
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LAÍS FERNANDA SERRA NEVES

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MOSQUITOS
(DIPTERA: CULICIDAE) X ARBOVÍRUS VIA
TÉCNICAS DE ANÁLISE TOPOLÓGICA DE
DADOS**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO



LAÍS FERNANDA SERRA NEVES

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE)
X ARBOVÍRUS VIA TÉCNICAS DE ANÁLISE TOPOLÓGICA DE
DADOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

ORIENTADOR: CLÁUDIO JOSÉ VON ZUBEN

Rio Claro - SP
2022

N518e

Neves, Lais Fernanda Serra

Estudo da associação de mosquitos (Diptera: Culicidae) x arbovírus
via técnicas de análise topológica de dados / Lais Fernanda Serra
Neves. -- Rio Claro, 2022

75 f. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Biociências, Rio Claro

Orientador: Claudio José von Zuben

1. Biologia matemática. 2. Mosquitos. 3. Arbovírus. 4. Análise
Topológica de Dados. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

LAÍS FERNANDA SERRA NEVES

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE)
X ARBOVÍRUS VIA TÉCNICAS DE ANÁLISE TOPOLÓGICA DE
DADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela em Biologia.


BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Claudio José von Zuben (orientador)

Prof. Dr. José Paulo Leite Guadanucci

Prof. Dr. Thiago de Melo

Aprovado em: 7 de janeiro de 2022



Assinatura da discente



Assinatura do orientador

Para a Laís de 12 anos.

*Aquela criança insegura não fazia ideia da
Mulher e Bióloga que estava ajudando a criar.*

É graças a ela que eu estou aqui hoje!

Agradecimentos

O desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso, bem como o meu ingresso, trajetória e desenvolvimento dentro da Unesp Rio Claro só foi possível graças ao apoio de diversas pessoas. E são a elas que hoje dedico essas palavras de agradecimento:

Ao meu pai, Marcelo, por toda a dedicação e cuidado que teve por mim durante toda a minha vida. Por ter doado a sua vida para construir a minha. Por desenvolver o meu caráter. Pelos incentivos aos estudos e por sempre acreditar que um dia eu estaria onde estou hoje!

A minha mãe, Leila, que sempre fez de tudo para me ajudar no que fosse possível, mesmo que as ferramentas fossem escassas. Em sempre me defender e me apoiar nas minhas decisões, desde as mais sérias até as mais engraçadas. Por estar ao meu lado sempre!

A Unesp de Rio Claro, por te me acolhido na minha primeira tentativa. Por se tornar a minha segunda casa. Por ter me proporcionado momentos incríveis e me apresentado a pessoas maravilhosas que terei para toda a vida. Por ter me mostrado lugares especiais dentro e fora do campus. Pelos desafios e realizações. Pelas noites sem dormir. Por ter me motivado a fazer a minha tatuagem mais significativa. Por me tornar tão apaixonada por um campus!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cláudio, por me aceitar como aluna e confiar um grande trabalho em minhas mãos. Por ter me acolhido todas as vezes que solicitei ajuda. Por ter estado presente na viagem ao Pantanal, que foi a viagem mais marcante da minha vida. Por me ajudar a tomar decisões importantes, quanto a estágios e bolsas. Pelas longas horas de conversas no laboratório. Por ter me encorajado e acreditado em mim todas as vezes que pôde. Por ter se tornado um grande amigo para mim!

Aos professores parceiros, Prof. Dr. Thiago de Melo e Jamil Pereira Viana, do Departamento de Matemática da Unesp de Rio Claro, por toda a colaboração, ajuda e paciência que tiveram comigo e com o projeto. Este trabalho jamais existiria sem vocês!

Ao pesquisador Michael Turell, presidente do Subcommittee for Evaluation of Arthropod-Borne Status, por ter me ajudado no mesmo instante que solicitei seu auxílio.

Por ter sanado minhas questões e respondido da forma mais detalhada possível todas as minhas dúvidas. Por confiar e dar credibilidade no trabalho de uma brasileira apaixonada por ciência!

A FAPESP, por ter me aprovado na primeira tentativa. Pelo auxílio recebido no Processo nº 2019/22986-1, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Por ter acreditado em mim quando eu mesma não acreditava que conseguiria. Por ter me feito enxergar o quanto eu sou capaz!

Ao meu companheiro, Murilo, por ter me encorajado e apoiado durante todo o meu período na graduação. Por ser o meu melhor amigo. Por comemorar, chorar, fofocar, conversar e planejar tudo comigo. Por ser a minha companhia preferida. Por me incentivar a crescer e ser sempre uma versão melhor de mim mesma!

Aos meus animais de estimação, Paçoco, Mostarda, Binho, Terrorista, Chi e até mesmo a Tik Bell, esteja onde estiver. Vocês me fazem companhia, me acalmam, me fazem me sentir querida e necessária!

A todos os amigos que conquistei e que me conquistaram durante a minha trajetória, em especial aos do grupo All Moço, Isabela's, Giovani, Marina (Osasco), Renato, Letícia e Harumi. Pelo companheirismo, apoio, experiências, conversas, risadas e trabalhos em grupo perfeitos!

A todos os professores que cruzaram o meu percurso e me ajudaram a crescer, melhorar meus estudos e meu profissionalismo. Por desenvolverem ainda mais o meu pensamento crítico. Por aumentar o meu amor pela ciência!

A todos aqueles que me ajudaram nesse caminho: estágios, cursos, amigos, professores, familiares. Que moveram os obstáculos da minha frente. Que me ajudaram a transformar as pedras em pontes. Por todos que me deram uma oportunidade. Obrigada por me ajudarem a ser quem eu sou hoje! Eu cresci com a ajuda de vocês! E a pequena Laís de 12 anos com certeza estaria feliz se pudesse espiar o futuro, assim como eu estou hoje!

*“[...] mistérios do Universo permanecem ocultos.
Sua descoberta espera os cientistas aventureiros do futuro.”*
(Vera Rubin)

RESUMO

Os vírus que dependem de artrópodes hematófagos como vetores para chegar a seus hospedeiros vertebrados, são conhecidos como “arbovírus” (*ARthropod BORne VIRUS*). Em termos de saúde pública, muitas arboviroses têm se destacado nos últimos anos pelo expressivo número de casos em humanos (como dengue, zika, Chikungunya, febre amarela, entre outras) e geralmente envolvem espécies de culicídeos como vetores. Apesar de muitos estudos terem sido realizados envolvendo vários aspectos epidemiológicos dessas doenças causadas por arbovírus e transmitidas por mosquitos, ainda não se tem uma visão muito clara de que outras arboviroses podem potencialmente ser veiculadas por mosquitos (e por quais grupos desses dípteros). Por este motivo, o presente projeto objetiva conhecer melhor as associações entre arbovírus e mosquitos, utilizando técnicas de Análise Topológica de Dados (TDA) para investigar dados obtidos a partir do Catálogo Internacional de Arboviroses, disponível online. Os resultados foram expressos em Dendrogramas, que foram analisados e discutidos. Averiguou-se nesse trabalho que mosquitos adaptados à meios urbanos tem maior potencial viral; os arbovírus também tem se tornado mais adaptados a ambientes urbanos e ao homem; mosquitos conseguem encontrar condições apropriadas de ciclo de vida e alimentação para se manter nas grandes cidades; a microbiota intestinal mais ricas e abundantes em mosquitos influenciam na infecção e transmissão de arbovírus; arbovírus mais conhecidos estão relacionados com as espécies de mosquitos mais bem exploradas, enquanto que outros permanecem na penumbra do conhecimento.

Palavras-chaves: Mosquitos; Arbovírus; Fatores epidemiológicos; Análise de dados; Métodos topológicos.

ABSTRACT

Viruses that rely on hematophagous arthropods as vectors to reach their vertebrate hosts are known as “arboviruses” (ARthropod BORne VIRUS). In terms of public health, many arboviruses have stood out in recent years due to the significant number of cases in humans (such as dengue, zika, chikungunya, yellow fever, among others) and generally involve species of Culicidae as vectors. Although many studies have been carried out involving various epidemiological aspects of these diseases caused by arboviruses and transmitted by mosquitoes, it is still not very clear which other arboviruses can potentially be transmitted by mosquitoes (and by which groups these dipterans). For this reason, this project aims to better understand the associations between arboviruses and mosquitoes, using Topological Data Analysis (TDA) techniques to investigate data obtained from the International Catalog of Arboviruses, available online. The results were expressed in Dendrograms, which were propagated and discussed. It was found in this work that mosquitoes adapted to urban environments have greater viral potential; arboviruses have also become more adapted to urban environments and humans; mosquitoes can find appropriate life cycle and feeding conditions to sustain themselves in large cities; Richer and more abundant intestinal microbiota in mosquitoes influence arbovirus infection and transmission; The best known arboviruses are related to the best-explored mosquito species, while others remain in the shadows of knowledge.

Keywords: Mosquitoes; Arboviruses; Epidemiological factors; Data analysis; topological methods.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. DESENVOLVIMENTO	13
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.3. RESULTADOS	19
2.3.1. Legendas dos Gráficos e Histogramas	46
2.3.2. Legendas dos Dendrogramas	46
2.4. DISCUSSÃO	51
2.4.1. O Catálogo Internacional de Arbovírus	51
2.4.2 A Análise Topológica de Dados	51
2.4.3. Mosquitos urbanos	52
2.4.4. Arbovírus urbanos	55
2.4.5. Alimentação de mosquitos	56
2.4.6. Microbiota intestinal de mosquitos	57
2.4.7. Níveis de conhecimento sobre mosquito-arbovírus	59
2.4.8 Observações destacadas pela autora	61
3. CONCLUSÃO	65
4 REFERÊNCIAS	66
5 ANEXOS	70
5.1 Lista 1	70
5.2 Lista 2	73
5.3 Quadro 1	73
5.4 Quadro 2	74
5.5 Quadro 3	74

Estudo da associação de mosquitos (Diptera: Culicidae) x arbovírus via técnicas de análise topológica de dados

1 INTRODUÇÃO

Mosquitos são insetos da ordem Diptera, pertencentes à Família Culicidae, conhecidos popularmente como “pernilongos” ou “muriçocas” (Consoli & Oliveira, 1994). Atualmente, a Família apresenta-se subdividida em duas Subfamílias, Anophelinae e Culicinae, com 11 tribos (Rueda, 2008) e cerca de 44 gêneros (Harbach, 2007). O número de espécies descritas varia entre diferentes autores: segundo Consoli & Oliveira (1994) e Sallum *et al.* (2000), é de aproximadamente 3.450 no total, sendo 450 na Subfamília Anophelinae e 3.000 na Subfamília Culicinae. Já Harbach & Howard (2007) listam 3.490 espécies de culicídeos em todo o planeta. A classificação usual da Família Culicidae é baseada em características morfológicas, taxonomia evolutiva e gradista, com interpretações filogenéticas subjetivas e os gêneros presentes no grupo raramente são revisados, embora os mosquitos sejam os insetos mais estudados do mundo (Lorenz, 2017).

São insetos holometábolos, ou seja, têm metamorfose completa no seu ciclo de vida, passando pelas etapas de ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto, em que as larvas e pupas são obrigatoriamente aquáticas. Os adultos são alados, possuem pernas longas e delgadas e as fêmeas (a maioria) são hematófagas, pois o sangue é necessário para o amadurecimento dos ovos e conseqüentemente oviposição. Durante o processo de repasto sanguíneo, elas podem infectar vertebrados com diferentes cargas virais que possam estar carregando em seu organismo (Consoli & Oliveira, 1994).

Dentro da Entomologia Aplicada, ciência que estuda os insetos sob os aspectos de utilidade ou nocividade (Corseuil, 2001), merece destaque a Culicidologia, que é a área de investigação científica que estuda os mosquitos. Os mosquitos causam grande dispêndio de recursos financeiros no controle e tratamento de doenças transmitidas por esses vetores, doenças essas que podem representar um número expressivo de óbitos resultantes das infecções de agentes patogênicos, como arbovírus, veiculados por esses insetos (Marcondes, 2001; Forattini, 2002).

“Arbovírus” é um acrônimo para *ARthropod BORne VIRUS*, ou seja, vírus específicos de artrópodes hematófagos que podem ser transmitidos para hospedeiros vertebrados, como aves e mamíferos, através de sua picada, acarretando viremias a estes (Consoli & Oliveira, 1994). Além disto, o termo "arbovírus" não simboliza um grupo taxonômico monofilético, mas sim ao seu modo em comum de transmissão, o que levanta a hipótese de que a associação

entre vírus e artrópodes surgiu diversas vezes ao longo da história da evolução desses seres (David, 2016).

Existem cerca de 545 espécies de arbovírus conhecidos e cerca de 200 espécies diferentes foram isoladas somente no Brasil, sendo que muitas delas estão associadas a doenças humanas (Lima, *et al.*, 2016). Cerca de 150 espécies podem causar doenças em humanos (Lopes; Nozawa; Linhares, 2014) e 40 podem infectar animais domésticos (Casseb, *et al.*, 2015) e estes estão dispostos em cinco Famílias virais: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae (Lopes; Nozawa; Linhares, 2014). Muitas das descobertas atuais envolvem vírus específicos de mosquitos e podem ser considerados ancestrais de arbovírus patogênicos de vertebrados. É importante lembrar que atualmente várias doenças são transmitidas por mosquitos, com destaque para dengue, chikungunya e zika (Marcondes & Ximenes, 2016).

O aumento no número de casos de infecções por arbovírus nas últimas décadas tem causado uma grande preocupação para a saúde pública e animal (Weaver & Reisen, 2010; Sukhralia, *et al.*, 2019). Doenças virais transmitidas por artrópodes hematófagos (WHO, 1985; DeFoliart *et al.*, 1987) estão entre as mais importantes doenças emergentes no início do terceiro milênio (Gubler, 2001; Gubler, 2002; Eldridge *et al.*, 2004, Weaver & Barrett, 2004; Anez *et al.*, 2012). Algumas infecções como dengue, chikungunya e zika, têm expandido cada vez mais sua disseminação nos últimos anos e arboviroses patogênicas apresentam distribuição mundial (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017; Sukhralia *et al.*, 2019).

Gould *et al.* (2017) consideram que arbovírus e outros agentes patogênicos microbianos têm (re)emergido por séculos e a única diferença dos tempos mais recentes em relação a períodos anteriores, é a maior velocidade com que a emergência e dispersão têm ocorrido atualmente, por conta do crescimento intensivo dos sistemas de transporte globais (Braack *et al.*, 2018), adaptação de artrópodes a áreas urbanas e dificuldade no controle desses vetores (Gould *et al.*, 2017).

Atualmente, há 537 arbovírus registrados no “Catálogo Internacional de Arbovírus” (CDC) (vide <https://wwwn.cdc.gov/arbocat/>), sendo que uma percentagem deles é reconhecida como prováveis e outras como possíveis arboviroses (Gluber, 2001). Entretanto, em estudos recentes, Shi *et al.* (2016) fizeram um amplo levantamento de vírus associados a nove filos de invertebrados (dentre eles, artrópodes) e reportaram a descoberta de 1.445 vírus com genoma de RNA. Em 2011, Forest Rohwer e Merry Youle afirmaram em um comentário na revista *Nature Reviews - Microbiology*, que a não consideração dos vírus no estudo da dinâmica de sistemas biológicos complexos, resulta em muitos estudos em que uma

parte crucial fica faltando (Rohwer & Youkle, 2011). O Subcomitê de Intercâmbio de Informações (SIE) do Comitê Americano de Vírus Transmitidos por Artrópodes (ACAV) é responsável pela divulgação de todos os dados apresentados. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) mantém o Catálogo de Arbovírus (*Arbovirus Catalog – CDC - Division Of Vector-Borne Diseases (DVBD)*, 2021).

Weaver (2013) fez uma ampla revisão sobre possíveis fatores responsáveis pela emergência de arboviroses em áreas urbanas e comentou sobre estratégias que podem auxiliar na prevenção dessas doenças virais; o mesmo autor listou, em 2018, possíveis fatores que podem auxiliar na urbanização de novas arboviroses, principalmente aquelas que podem vir a fazer parte do ciclo de transmissão em área urbana, envolvendo mosquitos *Aedes*, com reflexos na comunidade de arbovírus em determinados grupos de mosquitos (Weaver, 2018).

Outro aspecto importante na epidemiologia de arbovírus transmitidos por mosquitos, é que a dupla infecção viral específica em um vetor inseto, pode impedir a replicação de um arbovírus (SCHULTZ, *et al.*, 2018). Esse detalhe é muito interessante e estudos nessa área permitem conhecer melhor a comunidade de arbovírus (Bolling, *et al.*, 2015) e também que se pense em estratégias para controle biológico dos arbovírus (Vasilakis & Tesh, 2015).

Pelo exposto, é muito importante conhecer melhor a associação entre diferentes arbovírus e mosquitos (esses últimos respondem pela transmissão de mais de 90% das arboviroses, segundo McGraw & O'Neill (2013)), potencialmente vetores desses microrganismos, o que pode auxiliar na melhor compreensão da epidemiologia de doenças virais transmitidas por mosquitos.

Por este motivo, o objetivo do presente projeto é utilizar técnicas de análise topológica de dados para estudar o banco de dados do Catálogo Internacional de Arboviroses, envolvendo arbovírus confirmados, prováveis e possíveis, para conhecer melhor a associação desses com os grupos de mosquitos vetores e tentar identificar quais são os grupos de mosquitos com maiores chances de serem confirmados como vetores desses arbovírus, principalmente os menos conhecidos e estudados.

2 DESENVOLVIMENTO

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo, foram utilizadas informações contidas no Catálogo Internacional de Arbovírus, do *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, (<https://wwwn.cdc.gov/Arbocat/>), que reúne informações sobre vírus de importância média

e zoonótica no mundo. No catálogo, são encontrados 537 arbovírus (Lista 1 - Anexos), com diversas informações referentes a cada um deles, adicionadas por pesquisadores do mundo todo.

Na página inicial do Catálogo, é mostrado um alfabeto na parte superior da tela. Ao selecionar e clicar na letra de interesse, são expostos todos os arbovírus que tenham aquela letra na inicial do seu nome. Posteriormente, ao clicar no nome do arbovírus de interesse, o leitor é encaminhado a uma nova tela, contendo diversas informações gerais sobre o arbovírus e sobre o pesquisador que o cadastrou no catálogo. À esquerda desta mesma tela, existem abas com outras informações específicas sobre o vírus que podem ser exploradas, e que foram utilizadas na elaboração deste projeto. Cabe salientar que, durante a pesquisa, foi observado que nem todos os arbovírus cadastrados possuíam todas as informações completas e que foram adicionadas de acordo com os conhecimentos do pesquisador que a cadastrou.

Na aba “*Virus Name/Prototype*”, foram averiguadas e coletadas as seguintes informações: “Nome do arbovírus”, “Grupo Antigênico” (ou Sorogrupo), “*Status* do arbovírus”, “Família do arbovírus” e “Gênero do arbovírus”. Posteriormente, na aba “*Natural Host Range*”, foi aferida a gama de hospedeiros naturais que podem carregar o respectivo arbovírus. Nesta etapa, os mosquitos foram preferencialmente agrupados por “Gênero”. Estas informações foram transferidas a uma planilha de Excel, no intuito de montar os primeiros dados para análise.

Em planilha de Excel, cada tópico citado foi organizado em colunas, onde 5 colunas carregavam informações sobre o arbovírus (Família; Gênero; Nome; *Status*; Grupo Antigênico) e 1 informava os gêneros de mosquitos relacionados àquela espécie de arbovírus (*Natural Host Range*), totalizando 6 colunas. Os dados foram acrescentados de acordo com os arbovírus; dessa forma, cada linha representava um arbovírus exclusivamente e suas respectivas informações. Arbovírus que possuíam associações com mosquitos, tinham as linhas (fonte) na coloração preta. Já quando não possuíam mosquitos associados, somente outros artrópodes ou vertebrados, a respectiva linha (fonte) era destacada em vermelho (ilustrado pela Figura 1). A lista completa dos arbovírus estudados pode ser encontrada em Anexos.

Durante a confecção da planilha, foi possível observar que havia alguns vírus com dados de classificação ausentes (como Família e/ou Gênero). Sendo assim, todas as informações referentes à classificação dos arbovírus foram consultadas, confirmadas e/ou corrigidas (quando necessário) de acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV; <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>), o qual regulariza e organiza a classificação

taxonômica dos vírus, tentando desenvolver uma estrutura de classificação universal para vírus, através do Código de Classificação Viral. Todos os 537 arbovírus foram verificados, um a um, a partir do seu nome cadastrado na plataforma e os que não estavam listados neste banco de dados, permaneceram com a classificação original do Catálogo ou, quando ausente em todos os locais, atribuiu-se a nomenclatura “*Unclassified*”. Ao todo, 22 (4,09%) arbovírus não tinham registros de suas Famílias e 46 (8,56%) não tinham um Gênero atribuído ao ICTV e nem no Catálogo.

Posteriormente, os arbovírus com linhas coloridas em vermelho foram verificados em literatura para se constatar se realmente não havia ocorrências entre esses arbovírus destacados e culicídeos, pois constatou-se algumas incongruências (por exemplo, o arbovírus Chikungunya não estava associado a mosquitos pelo Catálogo). Alguns tiveram alteração de vetores, sendo acrescentados culicídeos, porém a maioria se manteve sem associações com mosquitos. Os artigos utilizados para consulta estão listados no Quadro 1 - Anexos.

Após finalização da planilha contendo todas as informações gerais sobre os arbovírus e seus respectivos vetores associados, foi elaborada uma segunda planilha a partir da anterior, contendo 25 colunas: a primeira coluna era representada pelos “Nomes dos arbovírus” coletados anteriormente; a segunda coluna foi preenchida novamente pelos hospedeiros naturais de cada arbovírus, ou seja, “*Natural Host Range (Gênero de mosquitos)*”; as outras 23 colunas foram intituladas com os nomes de cada um dos grupos de mosquitos registrados em “*Natural Host Range*” anteriormente (Lista 2 - Anexos). Assim, 20 colunas foram ocupadas por Gêneros de culicídeos, 2 por Famílias de dípteros (Culicidae e Chironomidae), que não possuíam maiores informações de outros níveis de classificação e 1 coluna sem classificação específica, nomeada de “*Mosquitoes*” (quando os laboratórios onde foram analisados não especificavam a classificação dos mosquitos no Catálogo).

Em seguida, todas as 23 colunas foram cruzadas com as linhas de cada arbovírus e preenchidas com elementos binários de acordo com ausência ou presença de associações conhecidas entre a linha do arbovírus selecionado e a coluna do mosquito em questão (Figura 2). Sendo assim, quando um determinado arbovírus possuía associações conhecidas com um mosquito específico, a célula recebia o valor “1”. Já quando a associação não existia ou ainda não é conhecida, atribuiu-se o valor “0”. As células com os nomes dos gêneros de culicídeos foram coloridas por tribos, de acordo com o estudo de filogenia publicado por Harbach (2007) (Figura 3), que costuma ser a mais adotada atualmente segundo Lorenz (2017), apenas para facilitar a visualização inicial, mas que será melhor detalhada posteriormente.

As planilhas então foram encaminhadas ao Departamento de Matemática do IGCE da

UNESP, Campus de Rio Claro, para que a equipe responsável por linguagem em programação *Python* fizesse a aplicação dos *softwares* a partir dos dados obtidos e reencaminhasse os resultados obtidos para análise e discussão. Os Professores Doutores Thiago de Melo e Jamil Pereira Viana fazem parte da equipe responsável pelo laboratório de onde foram realizados as programações e o desenvolvimento dos *softwares*.

Os dados da planilha foram configurados da seguinte maneira: para cada par de gêneros de mosquitos, foi definida uma “distância” entre elas por meio da quantia de arbovírus comuns que ocorrem nessas espécies. Ou seja, quanto mais arbovírus em comum um par de diferentes culicídeos carrega, mais próximos eles são e, conseqüentemente, menor é a distância entre eles no dendrograma. Com isso, foi criada uma matriz de distâncias entre os gêneros de mosquitos.

Um processo de MDS (*multidimensional scaling*) foi aplicado para se obter uma representação geométrica das espécies por meio de pontos no plano cartesiano. A partir de um conjunto de vértices (gêneros de mosquitos), foram criados os complexos simpliciais de *Vietoris-Rips* com parâmetro N (em que N é a quantidade de arbovírus que um par de vértices possui em comum), conectando dois vértices se, e somente se, distarem no mínimo N . Com esse processo, são buscados agrupamentos (*clusters*) entre os gêneros, baseados na distância calculada. Uma análise dual pode ser feita, invertendo as variáveis mosquitos/vírus. Com isso, foi possível analisar a forma como um arbovírus consegue se conectar e transitar por entre os diferentes grupos de culicídeos, até alcançar grupos mais nocivos à saúde pública, como o *Aedes*.

Estes procedimentos usam as técnicas de Análise Topológica de Dados, como descritas por alguns autores (Edelsbrunner & Harer, 2008; Carlsson, 2009; Oudot, 2015). Foi utilizada programação *Python* com pacote *NumPy* (van der Walt *et al.*, 2011) para os cálculos e confecção dos gráficos.

A Análise Topológica de Dados é uma grande área da Matemática e permite visualizar uma classe de propriedades que alguns objetos matemáticos podem possuir. Ao utilizar essa técnica, também chamada de Análise de Agrupamentos, obtém-se como resultado final um “dendrograma” (ilustrado na Figura 4), que é o objeto visual que ilustra um agrupamento específico. Existem várias técnicas para se gerar dendrogramas em relação às formas de agrupamentos (Prado, 2015), mas, nesse projeto, baseou-se na Topologia dos Dados. Sua leitura é feita através de linhas paralelas, indicando uma distância ou uma aproximação entre um par de objetos (análise de *clusters*): linhas menores indicam menores distâncias e grande aproximação entre os pares da análise, ou seja, o quanto os objetos (grupos; neste caso,

arbovírus e/ou mosquitos) analisados foram considerados semelhantes, enquanto que linhas maiores indicam maiores distâncias e pouca aproximação entre os pares analisados.

	A	B	C	D	E	F
1	Nome do Arbovírus	Família (Arbovírus)	Gênero (Arbovírus)	Grupo Antigênico	Status	Natural Host Range (Gêneros Mosquitos)
20	Ananindeua	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Guama	Probable Arbovirus	<i>Culex; Coquillettidia; Culicoides</i>
21	Andasibe	Reoviridae	Orbivirus	Ungrouped	Possible Arbovirus	<i>Anopheles</i>
22	Anhanga	Phenuiviridae	Phlebovirus	Phlebotomus Fever	Possible Arbovirus	<i>Roedator</i>
23	Anhemi	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Bunyamwera	Possible Arbovirus	<i>Trichoprosopon</i>
24	Anopheles A	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Anopheles A	Probable Arbovirus	<i>Anopheles</i>
25	Anopheles B	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Anopheles B	Possible Arbovirus	<i>Anopheles</i>
26	Antequera	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Resistencia	Possible Arbovirus	<i>Culex; Aedeomyia; Aedes; Anopheles; Coquillettidia; Mansonia; Psorophora; Uranotaenia</i>
27	Apeu	Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	C	Arbovirus	<i>Aedes; Culex</i>
28	Apol	Flaviviridae	Flavivirus	B	Possible Arbovirus	<i>Culex</i>
29	Araguari	Orthomyxoviridae	Thogotovirus	Ungrouped	Possible Arbovirus	<i>Carrapato</i>
30	Aransas Bay	Orthomyxoviridae	Thogotovirus	Upolu	Possible Arbovirus	<i>Carrapato</i>
31	Arbia	Phenuiviridae	Phlebovirus	Phlebotomus Fever	Probable Arbovirus	<i>Phlebotomus</i>
32	Arboledas	Phenuiviridae	Phlebovirus	Phlebotomus Fever	Arbovirus	<i>Lutzomyia</i>
33	Aride	Unclassified	Unclassified	Ungrouped	Possible Arbovirus	<i>Carrapato</i>
34	Arkonam	Reoviridae	Orbivirus	Ungrouped	Possible Arbovirus	<i>Anopheles; Culex</i>
35	Aroa	Flaviviridae	Flavivirus	B	Possible Arbovirus	<i>Culex</i>
36	Aruac	Rhabdoviridae	Unclassified	Ungrouped	Probable Arbovirus	<i>Trichoprosopon; Wyeomyia; Psorophora; Phoniomyia; Culex; Sabethes</i>
37	Arumowot	Phenuiviridae	Phlebovirus	Phlebotomus Fever	Possible Arbovirus	<i>Culex; Mansonia</i>

Figura 1. Layout da planilha elaborada em Excel com as informações dos arbovírus retiradas a partir do Catálogo Internacional de Arbovírus - CDC. Nas colunas, são apontadas as informações de acordo com a categoria correspondente; nas linhas, são verificadas todas as informações de cada arbovírus de interesse. As linhas em “preto” correspondem a arbovírus associados a Culicídeos e as linhas destacadas em “vermelho” correspondem arbovírus sem associações a nenhum culicídeo.

	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
1	Nome do Arbovírus	Natural Host Range (Gêneros Mosquitos)	Aedes	Aedeomyia	Anopheles	Armigeres	Coquillettidia	Culex	Culiseta	Culicidae	Chironomidae	Democerites	Eretmapodites
19	Amapari	<i>Culex</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
20	Ananindeua	<i>Culex; Coquillettidia; Culicoides</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
21	Andasibe	<i>Anopheles</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
22	Anhanga	<i>Roedator</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	Anhemi	<i>Trichoprosopon</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Anopheles A	<i>Anopheles</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Anopheles B	<i>Anopheles</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
26	Antequera	<i>Culex; Aedeomyia; Aedes; Anopheles; Coquillettidia; Mansonia; Psorophora; Uranotaenia</i>	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
27	Apeu	<i>Aedes; Culex</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
28	Apol	<i>Culex</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
29	Araguari	<i>Carrapato</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	Aransas Bay	<i>Carrapato</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	Arbia	<i>Phlebotomus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	Arboledas	<i>Lutzomyia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	Aride	<i>Carrapato</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	Arkonam	<i>Anopheles; Culex</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
35	Aroa	<i>Culex</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
36	Aruac	<i>Trichoprosopon; Wyeomyia; Psorophora; Phoniomyia; Culex; Sabethes</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
37	Arumowot	<i>Culex; Mansonia</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
38	Aura	<i>Culex; Aedes</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Figura 2. Layout da planilha binária, confeccionada a partir dos dados obtidos da primeira planilha. Cruzando-se uma linha e uma coluna, era verificado a existência de associações entre o arbovírus e o culicídeo selecionados. Quando existia associação, atribuía-se “1”; quando não existia associações, completava-se com “0”.

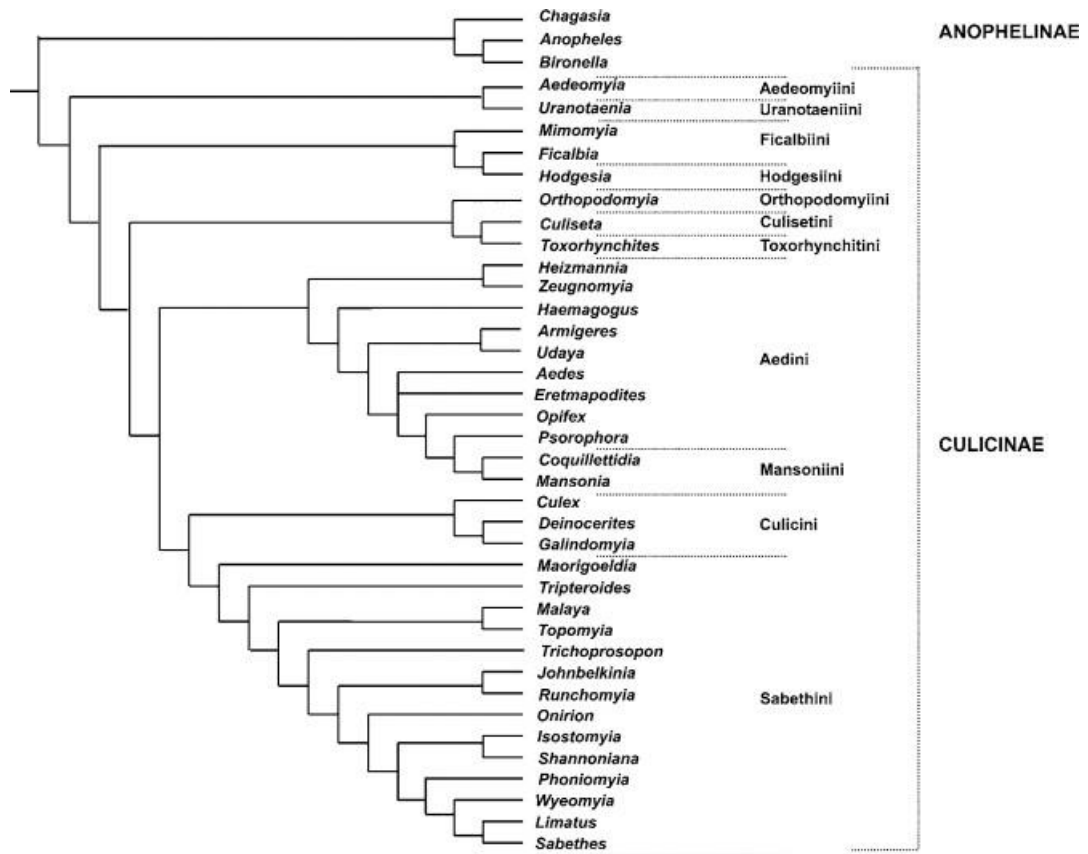


Figura 3. Filogenia de gêneros de mosquitos separados por tribos, baseada na morfologia de acordo com o estudo publicado por Harbach, (2007) que foi utilizada nesse estudo.

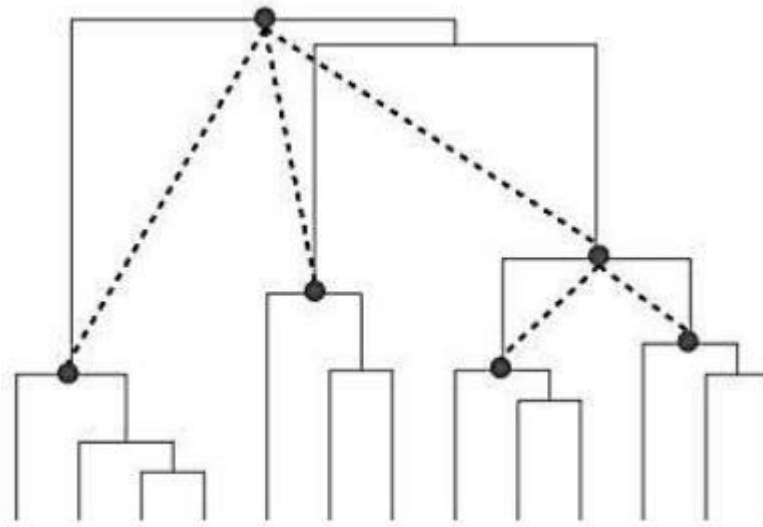


Figura 4. Exemplo de um dendrograma (Prado, 2015). Cada ponto indica um agrupamento (*cluster*) de objetos, e as linhas representa a distância entre eles, ou seja, a similaridade entre cada *cluster* analisado e comparado em pares.

2.3 RESULTADOS

Ao todo, foram registradas 537 espécies de arbovírus na planilha de “Informações Gerais” confeccionada no Excel, coletadas do Catálogo Internacional de Arbovírus - CDC e 20 gêneros de mosquitos associados a eles, distribuídos em 10 tribos das 2 subfamílias (Quadro 3 - Anexos). Os gêneros de mosquitos com maior número de associações com arbovírus podem ser observados no Gráfico A. Os arbovírus com potencial de se associar a um número maior ou igual a sete (7) gêneros de mosquitos podem ser observados no Gráfico B.

Após análise das planilhas, foram utilizadas as ferramentas computacionais de análise topológica de dados, com programação *Python*, para gerar os dendrogramas (ilustrados abaixo, Dendrogramas 1 a 4.1), utilizando-se diferentes formas de agrupamentos de todas as informações mencionadas anteriormente:

Dendrograma 1 – *Gêneros de mosquitos*: todos os gêneros de mosquitos citados foram agrupados de acordo com a quantidade de arbovírus passíveis de serem encontrados em cada um. Os nomes foram coloridos de acordo com as tribos (Harbach, 2007), ou seja, gêneros pertencentes a uma mesma tribo tiveram a fonte colorida da mesma cor, para se verificar o parentesco entre eles e a discrepância na carga viral. As observações serão melhor discutidas posteriormente.

Dendrograma 2 – *Grupos Antigênicos*: ao todo, foram computados 71 tipos diferentes de grupos antigênicos (ou sorogrupos) do Catálogo. Grupos sem classificação foram nomeados como “*Ungrouped*”, e foram muito recorrentes. De acordo com Cruz & Vasconcelos (2008, p. 1), “os arbovírus são classificados em grupos antigênicos, de acordo com o critério sorológico estabelecido por Casals (*apud* Casals, 1957). Cada grupo é constituído de dois ou mais vírus que demonstram relações antigênicas com cada outro, conforme mostrado por um ou mais testes sorológicos.” Sorogrupo é um conjunto de sorotipos que foram agrupados por possuírem antígenos comuns. Antígeno é toda substância que provoca uma resposta imunológica de um ou mais anticorpos. Isso significa que o antígeno é algo interpretado pelo sistema imunológico como uma possível ameaça à saúde. Cada sorogrupo é específico de uma única família viral, mas uma família de vírus pode ter mais de um sorogrupo. Para estes, foram selecionados os 6 Grupos Antigênicos com maior número de ocorrências, considerando o conjunto “*Ungrouped*”, visto que teve muitas ocorrências à equipe.

Dendrograma 2.1 – *Grupos Antigênicos*: todos os 537 arbovírus estudados neste

trabalho, separados pelos principais 6 Grupos Antigênicos de maior ocorrência, onde cada um deles é identificado por uma cor distinta, de acordo com a legenda. Os arbovírus que não pertencem a esses Grupos Antigênicos estão coloridos em preto.

Dendrograma 3 – *Família de arbovírus*: ao todo, foram computadas 18 Famílias diferentes e um conjunto nomeado “*Unclassified*” para arbovírus que não tiveram suas famílias disponíveis no Catálogo ou no ICTV. Foram selecionadas as 8 famílias com maior número de ocorrências, também considerando o conjunto “*Unclassified*”, que também foi muito recorrente. As Famílias com maior aproximação possuíam mais elementos em comum entre si.

Dendrograma 3.1 – *Família de arbovírus*: todos os 537 arbovírus estudados neste trabalho, separados pelas principais 8 Famílias de maior ocorrência, onde cada uma delas foi identificada por uma cor distinta. Os arbovírus que pertencem as demais Famílias estão coloridos em preto.

Dendrograma 4 – *Status dos arbovírus*: existem 5 *Status* arbovirais no Catálogo que classificam cada um dos arbovírus e o seu potencial como causadores de doenças: *Arbovirus* (113); *Probable Arbovirus* (96); *Possible Arbovirus* (293); *Probably Not Arbovirus* (17) e *Not Arbovirus* (18). A aproximação entre os elementos é feita através de características em comum com outros *Status* (gêneros de mosquitos ou famílias semelhantes, por exemplo).

Dendrograma 4.1 – *Status dos arbovírus*: todos os 537 arbovírus estudados neste trabalho, separados pelos seus respectivos *Status*, coloridos de cores distintas de acordo com a legenda.

Posteriormente, novos estudos e análises da planilha de Excel foram realizados, no intuito de gerar novas formas de agrupamentos e dendrogramas, mas desta vez, utilizando somente as informações referentes a coluna “*Natural Host Range*” (onde constam todas as 23 células representando cada um dos gêneros de mosquitos registrados) e a coluna “*Status*”, contendo as informações sobre os *status* de cada arbovírus (*Arbovirus* (Arbovírus); *Probable Arbovirus* (Provável Arbovírus); *Possible Arbovirus* (Possível Arbovírus); *Probably Not Arbovirus* (Provável Não Arbovírus) e *Not Arbovirus* (Não Arbovírus)). A nova análise teve intuito de tentar verificar uma aproximação entre diferentes mosquitos que podem carregar vírus com o mesmo potencial de causar alguma viremia ou não. No Gráfico 1, é possível observar, em colunas individuais, a quantidade de arbovírus divididos pelo respectivo *Status* que cada um dos gêneros de mosquitos podem carregar de acordo com as informações atuais coletadas do Catálogo.

Devido a dificuldade de se encontrar publicações que esclarecessem a definição de cada um dos *Status* mencionados, mas para se obter uma melhor compreensão sobre o significado de cada um dos *Status* encontrados no Catálogo Internacional de Arbovírus (CDC) e uma consequente otimização na análise dos resultados, uma mensagem de e-mail foi encaminhada à equipe responsável pela plataforma, questionando o significado de cada *Status* dos arbovírus, bem como os critérios de classificação utilizados para classificar cada um dos arbovírus do Catálogo. A mensagem foi encaminhada em inglês diretamente ao responsável do Subcomitê de Avaliação de *Status* de Arbovírus em Artrópodes (*SEAS - Subcommittee for Evaluation of Arthropod-Borne Status*), o presidente Michael Turell, que respondeu prontamente a dúvida, com uma explicação extremamente meticulosa e a “próprio punho” e ainda demonstrou grande interesse nesta pesquisa e disposição em ajudar no que puder.

Em sua resposta, o presidente Michael Turell esclareceu que quando cientistas começaram a trabalhar com todos esses vírus desconhecidos, era necessário ter um melhor entendimento de sua história natural. Portanto, era necessário saber quais vírus eram realmente “arbovírus” ou não. Alguns vírus, como o da Febre Amarela, o vírus pode se replicar em ambos os sistemas e é transmitido aos vertebrados por vários tipos diferentes de artrópodes. Entretanto, nem sempre as informações sobre um vírus são tão claras assim. Para isso, foi criado um “sistema em camadas”, onde informações sobre um determinado arbovírus são abastecidos. Se existirem dados suficientes e sólidos, um vírus pode ser classificado como “Arbovírus” ou como um “Não Arbovírus”. Porém, se os dados e informações não forem suficientes, mas houver suspeita de que seja um arbovírus, ele será classificado como “Possível Arbovírus”. Se houverem alguns dados que indicam que pode ser um arbovírus, mas os dados não são sólidos, então ele é classificado como “Provável Arbovírus”. Da mesma forma, se os dados indicarem que provavelmente não é um arbovírus, mas os dados não são sólidos, então ele é classificado como “Provável Não Arbovírus”. À medida que mais dados se tornam disponíveis, um “Possível Arbovírus” pode ser reclassificado como “Provável Arbovírus”, ou então um “Provável Arbovírus” pode ser reclassificado como um “Arbovírus” confirmado.

Em suma, a classificação sobre o *Status* atribuído a um determinado arbovírus é variável e estritamente dependente da quantidade de informações, pesquisas, experimentos e conclusões obtidas de um vírus coletado, tanto em um vertebrado quanto em um invertebrado. Essa classificação pode variar de acordo com os avanços de pesquisas e maior quantidade de informações que são descobertas a cada um dos arbovírus. Sendo assim, o contato com o presidente do Subcomitê além de preencher essa lacuna, ainda gerou um

relevante contato para pesquisas futuras que utilizem o Catálogo como banco de dados.

Para realizar uma análise dos agrupamentos utilizando os dados coletados, são necessários que dois pares possuam várias informações entre si, para que se possa avaliar o quão próximos ou distantes (matriz de distâncias) eles são a partir da quantidade de informações semelhantes ou divergentes entre eles. Ao utilizar somente duas informações (as colunas “*Natural Host Range*” e “*Status*”), novas metodologias foram adotadas para que os resultados pudessem ser gerados calculando essas distâncias. Para tal, foram gerados Histogramas, com diferentes cálculos, que serão explicados a seguir, para geração dos novos dendrogramas. Em cada uma das sequências de Histogramas, optou-se por organizar os *Status* em uma ordem padrão, que indica maior prioridade a grau de importância a classificação dos arbovírus: *Arbovirus*; *Probable Arbovirus*; *Possible Arbovirus*; *Probably Not Arbovirus* e *Not Arbovirus*. A partir dessa sequência, uma matriz de distância pôde ser calculada e programada na geração dos próximos dendrogramas que serão mostrados a seguir.

A primeira sequência de histogramas (Sequência de Histogramas 1) foi elaborada utilizando a planilha binária, do qual foi quantificado, através de uma soma simples, o número total de arbovírus que cada um dos 23 grupos de mosquitos possuíam, individualmente, gerando assim um *valor absoluto*, ou seja, o valor bruto de quantidade de arbovírus a que cada gênero de mosquito está relacionado de acordo com o Catálogo Internacional de Arbovírus (CDC). A partir do valor total individual de cada mosquito, também foi possível estabelecer a quantidade de arbovírus pertencente a cada um dos cinco *Status*, representados em colunas, e assim observar quais mosquitos carregam os maiores e menores números de arbovírus confirmados e possíveis. Através destes valores, também foi gerado o Gráfico 2, onde é possível visualizar em barras, a quantidade de arbovírus, separados por *Status*, que cada gênero de mosquito pode carregar.

Uma segunda sequência de histogramas (Sequência de Histogramas 2) foi confeccionada utilizando a mesma planilha binária, porém baseando-se nas proporções de valores de cada um dos cinco *Status* a partir do valor total de arbovírus para cada um dos mosquitos, gerando assim um *valor normalizado*. A “constante de normalização” é utilizada para se reduzir uma função de probabilidade a uma função densidade de probabilidade, do qual a probabilidade total seja igual a 1. Dessa forma, seria possível perceber a semelhança entre a proporção que diferentes mosquitos podem carregar de arbovírus com o mesmo potencial de transmitir arbovirose. Com esses valores, também foi gerado o Gráfico 3, onde é possível visualizar, em barras, a proporção de arbovírus, separados por *Status*, que pode ser

encontrado em cada gênero de mosquito.

A partir de cada uma das sequências de Histogramas, foi possível confeccionar dois novos dendrogramas, Dendrogramas 5 e 6, que indicam a proximidade e o afastamento em que cada gênero de mosquito se encontram em relação a quantidade de arbovírus, filtrados por seus respectivos *Status* que podem carregar.

Além destes métodos, também foram gerados outros dendrogramas utilizando somente as informações brutas da planilha binária, sem relação com os histogramas e foram confeccionados um dendrograma para cada um dos cinco *Status*, de forma individual. Através de cada um dos *Status*, foram gerados cinco dendrogramas (Dendrogramas 7, 8, 9, 10 e 11), sendo possível observar de forma mais eficaz as distâncias entre os grupos de mosquitos. Todos os Dendrogramas mencionados são explicados abaixo:

Dendrograma 5 – *Status: Histogramas Absolutos*: cada gênero de mosquito teve seus arbovírus quantificados e posteriormente separados por seus respectivos *Status*, para se identificar o número absoluto de arbovírus que fazem parte de cada uma das 5 classificações e posteriormente comparados. O cálculo da matriz de distância seguiu a ordem de prioridade citada anteriormente e vão de acordo com a similaridade dos resultados de cada mosquito. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

Dendrograma 6 – *Status: Histogramas Normalizados*: cada gênero de mosquito teve seus arbovírus quantificados e posteriormente separados por seus respectivos *Status*, para se identificar quantos arbovírus fazem parte de cada uma das 5 classificações e em seguida comparados. Posteriormente, esses valores foram normalizados, ou seja, transformados em proporções, para identificar uma aproximação diferenciada: dois gêneros de mosquitos podem carregar números diferentes de arbovírus confirmados, mas a proporção entre eles pode ser idêntica. O cálculo da matriz de distância seguiu a ordem de prioridade citada anteriormente e vão de acordo com a similaridade dos resultados de cada mosquito. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

Os demais dendrogramas confeccionados foram separados por cada um dos cinco *Status*:

Dendrograma 7 – *Status: Arbovirus*: o valor de arbovírus, filtrados exclusivamente pelo *Status* de “*Arbovirus*” de cada um dos 23 grupos de mosquito foi individualizado e comparado, gerando o agrupamento de *clusters* apenas desta classificação. Assim, consegue-se verificar quais grupos de mosquitos que mais se assemelham e se aproximam em carregar quantidades de arbovírus confirmados. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo

com suas tribos.

Dendrograma 8 – *Status: Probable Arbovirus*: o valor de arbovírus, filtrados exclusivamente pelo *Status* de “*Probable Arbovirus*” de cada um dos 23 grupos de mosquito foi individualizado e comparado, gerando o agrupamento de *clusters* apenas desta classificação. Assim, consegue-se verificar quais grupos de mosquitos que mais se assemelham e se aproximam em carregar quantidades de arbovírus com este *status*. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

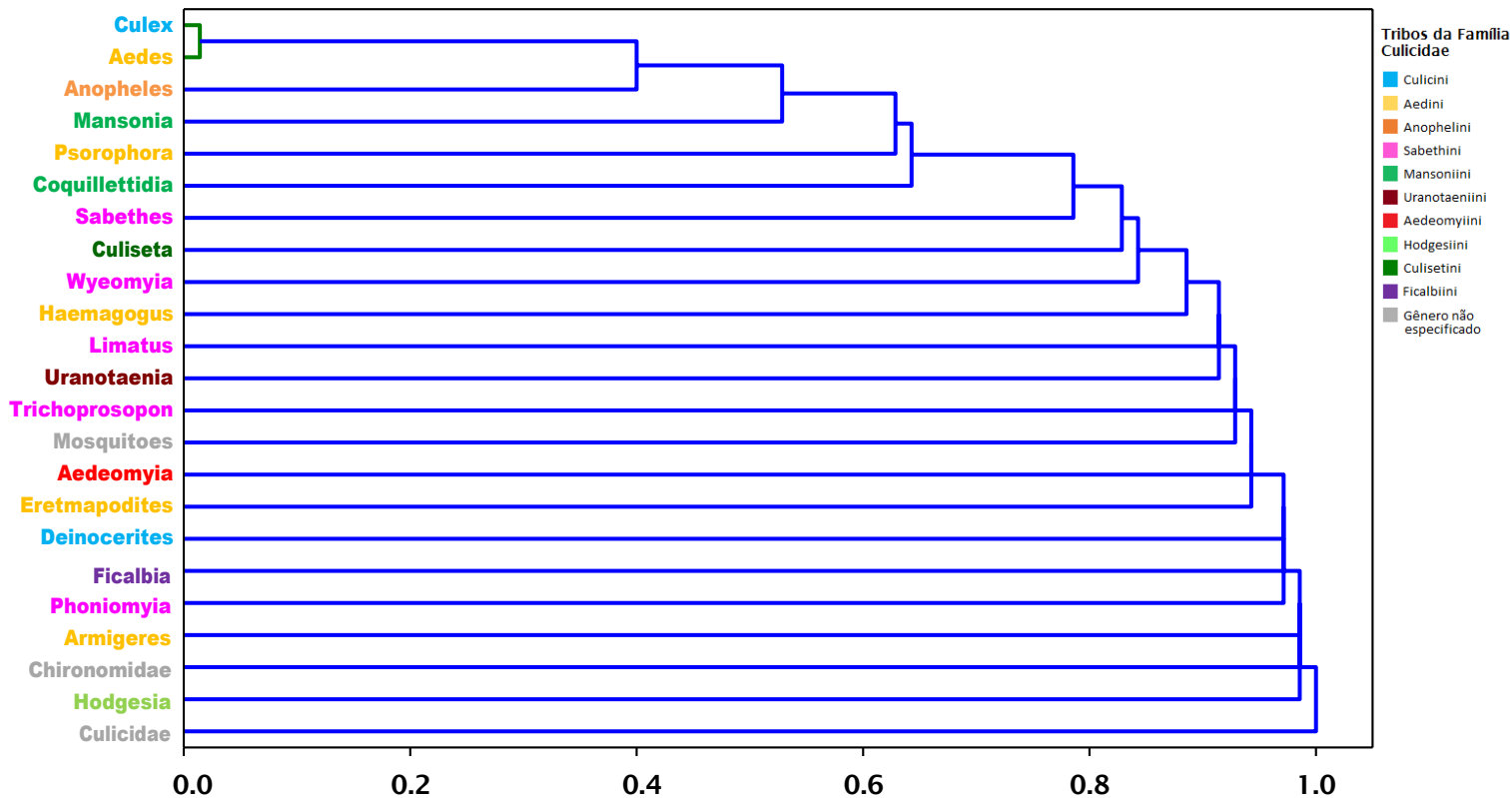
Dendrograma 9 – *Status: Possible Arbovirus*: o valor de arbovírus, filtrados exclusivamente pelo *Status* de “*Possible Arbovirus*” de cada um dos 23 grupos de mosquito foi individualizado e comparado, gerando o agrupamento de *clusters* apenas desta classificação. Assim, consegue-se verificar quais grupos de mosquitos que mais se assemelham e se aproximam em carregar quantidades de arbovírus com este *status*. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

Dendrograma 10 – *Status: Probably Not Arbovirus*: o valor de arbovírus, filtrados exclusivamente pelo *Status* de “*Probably Not Arbovirus*” de cada um dos 23 grupos de mosquito foi individualizado e comparado, gerando o agrupamento de *clusters* apenas desta classificação. Assim, consegue-se verificar quais grupos de mosquitos que mais se assemelham e se aproximam em carregar quantidades de arbovírus com este *status*. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

Dendrograma 11 – *Status: Not Arbovirus*: o valor de arbovírus, filtrados exclusivamente pelo *Status* de “*Not Arbovirus*” de cada um dos 23 grupos de mosquito foi individualizado e comparado, gerando o agrupamento de *clusters* apenas desta classificação. Assim, consegue-se verificar quais grupos de mosquitos que mais se assemelham e se aproximam em carregar quantidades de arbovírus confirmados como não arbovirose. Os gêneros de mosquitos foram coloridos de acordo com suas tribos.

Dendrograma 1 - Gêneros de Mosquitos

by Cityblock

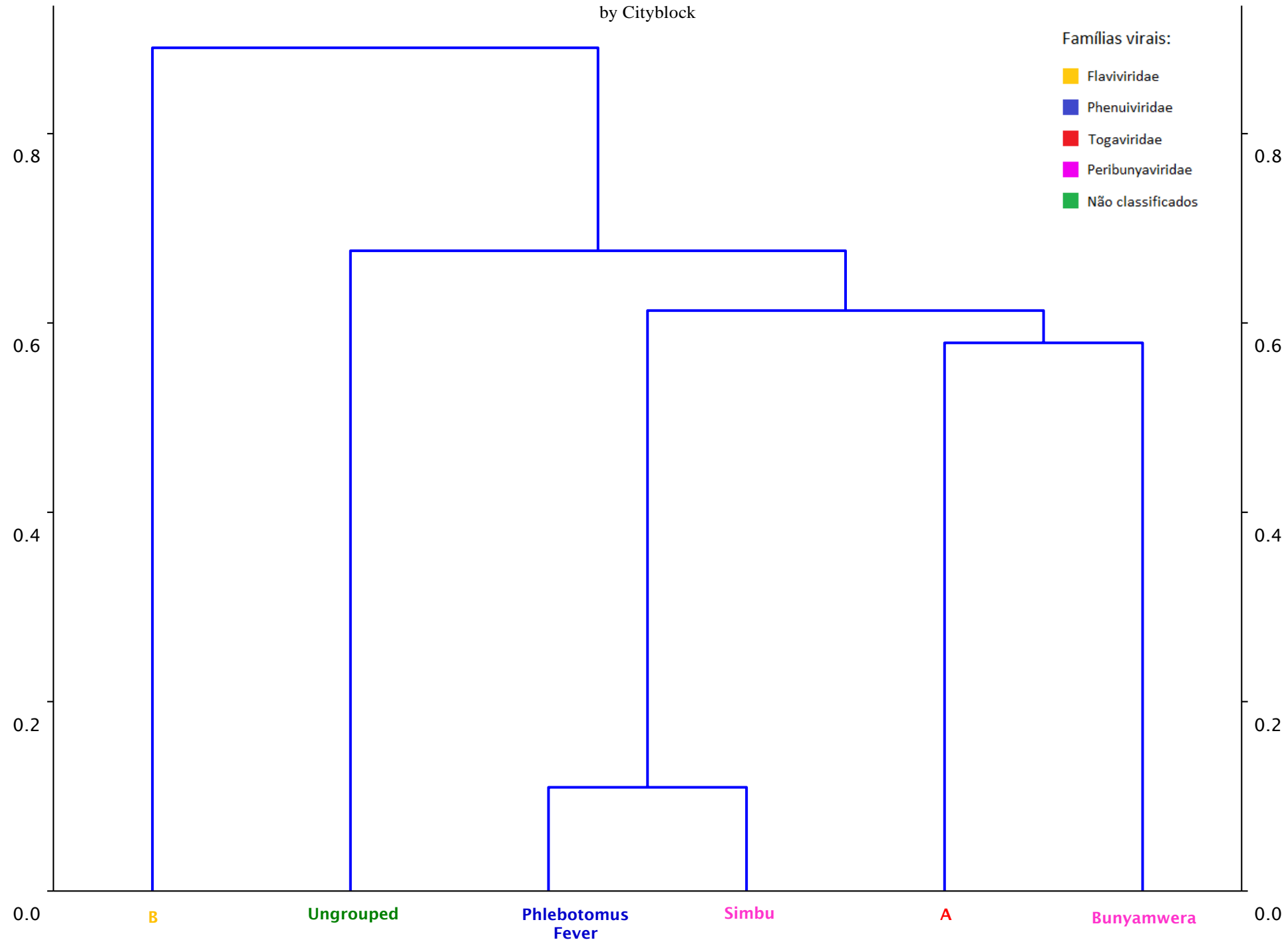


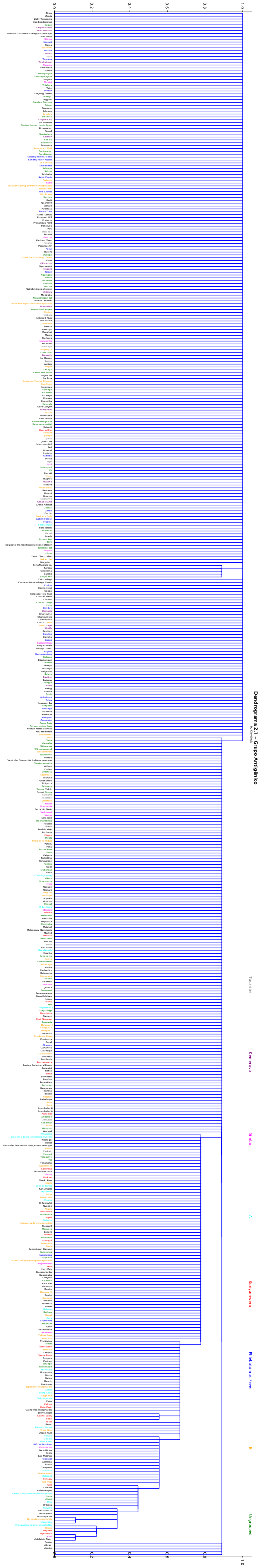
Dendrograma 2 - Grupo Antigênico

by Cityblock

Famílias virais:

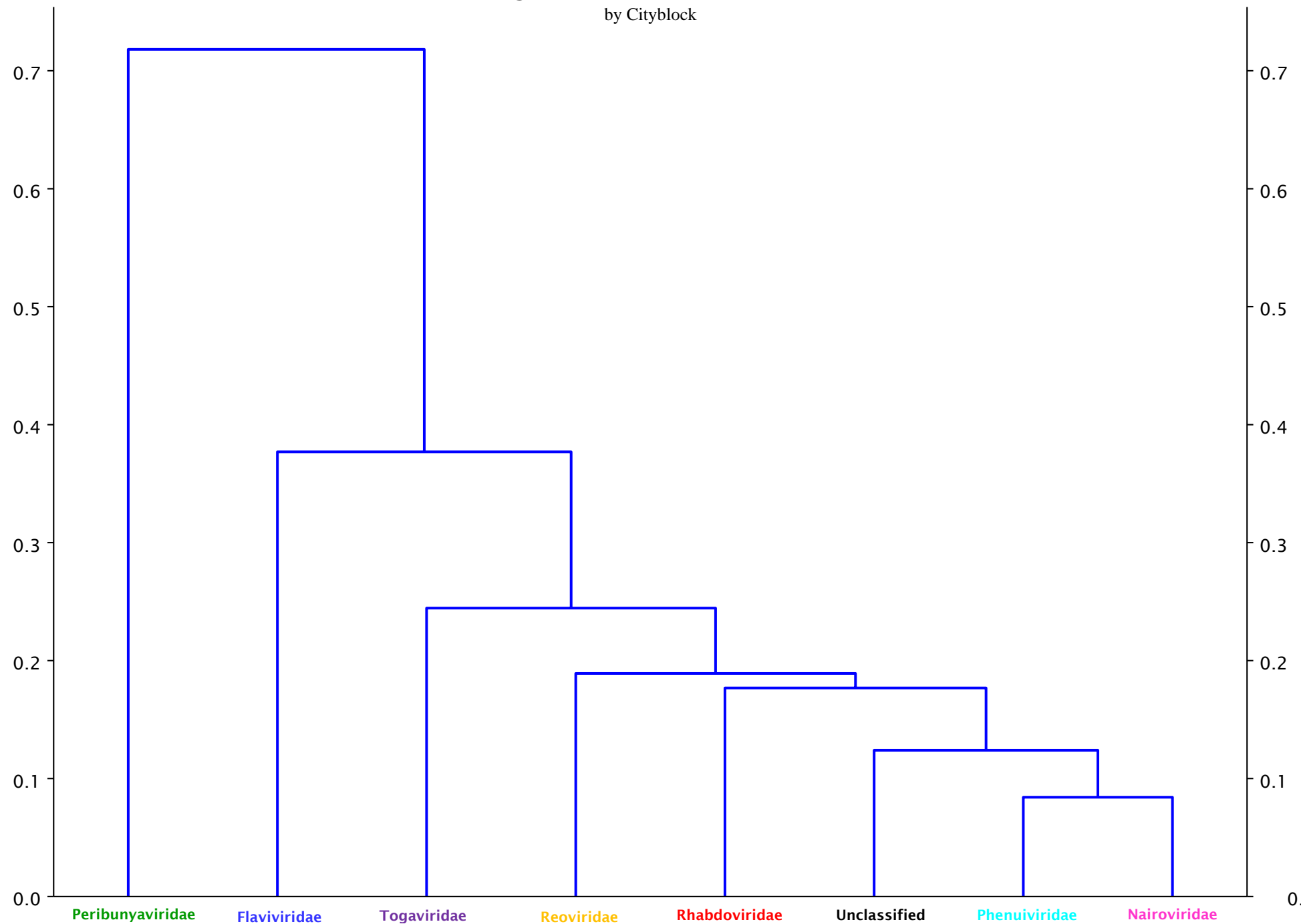
- Flaviviridae
- Phenuiviridae
- Togaviridae
- Peribunyaviridae
- Não classificados

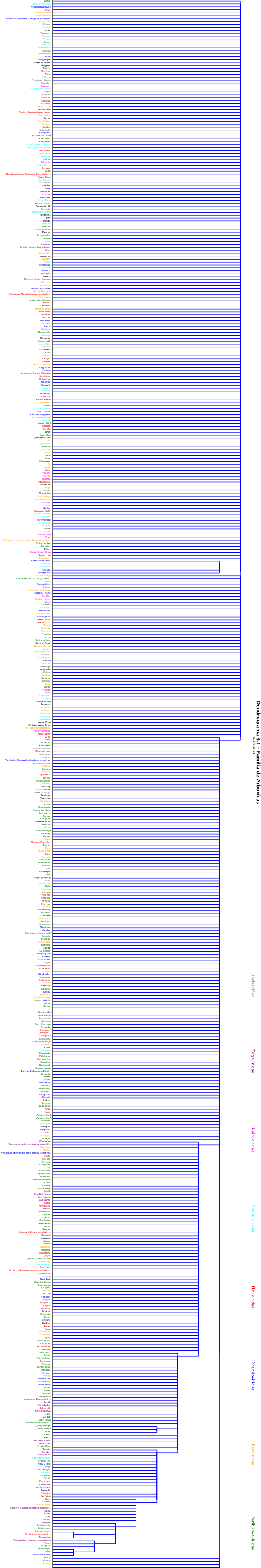




Dendrograma 3 - Família de Arbovírus

by Cityblock





Dendrograma 3.1 – Família de Albovirus

by C. Chabok

Unclassified

Togaviridae

Natuviridae

Penunviridae

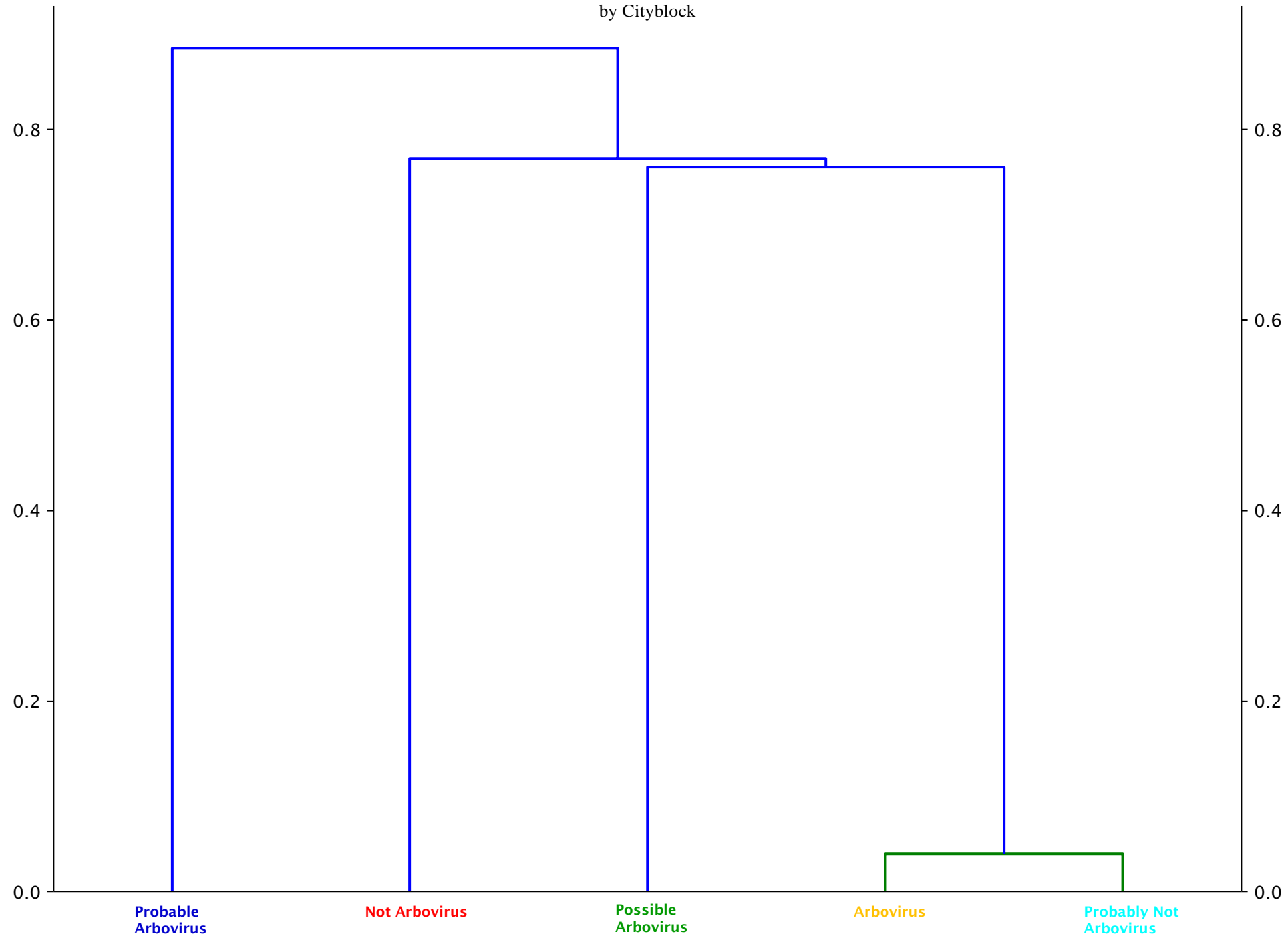
Reoviridae

Peribunyaviridae

1.0

Dendrograma 4 - Status dos Arbovírus

by Cityblock



Dendrogram 4.1 – Status dos Arbovirus

by C. de Sá

Probably not Arbovirus

Not Arbovirus

Probable Arbovirus

Arbovirus

Possible Arbovirus

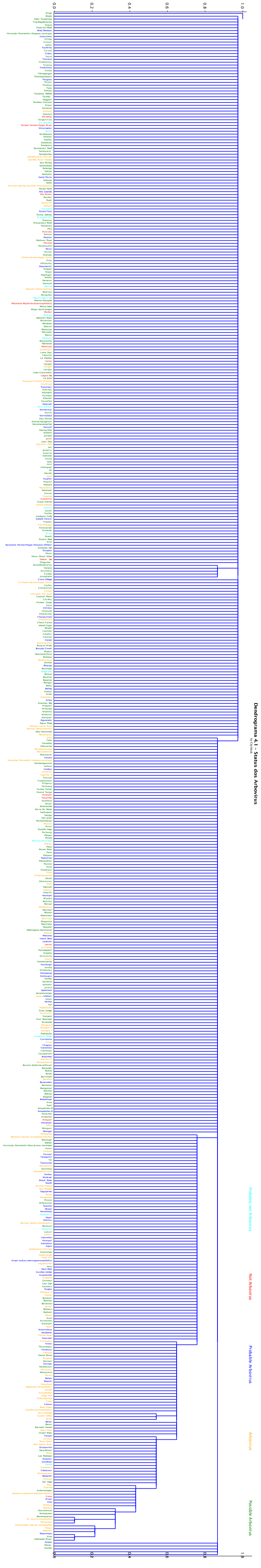
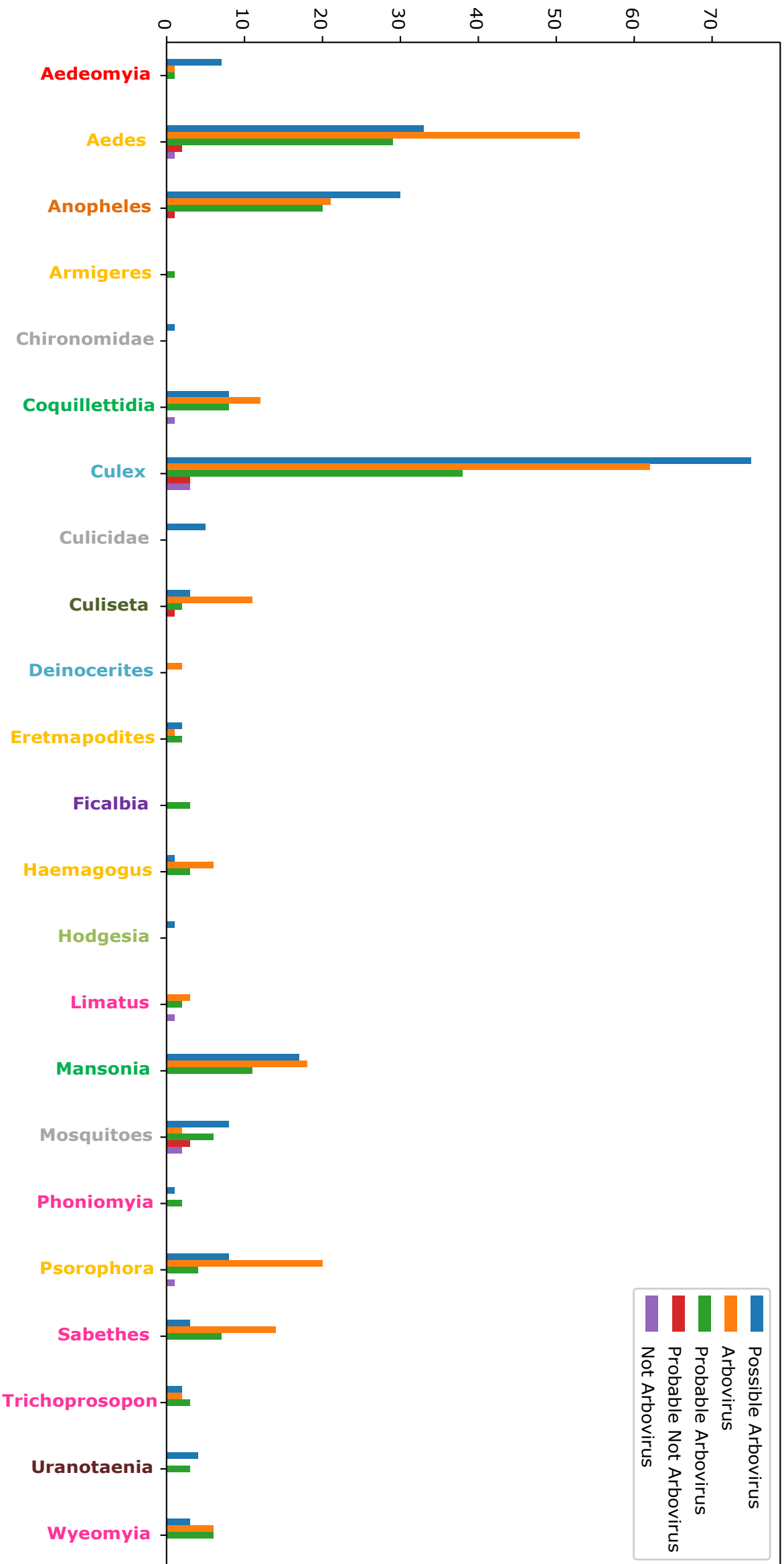
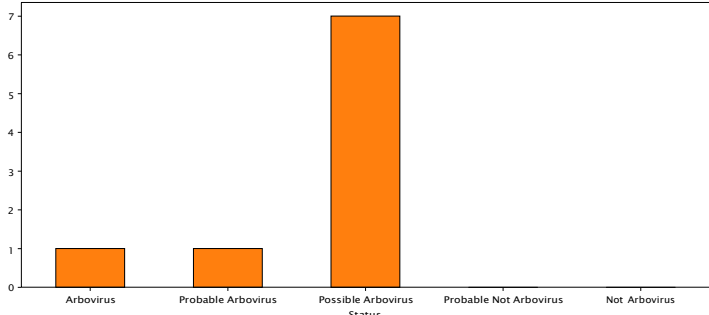


Gráfico 1 - Quantidade de Arbovírus separados por Status por gêneros de mosquitos

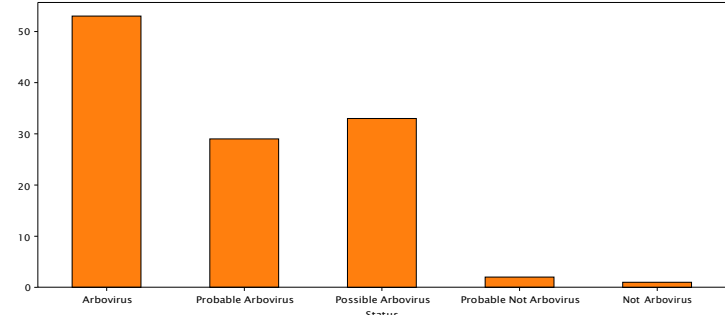


Sequência de Histogramas 1

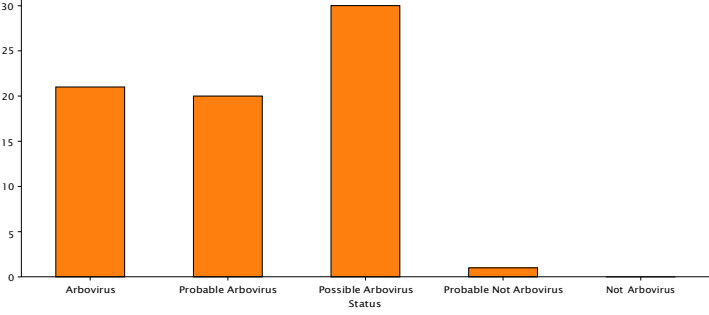
Aedeomyia



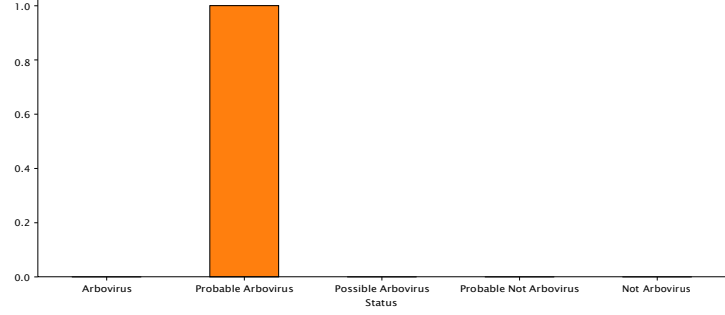
Aedes



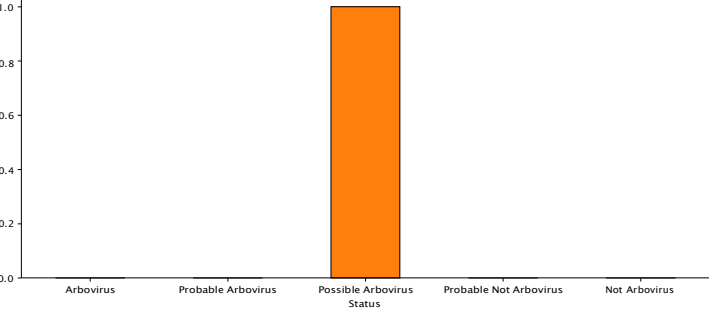
Anopheles



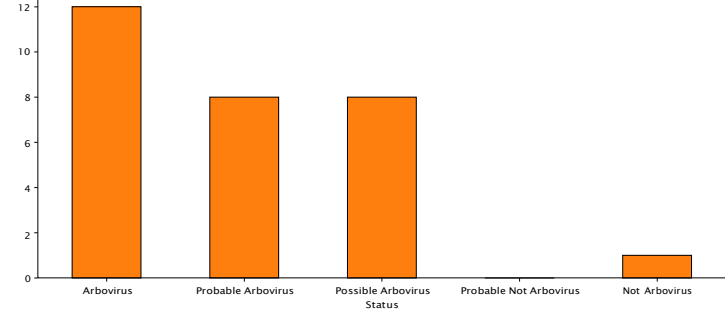
Armigeres



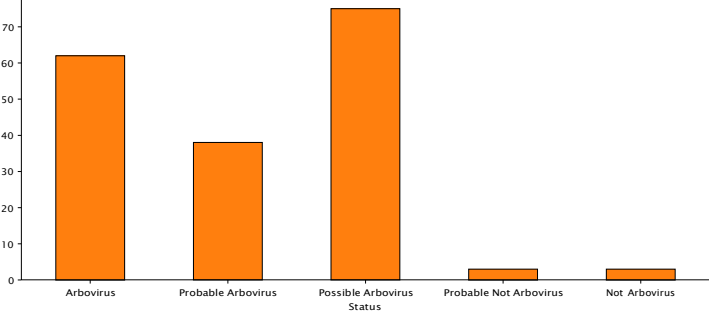
Chironomidae



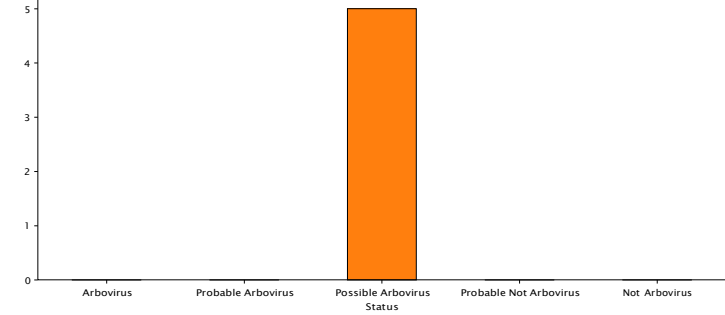
Coquillettidia



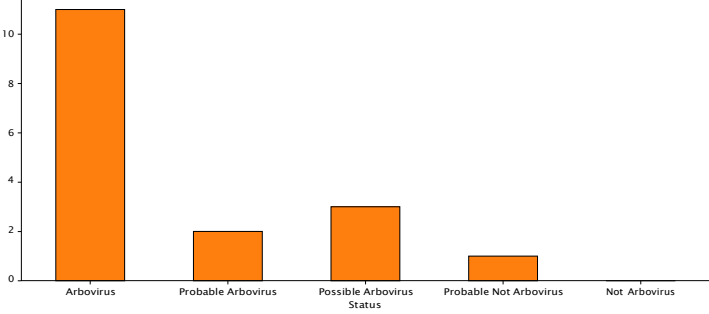
Culex



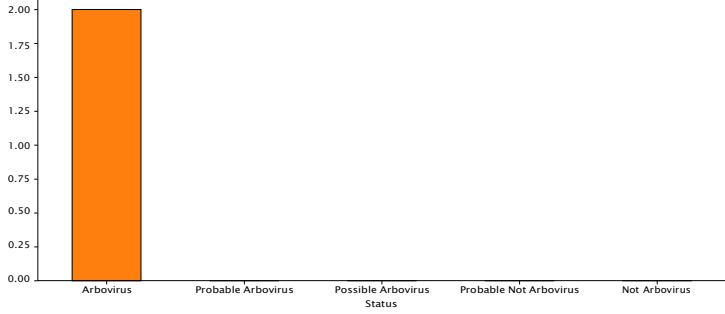
Culicidae



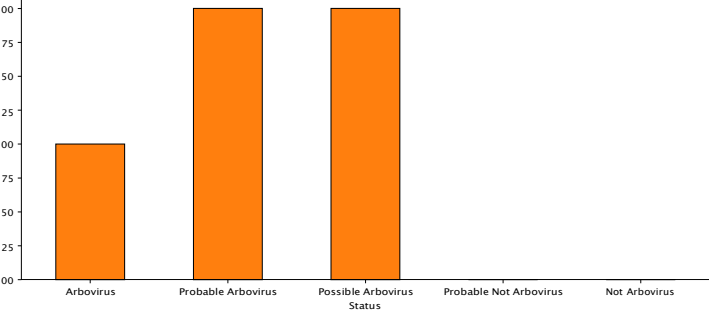
Culiseta



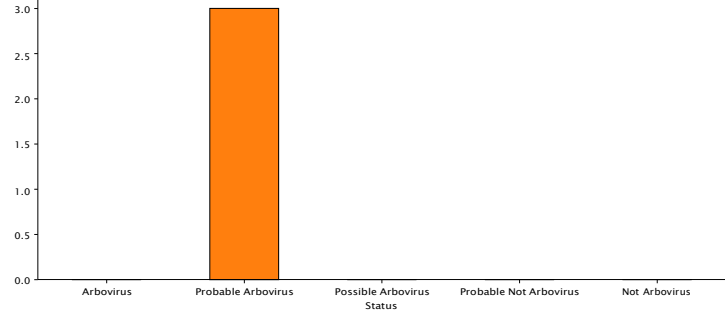
Deinocerites



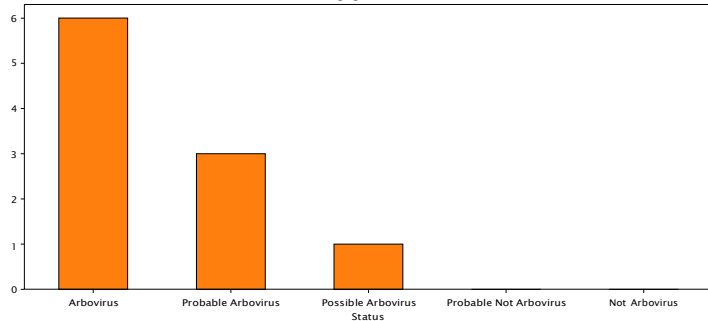
Eretmapodites



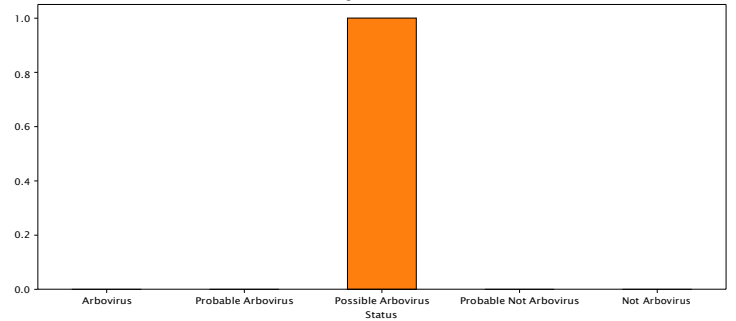
Ficalbia



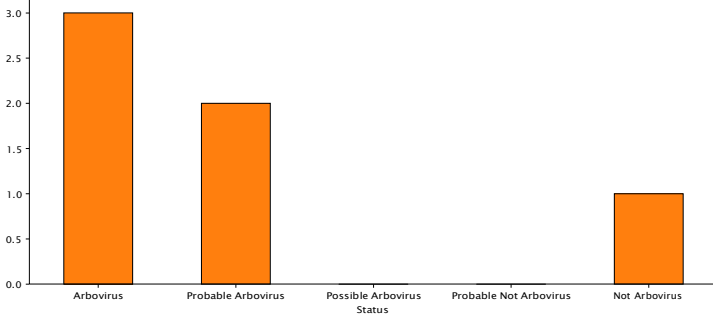
Haemagogus



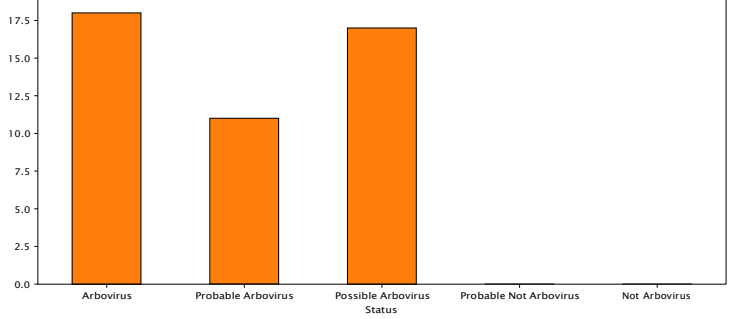
Hodgesia



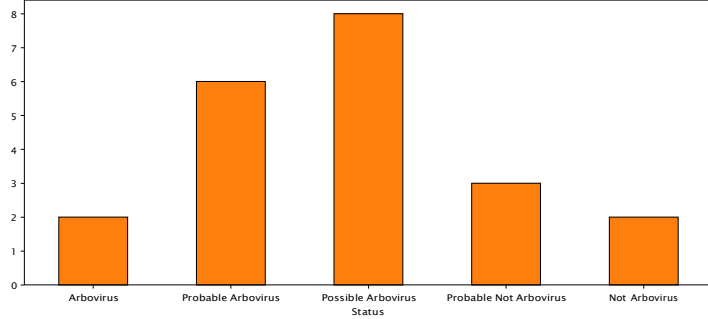
Limatus



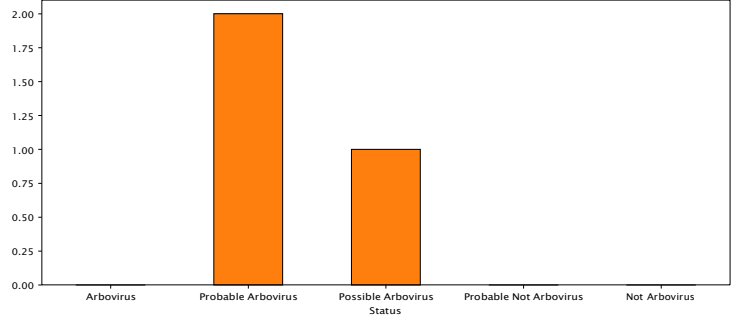
Mansonia



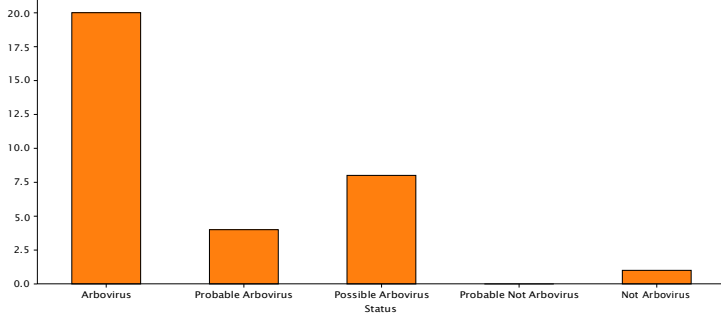
Mosquitoes



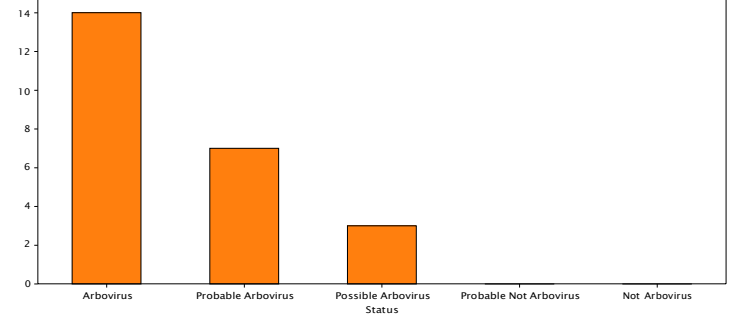
Phoniomyia



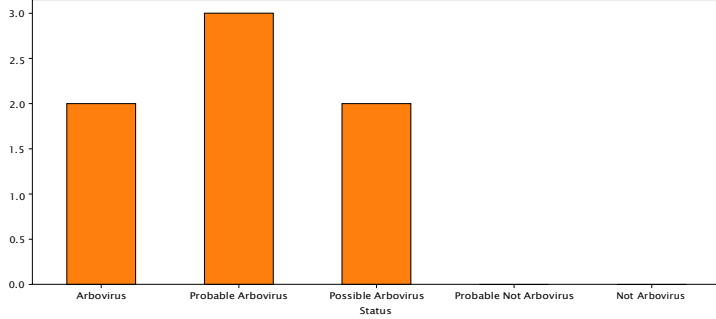
Psorophora



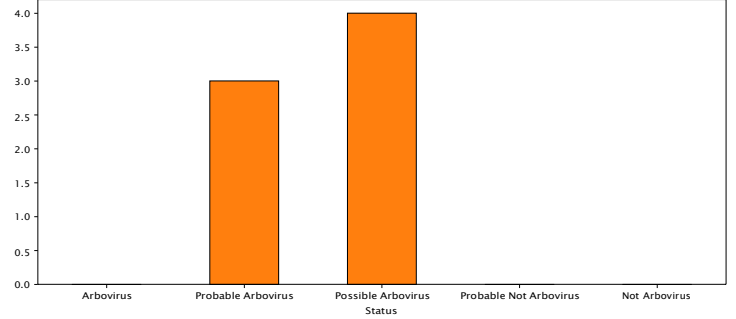
Sabethes



Trichoprosopon



Uranotaenia



Wyeomyia

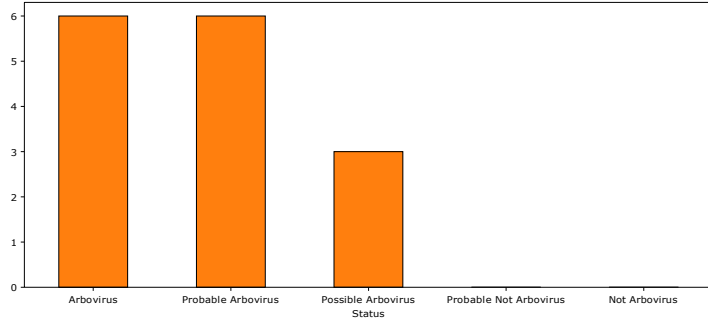
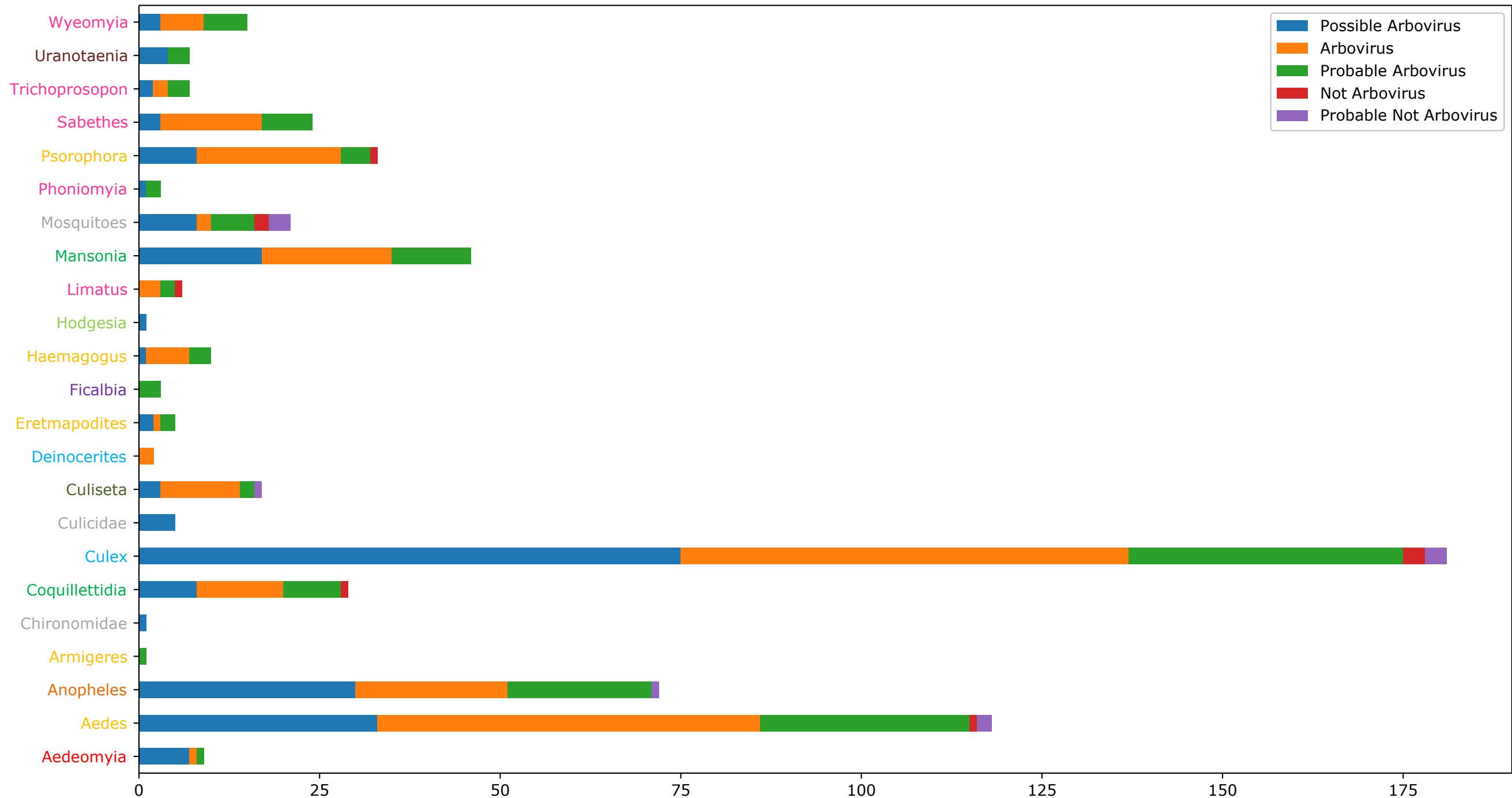
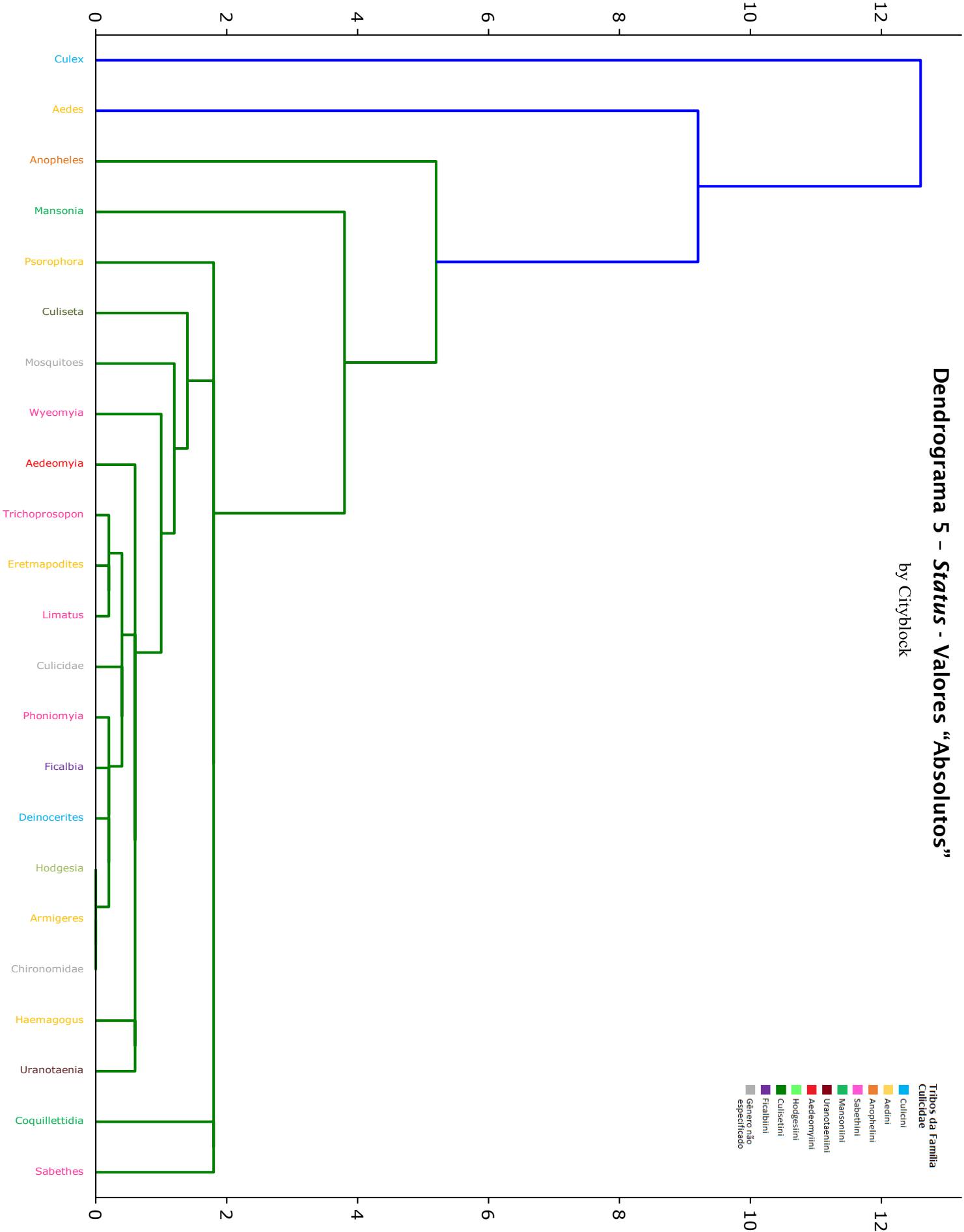


Gráfico 2 - Quantidade de Arbovírus por Gêneros de Mosquitos filtrados por Status - Valor “Absoluto”

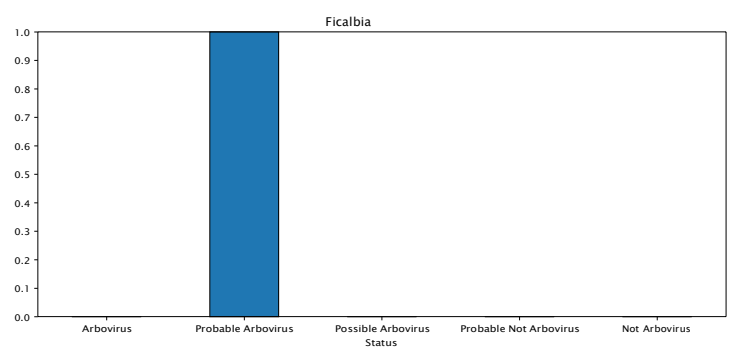
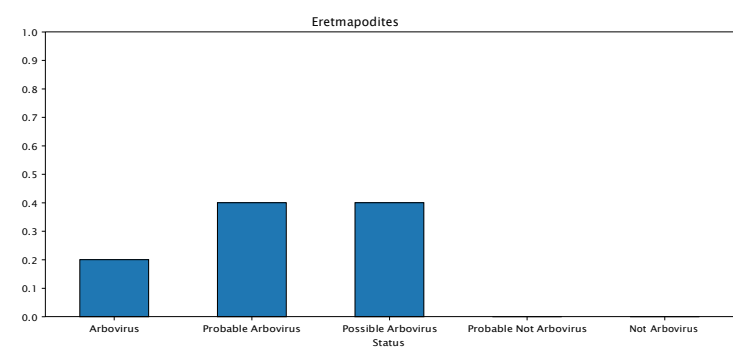
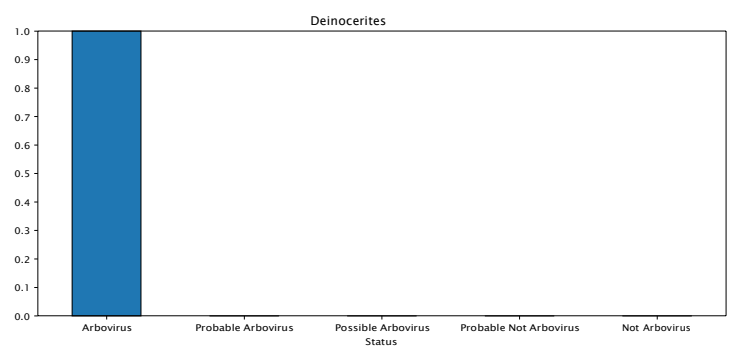
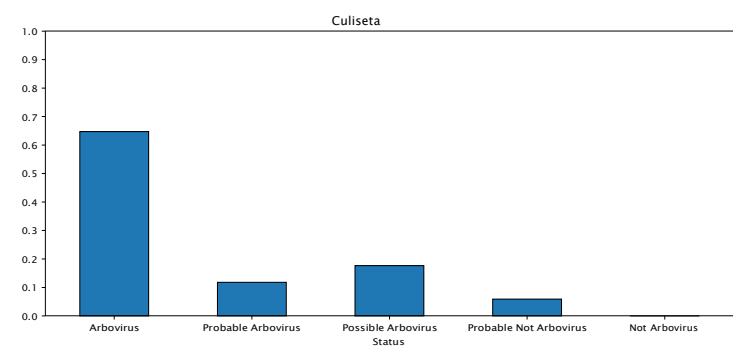
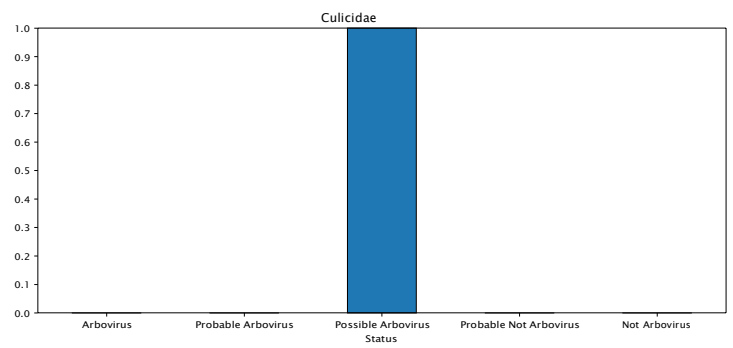
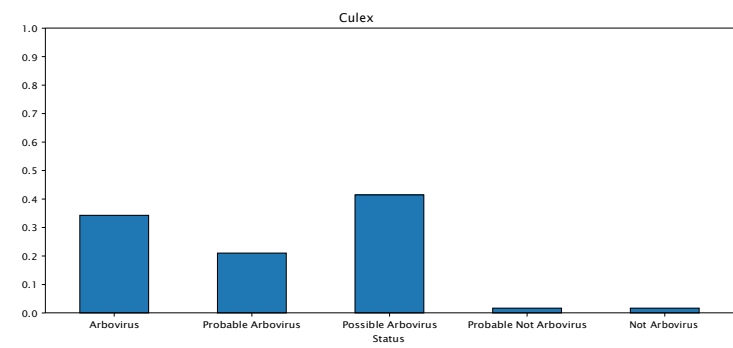
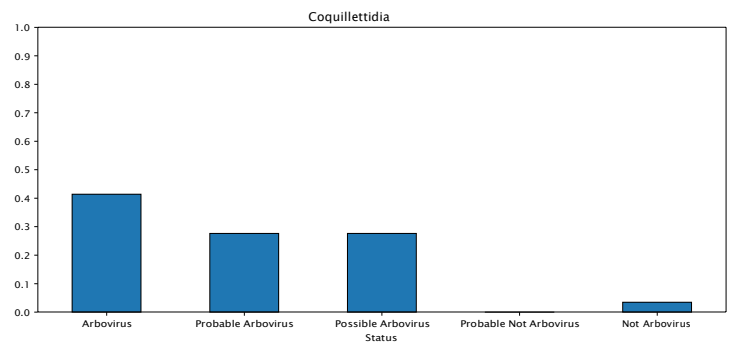
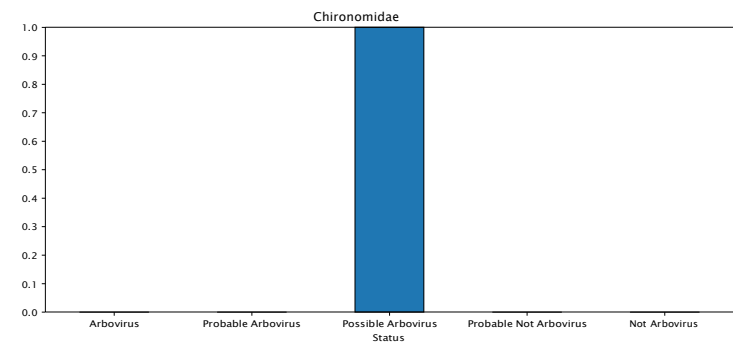
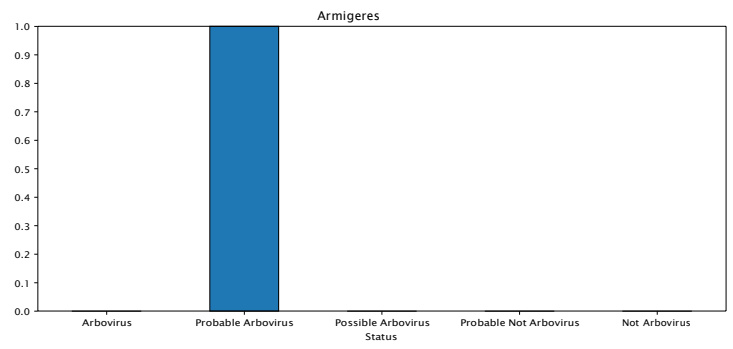
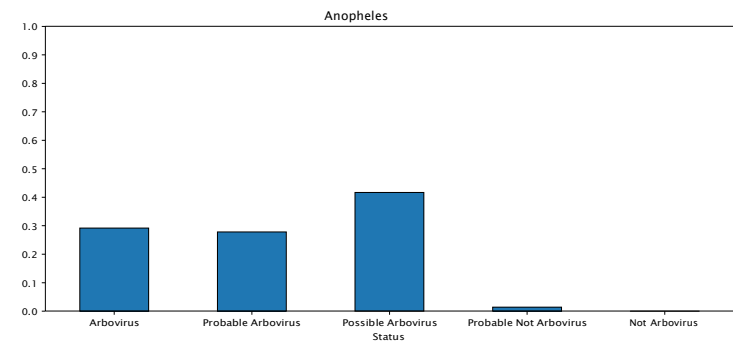
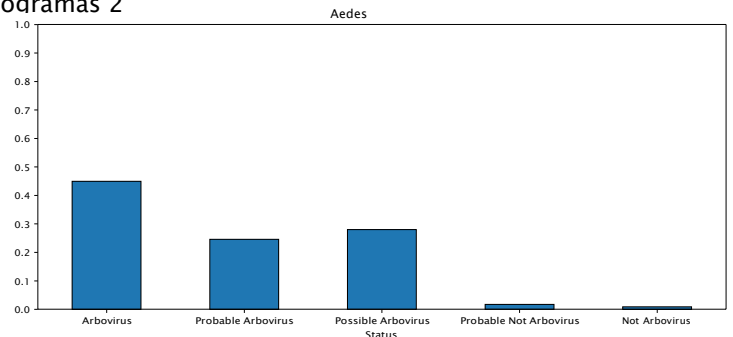
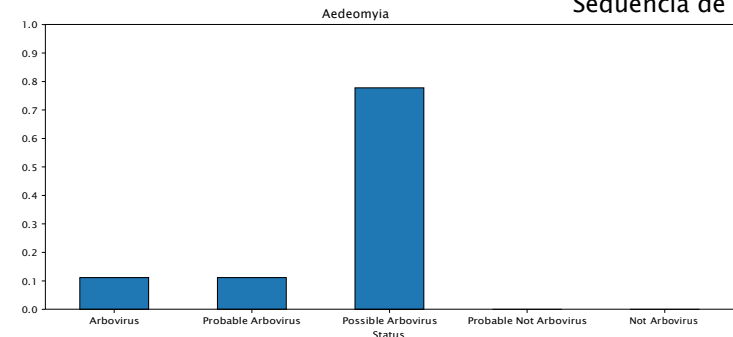


Dendrograma 5 - Status - Valores "Absolutos"

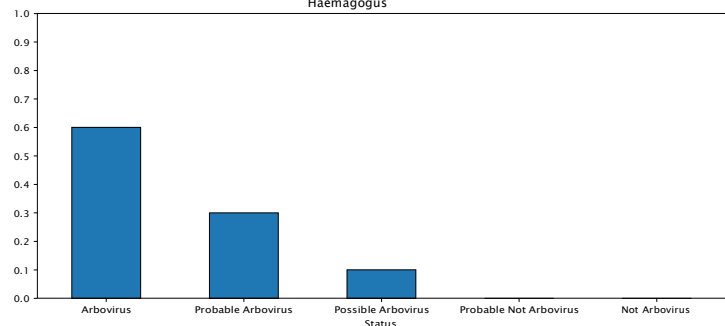
by Cityblock



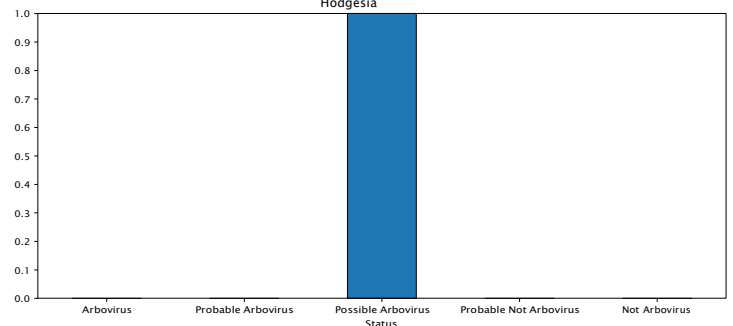
Sequência de Histogramas 2



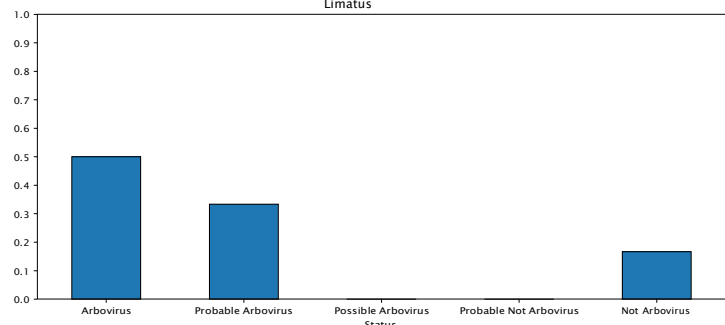
Haemagogus



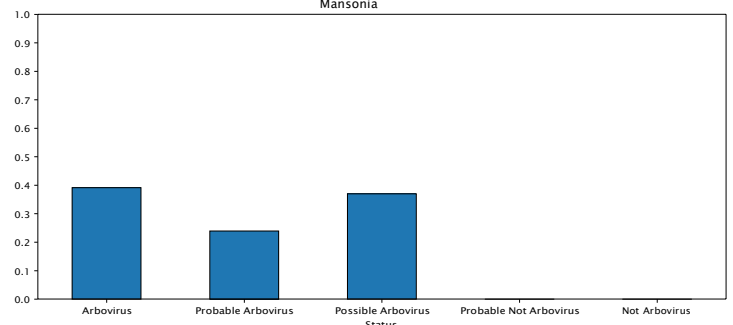
Hodgesia



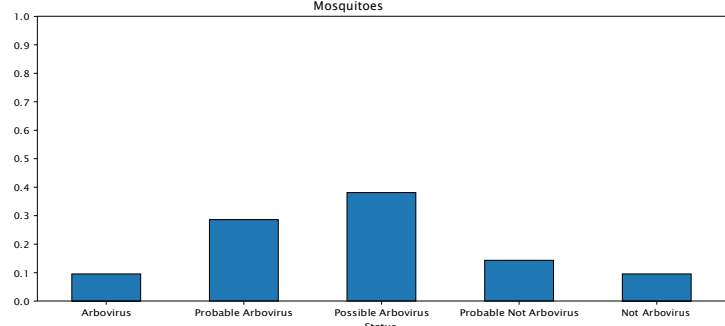
Limatus



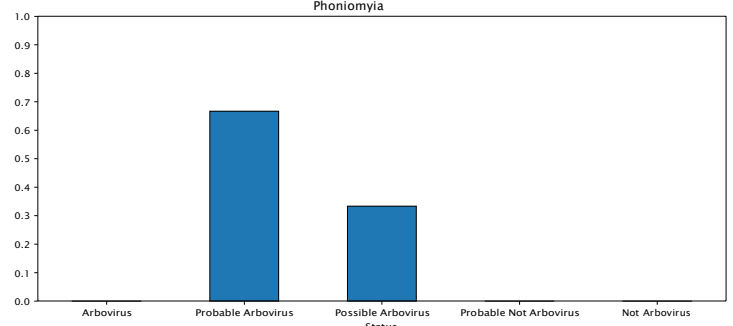
Mansonia



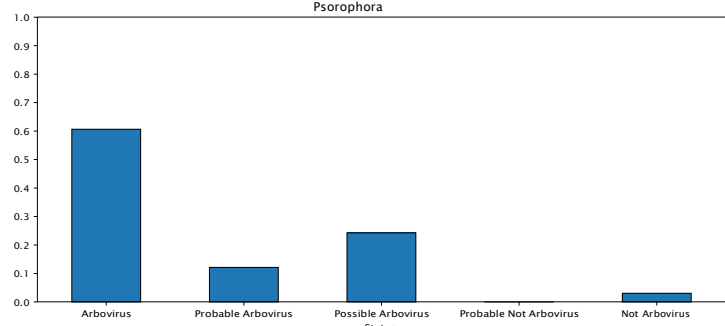
Mosquitoes



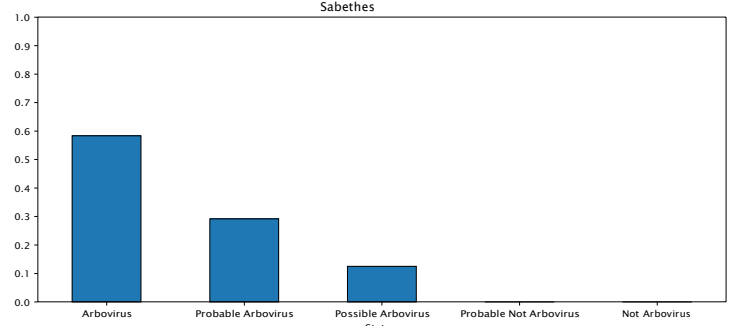
Phoniomyia



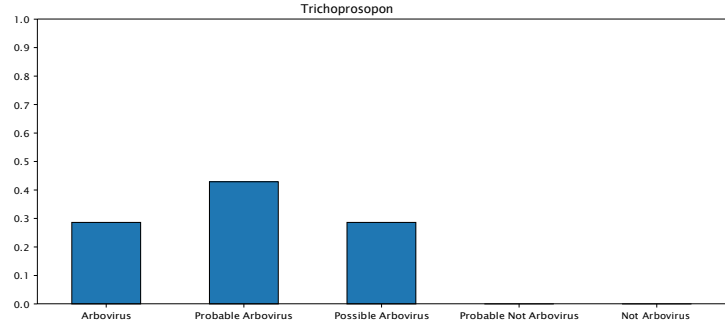
Psorophora



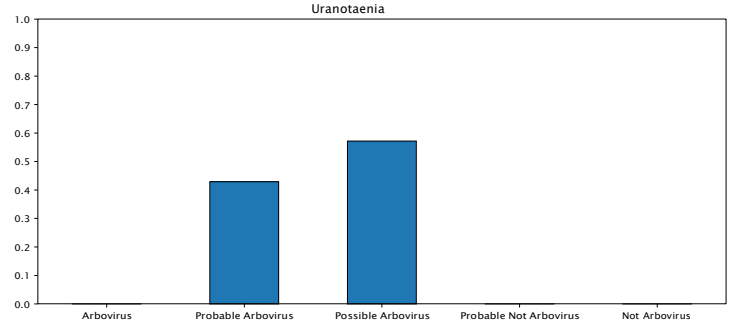
Sabethes



Trichoprosopon



Uranotaenia



Wyeomyia

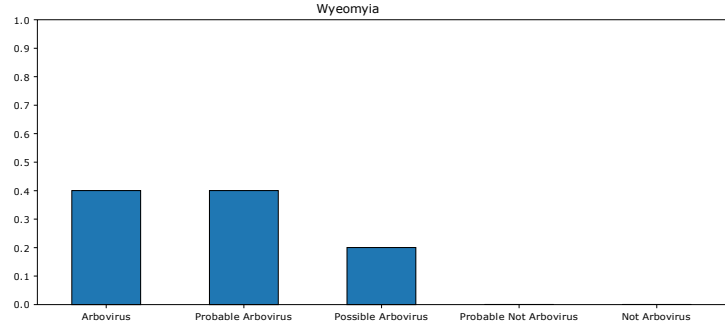
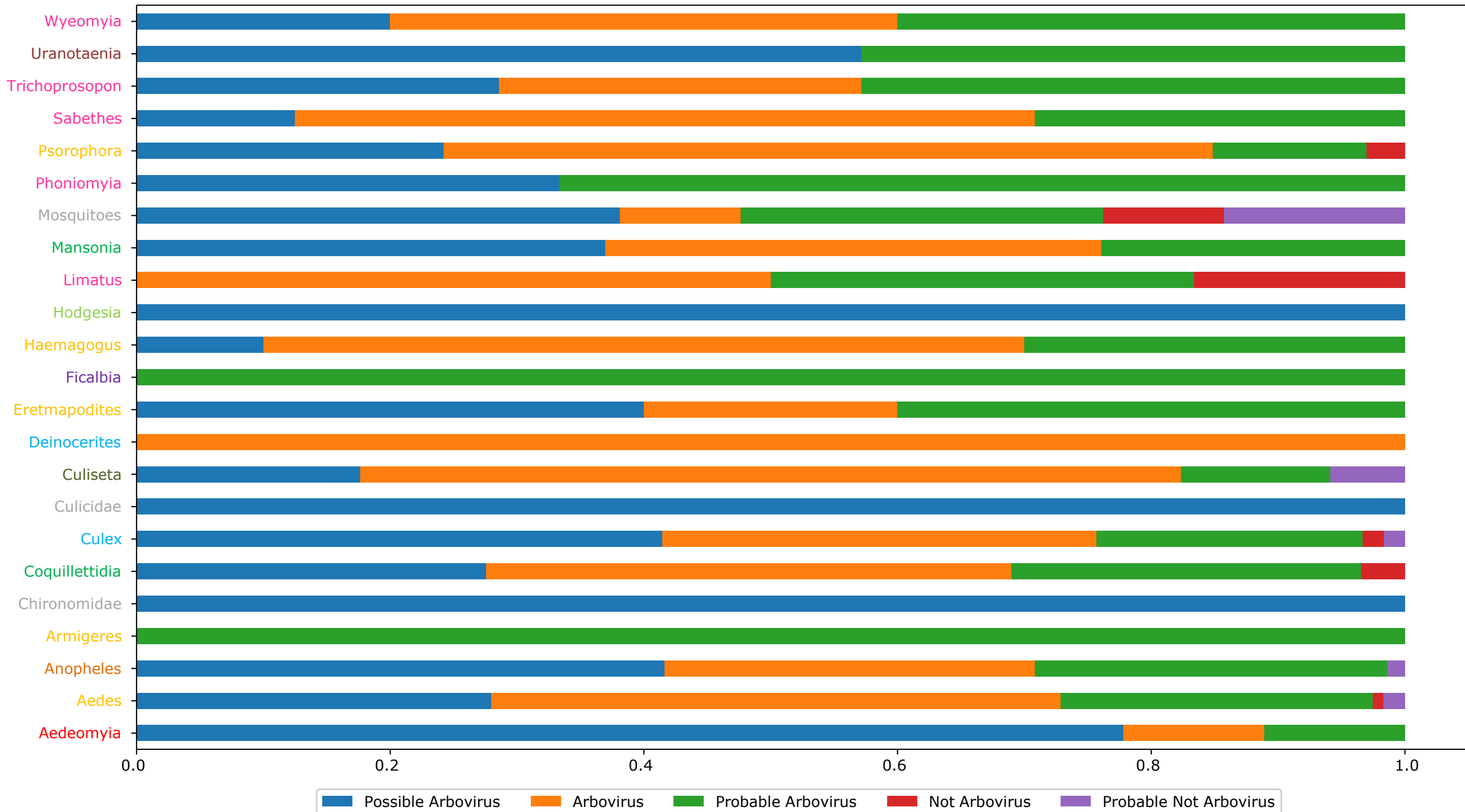


Gráfico 3 - Proporção de Arbovírus por Gêneros de Mosquitos filtrados por Status - Valor “Normalizado”

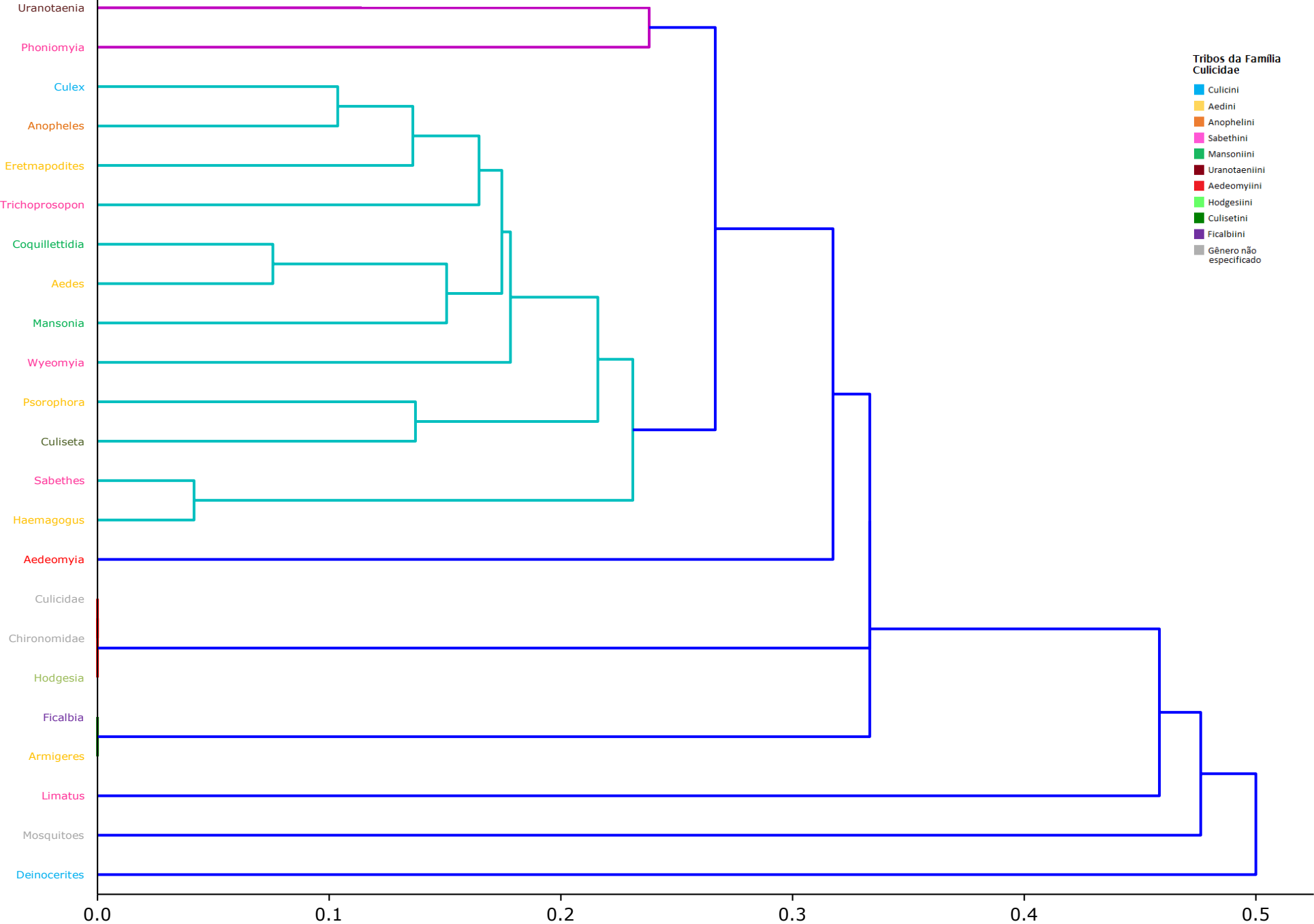


Dendrograma 6 - Status - Valores "Normalizados"

by Cityblock

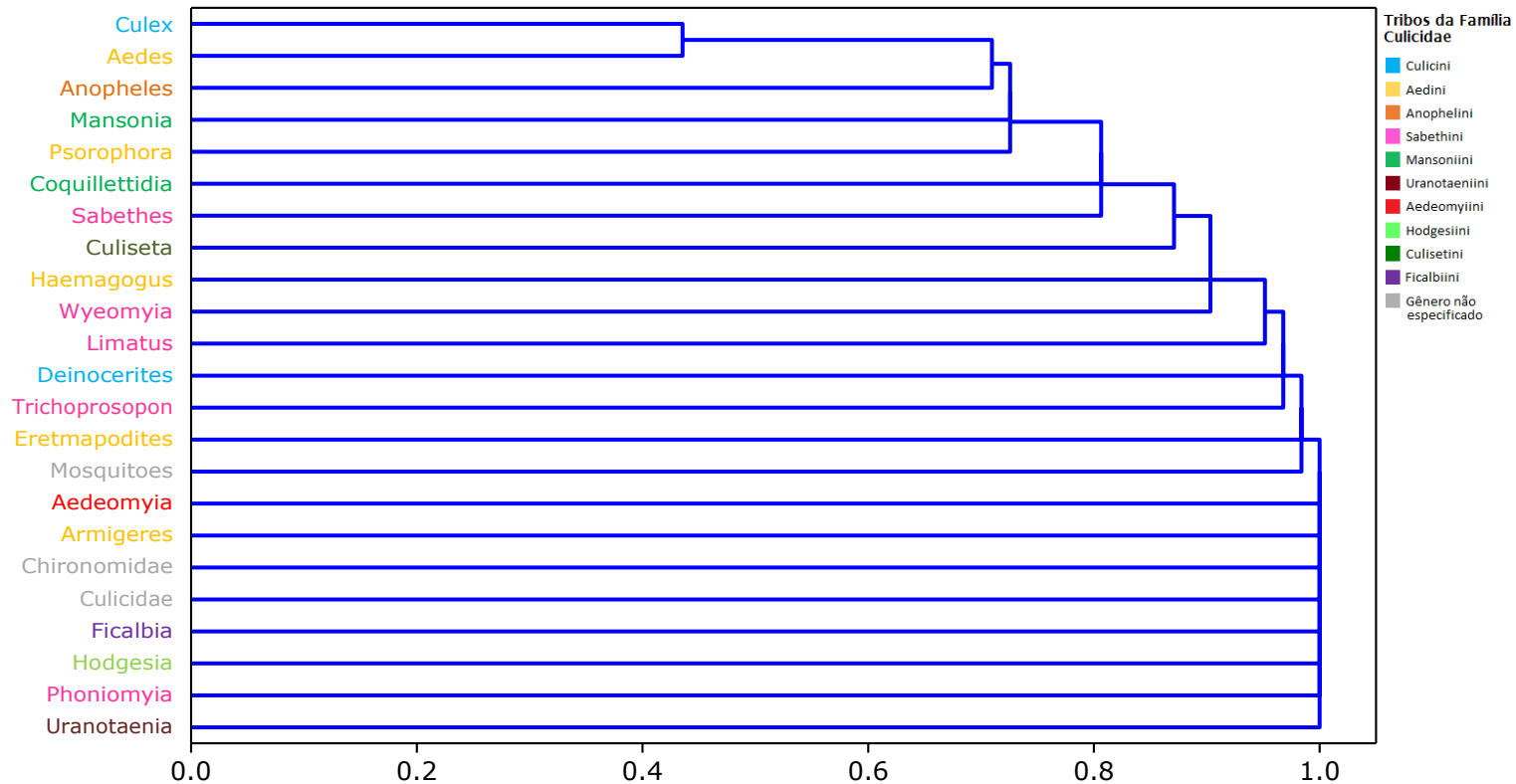
Tribos da Família Culicidae

- Culicini
- Aedini
- Anophelini
- Sabethini
- Mansoniini
- Uranotaeniini
- Aedeomyiini
- Hodgesiini
- Culisetini
- Ficalbiini
- Gênero não especificado



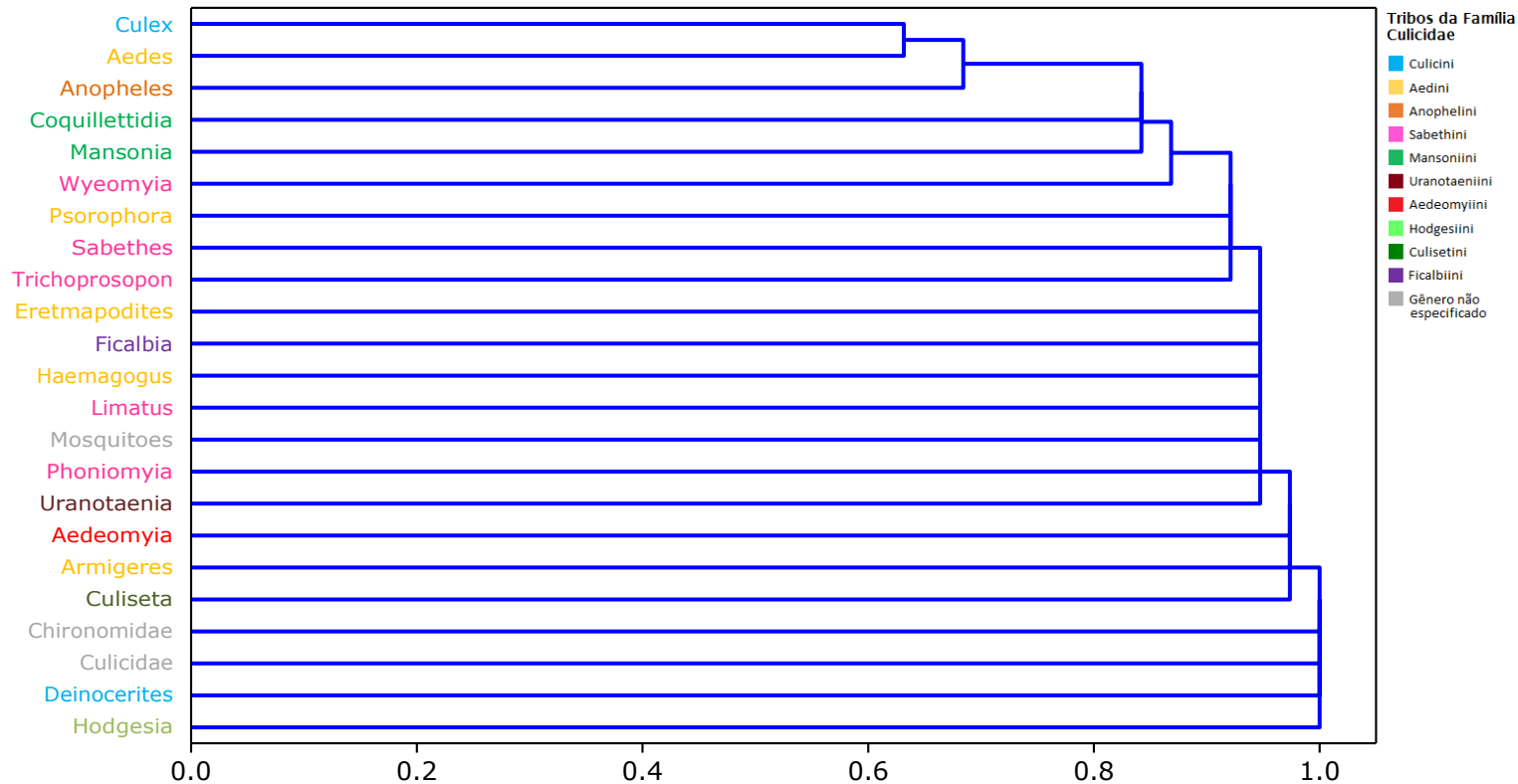
Dendrograma 7 – por *Status* dos Arbovírus: *Arbovirus*

by Cityblock

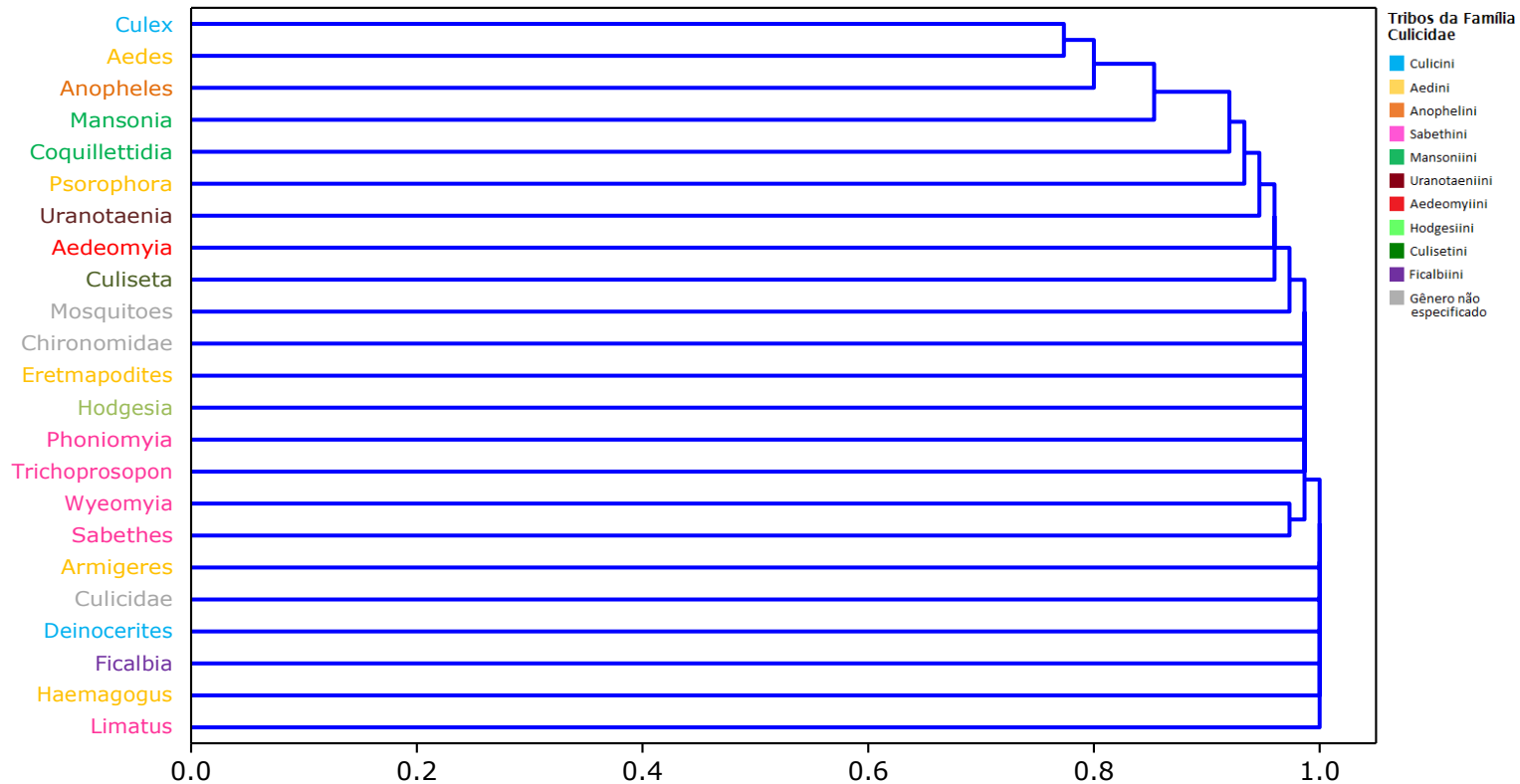


Dendrograma 8 – por *Status* dos Arbovírus: *Probable Arbovirus*

by Cityblock

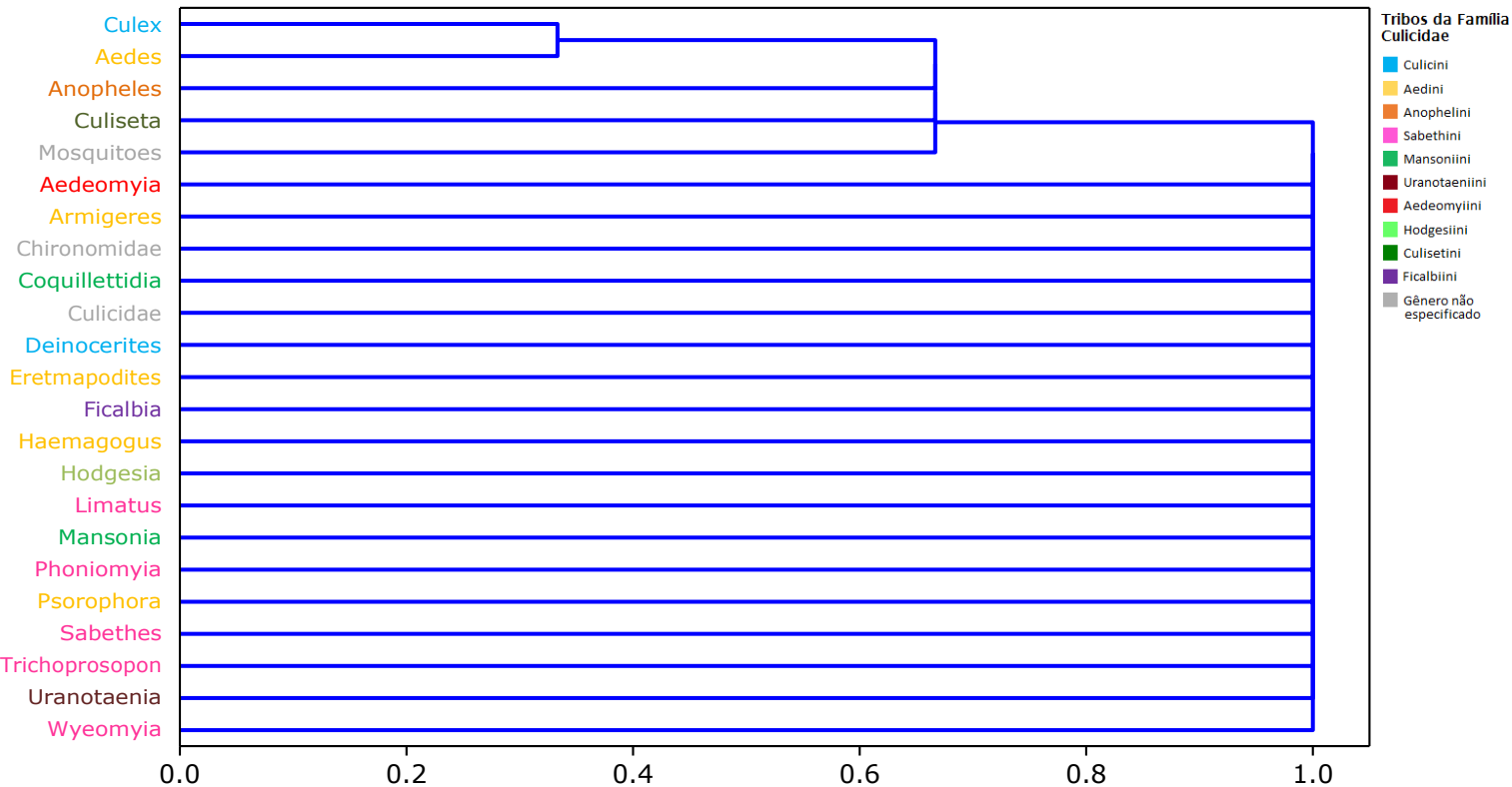


Dendrograma 9 – por *Status* dos Arbovírus: *Possible Arbovirus* by Cityblock



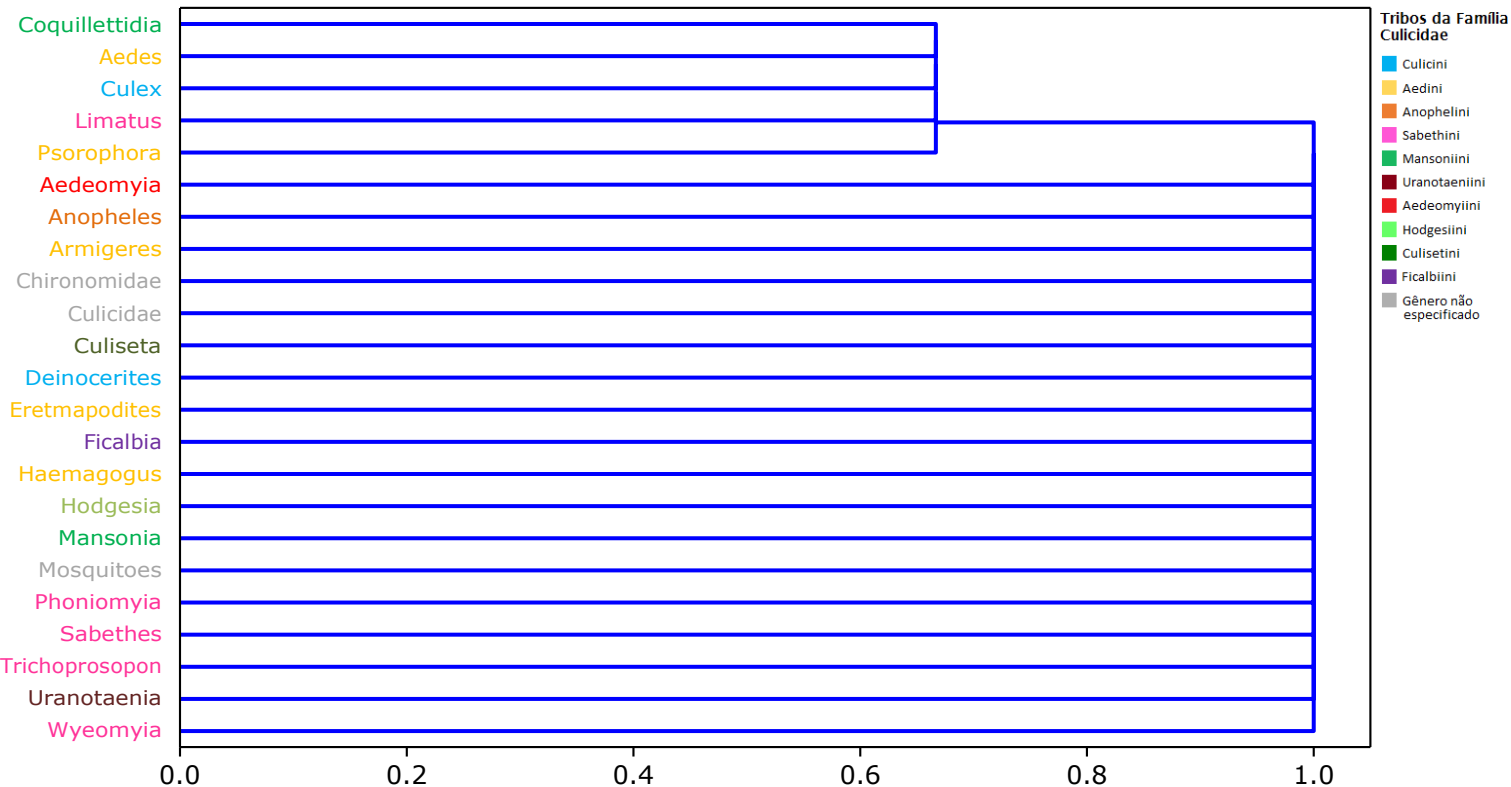
Dendrograma 10 – por *Status* dos Arbovírus: *Probable Not Arbovirus*

by Cityblock



Dendrograma 11 – por *Status* dos Arbovírus: *Not Arbovirus*

by Cityblock



2.3.1 Legendas dos Gráficos e Histogramas

Gráfico 1. Gráfico em colunas destacando individualmente a quantidade de cada arbovírus, separados e coloridos por *Status*, para cada um dos grupos de mosquitos coletados no Catálogo.

Histogramas 1. Sequência de histogramas com valores absolutos dos *Status* dos arbovírus de cada um dos 23 grupo de mosquitos. As colunas representam os valores da somatória bruta que cada mosquito possui, distribuído por *Status*.

Gráfico 2. Gráfico em barras destacando a quantidade absoluta de arbovírus por *Status* de cada grupo de mosquitos. Cada barra representa um grupo de mosquito enquanto que cada fração colorida representa um *Status*.

Histogramas 2. Sequência de Histogramas com valores normalizados dos *Status* de cada grupo de mosquito. As colunas representam um valor proporcional que cada mosquito possui de arbovírus, distribuído por *Status*.

Gráfico 3. Gráfico em barras destacando a proporção de arbovírus por *Status* de cada grupo de mosquitos. Cada barra representa um grupo de mosquito enquanto que cada fração colorida representa um *Status*.

2.3.2 Legendas dos Dendrogramas

Dendrograma 1. Agrupamentos dos gêneros de mosquitos com maior proximidade entre si, ou seja, que possuem maior carga viral em comum. Quanto mais curta a distância da linha, maior a proximidade entre um par de mosquitos, ou seja, maiores elementos em comum entre cada par de *clusters* analisado.

Dendrograma 2. Agrupamentos dos seis Grupo Antigênicos com maior número de ocorrências na planilha de Informações Gerais. A maior proximidade entre eles indica maior similaridade e elementos em comum entre os *clusters*.

Dendrograma 2.1. Agrupamento dos 537 arbovírus coloridos de acordo com os seis Grupos Antigênicos de maior ocorrência expressas no Dendrograma 2. Os demais arbovírus coloridos

em pretos pertencem aos outros Grupos Antigênicos listados na planilha de Informações Gerais do Excel.

Dendrograma 3. Agrupamentos das oito Famílias com maior número de ocorrências na planilha de Informações Gerais. A maior proximidade entre eles indica maior similaridade e elementos em comum entre os *clusters*.

Dendrograma 3.1. Agrupamento dos 537 arbovírus coloridos de acordo com as oito Famílias de maior ocorrência expressas no Dendrograma 3. Os demais arbovírus coloridos em pretos pertencem aos outros Grupos Antigênicos listados na planilha de Informações Gerais do Excel.

Dendrograma 4. Agrupamentos dos cinco *Status* de arbovirose encontradas no Catálogo. A maior proximidade entre eles indica maior similaridade e elementos em comum entre os *clusters*.

Dendrograma 4.1. Agrupamento dos 537 arbovírus coloridos de acordo com os seus respectivos *Status*. A maior proximidade entre eles indica maior similaridade e elementos em comum entre os *clusters*.

Dendrograma 5. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos de acordo com os valores totais e absolutos de arbovírus que cada um pode carregar.

Dendrograma 6. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos de acordo com os valores totais e normalizados de arbovírus que cada um pode carregar.

Dendrograma 7. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos filtrados apenas pelos arbovírus com *Status* “*Arbovirus*”.

Dendrograma 8. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos filtrados apenas pelos arbovírus com *Status* “*Probable Arbovirus*”.

Dendrograma 9. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos filtrados apenas pelos arbovírus com *Status* “*Possible Arbovirus*”.

Dendrograma 10. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos filtrados apenas pelos arbovírus

com Status “Probably Not Arbovirus”.

Dendrograma 11. Agrupamento dos 23 grupos de mosquitos filtrados apenas pelos arbovírus com Status “Not Arbovirus”.

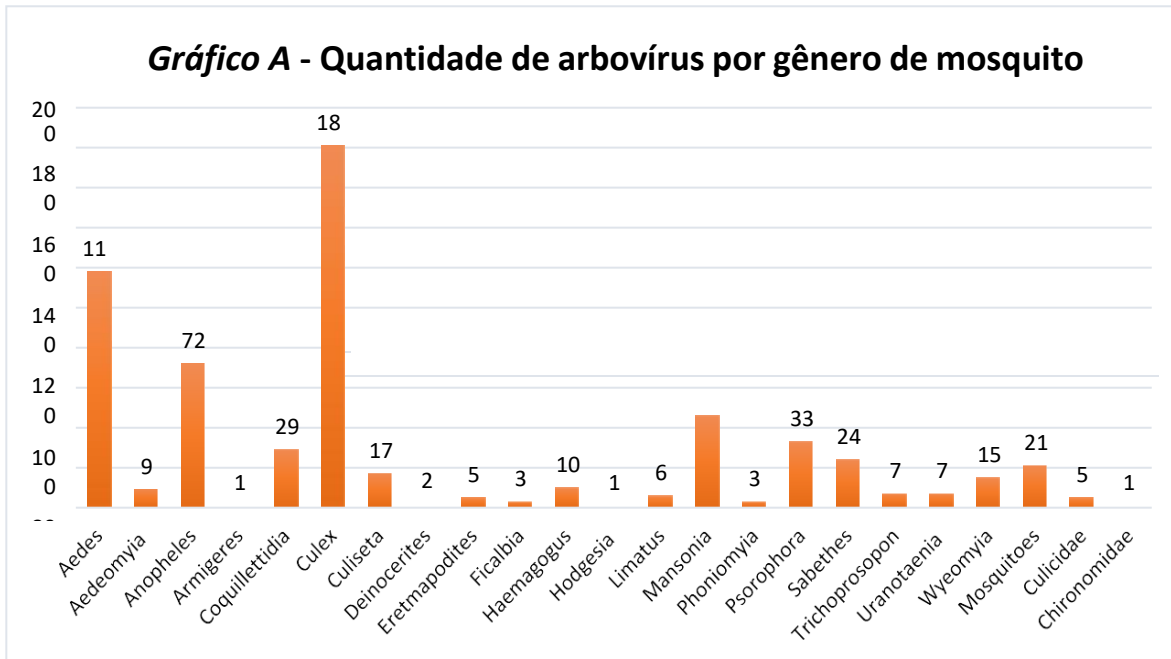


Gráfico A. Quantidade de arbovírus encontrados em cada gênero de mosquitos listados neste estudo. É possível perceber uma maior associação entre arbovírus e mosquitos do gênero *Culex* e posteriormente o gênero *Aedes*.

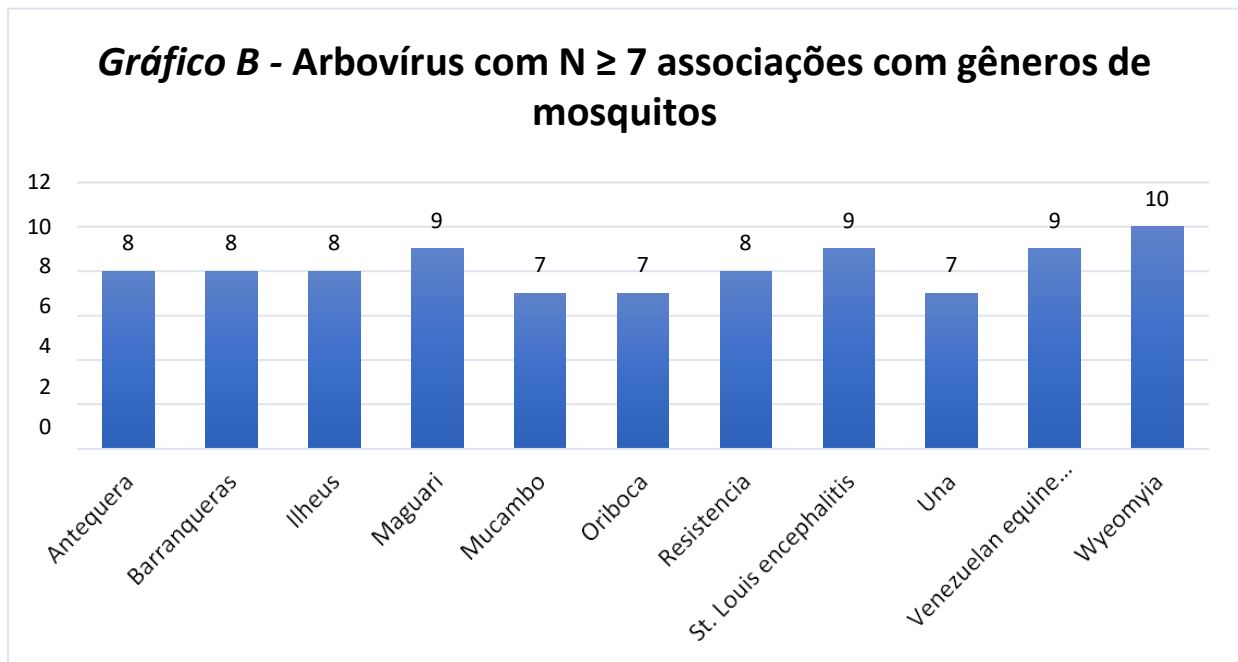


Gráfico B. Arbovírus capazes de se associar com um número igual ou superior a 7 gêneros de mosquitos.

A	B	C	D	E	F
Nome do Arbovírus	Família (Arbovírus)	Gênero (Arbovírus)	Grupo Antigênico	Status	Natural Host Range (Gêneros Mosquitos)
34 Bussuquara	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Culex; Mansonia; Coquillettidia; Sabethes</i>
35 Cacipacore	Flaviviridae	Flavivirus	B	Possible Arbovirus	<i>Culex</i>
36 Dengue 1	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes</i>
37 Dengue 2	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes</i>
38 Dengue 3	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes; Culex</i>
39 Dengue 4	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes</i>
40 Ilheus	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Psorophora; Aedes; Culex; Sabethes; Haemagogus; Coquillettidia; Wyeomyia; Trichoprosopon</i>
41 Rocio	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Psorophora; Aedes; Culex; Anopheles; Sabethes; Trichoprosopon; Wyeomyia; Deinocerites; Psorophora; Aedes; Mansonia</i>
42 St. Louis encephalitis	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Culex; Anopheles; Coquillettidia; Aedes</i>
43 West Nile	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes; Hemagogus; Sabethes</i>
44 Yellow fever	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes</i>
45 Zika	Flaviviridae	Flavivirus	B	Arbovirus	<i>Aedes</i>
46					
47					
48					
49					
50					

Figura 5. Arbovírus de importância médica no Brasil. Em negrito, os vírus de maior importância sanitária atuais; os demais, são os arbovírus emergentes e reemergentes de acordo com Lopes, Nozawa & Linhares (2014).

	A	B	C	D	E
1	Família (Arbovirus)	Nome do Arbovirus	Status	Grupo Antigênico	Natural Host Range (Gêneros Mosquitos)
50	Togaviridae	Barmah Forest	Possible Arbovirus	A	Culex; Aedes; Coquillettidia
93	Peribunyaviridae	California encephalitis	Arbovirus	California	Aedes; Culex; Psorophora; Culiseta
108	Togaviridae	Chikungunya	Arbovirus	A	Aedes; Culex; Mansonia
123	Peribunyaviridae	Criméan Hemorrhagic Fever	Arbovirus	CHF-Congo	Carrapato
129	Flaviviridae	Dengue 1	Arbovirus	B	Aedes
130	Flaviviridae	Dengue 2	Arbovirus	B	Aedes
131	Flaviviridae	Dengue 3	Arbovirus	B	Aedes; Culex
132	Flaviviridae	Dengue 4	Arbovirus	B	Aedes
137	Togaviridae	Eastern equine encephalomyelitis	Arbovirus	A	Culiseta; Anopheles; Coquillettidia; Culex; Aedes; Culicoides; Mansonia
209	Flaviviridae	Japanese Encephalitis	Arbovirus	B	Culex; Anopheles; Aedes
253	Flaviviridae	Kyasanur Forest Disease	Arbovirus	B	Carrapato
255	Peribunyaviridae	La Crosse	Arbovirus	California	Aedes
294	Togaviridae	Mayaro	Arbovirus	A	Mansonia; Haemagogus; Culex; Sabethini; Psorophora; Aedes
318	Flaviviridae	Murray Valley encephalitis	Arbovirus	B	Aedes; Culex
348	Flaviviridae	Omsk Hemorrhagic Fever	Arbovirus	B	Carrapato
349	Togaviridae	O'nyong-nyong	Arbovirus	A	Anopheles
352	Peribunyaviridae	Oropouche	Probable Arbovirus	Simbu	Mansonia; Aedes; Culex; Culicoides; Haemagogus
398	Phenuiviridae	Rift Valley fever	Arbovirus	Phlebotomus Fever	Eretmapodites; Aedes; Culex; Culicoides; Mansonia
402	Flaviviridae	Rocio	Arbovirus	B	Psorophora; Aedes
403	Togaviridae	Ross River	Arbovirus	A	Culex; Aedes; Anopheles; Mansonia
418	Phenuiviridae	Sandfly fever Naples	Arbovirus	Phlebotomus Fever	Phlebotomus
419	Phenuiviridae	Sandfly fever Sicilian	Arbovirus	Phlebotomus Fever	Phlebotomus
445	Togaviridae	Sindbis	Arbovirus	A	Aedes; Anopheles; Mansonia; Culex; Anopheles; Sabethes; Trichoprosopon; Wyeomyia; Deinocerites; Psorophora; Aedes; Mansonia
455	Flaviviridae	St. Louis encephalitis	Arbovirus	B	Aedes; Anopheles; Culex; Coquillettidia; Deinocerites; Mansonia; Psorophora; Haemagogus; Sabethes
508	Togaviridae	Venezuelan equine encephalitis	Arbovirus	A	Culex; Anopheles; Coquillettidia; Aedes
520	Flaviviridae	West Nile	Arbovirus	B	Culex; Aedes
521	Togaviridae	Western equine encephalomyelitis	Arbovirus	A	Culex; Aedes
532	Flaviviridae	Yellow fever	Arbovirus	B	Aedes; Haemagogus; Sabethes

Figura 6. Arbovírus mais importantes com potencial de causar doenças humanos, segundo Gubler (2001). Destaque para a grande quantidade de doenças dos sorogrupos A e B. As linhas em vermelho destacam arbovírus de carrapatos, não associados a mosquitos até o momento.

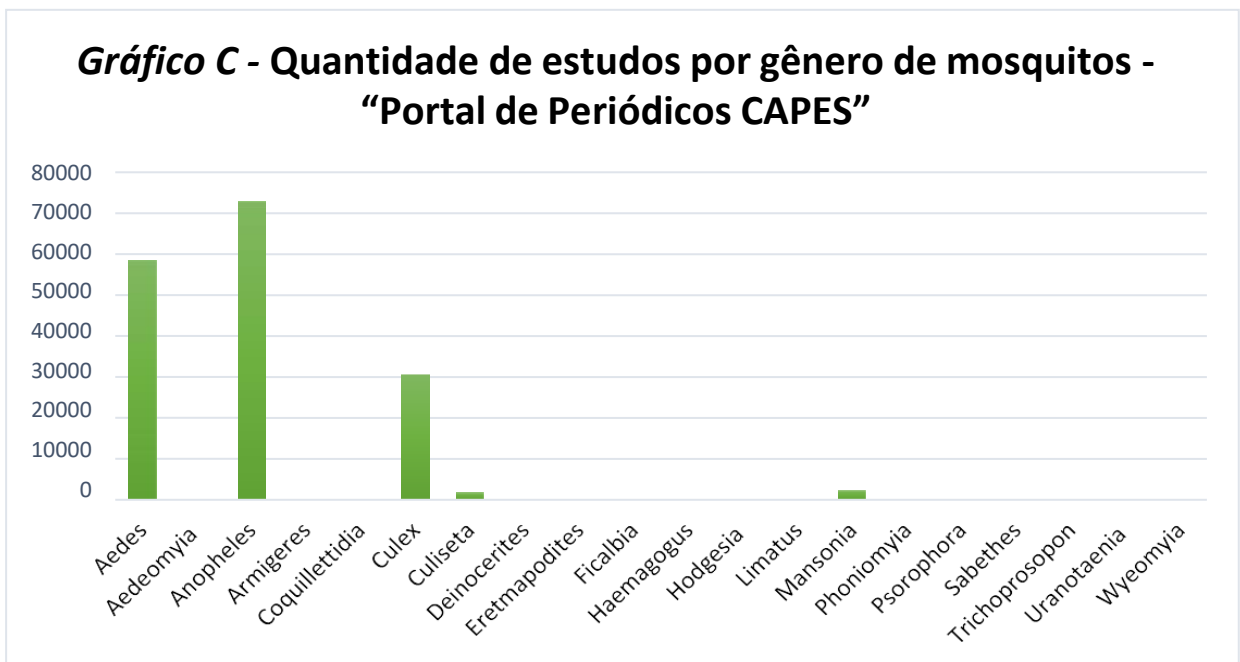


Gráfico C. Números de resultados obtidos quando cada um dos gêneros de mosquitos são buscados individualmente no Portal de Periódicos CAPES. Destaque para *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*, que possuem discrepante número de estudos publicados.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 O Catálogo Internacional de Arbovírus

De acordo com Karabatsos (1978), o Catálogo é um documento de trabalho de folha solta, fornecido para aproximadamente 160 colaboradores nos mais importantes laboratórios de arbovírus do mundo em mais de 50 países. Para atestar a atualidade dos dados inclusos, registros novos ou revisados e informações atualizadas eram encaminhados a esses colaboradores do Catálogo trimestralmente, sob responsabilidade do Subcomitê de Intercâmbio de Informações do Comitê Americano de Vírus Transmitidos por Artrópodes (ACAV) por manter as operações do Catálogo e demais atividades relacionadas (*Arbovirus Catalog - CDC Division Of Vector-Borne Diseases* (DVBD), 2021).

Como esclarecido por Michael Turell (Comunicação pessoal), a plataforma do Catálogo funciona através de um sistema de camadas, de forma a se criar uma gestão interna, onde os níveis de conhecimentos sobre os arbovírus definem o *Status* que ele recebe no momento. Sistemas de classificações são comuns e consideráveis para se organizar objetos de estudos, onde neste caso, há um método de “orientação informacional”, do qual informações são organizadas e classificadas (Pombo, 1998) a fim de se atribuir um *Status* adequado a cada arbovírus.

2.4.2 A Análise Topológica de Dados e os mosquitos

A Análise Topológica de Dados (TDA) atua quase sempre com um número muito grande de dados, porém que não seja infinito, onde alguns agrupamentos podem ser gerados (Rosa, 2021). A forma mais comum de ilustrar graficamente os grupos e subgrupos em um processo hierárquico é através dos Dendrogramas (Silva & Machado, 2018), como o representado na Figura 4 e todos os demais obtidos ao longo deste trabalho. Alguns estudos sobre filogenia de mosquitos (Lorenz, 2017), relações entre mosquitos e ambientes antropizados (Santos, 2017; D'avila, 2011; Bronzato, 2015; Sousa, 2014) e até mesmo com arbovírus em ambientes antropizado (Silva & Machado, 2018), têm explorado esta ferramenta para compreender melhor como esses dois organismos podem se associar e se propagar mundo afora e vem trazendo resultados promissores.

Sendo assim, a primeira etapa da discussão se baseou primariamente em relação a observações e hipóteses levantadas sobre o Dendrograma 1, referente à proximidade em quantidades de vírus em comum entre mosquitos de gêneros e tribos distintos e distantes filogeneticamente. Este dendrograma foi destacado pois possui maior potencial de contribuição com parte dos objetivos propostos deste trabalho, que seria tentar identificar quais são os grupos de mosquitos com maiores chances de serem confirmados como vetores de arbovírus confirmados. O foco principal se deu nos dois grupos de mosquitos de maior importância médica e sanitária no

Brasil e no mundo encontrados dentro das cidades capazes de transmitir arboviroses, bem como os de maiores destaques no referido dendrograma: *Aedes* e *Culex*. Para tanto, algumas hipóteses / questionamentos foram levantados e serão desenvolvidos ao longo do texto:

- Mosquitos mais urbanizados têm maior potencial viral;
- Arbovírus estão se tornando mais adaptados a ambientes urbanos;
- Quais alimentos os mosquitos machos encontram dentro das cidades para manterem o ciclo reprodutivo urbano;
- Microbiotas intestinais mais ricas e abundantes em mosquitos influenciamna infecção e transmissão de vírus pelos mosquitos.

2.4.3 Mosquitos urbanos

As numerosas mudanças demográficas e sociais atuais, como aceleração em processos de urbanização desorganizada, aumento da densidade populacional humana e acentuação de transportes nacionais e internacionais de pessoas e cargas, criaram condições ideais para o estabelecimento e crescimento de populações de mosquitos vetores de doenças (David, 2016). De acordo com Consoli & Oliveira (1994, p. 117) as espécies de mosquitos “*Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* são os mais domésticos que ocorrem no Brasil, frequentando o domicílio humano para obter sangue”. As duas espécies conseguem ocupar nichos diferentes, mesmo convivendo juntas: *Aedes* se alimenta durante o dia e *Culex* durante a noite. Além disso, dentro das residências, as duas espécies conseguem ocorrer em proporções semelhantes entre machos e fêmeas, garantindo sucesso reprodutivo. Segundo Donalisio, Freitas e Zuben (2017), “os vírus mais importantes para a saúde humana são os transmitidos por culicídeos, principalmente dos gêneros *Culex* e *Aedes*.”

Dentro da tribo Aedini, a maior da Família Culicidae (Lorenz, 2017), existem três gêneros que ocorrem no Brasil: *Aedes*, *Psorophora* e *Haemagogus*. A maioria das espécies desses grupos possuem hábitos diurnos e são consideradas agressivas e oportunistas. Algumas espécies botam ovos com resistência ao ressecamento por longos períodos e as larvas eclodem no primeiro contato com a água. Devido a essa característica, esses grupos possuem criadouros transitórios, que podem variar a densidade de suas populações de acordo com os períodos mais chuvosos, ou seja, chuvas e temperaturas mais quentes (como no verão) correlacionadas positivamente com a densidade de mosquitos (Consoli & Oliveira, 1994). O gênero *Aedes* pode utilizar criadouros artificiais para oviposição e suas fêmeas possuem comportamento agressivo para a hematofagia e, por esse motivo, é um gênero com vetores de doenças que exigem grande atenção (Consoli & Oliveira, 1994).

O *Aedes aegypti* possui distribuição geográfica que se dá em áreas urbanas e periurbanas, de regiões tropicais e subtropicais do planeta. Acredita-se que o seu ancestral tenha se originado no continente africano e que o mosquito atual surgiu a partir da formação do deserto do Saara e que tenha se adaptado a ovipositar em recipientes que os homens utilizavam para armazenar água, e conseqüentemente, a conviver com ele e a acompanhá-lo. Os ovos costumam ser depositados nas paredes dos recipientes, acima do nível da água e podem permanecer viáveis por até 450 dias sem água, permitindo que assim possam ser transportados em longas viagens. Assim, foi introduzido no continente americano no período colonial, através de embarcações de mercadorias e negros escravizados e, posteriormente, se espalhou para o restante do mundo (David, 2016). Devido a sua influência como transmissor da Febre Amarela, o *Aedes aegypti* chegou a ser erradicado no Brasil em 1955. Porém, como diversos países vizinhos (Guianas e Venezuela) e até mesmo mais distantes (Estados Unidos e Cuba) não o combateram, logo o mosquito retornou às terras brasileiras no início de 1980 (Consoli & Oliveira, 1994).

Embora seja uma espécie cosmopolita, no Brasil, geralmente é encontrado dentro de cidades e aglomerações humanas, em peridomicílios e dentro das casas. Como mencionado, embora seu ciclo de vida seja controlado principalmente pelas chuvas em épocas quentes, dentro das casas a espécie encontrou condições ideais para se reproduzir, ainda que em menores níveis, mesmo em períodos mais frios e secos, utilizando-se de utensílios domésticos, como caixas d'água, cisternas, latões e até mesmo vasilhas de animais domésticos. As fêmeas utilizam principalmente o homem e, esporadicamente, os animais domésticos como fonte sanguínea, enquanto que os machos as perseguem para realizar a cópula e buscam nutrição à base de substâncias açucaradas (Consoli & Oliveira, 1994).

O mosquito *Aedes aegypti*, por ser extremamente bem-adaptado ao ambiente antropizado e com nítida preferência por sangue humano, criou uma associação com o homem dentro das cidades. Conseqüentemente, esse sucesso também garantiu o estabelecimento de vários arbovírus, como Dengue, Chikungunya e Zika em populações humanas (David, 2016). Além deste arbovírus, o *Aedes* é considerado o principal vetor da Febre Amarela Urbana devido ao seu alto grau de endofilia, antropofilia e suscetibilidade a esse arbovírus (Consoli & Oliveira, 1994).

Tanto o arbovírus Dengue quanto o Febre Amarela são transmitidos de forma transovariana, da fêmea para os ovos. Sendo assim, novos mosquitos já nascem infectados e viáveis para a transmissão de doenças sem ter contato prévio com um hospedeiro com viremia. Além disso, devido à capacidade de os ovos do *Aedes* suportarem grandes períodos de ressecamento, os arbovírus também podem ser mantidos dormentes com eles e, nas primeiras chuvas, desencadearem novos focos de epidemias (Consoli & Oliveira, 1994; David, 2016).

Na tribo Culicini são encontrados dois gêneros que ocorrem no Brasil: *Culex* e *Deinocerites*. As espécies possuem hábitos noturnos e crepusculares, se alimentam do sangue humano e de outros animais, mas não são tão vorazes quanto o grupo Aedini. Os mosquitos do gênero *Culex* são famosos pelo hábito de atacar exatamente nos horários de descanso e repouso, podendo se alimentar oportunamente durante o dia caso a presa fique próxima do seu abrigo. Seus ovos não são resistentes a dessecação e são depositados diretamente na água, agrupados em forma de “jangada”, em criadouros naturais ou artificiais. A espécie *Culex quinquefasciatus* é conhecida como “o mosquito doméstico tropical” e possui maior abundância populacional onde a densidade humana é maior, e vai se tornando raro à medida que as residências vão se afastando, até se tornar inexistente em locais inabitados pelo homem (Consoli & Oliveira, 1994).

Costumam botar seus ovos em águas com aspecto mais sujo, com abundância de matéria orgânica, em criadouros naturais e artificiais, sombreados, mas sempre próximos do homem. Apesar de ser mais abundante durante os meses chuvosos devido à maior disponibilidade de criadouros, ainda pode ser encontrado durante todo o ano (Consoli & Oliveira, 1994). Estudos de coleta realizado por Forattini, *et al.* (1987) em regiões do Vale do Ribeira – São Paulo, verificaram que 75,8% de espécimens encontrados nas coletas foram constituídos por representantes de *Culex*.

Mosquitos do gênero *Culex* também podem transmitir o vírus Nilo Ocidental e causar epidemias urbanas (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017). O mosquito *Culex quinquefasciatus* é encontrado naturalmente infectado por diversos arbovírus de importância médica como o Encefalite de St. Louis (St. Louis Encephalis) e o Encefalite Equina Oeste (Western Equine Encephalomyelitis). É também considerado vetor secundário do arbovírus Oropouche em algumas regiões do Brasil. Outras espécies do gênero *Culex*, apesar de não terem importância médica tão relevante, também podem ser destacadas como transmissoras de arboviroses, como *Culex coronator*, que também pode veicular o vírus o Encefalite de St. Louis (St. Louis Encephalis) e o Encefalite Equina Oeste (Western Equine Encephalomyelitis) no Brasil (Consoli & Oliveira, 1994).

Atualmente, têm-se adotado métodos de classificação que utilizam tanto dados morfológicos quanto moleculares, porém esses estudos só se limitam a alguns poucos gêneros ou espécies específicas, deixando uma lacuna sobre a filogenia ideal. Com esses estudos, sabe-se que as tribos Culicini e Aedini são monofiléticas, embora essas relações ainda não tenham sido testadas e podem ser incertas e a taxonomia ideal dos Culicidae ainda pode estar longe de ser ideal (Lorenz, 2017).

2.4.4 Arbovírus urbanos

Vários arbovírus perderam a sua viremia zoonótica e se adaptaram ao homem como hospedeiro principal, como os vírus da Dengue, Chikungunya e Zika e são capazes de produzir epidemias urbanas e utilizar o homem como amplificador vertebrado de viremias (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017; Zé-Zé, 2014). Os vírus do grupo Dengue, por exemplo, são arbovírus que se adaptaram tão apuradamente aos seres humanos e ao ambiente doméstico que o ciclo florestal já não é mais necessário para sua manutenção e sobrevivência e, atualmente, o ciclo de transmissão desses arbovírus envolve apenas o homem e os mosquitos do gênero *Aedes* dentro de áreas urbanas (Lopes, Nozawa & Linhares, 2014).

Alguns mosquitos urbanos demonstraram suscetibilidade ao arbovírus Mayaro, que tem potencial para se urbanizar devido à intensidade e duração de sua viremia em humanos. Caso essa viremia dure tempo suficiente de infectar novos vetores, há risco de adaptação ao ambiente urbano com grandes chances de novas epidemias (Silva, 2018).

Estudos recentes têm demonstrado que alguns arbovírus se tornaram mais comuns nos grandes centros urbanos do que em regiões selvagens. Para o arbovírus Chikungunya, por exemplos, foi identificada uma mutação em uma de suas linhagens, que lhe permitiu uma boa adaptação para infectar o mosquito *Aedes albopictus*, outro mosquito encontrado próximo a regiões de cidades, e se disseminar através dele em regiões urbanas e periurbanas, aumentando o risco de diversas epidemias em várias regiões do mundo (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017). Em estudos referentes aos arbovírus Chikungunya, Dengue e Febre Amarela, há inúmeros registros de epidemias em que o homem é o hospedeiro principal e é essencial para o seu ciclo epidemiológico (Zé-Zé, 2014; Gould, 2017). De acordo com Donalisio, Freitas e Zuben, (2017), o vírus do Nilo Ocidental também pode causar epidemias em áreas urbanas e o seu principal vetor é o mosquito *Culex*.

O arbovírus Oropouche possui dois ciclos de transmissão: um silvestre e outro urbano. No primeiro ciclo estão inseridos animais silvestres, associados ao mosquito *Coquillettidia venezuelensis* e *Aedes serratus*. Já no ciclo urbano, o principal vetor associado é o inseto *Culicoides paraensis* conhecido popularmente como “maruim” (Silva, 2018). Também há evidências de uma capacidade adaptativa do arbovírus Mayaro em realizar ciclos alternativos, envolvendo pássaros e humanos (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017).

Alguns arbovírus também possuem capacidade de se disseminar entre os seus hospedeiros invertebrados através da cópula ou por via transovariana, mas, na maioria dos eventos, essa frequência de transmissão é baixa (~ 1% e 5%, respectivamente) e ineficaz para manter um

alastramento de viremia na natureza. Entretanto, é um importante mecanismo de sobrevivência desses vírus em períodos de baixa população de vetores (como no inverno) ou intervalos interepidêmicos para uma futura reemergência (David, 2016). Como algumas espécies de patógenos são relacionadas a somente algumas espécies de mosquitos (Turell, 2021) toda e qualquer estratégia adaptativa é essencial para sua sobrevivência.

Apesar de não ser um arbovírus, é importante destacar a relação entre o parasito *Wuchereria bancrofti* e o mosquito *Culex quinquefasciatus*, sendo o primeiro, causador da filariose linfática (também conhecida como “elefantíase”). É um verme nematoide e tem o homem como único hospedeiro. A sua transmissão ocorre através da picada deste mosquito, especialmente à noite, quando ocorre o aumento da microfilaremia, estreitando ainda mais a relação com o inseto que também possui hábitos alimentares noturnos (Consoli & Oliveira, 1994).

2.4.5 Alimentação de mosquitos

Apenas as fêmeas de mosquitos necessitam se alimentar de sangue (hematofagia) para alcançar o desenvolvimento e a postura dos seus ovos, pois a hemoglobina é uma das principais fontes proteicas da vitelogênese e maturação dos ovos e, durante esse processo, podem transmitir doenças. Elas podem se arriscar em realizar mais de um repasto por ciclo gonotrófico, intensificando a probabilidade de transmitir patógenos (Consoli & Oliveira, 1994; David, 2016). Algumas espécies têm preferência em se alimentar do sangue de hospedeiros específicos, tornando a relação parasito / hospedeiro ainda mais estrita (Guimarães, Arlé & Machado, 1987).

Em estudos de campo realizados por Guimarães, Arlé & Machado (1987) em uma região florestal, foram utilizadas quatro iscas distintas para atração de mosquitos hematófagos: lagarto, gambá, galo e homem. Ao todo, nove gêneros distintos foram capturados: *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Haemagogus*, *Trichoprosopon*, *Wyeomyia*, *Phoniomyia*, *Limatus* e *Sabethes*. Foi constatada uma nítida tendência antropofágica por todos os gêneros, indicando grande preferência por sangue humano. Algumas espécies também optavam pelo galo, considerado uma ave doméstica; poucas espécies se alimentaram do gambá e nenhuma espécie se alimentou do lagarto.

Estudos realizados por Turell (2021) também destacaram que o mosquito *Aedes* possui preferência por sangue humano. Como este é o único transmissor do arbovírus Zika que é patógeno antroponótico (ou seja, apenas humanos podem servir como fonte do vírus para o inseto), para que exista a transmissão desta doença, é necessário que um mosquito pique uma pessoa virêmica, se contamine e transmita para uma segunda pessoa através de sua picada alguns dias depois. Caso esta espécie se alimenta-se de diferentes vertebrados, as chances de sua disseminação seriam mínimas.

Assim, a preferência alimentar do inseto é de extrema importância para o arbovírus, visto que isso é crucial para o seu desenvolvimento e ciclo de vida. Um mosquito que se alimente preferencialmente de aves, não terá uma associação vantajosa para o arbovírus Zika, por exemplo (Turell, 2021). Porém, estudos com *Anopheles gambiae* contaminado com o *Plasmodium* demonstraram que o protozoário tem capacidade de deixá-lo mais audacioso e faminto durante a alimentação e aumentar a frequência de picadas em humanos, permitindo assim que o protozoário tenha maiores chances de infectar o novo hospedeiro (Lefevre, *et al.*, 2007).

Enquanto as fêmeas dos culicídeos se alimentam de sangue apenas para fins reprodutivos, os machos alimentam-se exclusivamente de substâncias açucaradas encontradas em estruturas vegetais (Consoli & Oliveira, 1994). De certo, ambos os sexos suprem suas necessidades nutricionais através de néctares de plantas, por isso, identificar quais as plantas que favorecem a presença destes vetores dentro das grandes cidades são de grande importância para entender seu ciclo de vida (Oliveira & Souza, 2014).

Estudos citados por Oliveira & Souza, (2014) apontam plantas do gênero *Euphorbia* como sendo utilizadas por mosquitos para nutrição. Pensando nisso, os pesquisadores decidiram avaliar quais plantas urbanas, comumente utilizadas em jardins residenciais, podem ser utilizadas como alimentos pelos mosquitos e favorecer sua sobrevivência. Descobriu-se então, que a espécie de planta *Euphorbia milii* (conhecida popularmente como “Coroa-de-Cristo”, comumente utilizada como cerca-viva) é uma planta capaz de suprir as necessidades nutricionais de mosquitos *Aedes aegypti* machos e fêmeas, além de dar sobrevida destes em até 12,8 dias e 18,4 dias, respectivamente. O aumento na sobrevivência de mosquitos pode acarretar diretamente no aumento de transmissões virais por fêmeas, na manutenção do ciclo reprodutivo pelos machos.

Como a *Euphorbia milii* e o *Aedes aegypti* estão intimamente ligados a regiões urbanas, próximas ao homem, a preocupação com potenciais doenças deve ser constante. Além disso, várias outras espécies vegetais urbanas podem desempenhar papel nutricional para mosquitos e que podem estar sendo cultivadas pelo próprio homem de forma inconsciente (Oliveira & Souza, 2014).

2.4.6 Microbiota intestinal de mosquitos

Na natureza, é comum a associação entre duas ou mais espécies, geralmente um microrganismo e um organismo dito superior, em que ambos são beneficiados com a relação. Esse tipo de associação é chamado de simbiose. De acordo com David (2016, p.15) “O conjunto de microrganismos que coloniza um habitat específico em um hospedeiro é denominado *microbiota*, enquanto seu conteúdo genético total constitui o *microbioma*”. As relações hospedeiro-microbiota

são reconhecidas como mutualistas, em que os microrganismos conseguem substrato e nutrientes do seu hospedeiro, enquanto que essa mesma microbiota também pode oferecer nutrientes, auxílio na digestão, aumentar a imunidade e garantir bom desenvolvimento ao seu hospedeiro (David, 2016).

Nos insetos em geral, as principais estruturas colonizadas por bactérias são o lúmen do intestino médio e o ambiente intracelular, ainda que outros tecidos também possam abrigar a microbiota. O simbiote mais comum é a *Wolbachia*, transmitida verticalmente (da fêmea para a prole) e está presente em cerca de 60% dos insetos; entretanto, quando se trata da microbiota intestinal, presume-se que esta é adquirida principalmente de forma horizontal, ou seja, através do ambiente e de suas fontes alimentares. A influência da microbiota intestinal no sistema imunológico dos insetos está diretamente relacionada com a modulação de infecções por patógenos invasores, incluindo patógenos transmitidos por vertebrados (David, 2016).

A defesa contra patógenos proporcionada pela microbiota intestinal em mosquitos pode ser consequência da ativação do sistema imune e até mesmo da interação destas bactérias com o patógeno. Em experimentos mencionados por David (2016), cepas de *Wolbachia* isoladas de *Drosophila melanogaster* e injetadas em embriões de *Aedes aegypti* através de microinjeções, reduziram de forma significativa a infecção deste mosquito pelos vírus Dengue e Chikungunya. Porém, após serem tratados com antibióticos, e consequentemente exterminar grande parte da sua microbiota, o *Aedes aegypti* apresentou grande suscetibilidade ao vírus Dengue. Neste estudo, os pesquisadores descobriram que cepas específicas de *Wolbachia* têm capacidade de restringir a sobrevivência e bloquear infecções por vírus de RNA em drosófilas, o que fez impulsionar o emprego desta bactéria em estratégias de controle de arboviroses, como a dengue. “Curiosamente, populações naturais de *Aedes aegypti* nunca foram encontradas naturalmente infectadas por *Wolbachia*” (David, 2016, p. 19).

As etapas seguintes a serem investigadas focaram na segunda parte proposta nos objetivos, que visava explorar os *Status* dos arbovírus destacados como confirmados, prováveis e possíveis, para assim tentar conhecer melhor a associação desses com os grupos de mosquitos vetores e, assim, buscar identificar quais são os grupos de mosquitos com maiores chances de serem confirmados como vetores desses arbovírus, principalmente os menos conhecidos e estudados. Para tal, destacou-se os Dendrogramas de 4 a 11, que foram elaborados a partir dos dados disponíveis sobre os *Status* dos 537 arbovírus encontrados no Catálogo Internacional de Arbovírus (CDC). Assim, a discussão seguiu a seguinte hipótese:

- Arbovírus com *Status* de “*Arbovirus*” são os mais estudados;
- Os arbovírus mais estudados são os que mais causaram problemas de saúde pública nos

últimos anos;

- Arbovírus mais estudados estão associados aos mosquitos mais estudados.

Devido a íntima relação entre os tópicos citados, o texto pôde seguir uma linha contínua, que será desenvolvida a seguir.

2.4.7 Níveis de conhecimento sobre mosquito-arbovírus

Alguns arbovírus representam um crítico problema, tanto global, quanto regional, de saúde pública devido a alta morbidade e/ou mortalidade que ocasionam (Cruz & Vasconcelos, 2008). Turell (2021) relata que milhões de casos de doenças são registrados e mais de 700.000 mortes são provocadas todos os anos por esses patógenos, gerando grandes problemas de saúde pública em diversas regiões do planeta. Gould (2017) cita que os arbovírus da Febre Amarela, Dengue, Nilo Ocidental, Chikungunya e Zika emergiram nos dois hemisférios durante os últimos anos. Além destes, os vírus da Encefalite Japonesa, Encefalite de St. Louis, Murray Valley, Usutu, Spondweni, O'nyong nyong e Rift Valey surgiram em pelo menos um dos dois hemisférios. Os vírus Zika e Chikungunya surgiram diversas vezes em várias regiões do planeta e em diferentes períodos e causaram diversos problemas de saúde. Esses vírus são classificados como “*Arbovirus*” (Figuras 5 e 6).

Um estudo conduzido em 1954 através de uma parceria entre a Fundação Rockefeller e o Serviço Especial de Saúde Pública (hoje Fundação Nacional de Saúde) e estabelecido no Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém do Pará, tentou determinar como funciona a circulação dos arbovírus e atestar seu possível papel como agentes de doença humana. Até aquele ano, nenhum estudo havia sido realizado de forma sistemática no território brasileiro. No estudo, foram isoladas amostras de aproximadamente 183 tipos de arbovírus diferentes. “Desse total, 157 foram isolados pela primeira vez no Brasil, 87 já foram comprovados ser novos para o mundo e 34 infectam o homem”, deixando explícito que a Amazônia representa uma das maiores reservas de arbovírus do planeta (Rosa, *et al.*, 1998, p. 213).

Neste presente estudo, dos 537 arbovírus registrados no Catálogo, 85 possuem *status* de “*Arbovirus*” e apenas 5 como “*Not Arbovirus*” e que podem ser transmitidos por mosquitos. Entretanto, Gubler (2001) pontuou que 134 destes vírus já causaram algum tipo de doença em humanos, mostrando que vários patógenos precisam ter seus ciclos de vida mais bem compreendidos para se evitar a proliferação de doenças que provoquem descontroles na saúde pública.

Os arbovírus que mais causaram doenças nos últimos anos segundo Gubler (2001) e Lopes, Nozawa & Linhares (2014) (ilustrados na Figura 5 e 6), possuem seus *Status* como “*Arbovirus*” confirmados. Gubler (2001) destaca que os arbovírus mais conhecidos foram isolados inicialmente

na África e na América do Sul, locais de clima tropicais, que apresentam uma grande diversidade de fauna e flora e onde se concentra a maioria dos grandes estudos nesse âmbito. Entretanto, poucos vírus foram isolados pela primeira vez na Ásia, provavelmente devido a ínfima quantidade de estudos realizados nessa região, mesmo essa tendo uma biodiversidade tão grande quanto os continentes anteriormente citados e um clima semelhante.

Os arbovírus considerados mais importantes são aqueles que além de infectarem humanos através de um inseto vetor, também utilizam o homem como um hospedeiro reserva de amplificação. Dentre esses, os principais são os patógenos flavivírus, como o vírus Dengue, que é capaz de infectar mais de 50 milhões de pessoas todos os anos em regiões dos trópicos e subtropicais, com infecções secundárias e evolução para a doença hemorrágica que pode ser letal (Weaver, 2013).

Alguns arbovírus possuem associações próprias com determinados mosquitos. Sendo assim, alguns mosquitos são capazes de transmitir apenas um ou alguns poucos arbovírus e incapazes de transmitir outros, mesmo que os carreguem no seu organismo. Os arbovírus Zika, Dengue e Chikungunya estão associados ao mosquito *Aedes aegypti*; o arbovírus West Nile possui associação principal com espécies de mosquitos do gênero *Culex*; já os principais vetores do protozoário da malária são espécies de *Anopheles* (Turell, 2021). Sendo estes mosquitos muito estudados (Consoli & Oliveira, 1994), suas doenças também se tornam.

Os mosquitos que possuem maior número de associações com arbovírus (Gráfico A) são os mais estudados (Consoli & Oliveira, 1994) e com os agrupamentos mais próximos (Dendrogramas 6 a 11), sempre com destaque para *Culex* e *Aedes*, que geralmente possuem as menores linhas dos dendrogramas. Conseqüentemente, os arbovírus associados a esses mosquitos provavelmente podem ser os mais explorados como é o caso do Zika, Dengue, Chikungunya e West Nile (Turell, 2021), enquanto os demais se mantêm pouco conhecidos.

De acordo com Turell (2021), somente uma pequena parcela de mosquitos são responsáveis por transmitir patógenos. Para isso, diversos fatores precisam estar alinhados para que a transmissão seja efetiva: o vetor precisa ser competente para a transmissão, se alimentar do hospedeiro adequado, esteja numa localização ideal e exista em números altos. Esses fatores influenciam na disseminação de doenças e conseqüentemente na preocupação em se pesquisar os vetores em determinadas regiões. Um exemplo disso é o mosquito *Aedes vexans*, que possui capacidade moderada de transmitir o vírus Rift Valley no sudeste dos Estados Unidos, mas são incapazes de fazer o mesmo em regiões do noroeste do EUA ou sul do Canadá.

Os dados presentes no Catálogo de Arbovírus também já haviam sido explorados por Gubler (2001). Em seus resultados publicados há 20 anos, os gráficos gerados demonstravam que

dos 534 arbovírus registrados na plataforma naquela época, 54% deles eram “*Possible Arbovirus*”. Tal resultado é o mesmo encontrado neste atual trabalho, visto que dos 537 arbovírus coletados, 54,5% também ainda fazem parte do mesmo *Status*. Entretanto, o presidente Michael Turell (Comunicação pessoal) pressupõe que a grande maioria dos arbovírus classificados como “*Possible Arbovirus*” seja um arbovírus verdadeiro. Tal suposição, somada aos tópicos desta discussão só demonstra a real necessidade de se investigar cada vez mais a relação entre mosquitos e arbovírus em diferentes partes do mundo.

2.4.8 Observações destacadas pela autora

Diversos Dendrogramas foram gerados ao longo desta pesquisa, devido a infinitas formas de análise de dados utilizando a ferramenta matemática, que foram sendo explorados durante a confecção do projeto. Vários deles não são foco deste estudo, mas foram expostos nos Resultados, investigados e discutidos entre aluna e orientador. As observações, embora não façam parte da Discussão, são destacadas abaixo por serem consideradas relevantes.

Os grupos de mosquitos que mais possuíam proximidades foram *Culex* e *Aedes* seguido por *Anopheles*, como ilustrado no Dendrograma 1. Isso significa que esses grupos são capazes de carregar uma grande quantidade de arbovírus, e que existe maior chance de um mesmo arbovírus ser encontrado entre esses três grupos de mosquitos. Curiosamente, são os mosquitos mais urbanizados, de acordo com Consoli & Oliveira (1994) e que podem ocupar o mesmo ambiente, porém em nichos distintos.

Muito se fala em pesquisas e preocupações com os mosquitos do gênero *Aedes*, visto que os vírus mais preocupantes da atualidade e que são transmitidos por artrópodes estão associados exclusivamente a esse gênero de mosquitos; porém, de acordo com as informações coletadas no Catálogo, *Culex* é o mosquito com maior potencial viral (Gráfico 4) e é o mosquito mais comum de ser encontrado dentro das casas durante todo o ano (principalmente o *Culex quinquefasciatus*).

Outro detalhe interessante é que os arbovírus de maior importância médica atual, como Zika, Dengue 1, 2, 3, e 4 e Febre Amarela e outros arbovírus emergentes e reemergentes no Brasil, de acordo com Lopes, Nozawa & Linhares (2014), são vírus com o sorogrupo B (Figura 5) e este é o mais distante de todos os outros de acordo com o Dendrograma 2, ou seja, possui menos características em comum com outros, quando agrupado entre os 6 mais frequentes da planilha. Porém, de acordo com o trabalho de Gluber (2001), os arbovírus de maior importância com capacidade de causar doenças em humanos são em grande maioria dos sorogrupos A e B (Figura 6), relacionados às Famílias virais Togaviridae e Flaviviridae,

respectivamente. Observando o Dendrograma 2, existe uma grande distância entre esses dois sorogrupos, mas no Dendrograma 3 os *clusters* entre eles são mais próximos, indicando uma aproximação quando analisados por sua classificação taxonômica.

Além do que já foi descrito, optou-se por verificar a proporção de estudos existentes sobre cada um dos gêneros de mosquitos mencionados neste estudo. Cada um dos gêneros foi buscado na plataforma de pesquisa "Portal de Periódicos CAPES" e com o número de resultados foi gerado um gráfico (Gráfico C). Através dele, foi possível observar que alguns mosquitos são muito mais estudados que outros, como *Anopheles*, *Aedes* e *Culex*, e isso pode afetar diretamente na quantidade de vírus que ainda podem ser descobertos em cada gênero de mosquito, reforçando assim a importância de mais estudos com mosquitos negligenciados ainda devem ser feitas.

A maior parte dos arbovírus se encontra classificado como "*Possible Arbovirus*" (Possível Arbovírus) como indicado no Quadro 2 (Anexos) e pelo Dendrograma 4.1, o que demonstra a falta de conhecimentos sobre o potencial viral e os padrões de transmissão de doenças que cada vírus possui, expondo assim a importância de maiores estudos sobre o assunto. Também no Dendrograma 4.1, é possível observar que arbovírus com esse mesmo *Status* tendem a se agrupar de forma mais próxima (vírus "Resistencia", "Antequera" e "Barranqueras"), indicando que possuem mais características semelhantes entre si além desta classificação.

Através dos Dendrogramas 7, 8 e 9, foi possível observar que os gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles* vão se agrupando de forma cada vez mais distante, respectivamente, evidenciando que à medida que os *Status* se assemelham, as informações sobre os vírus se tornam mais dispersa e diferentes. Esse detalhe demonstra que quanto menos conhecimentos se possui sobre um vírus, mais difícil torna-se a sua análise de *clusters*.

Analisando o Gráfico 2 algumas observações foram consideradas:

- *Culex* é o grupo com o maior número de associações, e também com grandes quantidades de arbovírus de *status* "*Arbovirus*", "*Probable Arbovirus*" e "*Possible Arbovirus*". Este gênero é seguido por *Aedes*, *Anopheles*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Coquillettidia* e *Sabethes*, visto que todos eles se associam a grandes quantidades de "*Arbovirus*" confirmados. Esse agrupamento pode ser também observado no Dendrograma 7.

Ao analisar o Gráfico 3, mais observações puderam ser destacadas:

- Os gêneros *Uranotaenia* e *Phoniomyia* possuem associações com vírus com apenas dois tipos de *Status*: “*Possible Arbovirus*” e “*Probable Arbovirus*”. Esse agrupamento pode ser observado no Dendrograma 6, do qual apesar de ambos estarem no mesmo *cluster*, possuem linhas distantes, indicando que possuem poucos semelhanças entre si, além deste fato.
- Os gêneros *Wyeomyia*, *Trichoprosopon*, *Sabethes*, *Mansonia*, *Aedeomyia*, *Haemagogus* e *Eretmapodites* possuem associações com vírus pertencente a apenas três *Status* distintos: “*Arbovirus*”, “*Probable Arbovirus*” e “*Possible Arbovirus*”. *Sabethes* e *Haemagogus* se destacam entre esses por carregarem as maiores proporções de vírus com *status* de “*Arbovirus*” confirmados.
- Embora o gênero *Limatus* possua a maior proporção de vírus de *status* “*Not Arbovirus*”, sua quantidade real é pequena quando observada no Gráfico 2, onde há o valor absoluto de associações entre vírus e mosquitos.
- *Aedes* e *Culex* sempre possuem valores e proporções semelhantes e por isso se agrupam instantaneamente em quase todos os dendrogramas, embora seja nítido o prolongamento das linhas paralelas que os agrupam quando observando a sequência de Dendrogramas 7, 8 e 9 subsequentes, voltando a se aproximar novamente somente no Dendrograma 10.
- Assim como *Aedes* e *Culex*, os gêneros *Coquillettidia* e *Psorophora* possuem proporções e valores muito semelhantes, deixando-os agrupados no Dendrograma 11. Como o gênero *Limatus* também possui grande proporção de vírus de *status* “*Not Arbovirus*”, este se agrupa no mesmo *cluster*.
- Os gêneros *Ficalbia* e *Armigeres*, embora possuam um pequeno número de associações (3 e 1, respectivamente) possuem suas barras totalmente coloridas pela cor verde, referente ao *Status* “*Probable Arbovirus*”, indicando que todos os seus vírus possuem um único *status*. Este *Status* indica que existem algumas janelas no conhecimento quanto a real viremia dos vírus que esses mosquitos podem se associar. Sendo assim, são associações que devem ser melhor estudadas.
- O gênero *Hodgesia* encontra-se com sua barra totalmente preenchida pela cor azul, assim como os grupos Culicidae e Chironomidae, demonstrando que um único tipo de *status* é prevalente, mesmo que o número de associações seja

baixo (1, 5 e 1, respectivamente). Esta cor é referente ao *Status* “*Possible Arbovirus*”, que indica que as lacunas de conhecimento sobre a potencial viremia desses arbovírus são ainda maiores.

- O gênero *Deinocerites* possui sua barra totalmente preenchida com a cor amarela, referente ao *Status* “*Arbovirus*”. Neste caso, o *status* significa que os vírus são bem estudados e conhecidos, sendo assim confirmados como verdadeiros arbovírus. Sendo assim, apesar de possuir um número pequeno de associações (somente 2), todos são arbovírus confirmados e com potenciais de causar doenças em vertebrados, incluindo humanos.

Comparando o Dendrograma 4.1 com a planilha de Informações Gerais confeccionada em Excel no início desse projeto, foi possível observar que a grande maioria dos arbovírus com *status* de “*Arbovirus*” confirmados sempre estão associados aos gêneros de mosquitos *Culex* e *Aedes*, que são os grupos mais estudados de acordo com Consoli & Oliveira (1994).

Após explicação dada pelo responsável Michael Turell, também foi possível analisar novamente dados antigos. É o caso da Figura 5, onde são mostrados os arbovírus de maior importância médica no Brasil, de acordo com Lopes, Nozawa & Linhares (2014) e é possível perceber que dos 12 arbovírus destacados, 11 são arbovírus confirmados, evidenciando que também são os mais bem estudados e com história natural melhor compreendida quando comparados a outros arbovírus. Cabe pontuar que todos fazem parte da Família Flaviviridae, que juntamente com as Famílias Bunyaviridae e Togaviridae, são patógenos de grande importância relacionados a saúde pública, segundo Gubler (2001).

Dos 537 arbovírus coletados no Catálogo e trabalhados nesse estudo, 85 possuem *status* de “*Arbovirus*” e apenas 5 como “*Not Arbovirus*” e que podem ser transmitidos por mosquitos. Sendo assim, 447 arbovírus ainda precisam de maior atenção e investigações, para que problemas futuros possam ser evitados ou ao menos previstos.

De certo, no cenário atual, uma importante reflexão relacionada à epidemiologia de doenças virais transmitidas por mosquitos, é que a eliminação do *Aedes aegypti* é considerada impossível, “visto que o processo de urbanização possibilitou o aumento da distribuição e da abundância deste mosquito nas regiões tropicais do planeta” (David, 2016, p. 11, *apud* Gubler 1998; Weaver e Reisen, 2010). Este vetor se beneficia de criadouros e recipientes domésticos de armazenamento de água e materiais descartados em local inadequados. Além do mais, a alta densidade humana das cidades fornece abundantes fontes de sangue, tornando desnecessários voos

de longa distância pelos mosquitos para encontrarem alimento (David, 2016). Entretanto, como ainda não existem vacinas para várias doenças causadas por diversos arbovírus, a melhor solução ainda é o controle dos seus vetores, os mosquitos (Turell, 2021; Gubler, 2001).

Assim, as melhores estratégias de combate aos vetores e suas doenças exigem maior ênfase no desenvolvimento e implementação de medidas preventivas eficazes, ao invés de esperar que ocorram novas epidemias. Também existe a necessidade subsequente de implementação de medidas e soluções emergenciais, que igualmente tardam a serem elaboradas e executadas. Para tal, serão necessários mais investimentos e recursos sociais, políticos (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017) e econômicos, para se conduzir e desenvolver mais pesquisas e estratégias de prevenção realmente eficazes, para então chegar ao sucesso no combate aos vetores e seus patógenos (Gubler, 2001). Além disso, esta não pode ser uma tarefa local, mas sim uma colaboração internacional entre países, visto que os vetores podem invadir países vizinhos e reinstalar arbovírus anteriormente combatidos (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017).

3 CONCLUSÃO

O estudo utilizando a Análise Topológica de Dados possibilitou reconhecer e evidenciar uma complexa relação entre arbovírus e seus mosquitos vetores através dos níveis de agrupamentos ilustrados pelos Dendrogramas. Foi possível constatar que, mosquitos taxonomicamente distantes e com características biológicas distintas entre si podem agregar uma ampla variedade de arbovírus diferentes. Os arbovírus, por sua vez, mesmo também sendo filogeneticamente distante entre si, possuem capacidade de se hospedar em um mesmo grupo de mosquitos ou em vários grupos para se disseminar mundo a fora até encontrar seus hospedeiros vertebrados, mostrando a versatilidade da associação entre esses dois organismos.

A ferramenta utilizada neste trabalho mostrou-se extremamente eficaz e relevante, permitindo diversos *insights* e abordagens distintas para a investigação dos dados coletados. Isso foi demonstrado nos resultados, visto que os Dendrogramas gerados foram mais diversos do que os objetivos exigiam. Tais resultados, que geraram observações paralelas destacadas no texto, abrem portas para novas pesquisas a serem realizadas com essa temática, utilizando a mesma ferramenta como base.

O Catálogo Internacional de Arbovírus, embora seja uma plataforma extremamente importante para busca e coleta de informações referente aos arbovírus e seus respectivos hospedeiros, encontra-se com algumas informações incorretas e sem padrões no momento de incluir as informações sobre o patógeno. Diversos arbovírus estavam com informações incorretas e/ou desatualizadas, o que gerou algumas dificuldades e equívocos nas etapas iniciais do trabalho.

Entretanto, ainda assim as informações coletadas foram de muita relevância e trouxeram dados importantíssimos durante a investigação, que jamais poderia ser concluída sem o acesso aos dados da plataforma.

4 REFERÊNCIAS

ANEZ, G. et al. Dengue virus and other arboviruses: a global view of risks. **ISBT Science Series**, v. 7, n. 1, p. 274-282, 2012.

Arbovirus Catalog - CDC Division of Vector-Borne Diseases (DVBD). 2021. Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/arbocat/>. Acesso em: 19 de maio de 2021.

BOLLING, Bethany G. et al. Insect-specific virus discovery: significance for the arbovirus community. **Viruses**, v. 7, n. 9, p. 4911-4928, 2015.

BRAACK, Leo et al. Mosquito-borne arboviruses of African origin: review of key viruses and vectors. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 1-26, 2018.

BRONZATO, Aline Ribeiro. Análise da estrutura populacional de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em algumas regiões do Brasil. 2015. 1 CD-ROM. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/144079>>

CASSEB, Alexandre Rosário et al. Prevalência de anticorpos contra arbovírus da família Bunyaviridae em búfalos de água. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, p. 428-436, 2015.

CARLSSON, Gunnar. Topology and data. **Bulletin of the American Mathematical Society**, v. 46, n. 2, p. 255-308, 2009.

Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV). 2021 Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. Acesso em: 19 de maio de 2021.

CONSOLI, Rotrout AGB; OLIVEIRA, Ricardo Lourenço de. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora Fiocruz, 1994.

CORSEUIL, E. Apostila de Entomologia. Porto Alegre: Start. Divisões; p. 1-6, 2001.

CRUZ, Ana Cecília Ribeiro; VASCONCELOS, P. F. C. Arbovírus no Brasil. **Biológico, São Paulo**, v. 70, n. 2, p. 45-46, 2008.

D'AVILA, Frederico Alves. **Estudo do impacto da construção de duas barragens na dinâmica populacional de mosquitos (Diptera: Culicidae) na Região Metropolitana de São Paulo**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DEFOLIART, G. R.; GRIMSTAD, P. R.; WATTS, D. M. Advances in mosquito-borne arbovirus/vector research. **Annual review of entomology**, v. 32, n. 1, p. 479-505, 1987.

DAVID, Mariana Rocha et al. **Avaliação de aspectos das interações envolvendo o vetor *Aedes aegypti*, a microbiota intestinal e arbovírus**. 2016. Tese de Doutorado.

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; ZUBEN, Andrea Paula Bruno Von.

- Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de saude publica**, v. 51, p. 30, 2017.
- EDELSBRUNNER, Herbert et al. Persistent homology-a survey. **Contemporary mathematics**, v. 453, p. 257-282, 2008.
- ELDRIDGE, Bruce F. et al. Arbovirus diseases. In: **Medical entomology**. Springer, Dordrecht, 2004. p. 415-460.
- FORATTINI, O. P. *Culicidologia Médica*. Vol. 2, São Paulo, Edusp, 2002.
- FORATTINI, Oswaldo Paulo et al. Frequência domiciliar e endofilia de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde pública**, v. 21, p. 188-192, 1987.
- GUIMARÃES, Anthony Érico; ARLÉ, Monique; MACHADO, Roberto NM. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Orgãos, estado do Rio de Janeiro, Brasil: IV. Preferência alimentar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 277-285, 1987.
- GUBLER, Duane J. Human arbovirus infections worldwide. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 951, n. 1, p. 13-24, 2001.
- GUBLER, Duane J. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. **Archives of medical research**, v. 33, n. 4, p. 330-342, 2002.
- GOULD, Ernest et al. Emerging arboviruses: why today?. **One health**, v. 4, p. 1-13, 2017.
- HALBACH, Rebecca; JUNGLEN, Sandra; VAN RIJ, Ronald P. Mosquito-specific and mosquito-borne viruses: evolution, infection, and host defense. **Current opinion in insect science**, v. 22, p. 16-27, 2017.
- HARBACH, Ralph E. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 1668, n. 1, p. 591-638, 2007.
- HARBACH, Ralph E.; HOWARD, Theresa M. Index of currently recognized mosquito species (Diptera: Culicidae). **European Mosquito Bulletin**, v. 23, p. 1-66, 2007.
- International Catalog of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates. Subcommittee on Information Exchange (SIE) of the American Committee on Arthropod- Borne Viruses (ACAV). Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/arbocat/>. Acesso em: 19 maio. 2021.
- JUNGLEN, Sandra; DROSTEN, Christian. Virus discovery and recent insights into virus diversity in arthropods. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 4, p. 507-513, 2013.
- KARABATSOS, N. (Ed.). Supplement to International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 27(2_Part_2), 372-372, 1978.
- LIMA, J. A, et al. Caracterização antigênica e molecular de vírus isolados de mosquitos capturados no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, 7: 199-208, 2016.
- LEFEVRE, Thierry et al. Malaria Plasmodium agent induces alteration in the head proteome of their Anopheles mosquito host. **Proteomics**, v. 7, n. 11, p. 1908-1915, 2007.
- LOPES, Nayara; NOZAWA, Carlos; LINHARES, Rosa Elisa Carvalho. Características gerais e

epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.

LORENZ, Camila. **Emprego de técnicas morfométricas, espectrometria MALDI-TOF e sequenciamento genético para classificação e filogenia de Culicidae (Diptera)**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MARCONDES, C. B. Entomologia médica. Rio de Janeiro, Atheneu, 2001.

MARCONDES, Carlos Brisola; XIMENES, Maria de Fátima Freire de Melo. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by Aedes (Stegomyia) mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 4-10, 2015.

MCGRAW, Elizabeth A.; O'NEILL, Scott L. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 181-193, 2013.

DE OLIVEIRA, Nathalia Cavichioli; DE SOUZA, Antonio Pancracio. Aumento da Sobrevivência de Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus), em Condições de Laboratório, pela Ingestão de Néctar Extrafloral de Euphorbia milii Des Moul.(Euphorbiaceae). **EntomoBrasilis**, v. 7, n. 1, p. 49-51, 2014.

OUDOT, Steve Y. **Persistence theory: from quiver representations to data analysis**. Providence: American Mathematical Society, 2015.

POMBO, Olga. Da classificação dos seres à classificação dos saberes. **Revista da Biblioteca Nacional de Lisboa**, v. 2, p. 19-33, 1998.

PRADO, Bruna Queiroz de Melo. Análise de agrupamentos das taxas de incidência de dengue nos estados brasileiros. 2015.

ROHWER, Forest; YOULE, Merry. Consider something viral in your research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 308-309, 2011.

ROSA, J. F. S. T. D; *et al.* Arboviruses isolated in the Evandro Chagas Institute, including some described for the first time in the Brazilian Amazon region, their known hosts, and their pathology for man. In: *An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries* (A. P. Travassos da Rosa, P. F. C. Vasconcelos & J. F. S. Travassos da Rosa, eds.), pp. 19-31, Belém: Instituto Evandro Chagas, 1998.

ROSA, Rodrigo de Almeida. Cálculo de grupos fundamentais de nuvens de pontos através de técnicas de análise topológica de dados (TDA). 2021.

RUEDA, Leopoldo M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. In: **Freshwater animal diversity assessment**. Springer, Dordrecht, 2007. p. 477-487.

SALLUM, M. A. M.; SCHULTZ, T. R.; WILKERSON, R. C. Phylogeny of Anophelinae (Diptera Culicidae) based on morphological characters. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 93, n. 4, p. 745-775, 2000.

SCHULTZ, Michaela J.; FRYDMAN, Horacio M.; CONNOR, John H. Dual Insect specific virus infection limits Arbovirus replication in Aedes mosquito cells. **Virology**, v. 518, p. 406-413, 2018.

SHI, Mang et al. Redefining the invertebrate RNA virosphere. **Nature**, v. 540, n. 7634, p. 539-

543, 2016.

SILVA, Franko de Arruda et al. Estudo sobre a circulação de arbovírus na população humana nas áreas de influência da Floresta Nacional de Caxiuanã, Melgaço, estado do Pará, Brasil. 2018.

SOUSA, Antonio Ralph Medeiros de. **Estudo dos padrões de diversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em parques urbanos da cidade de São Paulo, SP**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SUKHRALIA, Shivani et al. From dengue to Zika: the wide spread of mosquito-borne arboviruses. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 38, n. 1, p. 3-14, 2019.

TURELL, Michael J. WHAT MAKES A VECTOR A VECTOR, AND WHY IS THAT IMPORTANT?. **Journal of the Florida Mosquito Control Association**, v. 68, n. 1, p. 1-5, 2021.

VAN DER WALT, Stefan; COLBERT, S. Chris; VAROQUAUX, Gael. The NumPy array: a structure for efficient numerical computation. **Computing in science & engineering**, v. 13, n. 2, p. 22-30, 2011.

VASILAKIS, Nikos; TESH, Robert B. Insect-specific viruses and their potential impact on arbovirus transmission. **Current opinion in virology**, v. 15, p. 69-74, 2015.

WEAVER, Scott C. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. **Trends in microbiology**, v. 21, n. 8, p. 360-363, 2013.

WEAVER, Scott C. Prediction and prevention of urban arbovirus epidemics: A challenge for the global virology community. **Antiviral research**, v. 156, p. 80-84, 2018.

WEAVER, Scott C.; BARRETT, Alan DT. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 10, p. 789-801, 2004.

WEAVER, Scott C.; REISEN, William K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.

Who. World Health Organization. 1985. Arthropod-borne and rodent-borne viral diseases. World Health Organization Technical Report Series 719, 1985

ZÉ-ZÉ, Líbia. Viroses transmitidas por mosquitos. **Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**, p. 55, 2014.

5 ANEXOS

Lista 1. Arbovírus retirados do Catálogo Internacional de Arbovírus, do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), que foram analisados estudados neste projeto. Os nomes coloridos em “vermelho” não foram associados a culicídeos de acordo com a pesquisa.

Abras	Bahig	Buttonwillow	Csiro Village
Absettarov	Bakau	Bwamba	Cuiaba
Abu Hammad	Baku	Cabassou	Dabakala
Acado	Bandia	Cacao	D'aguilar
Acara	Bangoran	Cache Valley	Dakar bat
Adelaide River	Bangui	Cacipacore	Dengue 1
African	Banzi	Caimito	Dengue 2
Horsesickness	Barmah Forest	Calchaqui	Dengue 3
African swine fever	Barranqueras	California	Dengue 4
Agua Preta	Barur	encephalitis	Dera Ghazi Khan
Aguacate	Batai	Calovo	Dhori
Aino	Batama	Cananeia	Douglas
Akabane	Batken	Candiru	Dugbe
Alenquer	Bauline	Caninde	Eastern equine encephalomyelitis
Alfuy	Bebaru	Cape Wrath	Ebola
Almeirim	Belem	Capim	Edge Hill
Almpiwar	Belgrade	Caraparu	Enseada
Altamira	Belmont	Carey Island	Entebbe bat
Amapari	Benevides	Catu	Epizootic
Ananindeua	Benfica	Chaco	Hemorrhagic
Andasibe	Berrimah	Chagres	Disease of Deer
Anhanga	Bertioga	Chandipura	Erve
Anhemi	Bhanja	Changuinola	Estero Real
Anopheles A	Bimbo	Charleville	Eubenangee
Anopheles B	Bimiti	Chenuda	Everglades
Antequera	Birao	Chikungunya	Eyach
Apeu	Bluetongue	Chilibre	Flanders
Apoi	Bobaya	Chim	Flexal
Araguari	Bobia	Chobar Gorge	Fomede
Aransas Bay	Boraceia	Clo Mor	Forecariah
Arbia	Botambi	Coastal Plains	Fort Morgan
Arboledas	Boteke	Cocal	Fort Sherman
Aride	Bouboui	Colorado tick fever	Frijoles
Arkonam	Bovine	Congo	Gabek Forest
Aroa	Ephemeral Fever	Connecticut	Gadgets Gully
Aruac	Bozo	Corfou	Gamboia
Arumowot	Buenaventura	Corriparta	Gan Gan
Aura	Bujaru	Cotia	Ganjam
Avalon	Bunyamwera	Cowbone Ridge	Garba
Babahoyo	Bunyip Creek	Crimean Hemorrhagic Fever	Germiston
Babanki	Burg el Arab		Getah
Bagaza	Bushbush		Gomoka
	Bussuquara		

Gordil	Japanese	La Crosse	Mirim
Gossas	Encephalitis	La Joya	Mitchell River
Grand Arbaud	Jari	Lagos bat	Mobala
Gray Lodge	Jerry Slough	Lake Clarendon	Modoc
Great Island	Johnston Atoll	Landjia	Moju
Guajara	Joinjakaka	Langat	Mojui dos
Guama	Juan Diaz	Lanjan	Campos
Guanarito	Jugra	Las Maloyas	Mono Lake
Guaratuba	Junin	Lassa	Montana Myotis
Guaroa	Jurona	Latino	leukoencephalitis
Gumbo Limbo	Jutiapa	Le Dantec	Monte Dourado
Gurupi	Kadam	Lebombo	Moriche
Hantaan	Kaeng Khoi	Lednice	Mosqueiro
Hanzalova	Kaikalur	Lipovnik	Mossuril
Hart Park	Kairi	Llano Seco	Mount Elgon bat
Hazara	Kaisodi	Lokern	M'poko
Highlands J	Kamese	Lone Star	Mucambo
Huacho	Kammavanpettai	Louping ill	Munguba
Hughes	Kannamangalam	Lukuni	Murray Valley
Hypr	Kao Shuan	Macaua	encephalitis
Iaco	Karimabad	Machupo	Murutucu
Ibaraki	Karshi	Madrid	Mykines
Icoaraci	Kasba	Maguari	Nairobi sheep
Ieri	Kedougou	Mahogany	disease
Ife	Kemerovo	Hammock	Naranjal
Ilesha	Kern Canyon	Main Drain	Nariva
Ilheus	Ketapang	Malakal	Nasoule
Ingwavuma	Keterah	Manawa	Navarro
Inhangapi	Keuraliba	Manitoba	Ndelle
Inini	Keystone	Manzanilla	Ndumu
Inkoo	Khasan	Mapputta	Negishi
Ippy	Kimberley	Maprik	Nepuyo
Irituia	Kindia	Mapuera	New Minto
Isfahan	Kismayo	Marburg	Ngaingan
Israel turkey	Klamath	Marco	Ngari
meningoencephal	Kokobera	Marituba	Ngoupe
itis	Kolongo	Marrakai	Nique
Issyk-Kul	Koongol	Matariya	Nkolbisson
Itaituba	Kotonkan	Matruh	Nodamura
Itaporanga	Koutango	Matucare	Nola
Itaqui	Kowanyama	Mayaro	Northway
Itimirim	Kumlinge	Mboke	Ntaya
Itupiranga	Kunjin	Meaban	Nugget
Jacareacanga	Kununurra	Melao	Nyamanini
Jamanxi	Kwatta	Mermet	Nyando
Jamestown	Kyasanur Forest	Middelburg	Odrenisrou
Canyon	Disease	Minatitlan	Okhotskiy
Japanaut	Kyzylgach	Minnal	Okola

Olifantsvlei	Qalyub	Serra do Navio	Tilligerry
Omo	Quaranfil	Shamonda	Timbo
Omsk	Radi	Shark River	Timboteua
Hemorrhagic	Razdan	Shokwe	Tinaroo
Fever	Resistencia	Shuni	Tindholmur
O'nyong-nyong	Restan	Silverwater	Tlacotalpan
Oriboca	Rift Valley fever	Simbu	Tonate
Oriximina	Rio Bravo	Simian	Toscana
Oropouche	Rio Grande	hemorrhagic	Toure
Orungo	Rochambeau	fever	Tribec
Ossa	Rocio	Sin Nombre	Triniti
Ouango	Ross River	Sindbis	Trivittatus
Oubangui	Royal Farm	Sixgun City	Trubanaman
Oubi	Russian Spring	Slovakia	Tsuruse
Ourem	Summer	Snowshoe hare	Turlock
Pacora	Encephalitis	Sokuluk	Turuna
Pacui	Sabo	Soldado	Tyuleniy
Pahayokee	Saboya	Somone	Uganda S
Palestina	Sagiyama	Sororoca	Umatilla
Palyam	Saint-Floris	Spondweni	Umbre
Para	Sakhalin	Sripur	Una
Paramushir	Sakpa	St. Louis	Upolu
Parana	Sal Vieja	encephalitis	Urucuri
Paroo River	Salanga	Stratford	Usutu
Pata	Salehabad	Sunday Canyon	Utinga
Pathum Thani	San Angelo	Tacaiuma	Uukuniemi
Patois	San Juan	Tacaribe	Vellore
Peaton	San Perlita	Taggert	Venezuelan
Perinet	Sandfly fever	Tahyna	equine
Petevo	Naples	Tai	encephalitis
Phnom-Penh Bat	Sandfly fever	Tamdy	Venkatapuram
Pichinde	Sicilian	Tamiami	Vesicular
Picola	Sandjimba	Tanga	Stomatitis
Piry	Sango	Tanjong Rabok	Alagoas serotype
Pixuna	Santa Rosa	Tataguine	Vesicular
Playas	Santarem	Tehran	Stomatitis
Pongola	Saraca	Telok Forest	Indiana serotype
Ponteves	Sathuperi	Tembe	Vesicular
Powassan	Saumarez Reef	Tembusu	Stomatitis New
Precarious Point	Sawgrass	Tensaw	Jersey serotype
Pretoria	Sebokele	Termeil	Vinces
Prospect Hill	Sedlec	Tete	Virgin River
Puchong	Seletar	Tettngang	Wad Medani
Pueblo Viejo	Sembalam	Thiafora	Wallal
Punta Salinas	Semliki Forest	Thimiri	Wanowrie
Punta Toro	Sena Madureira	Thogoto	Warrego
Purus	Seoul	Thottapalayam	Wesselsbron
Puumala	Sepik	Tibrogargan	West Nile

Western equine encephalomyelitis	Wongorr	Yaquina Head	Zaliv Terpeniya
Whataroa	Wyeomyia	Yata	Zegla
Witwatersrand	Xiburema	Yellow fever	Zika
Wongal	Yacaaba	Yogue	Zirqa
	Yaounde	Yug Bogdanovac	

Lista 2. Gêneros de mosquitos encontrados no Catálogo Internacional de Arbovírus – CDC como hospedeiros naturais dos arbovírus utilizados neste estudo.

<i>Aedes</i>	<i>Eretmapodites</i>	<i>Sabethes</i>
<i>Aedeomyia</i>	<i>Ficalbia</i>	<i>Trichoprosopon</i>
<i>Anopheles</i>	<i>Haemagogus</i>	<i>Uranotaenia</i>
<i>Armigeres</i>	<i>Hodgesia</i>	<i>Wyeomyia</i>
<i>Coquillettidia</i>	<i>Limatus</i>	<i>Mosquitoes*</i>
<i>Culex</i>	<i>Mansonia</i>	Culicidae**
<i>Culiseta</i>	<i>Phoniomyia</i>	Chironomidae**
<i>Deinocerites</i>	<i>Psorophora</i>	

* Não representa um gênero

** Família e subfamília de mosquitos

Quadro 1. Artigos utilizados para confirmação de associação entre arbovírus e culicídeos das linhas com fonte colorida em vermelho.

BELL-SAKYI, <i>et al.</i> , 2012.	BELL-SAKYI, Lesley <i>et al.</i> Tick cell lines for study of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and other arboviruses. Vector-Borne and Zoonotic Diseases , v. 12, n. 9, p. 769-781, 2012.
NUNES, <i>et al.</i> , 2009.	NUNES, Marcio Roberto Teixeira <i>et al.</i> Eco-epidemiologia dos arbovírus na área de influência da Rodovia Cuiabá-Santarém (BR 163), estado do Pará, Brasil. Cadernos de Saúde Pública , v. 25, p. 2583-2602, 2009.
ARTSOB, 1990.	ARTSOB, H. Arbovirus activity in Canada. In: Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Tick-and Mosquito-Borne Viruses . Springer, Vienna, 1990. p. 249-258.
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS; 1986.	INSTITUTO EVANDRO CHAGAS; 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. Belém, Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986. p.427-434.
CAMICAS, 1978.	CAMICAS, Jean-Louis; JL, CAMICAS. Tiques et arbovirus: revue bibliographique. 1978.
ELDRIDGE, <i>et al.</i> , 2004.	ELDRIDGE, Bruce F. <i>et al.</i> Arbovirus diseases. In: Medical entomology . Springer, Dordrecht, 2004. p. 415-460.
GOULD; SOLOMON, 2008.	GOULD, E. A.; SOLOMON, T. Pathogenic flaviviruses. The Lancet , v.371, n. 9611, p. 500-509, 2008.
TESH, 1988.	TESH, Robert B. The genus Phlebovirus and its vectors. Annual review of entomology , v. 33, n. 1, p. 169-181, 1988.
DE OLIVEIRA FILHO, <i>et al.</i> , 2020.	DE OLIVEIRA FILHO, Edmilson F. <i>et al.</i> Identification of animal hosts of Fort Sherman virus, a New World zoonotic orthobunyavirus. Transboundary and Emerging Diseases , 2020.
DE ABREU ASSIS, 2013.	DE ABREU ASSIS, Marieta Torres. Caracterização dos vírus Itaqui e Caraparu (Orthobunyavirus do sorogrupo C): patógenese e genes induzidos da resposta imune inata. 2013.

LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014.	LOPES, Nayara; NOZAWA, Carlos; LINHARES, Rosa Elisa Carvalho. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde , v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.
HUBÁLEK; RUDOLF, 2012.	HUBÁLEK, Zdenek; RUDOLF, Ivo. Tick-borne viruses in Europe. Parasitology research , v. 111, n. 1, p. 9-36, 2012
KUNO, <i>et al.</i> , 1998.	KUNO, Goro <i>et al.</i> Phylogeny of the genus Flavivirus. Journal of virology , v. 72, n. 1, p. 73-83, 1998.

Quadro 2. Quantidade de arbovírus por *Status*.

<i>Status</i>	Quantidade de arbovírus
<i>Arbovirus</i> (Arbovírus)	113
<i>Probable Arbovirus</i> (Provável Arbovírus)	96
<i>Possible Arbovirus</i> (Possível Arbovírus)	293
<i>Probably Not Arbovirus</i> (Provável Não Arbovírus)	17
<i>Not Arbovirus</i> (Não Arbovírus)	18

Quadro 3. Tribos de mosquitos, separadas em suas respectivas subfamílias (em itálico), encontrados no Catálogo Internacional de Arbovírus – CDC como hospedeiros naturais dos arbovírus utilizados neste estudo.

Subfamília	<i>Anophelinae</i>	<i>Culicinae</i>
Tribos	Anophelini	Aedeomyiini; Uranotaeniini; Ficalbiini; Hodgesiini; Culisetini; Aedini; Mansoniini; Culicini; Sabethini