas áreas identificadas por meio da modelagem de corredores ecológicos como vulneráveis à circulação e dispersão do vírus amarelo. Permitiu ainda uma classificação das áreas que deverão ser permanentemente monitoradas para febre amarela devido a ocorrência de vetores primários e epizootias.

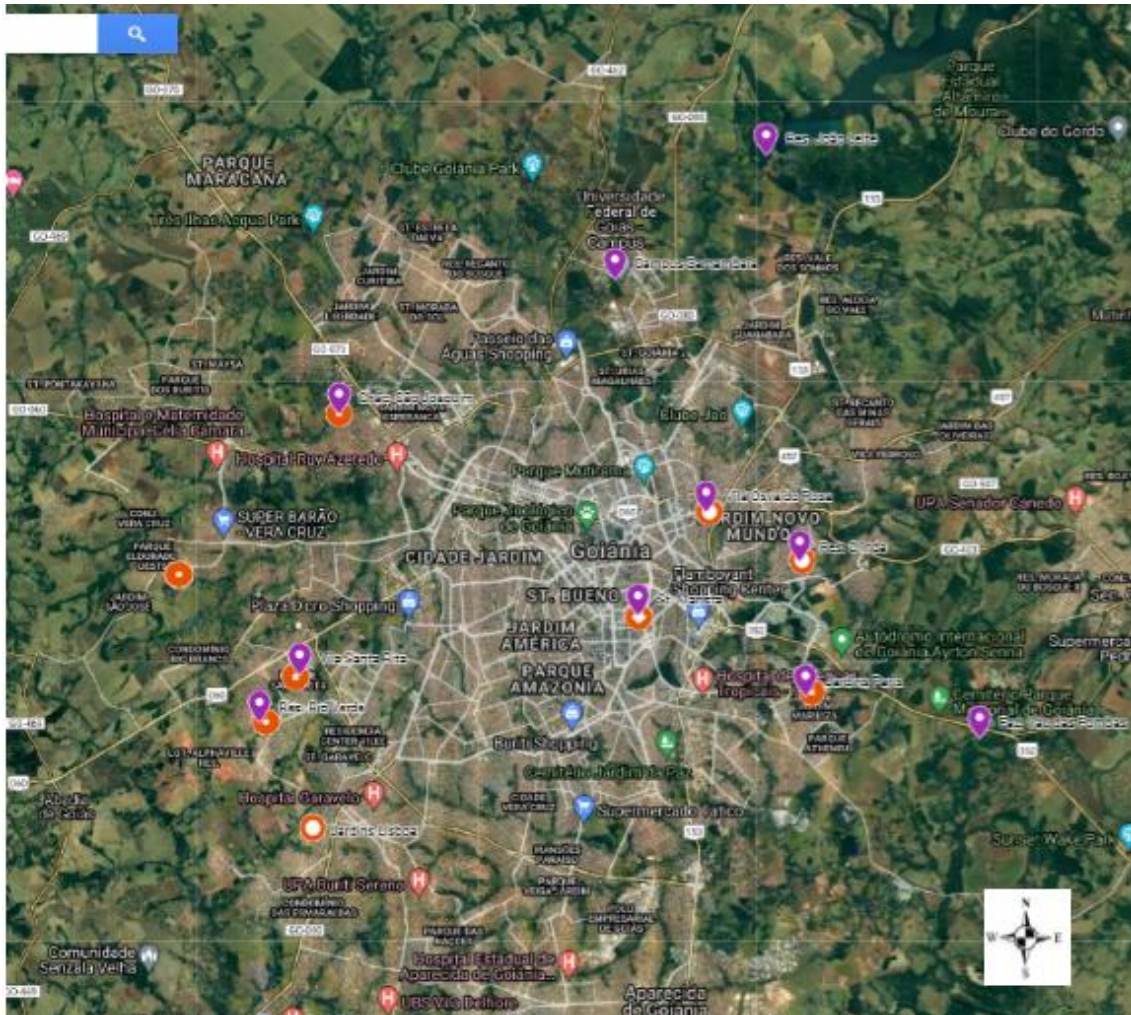





Figura 8. Mapeamento da distribuição das epizootias confirmadas segundo espécie do PNH (laranja) e pontos de coletas de mosquitos (roxos), no município de Goiânia/GO, 2020-2021. Legenda:  *Alouatta caraya*;  *Callithrix penicillata*;  *Sapajus libidinosus*

Na Fig. 8 observa-se que a maioria das capturas de mosquitos foram realizadas nas áreas de ocorrência de epizootias de PNHs confirmadas. Os potenciais vetores primários do ciclo silvestre - *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* apresentaram ocorrência em 100% das áreas pesquisadas (Fig.9). Já os vetores secundários - *Sabethes chloropterus*, *Sabethes glaucodaemon* e *Sabethes albiprivus*, ocorreram em 80% das localidades. E as espécies *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* ocorreram em 90% das localidades (Fig. 9).

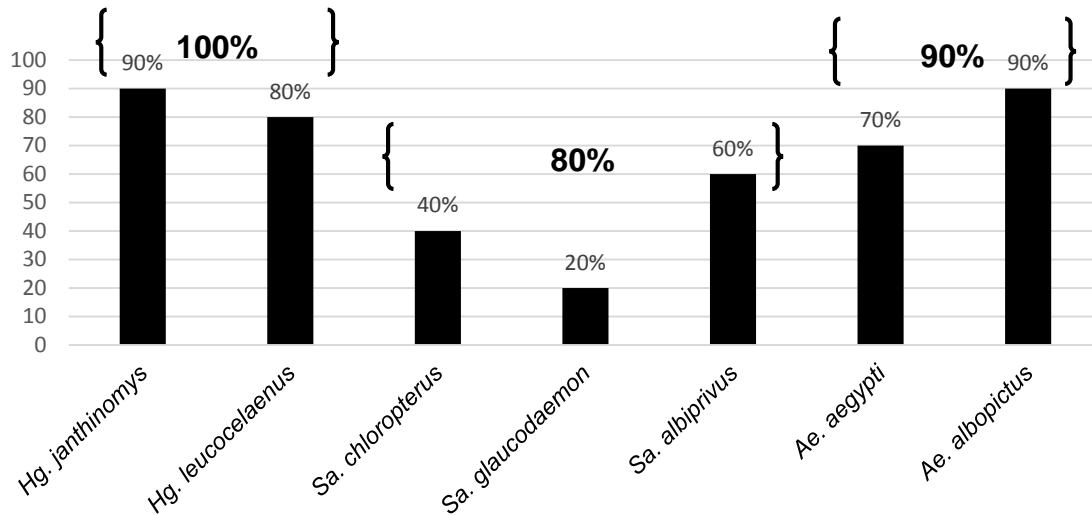


Figura 9. Distribuição das principais espécies vetoras de FA conforme a ocorrência nos 10 pontos de coleta, município Goiânia/GO, 2020-2021. Os valores em negrito representam a somatória das espécies dos gêneros.

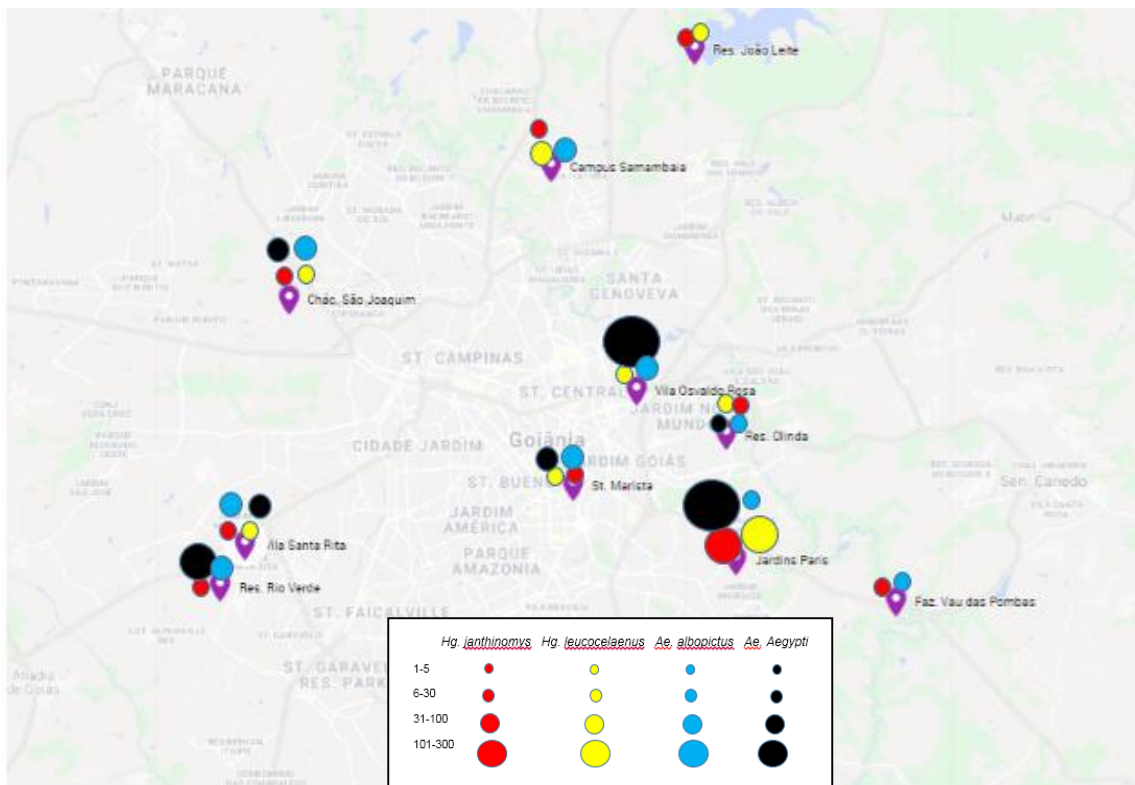


Figura 10. Mapa da distribuição dos potenciais vetores da FA por pontos das coletas, município de Goiânia-GO, 2020-2021.

As coletas e identificações realizadas em municípios da Região Sudeste do Brasil, durante a ocorrência de epizootias e casos humanos de febre amarela entre 2016 e 2018, detectaram mosquitos da espécie *Hg. leucocelaenus* em 71% das áreas e *Hg. janthinomys* em 57%; *Sabethes chloropterus* em 29% e *Sa.*

albiprivus em 43%; *Ae. albopictus* em 95% e *Ae. aegypti* em 29%²³. Os estudos realizados em Parque Estadual localizado no Estado de Minas Gerais e em áreas urbanas, periurbanas, rurais e silvestres no Distrito Federal não identificaram a presença de *Ae. aegypti*^{24,25}. No presente estudo, esta espécie não foi encontrada apenas nas áreas do Reservatório do Ribeirão João Leite, Fazenda Vau das Pombas e Campus Samambaia, pois os pontos de coletas foram em matas primárias distantes de imóveis residenciais. Já o *Ae. albopictus* não foi encontrado apenas na área do Reservatório do Ribeirão João Leite, provavelmente devido à realização de apenas um dia de coleta neste local, além da região ser localizada em Parque Estadual com áreas de mata primária mais preservadas e distantes dos centros urbanos. (Fig. 10).

Nossos resultados demonstram que a ampla distribuição dos potenciais vetores primários na maioria das localidades (Fig. 10) e a ocorrência das epizootias positivas de forma recorrente apontam a vulnerabilidade e receptividade do município de Goiânia/GO para a FA, além do risco eminente da reurbanização da doença.

A principal limitação deste estudo foi o longo intervalo entre as a notificação das epizootias e as coletas de mosquitos. Talvez esse fato tenha contribuído para a não detecção do vírus em mosquitos, durante o período sazonal da FA no município de Goiânia-GO. As coletas deveriam ter sido realizadas logo após as notificações das epizootias suspeitas. Outras limitações foram o baixo quantitativo de profissionais capacitados em taxonomia de culicídeos e a dificuldade de aquisição dos insumos para funcionamento adequado dos equipamentos para coletas dos mosquitos, o que desmotivou a realização das coletas em tempo oportuno.

6- Conclusão

Conclui-se que o município de Goiânia/GO apresenta elevada vulnerabilidade e receptividade para a circulação do vírus da FA, tendo em vista que *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus* foram registradas em 90% e 80% das áreas pesquisadas, respectivamente. Outras espécies envolvidas na transmissão do vírus amarelo também foram identificadas, tais como *Sabethes chlopterus* e *Sabethes albiprivus*. Por fim, *Sabethes glaucodaemon* ainda não tinha sido registrada em Goiânia/GO.

Destaca-se também o risco de reurbanização da doença, devido a ocorrência das espécies *Ae. aegypti* e/ou *Ae. albopictus* capturadas em 90% dos pontos de coletas, com ocorrência simultânea em 70% das localidades.

O diagnóstico da detecção viral nos mosquitos não confirmou quais mosquitos estavam infectados naturalmente pelo vírus da febre amarela durante a ocorrência das epizootias confirmadas de PNHs.

O mapeamento dos pontos de coletas dos vetores associado com as epizootias confirmadas dos PNHs permitiu pronta resposta da vigilância entomológica quanto a seleção precisa dos pontos de coleta dentro do município, principalmente quando há indícios de circulação viral. Além disso, o mapeamento das espécies de mosquitos por localidade demonstrou a distribuição geográfica/dispersão das espécies potencialmente vetoras de FA no município de Goiânia-GO.

Faz-se necessário, que as coletas dos mosquitos sejam realizadas em tempo oportuno; e que a detecção da infecção natural nos culicídeos seja implantada na rotina dos laboratórios regionais, com resultados em tempo hábil, para auxiliar na tomada de decisões em relação as medidas de vigilância, prevenção e controle das arboviroses.

7- Referências Bibliográficas

¹Walker PJ, et al. Changes to virus taxonomy and the Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020). Archives of Virology [Internet]. 2020;165(11):2737-2748. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04752-x>.

²Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único [Internet]/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3^a.ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3bVMhH6>.

³Bryant JE, Holmes EC, Barrett ADT. Out of Africa: A molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas. PLoS Pathogen [Internet]. 2007;3(5):668-673. Available from: doi:10.1371/journal.ppat.0030075.

⁴Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Febre amarela : guia para profissionais de saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. – 1. ed., atual. – Brasília : Ministério da Saúde, 2018. 67 p. : il.

⁵OPAS/OMS. Organização Pan-Americana da Saúde. Febre amarela. Atualizado em 28/12/2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/node/40>. Acesso em: 26 jan. 2022.

⁶BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde de A a Z: Febre amarela. Atualizado em 28/12/2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-amarela>. Acesso em: 26 jan. 2022.

⁷BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia aplicada à Vigilância da febre Amarela. 2. ed. atualizada. Brasília, DF: MS, 2017. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/24/Guia_Epizootias_Febre_Amarela_2a_ed_atualizada_2017.pdf. Acesso em: 20 fev. 2022.

⁸Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância da Saúde. Plano de Ação para monitoramento do período sazonal da Febre Amarela. Brasília: MS [Internet]. Nota Informativa N^o 169, de 2019 – CGARB/DEIDT/SVS/MS. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/f/febre-amarela>.

⁹SUVISA/SES-GO. Febre Amarela: Casos humanos e epizootias confirmadas em Goiás e Goiânia-GO, 2014-2021 [Internet]. Goiânia-GO; 2021 May 11 [revised 2021 May 7; cited 2021 May 7]. Available from: <http://portalsinan.saude.gov.br/sinan-net>.

¹⁰Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância da Saúde. Situação epidemiológica da febre amarela – Monitoramento 2020/2021. Brasília: MS [Internet]. Boletim Epidemiológico Vol.52 N^o 4 – CGARB/DEIDT/SVS/MS.

https://www.gov.br/saude/ptbr/media/pdf/2021/fevereiro/11/boletim_epidemiologico_svs_4.pdf.

¹¹Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Plano de contingência para resposta às emergências em Saúde Pública: febre amarela [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. 2. ed. - Brasília : Ministério da Saúde, 2021. 47 p. : il. http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_contingencia_emergencias_febre_amarela_2_ed.

¹²Shannon RC, Whitman L, Franca M. Yellow fever virus in jungle mosquitoes. *Science* [Internet]. 1938;88(2274):110-111. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.88.2274.110>.

¹³Forattini OP. Febre amarela. *Rev. Saúde Pública* [Internet]. 1999;33(6): 534-534. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489101999000600002&lng=pt.

¹⁴Rodaniche E, Galindo P. Isolation of yellow fever virus from *Haemagogus mesodentatus*, *Hg equinus* and *Sabethes chloropterus* captured in Guatemala in 1956. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1957;6(2):232–237. Available from: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1957.6.232>.

¹⁵Pinto CS, Confalonieri UEC, Mascarenhas BM. Ecology of *Haemagogus sp.* and *Sabethes sp.* (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009; 104(4):592–598. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000400010>.

¹⁶Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 2011;2(1):11-26. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232011000100002>.

¹⁷Galindo P, Trapido H, Carpenter, SJ, Blanton FS. The Abundance Cycles of Arboreal Mosquitoes during Six Years at a Sylvan Yellow Fever Locality in Panama. *Annals of the Entomological Society of America* [Internet]. 1956;49(6):543–547. Available from: <https://doi.org/10.1093/aesa/49.6.543>.

¹⁸Bates M. Observations on the Distribution of Diurnal Mosquitoes in a Tropical Forest. *Ecology* [Internet]. 1944;25(2):159-170. Available from: <https://doi.org/10.2307/1930689>.

¹⁹Forattini OP, Lopes OS, Rabello EX. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública* [Internet]. 1968;2(2):111–173. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101968000200002>.

²⁰Hendy A, *et al.* Into the woods: Changes in mosquito community composition and presence of key vectors at increasing distances from the urban edge in urban

forest parks in Manaus, Brazil. *Acta Tropica* [Internet]. 2020;206 (10544). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105441>.

²¹Boshell-Manrique J, Osorno-Mesa E. Observations on the epidemiology of jungle yellow fever in Santander and Boyacá, Colombia, September 1941, to april, 1942. *American Journal of Epidemiology* [Internet]. 1944;40(2):170-181. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118984>.

²²Goenaga S, et al. Isolation of Yellow Fever Virus from Mosquitoes in Misiones Province, Argentina. *Vector Borne Zoonotic Diseases* [Internet]. 2012;12(11) 986-993. Available from: <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0730>.

²³Abreu, FVS et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. *Emerging Microbes & Infections* [Internet]. 2019;8(1):218-231. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30866775/>.

²⁴Pinheiro GG, Rocha MN, de Oliveira MA, Moreira LA, Andrade Filho, JD. Detection of Yellow Fever Virus in Sylvatic Mosquitoes during Disease Outbreaks of 2017–2018 in Minas Gerais State, Brazil. *Insects* [Internet]. 2019;10(5):1-12. Available from: <https://doi.org/10.3390/insects10050136> (2019).

²⁵Obara, M.T., Monteiro, H., Paula, M.B. de, Gomes, A. de C., Yoshizawa, M.A.C., Lira, A.R., Boffil, M.I.R., Carvalho, M. do S.L. de, 2012. Infecção natural de *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* pelo vírus da febre amarela no Distrito Federal, Brasil, 2007-2008. *Epidemiol. e Serviços de Saúde* 21, 457-463. <https://doi.org/10.5123/s1679-4974201200300011>.

²⁶Lira-Vieira, A.R., Gurgel-Gonçalves, R., Moreira, I.M., Yoshizawa, M.A.C., Coutinho, M.L., Prado, P.S., 335 de Souza, J.L., Chaib, A.J. de M., Moreira, J.S., de Castro, C.N., 2013. Ecological aspects of 336 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.* 46, 566–574. 338 <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0136-2013>.

²⁷Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico – 2010. Brasil: IBGE [Internet]. 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados.html?view=municipio>.

²⁸Prefeitura de Goiânia. Goiânia: Capital Verde do Brasil [Internet]. Goiânia-GO; 2019. Disponível em: <https://www.goiania.go.gov.br/sobre-goiania/>.

²⁹Santos JB, Ferreira ME. Indicadores Ambientais Aplicados ao Planejamento e Gestão dos Recursos Hídricos: um estudo de caso para a Região Metropolitana de Goiânia, Goiás. In: *Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto -SBSR* ISBN: 978-85-17-00088-1 28 a 31 de Maio de 2017 INPE Santos - SP, Brasil. 2017; 894-901.

³⁰Consoli RAGB, Oliveira RL. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Editora Fiocruz. 1994;228p.

³¹Forattini OP. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. São Paulo: Universidade de São Paulo. 2002; 2:860p.

³²Unidade de Biossistemática Walter Reed (WRBU). Recursos de identificação de mosquitos [Internet]. 2019. Disponível em: http://www.wrbu.org/VeclD_MQ.html.

³³Chame M, Barbosa HJC, Gadelha L, Augusto DA, Krempser E, Abdalla L. Sistema de informação em saúde Silvestre - SISS-geo. In: III Seminários grandes desafios da divisão no Brasil - fase 2. SBC. 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/LuizGadelha/publication/281450192_Sistema_de_Informacao_em_Saude_Silvestre_SISSGeo/links/55e83f1508aeb6516262ff25/Sistema-delInformacao-em-Saude-Silvestre-SISS-Geo.pdf.

³⁴Deus, J.T.d.; Mucci, L.F.; Lucheta Reginatto, S.; Pereira, M.; Bergo, E.S.; de Camargo-Neves, V.L.F. Evaluation of Methods to Collect Diurnal Culicidae (Diptera) at Canopy and Ground Strata, in the Atlantic Forest Biome. *Insects* 2022, 13, 202. <https://doi.org/10.3390/insects1302020>

³⁵Li SL, Acosta AL, Hill SC, Brady OJ, de Almeida MAB, Cardoso JdC, et al. (2022) Mapping environmental suitability of *Haemagogus* and *Sabethes* spp. mosquitoes to understand sylvatic transmission risk of yellow fever virus in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 16(1): e0010019. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010019>

³⁶Mondet B, Vasconcelos PF, Travassos da Rosa AP, Travassos da Rosa ES, Rodrigues SG, Travassos Rosa JF, Bicout DJ. Isolation of yellow fever virus from nulliparous *Haemagogus* (*Haemagogus*) *janthinomys* in eastern Amazonia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2002 Spring;2(1):47-50. doi: 10.1089/153036602760260779. PMID: 12656130.

³⁷Cardoso, Jader da C et al. "Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008." *Emerging infectious diseases* vol. 16,12 (2010): 1918-24. doi:10.3201/eid1612.100608.

³⁸Moreno ES, Rocco IM, Bergo ES, Brasil RA, Siciliano MM, Suzuki A, et al. Reemergence of yellow fever: detection on transmission in the State of São Paulo, Brazil, 2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2011; 44 (3):290-296. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000041>

Anexo 1. Espécies de primatas não humanos (PNHs) com epizootias confirmadas, setores selecionados para investigação entomológica e caracterização das áreas das coletas.

| Epizootias confirmadas | | | Investigação entomológica | | | |
|---|------------------------------------|-----------------------|--|--------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| Datas das notificações/ Coleta dos culicídeos | Espécies dos PNHs | Setores | Intervalo entre notificação e coletas (dias) | Setores das coletas | Característica das áreas estudadas | Nº de dias de coletas |
| 26/09/2020 | <i>Sapajus libidinosus</i> | Res. Monte Pascoal | - | - | - | - |
| 28/09/2020 | <i>Alouatta caraya</i> | Res. Monte Pascoal | - | - | - | - |
| 30/09/2020 | <i>Callithrix penicillata</i> | Jardins Lisboa | - | - | - | - |
| 17/10/2020 07/12/2020 | <i>Alouatta caraya</i> | Vila Santa Rita | 51 | *Vila Santa Rita | mata degradada | 4 |
| 26/10/2020 07/12/2020 | <i>Callithrix penicillata</i> | Chác. São Joaquim | 42 | *Chác. São Joaquim | mata degradada | 4 |
| 03/11/2020 18/11/2020 | <i>Alouatta caraya</i> | Jardins Paris | 15 | Jardins Paris | mata primária | 1 |
| 03/11/2020 01/12/2020 | <i>Alouatta caraya</i> | Jardins Paris | 28 | *Jardins Paris | mata primária | 5 |
| 06/11/2020 01/12/2020 | <i>Callithrix penicillata</i> | Setor Universitário | 25 | *Vila Osvaldo Rosa | mata degradada | 5 |
| 22/12/2020 02/02/2021 | <i>Callithrix penicillata</i> | Conjunto Aruanã | 42 | Residencial Olinda | mata degradada | 3 |
| 23/01/2021 10/02/2021 | <i>Sapajus libidinosus</i> | Setor Marista | 18 | Setor Marista | mata degradada | 3 |
| 12/02/2021 27/04/2021 | <i>Alouatta caraya</i> | Residencial Rio Verde | 74 | Residencial Rio Verde | mata degradada | 3 |
| 02/12/2020 | Modelagem de corredores ecológicos | | - | *Campus Samambaia | mata primária | 1 |
| 08/12/2020 | Modelagem de corredores ecológicos | | - | *Faz. Vau das pombas | mata ciliar | 1 |
| 03/12/2020 | Modelagem de corredores ecológicos | | - | *Reservatório João Leite | mata primária | 1 |
| Total | | | | | | 31 |

* Coletas realizadas durante treinamento realizado pelo Ministério da Saúde e Fiocruz.