Cairo Monteiro de Oliveira

Monitoramento e caracterização molecular de arbovírus em dípteros da Amazônia ocidental brasileira (estado de Rondônia e Amazonas)

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

São Paulo

2021

Cairo Monteiro de Oliveira

Monitoramento e caracterização molecular de arbovírus em dípteros da Amazônia ocidental brasileira (estado de Rondônia e Amazonas)

Dissertação apresentada ao Programa de pós graduação do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon.

Coorientador: Prof(a) Dr(a). Danielle Bruna Leal de Oliveira.

Versão original.

São Paulo

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Cairo Monteiro de Oliveira

Título da Dissertação/Tese: **MONITORAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ARBOVÍRUS EM DÍPTEROS DA AMAZÔNIA OCIDENTAL BRASILEIRA (ESTADO DE RONDÔNIA E AMAZONAS)**

Orientador: Edison Luiz Durigon

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a **...../...../.....**, considerou o(a) candidato(a):

( ) Aprovado(a) ( ) Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

M

ICB USP

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP · Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 000
Comissão de Ética em Pesquisa - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB nº **950/2018** referente ao projeto intitulado: "***Monitoramento e caracterização molecular de arbovírus isolados de dípteros da Amazônia Ocidental brasileira (Estado de Rondônia)***" sob a responsabilidade de ***Cairo Monteiro de Oliveira*** e orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) ***Edison Luiz Durigon***, do Departamento de Microbiologia, foi analisado pela **CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais e pelo **CEPSH** – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº 466/2012.

São Paulo, 18 de abril de 2018.

Profa. Dra. **Luciane Valéria Sita**
Coordenadora CEUA ICB/USP

Profa. Dra. **Camila Squarzoni Dale**
Coordenadora CEPSH ICB/USP

EXPEDIÇÃO
DATA 4/5/18
REL. Nº 453

DEDICATÓRIA

Á Deus por ter me dado forças para não desistir mediante tantas dificuldades. À minha mãe e pai, Alcione e José, por sempre me apoiar e acreditar nos meus sonhos. Aos meus avós e tia, pelo carinho e amor incondicional. Ao meu amor, Alice Costa.

AGRADECIMENTOS:

- O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001
- O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo por meio da concessão de bolsa de estudo de Mestrado e/ou Auxílio a Projeto de pesquisa, nº de processo 2018/18867-4.
- Agradeço à Deus por abençoar cada dia da minha vida, sustentando-me em todos os momentos desta jornada.
- A minha orientadora Dra. Danielle Durigon pelo carinho, atenção, dedicação e pelos conhecimentos adquiridos. Registro minha sincera admiração e respeito. Muito obrigado.
- Ao meu orientador Dr. Edison Luiz Durigon, pelos ensinamentos e dedicação serei eternamente grato.
- Aos doutores Carla Meneguin e Luciano Thomazelli, registro toda minha gratidão pela atenção e ensinamentos.
- A toda equipe do laboratório de Virologia Clínica e Molecular, doutorandos, mestrandos, alunos de iniciação científica e estagiários, agradeço pela companhia e o auxílio de todos.
- Agradeço a minha família, em especial a minha mãe Alcione, meu pai José Carlos, meu padrasto Pedro Mueller e a minha tia Ivonete por sempre me apoiarem e confiarem no meu potencial, a minha namorada Alice Costa pelo amor, paciência e incentivo, aos meus amigos por sempre estarem ao meu lado e tornarem os momentos difíceis mais leves e alegres. Amo vocês.
- Enfim, obrigado a todos mencionados ou não, que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho. Sem vocês nada seria possível. Sou eternamente grato!

MONTEIRO, O. C. Monitoramento e caracterização molecular de arbovírus em Dípteros da Amazonia ocidental brasileira (estado de Rondônia e Amazonas). 2021. 86. Dissertação de Mestrado do Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

RESUMO

Introdução: Arbovírus são vírus transmitidos por vetores artrópodes que predominam nas áreas tropicais do mundo. O território brasileiro é tomado por florestas tropicais e ecossistemas que permitem condições ideais à presença de Arbovírus. Inúmeros arbovírus já foram detectados e isolados no território brasileiro, tais como o vírus da Dengue, Zika vírus, Chikungunya e muitos outros que circulam na natureza por intermédio de hospedeiros reservatórios e vetores artrópodes, tais como dípteros, carrapatos, etc que frequentemente causam surtos de doenças em animais e humanos. Nesse contexto, os estados de Rondônia e Amazonas que detém parte de seus territórios coberto por floresta amazônica, apresentam ecossistema que favorece a existência de diferentes espécies de vetores artrópodes que junto às ações antropogênicas e as precárias condições de saneamento básico, permitem potencial transmissão e estabelecimento de arboviroses nestas regiões. **Objetivo:** O presente trabalho tem como objetivo monitorar a presença de Arbovírus de importância médica, tais como *Flavivirus, Alphavirus e Bunyavírus* em espécies de dípteros coletados nos estados de Rondônia e Amazonas, Brasil. **Métodos:** Neste estudo, foi padronizado três ensaios de RT-qPCR (Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction) com Sybr Green para detecção de Arbovírus (*Flavivirus, Alphavirus e Bunyavirus)*. Além disso, espécies de dípteros foram capturados em diferentes regiões ao longo do estado de Rondônia e Amazonas, entre os anos de 2017, 2018 e 2019, e após um processo de maceração e extração de ácidos nucleicos, foram submetidos à pesquisa de Arbovírus utilizando os protocolos padronizados. **Resultados:** Os ensaios se mostraram eficazes para pesquisa de Arbovirus de interesse. Até o momento, dos 9.299 dípteros coletados, foram processados e analisados cerca de 6798 dípteros, dos quais: 69,46% (n=4714) pertencem à família *Culicidae*, 15,5% (n=1050) a *Ceratopogonidae*, 8,2% (n=555) a *Psychodidae*, 6,8% (462) a *Tabanidae* e 0,04% (n=3) a *Simullidae*, divididos em mais de 35 espécies distintas. Do total de dípteros analisados não foi detectado *Flavivirus, Alphavirus ou Bunyavírus*. **Conclusão:** Apesar da boa eficiência dos protocolos, não houve detecção de arbovírus nos pools de mosquitos analisados. Este trabalho fornece dados importantes à respeito da atual situação epidemiológica brasileira, principalmente nos possíveis "focos" de transmissão e disseminação desses vírus, sem que seja descartado a potencial circulação nas regiões estudadas.

Palavras-chave: Arbovirus. Dipteros. RT-qPCR. Sybr Green.

MONTEIRO, O.C. Monitoring and molecular characterization of arbovirus in Dípteros of western Brazilian Amazonia (State of Rondônia and Amazonas). 2021. 86. Master's thesis of the Department of Microbiology - Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

ABSTRACT

Arboviruses are viruses transmitted by arthropod vectors that predominate in tropical areas of the world. The brazilian territory taken by tropical forests and other natural ecosystems that allow ideal conditions for the presence of Arbovirus. A number of Arboviruses have already been detected and isolated throughout the territory with many still endemic such as Dengue virus (DENV), Zika virus (ZKV), Chikungunya virus (CHIKV) and many others circulating in nature through reservoir hosts and arthropod vectors such as dipterans, ticks, etc. which often cause disease outbreaks in animals and humans. In this context, the states of Rondônia and Amazonas, which owns part of its territories covered by amazon forest have an ecosystem that favors the existence of different species of arthropod vectors that together with anthropogenic actions and poor basic sanitation conditions allow potential transmission and establishment of arboviruses in these regions. **Objective:** The present work aims to monitor the presence of Arboviruses of medical importance such as Flavivirus, Alphavirus and Bunyavirus in species of dipterans collected in the states of Rondônia and Amazonas, Brazil. **Methods:** In this study, three RT-qPCR (Reverse Transcrption Quantitative Polymerase Chain Reaction) assays with Sybr Green were standardizes fot detection of Arboviruses (Flavivirus, Alphavirus and Bunyavirus). In addition, diptera species were captured in different regions throughout the Amazonas and Rondônia states between 2017-2019, and after a process of maceration and extraction nucleic acids were subjected to arbovirus research using standardized protocols. **Results:** The assays proved to be effective for researching interest arbovirus. To date, of the 9,299 dipterans collected approximately 6,798 dipterans have been processed and analyzed of which: 69.46% (n=4714) belong to the family Culicidae, 15.5% (n=1050) to Ceratopogonidae, 8.2% (n=555) to Psychodidae, 6.8% (462) to Tabanidae and 0.04% (n=3) to Simullidae divided into more than 35 distinct species. Flavivirus, Alphavirus or Bunyavirus were not detected from the total of the analyzed dipterans. **Conclusion:** Despite the good efficiency of the protocols there was no detection arbovirus in the analyzed mosquito pools. This work provides important data regarding the current Brazilian epidemiological situation especially in the possible "spot" of transmission and dissemination of these viruses without discarding the potential circulation in the regions studied.

Keywords: Arbovirus. Diptera. RT-qPCR. Sybr Green.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquematização do ciclo de vida dos arbovírus no mosquito. A) Aquisição do vírus pelo mosquito no momento da alimentação. B) Disseminação do vírus pelo tubo digestivo do mosquito para outros tecidos até chegar às glândulas salivares, onde sofre 20

Figura 2. Ciclos de transmissão de arbovirus. A imagem demonstra os ciclos de transmissão silvestre e urbano do vírus da Febre Amarela (YFV) um representante da família Flaviviridae e um importante Arbovírus. Fonte: Guia de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde 21

Figura 3. Modelo de replicação dos Flavivirus. Fonte: Adaptado de (SAMPATH; PADMANABHAN, 2009) 23

Figura 4. Organização genética do genoma dos Flavivirus e funções das proteínas. As setas indicam os locais de clivagem da protease viral. Fonte: adaptado de (RASTOGI; SHARMA; SINGH, 2016)..... 24

Figura 5. Representação do vírion do gênero Alphavirus. 25

Figura 6. Representação do genoma dos Alphavirus. A) Mostra os quadros de leitura aberta da sequência de RNA (ORFs). O (*) indica a posição do códon de terminação. B) Esquema representativo de processamento de poliproteína estrutural (NSP2) por protease nsP2. **Fonte:** (BAKAR; NG, 2018) 26

Figura 7. Representação esquemática da partícula viral e genoma de Bunyavirus. (A) Demonstração do vírion de bunyavirus. Os três segmentos de RNA (S, M e L) associam-se à polimerase L e à nucleoproteína N para formar RNP (ribonucleoproteínas pseudo-helicoidais). **(B)** Os três segmentos de RNA codificam para várias ORFs como mostrado nas setas. (**nt):** nucleotídeos; **(aa)** aminoácidos. **Fonte:** (ALBORNOZ et al., 2016). 27

Figura 8. Pontos de referência de coleta dos Dípteros no estado de Rondônia e Amazonas, Brasil. Principais pontos de referência de coletas dos dípteros em 2017, 2018 e 2019. Em amarelo o município de Ji-Paraná-RO; em roxo a capital do estado, Porto Velho-RO; ao centro, em vermelho escuro é destacado o município de Monte Negro-RO; e em laranja é demonstrado o município de Humaitá-AM. **Fonte:** Google Earth (2019). 32

Figura 9. Pool de mosquitos macerados em criotubo pronto para o armazenamento..... 33

Figura 10. Processo de extração automatizado. A) Materiais e reagentes utilizados. B) Processo de adicionamento dos reagentes e amostras para extração. C) Aparelho MagMAX ™ utilizado para extração automatizada 34

Figura 11. Regiões de captura dos dípteros e quantidades absolutas de amostras obtidas..... 42

Figura 12. Famílias de dípteros que já passaram pelo processo de extração de ácidos nucléicos totais. 42

Figura 13. Principais espécies de dípteros analisados. 43

Figura 14. Resultado da detecção dos controles de Flavivirus no ensaio de RT-qPCR com SYBR GREEN. Em A, observa-se as curvas de amplificação dos controles positivos. (1):DENV-1; (2) DENV-2; (3) DENV-3; (4) DENV-4; (5) ZIKV; (6) YFV; (7) WNV, (8) CNEG. Em B, demonstram-se as curvas de dissociação de cada controle positivo com suas respectivas temperaturas, demonstradas na tabela 2. 44

Figura 15. Resultado da detecção dos controles de Alphavirus no ensaio de RT-qPCR com SYBR GREEN. Em A, observa-se as curvas de amplificação das diluições do controle positivo de CHIKV, desde CHIKV D1 (diluição 1:10) até CHIKV D5 (diluição 1:100.000). Em B, demonstram-se as curvas de dissociação de cada diluição do controle positivo todas na mesma temperatura de melting (**TM:** 79,5). 44

Figura 16. Em A, Amplificação das diluições do controle de Oropouche (OROV) com os primers Pan-Bunya. Na imagem, observa-se as curvas de amplificação das diluições do controle positivo de OROV, desde C+ (Controle puro de OROV) e da D1 (diluição 1:10) até D5 (diluição 1:100.000). Em **B**, demonstram-se as curvas de dissociação de cada diluição do controle positivo todas na mesma temperatura de melting (**TM:** 78,8) marcado pela linha vermelha.. 45

Figura 17. Análise eletroforética em gel de agarose 2,0% dos produtos de PCR das amostras (pools) suspeitos de bunyavirus utilizando primers Pan-bunya, apresentando bandas de aproximadamente 100 pb. Peso 100 kb DNA Ladder (Invitrogen). Orov+: Controle Positivo de Oropouche virus; **pb:** pares de base. 47

Figura 18. Análise eletroforética em gel de agarose 2,0% dos produtos de R-PCR das amostras (pools) suspeitas de bunyavirus utilizando primers Pan-bunya, apresentando bandas de aproximadamente 100 pb. Peso 100 kb DNA Ladder (Invitrogen). Orov+: Controle Positivo de Oropouche virus; **pb:** pares de base. 48

Figura 19. Resultado da amplificação do rRNA 16S de pools com diferentes quantidades de dípteros. Legenda: (ind): indivíduos; (pb): pares de base; C+ Chikv: controle positivo de Chikungunya..... 48

Figura 20. Alinhamento de 144 nucleotídeos da amostra suspeita (PL2b7- Pool 76) que segregou com rRNA de Anopheles obtido no NCBI/Blast. 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos primers selecionados 35
Tabela 2. Controles positivos utilizados, com os respectivos Cts. 36
Tabela 3. Descrição dos primers usados nos distintos protocolos para o teste de infecção. 38
Tabela 4. Descrição dos primers de controle interno. 39
Tabela 5. Número de Dípteros coletados nos meses de cada ano de estudo. 41
Tabela 6. Resultado do teste de infecção em mosquitos perante três protocolos distintos. 46
Tabela 7. Amostras (pools) suspeitas de positividade para bunyavirus no ensaio de qPCR com Sybr Green. 47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DENV	dengue vírus
MAYV	mayaro
OROV	vírus oropouche
YFV	"*yellow fever vírus*" - vírus da febre amarela
SLEV	vírus da encefalite de Saint Louis
CHIKV	vírus chikungunya
MBFV	"*mosquito-borne*" flavivirus
TBFV	*"tick-borne"* flavivirus
NVK	*"no-know-vector"*
RE	retículo endoplasmático
prM	membrana precursora
C	cápside
M	membrana
NS	não estrutural
VEEV	vírus da encefalite equina venezuelana
ORF	"open reading frame"
RNA	ácido ribonucleico
rRNA	ácido ribonucleico ribossomal
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
DNA	ácido desoxirribonucleico
RVFV	"*rift valley fever vírus"*
CCHFV	*"crimean-congo hemorrhagic fever vírus"*
ILHV	vírus ilhéus
ROCV	vírus rocio
BSQV-	bussuquara vírus
CPCV	cacipacore vírus
RO	Rondônia
AM	Amazonas
PCR	*"polymerase chain reaction"*
RT-PCR	*"reverse transcriptase polymerase chain reaction"*
TM	*"melting temperature"*
CT	*"cycle threshold"*
qPCR	*"quantitative polymerase chain reaction"*
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
LVCM	laboratório de virologia clínica e molecular
USP	universidade de são paulo
pb	pares de base
MgCL2	cloreto de magnésio
dNTP	desoxirribonucleotídeos fosfatados
pMOL	picomoles
H20	água
mM	micromolar
BLAST	*"basic local alignment search tool"*
NCBI	*"national center for biotechnology information"*
CNEG	controle negativo
CPOS	controle positivo
fwd.	*"foward"*
rev.	*"Reverse"*

SUMÁRIO

Sumário

1. INTRODUÇÃO 17
2. REVISÃO DE LITERATURA 19
2.1 Arbovírus 19
2.2 Vetores e transmissão 19
2.3 Flavivirus 21
2.4 Alphavirus 24
2.5 Bunyavirus 26
2.6 Arbovírus no Brasil 28
3. OBJETIVO GERAL 30
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: 30
4. MATERIAL E MÉTODOS 31
4.1 DESENHO AMOSTRAL 31
4.2 ÁREA DE ESTUDO 31
4.3 CAPTURA DOS DÍPTEROS 32
4.4 TRIAGEM, ACONDICIONAMENTO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS 32
4.4.1 Maceração 32
4.4.2 Extração do material genético viral dos pools de Dípteros 33
4.5 PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE RT-qPCR COM SYBR GREEN PARA DETECÇÃO DE ARBOVÍRUS (FLAVIVIRUS,ALPHAVIRUS E BUNYAVIRUS) 34
4.5.1 Avaliação da especificidade do ensaio para detecção de Arbovírus 35
4.6 TESTE DE INFECÇÃO DE MOSQUITOS 38
4.7 DETECÇÃO MOLECULAR DE ARBOVIRUS POR RT-qPCR COM SYBR GREEN 39
4.8 PCR CONVENCIONAL DAS AMOSTRAS SUSPEITAS 39
4.9 SEQUENCIAMENTO 40
4.9.1 Análises das Sequências 40
5. RESULTADOS 41
5.1 Dípteros capturados, processados e analisados 41
5.2 Padronização do protocolo RT-qPCR com SYBR GREEN 43
5.3 Teste de Infecção 45
5.3 RT-qPCR com SYBR Green dos dípteros 46
5.4 PCR Convencional das amostras suspeitas 47
5.5 Controle interno 48
5.6 Sequenciamento 49

6. DISCUSSÃO.....50
7. CONCLUSÃO 57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 58
ANEXO 1 - Tabela descritiva dos locais de coleta, data, armadilhas utilizadas e classificação dos mosquitos coletados......64
ANEXO 2- Sequências obtidas das amostras suspeitas......84

1. INTRODUÇÃO

Arbovírus são um extenso grupo de vírus transmitidos por vetores artrópodes hematófagos (ARAÚJO et al., 2019) composto por cinco diferentes família: *Reoviridae, Rabdoviridae, Flaviviridae, Togaviridae* e *Bunyaviridae*, sendo que as três últimas possuem as principais espécies causadoras de doenças em humanos, tais como: o vírus da Dengue (DENV) o vírus Mayaro (MAYV) e vírus Oropouche (OROV) causadores de febre (MOURÃO et al., 2009; VIEIRA et al., 2015); vírus da Febre Amarela (do inglês "*Yellow Fever Vírus*"-YFV) causador de febre, falência hepática e insuficiência renal (FIGUEIREDO, 2000); vírus Oeste do Nilo (do inglês "*West Nile Vírus*"-WNV) e vírus da Encefalite de Saint Louis (SLEV) provocadores de encefalites e problemas neurológicos (ASHRAF et al., 2015; NEMETH et al., 2012); Zika vírus (ZIKV) associado à microcefalia e síndrome de Guillain-Barré (RATHORE, 2016), dentre outros.

A maior importância no estudo dos arbovírus reside no fato destes circularem na natureza em diferentes ciclos epidemiológicos envolvendo vetores artrópodes como carrapatos e dípteros, tais como mosquitos hematófagos, etc. Por meio de repastos sanguíneos, estes vetores transmitem vírus a uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, entre eles mamíferos, aves e humanos estabelecendo doenças (ARAÚJO et al., 2019; BICHAUD et al., 2014a; MARUNIAK; GARCIA-MARUNIAK, 2010a).

Parte do território brasileiro, principalmente os estados situados na região norte do país são constituídos de florestas tropicais e outros ecossistemas que propiciam condições ideais para ocorrência de doenças causadas por arbovírus (arboviroses). Nesse contexto, os estados de Rondônia e Amazonas apresentam características geográficas e climáticas, que somado às intensas atividades antropogênicas exercidas nestas regiões, propiciam a emergência e reemergência de várias doenças (CARVALHO et al. 2011; TOSCANO 2007; OLIVEIRA 2002).

Dessa forma, com esses fatores, somados à dificuldade de acesso ao atendimento médico e de informações epidemiológicas sobre a circulação de arbovírus, justifica a necessidade de estudos completos e detalhados sobre as arboviroses nessas regiões (HENRIQUES, 2008).

Tendo em vista que vírus pertencentes ao grupo dos arbovírus têm sido responsáveis pela emergência e reemergência de viroses no país, e que atualmente possuem grande potencial de causar surtos de doenças principalmente em regiões próximas a Amazônia, propusemos neste estudo avaliar a presença de Arbovírus a partir de dípteros coletados no estado de Rondônia e Amazonas.

A detecção e o monitoramento de arbovírus nessas regiões se faz necessária para um melhor conhecimento da atual situação epidemiológica dos estados e do país, contribuindo como medida preditiva para evitar o surgimento e ressurgimento de doenças causadas por novos ou “antigos” vírus pertencentes ao grupo dos arbovírus, com informações que podem contribuir também para um melhor conhecimento sobre o ciclo natural, circulação, transmissão, dispersão, poder de infectividade e potencial zoonótico desses vírus.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Arbovírus

Arbovírus são vírus transmitidos por vetores artrópodes (do inglês "*arthropod-borne viruses*") circulantes na natureza por intermédio de hospedeiros naturais específicos, que predominam principalmente em áreas tropicais e subtropicais do mundo (ARAÚJO et al., 2019; BICHAUD et al., 2014b).

Trata-se de um grande grupo de vírus, com centenas de espécies representantes divididos em cinco famílias, *Reoviridae, Rhabdoviridae, Flaviviridae, Togaviridae e Bunyaviridae* (BLAIR; ADELMAN; OLSON, 2000). Dentre estas, *Flaviviridae, Togaviridae e Bunyaviridae* possuem as principais espécies responsáveis por causar doenças em humanos, além de importantes patógenos de potencial zoonótico que infectam uma grande variedade de hospedeiros, incluindo insetos, aves, répteis e mamíferos (MARUNIAK; GARCIA-MARUNIAK, 2010b).

A transmissão de arbovírus na natureza depende de uma série de fatores, que variam desde a distribuição geográfica, adequação e competência do vetor, até disponibilidade de hospedeiros, densidade populacional e fatores ambientais como temperatura e umidade (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017). Além do mais, ações antropogênicas descontroladas, como desmatamento de florestas, migração populacional, ocupações desordenadas de áreas urbanas, etc., bem como precárias condições sanitárias são importante fatores, que quando somados à presença e competência dos vetores artrópodes, contribuem para amplificação e transmissão desses vírus (LORENZ et al., 2017).

2.2 Vetores e transmissão

Artrópodes hematófagos, como carrapatos e principalmente os dípteros, dentre os quais: mosquitos, flebotomíneos, simulídeos e ceratopogonídeos desempenham papel crucial na epidemiologia de surtos causados pelas arboviroses. Pelo potencial fato de se alimentarem do sangue de animais virêmicos, estes insetos podem se infectar tornando-se reservatórios de vírus (FORATTINI, 1996), podendo ainda desempenhar papel de vetores, transmitindo os vírus de um hospedeiro para outro (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017). Isso se dá graças à capacidade dos arbovírus de replicarem tanto em células de artrópodes (**Figura 1**) quanto em células de vertebrados (MEZENCIO et al., 1990).

A transmissão biológica de arbovírus na natureza pode acontecer de forma vertical que ocorre quando há a transmissão do vírus pelo vetor infectado aos seus descendentes, ou de forma horizontal. Nesta última, a transmissão pode ser venérea quando o macho infectado

transmite o vírus à fêmea durante o acasalamento, ou por via oral quando o vetor infectado transmite o vírus ao hospedeiro vertebrado pela saliva durante o repasto sanguíneo (WEAVER; REISEN, 2010).

Para a maioria dos arbovírus, a transmissão horizontal por via oral é a mais comum. O vetor adquire o vírus ao se alimentar de um hospedeiro infectado que passam a infectar as células do tubo digestivo, e então se dissemina para outros tecidos secundários ocorrendo à amplificação viral em vários tecidos fora do intestino até chegar às glândulas salivares, onde se multiplicam sem causar qualquer sinal ou sintoma de doença durante um tempo (período de incubação) que pode variar entre 7 a 14 dias. Após este período, os mosquitos perpetuam a capacidade de transmitir os vírus para outros hospedeiros através da picada (**Figura 2**)(FRANZ et al., 2015; WU et al., 2019).

.

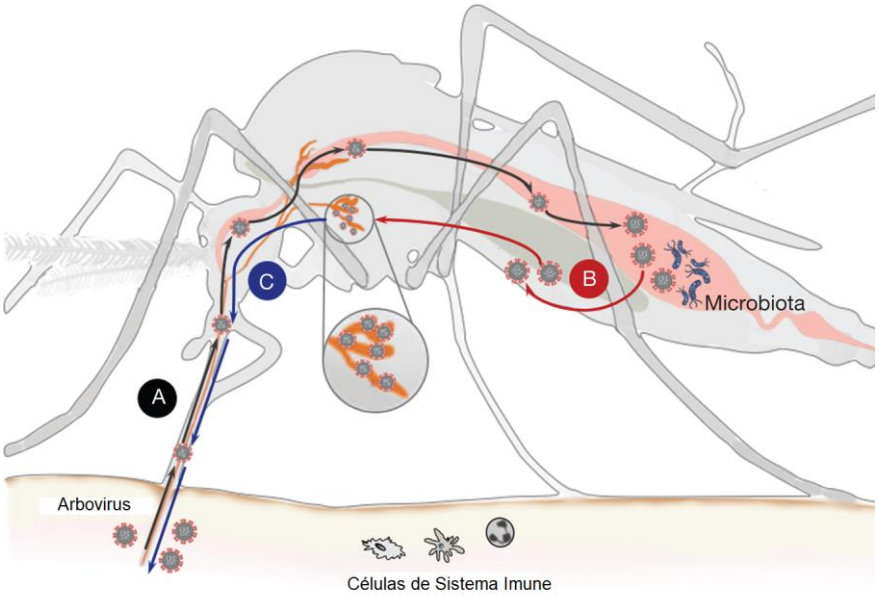


Figura 1. Esquematização do ciclo de vida dos arbovírus no mosquito. A) Aquisição do vírus pelo mosquito no momento da alimentação. B) Disseminação do vírus pelo tubo digestivo do mosquito para outros tecidos até chegar às glândulas salivares, onde sofrem intensa replicação. **C)** Transmissão dos vírus através da picada, juntamente com algumas proteínas da saliva do mosquito. **Fonte:** Adaptado de Wu P, Yu X, Wang P, Cheng G, (2019).

Cerca de aproximadamente 15.000 espécies de artrópodes hematófagos são conhecidos e, entre os vetores responsáveis por transmitir arbovirus a humanos e a grande maioria pertence à ordem Diptera, subordem Nematocera (KUNO, 2005). A Ordem Diptera pertence à Classe Insecta e apresenta cerca de 120.000 indivíduos, que se destacam pelas asas posteriores reduzidas em formato de clave e proeminentes asas dianteiras. A sub-ordem Nematocera engloba dípteros com antenas articuladas com mais de 6 segmentos, tais como mosquitos, família *Culicidae*; borrachudos, família *Simullidae*; maruíns, família *Ceratopogonidae*; e flobotomíneos, família *Psycodiidae (FORATTINI, 1996)*

As arboviroses podem manter-se em ciclos diferentes, envolvendo distintas espécies de vetores artrópodes e hospedeiros vertebrados, que variam de acordo com as condições ecológicas e sociais de cada região. Sendo assim, esses ciclos de transmissão podem estabelecer-se de formas diferentes a depender da espécie de vírus. As transmissões mais comuns acontecem em ciclos urbanos, ou através de ciclos silvestres (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017) como representado na **Figura 2** abaixo.

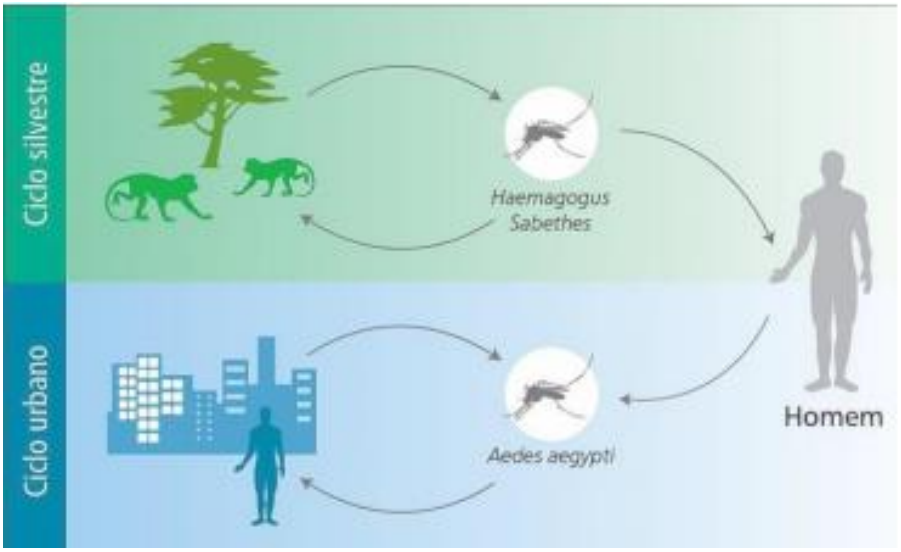


Figura 2. Ciclos de transmissão de arbovirus. A imagem demonstra os ciclos de transmissão silvestre e urbano do vírus da Febre Amarela (YFV) um representante da família Flaviviridae e um importante Arbovírus. Fonte: Guia de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde

No ciclo urbano, a transmissão é feita pelo artrópode diretamente ao homem. Este, quando infectado, pode desenvolver a doença servindo de fonte de infecção para novos mosquitos. Nesse tipo de ciclo, o principal vetor é o *Aedes aegypti*, um mosquito antropofílico encontrado frequentemente em locais onde há aglomeração de humanos. Já o ciclo silvestre é mais complexo, o qual envolve animais reservatórios como macacos e diferentes vetores de hábitos silvestres, como mosquitos das espécies *culex sp, Aemagogus sp, Sabethes sp* (figura 3), entre outros (HONÓRIO et al., 2015) capazes de transmitir diferentes espécies de arbovírus, como os pertencentes ao gênero Flavivirus, Alphavirus ou Bunyavirus.

2.3 Flavivirus

O gênero Flavivirus, da família *Flaviviridae*, consiste de mais de 73 espécies de pequenos vírus envelopados, tais como o DENV, ZKV, YFV, WNV, entre outros (BRINTON; BASU, 2015), e podem ser tradicionalmente distribuídos em 3 grupos a depender de seus vetores artrópodes de transmissão. Dessa forma, sendo classificados em: Flavivírus transmitidos por mosquitos ou "*mosquito-borne*" (MBFV), Flavivírus transmitidos por carrapatos ou *"tick-borne"* (TBFV) e os "*no-known-vector*" (NKV) sem vetor conhecido.

Membros dos MBFV e TBFV replicam em vertebrados artrópodes, enquanto os NKV podem infectar morcegos e roedores sem que haja vetores artrópodes envolvidos no ciclo infeccioso (COOK et al., 2011). Cerca de 50% dos mais de 73 Flavivirus conhecidos são transmitidos por mosquitos hematófagos, tornando os MBFV os principais responsáveis pela transmissão destes vírus (GOULD; HIGGS, 2009).

Os vírus representantes dessa família apresentam núcleo formado por uma ribonucleoproteína com forma esférica, envolvido por um envelope lipoprotéico com presença de glicoproteínas em sua superfície (TRENT; QURESHI, 1971). O genoma destes vírus constitui cerca de 11.000 nucleotídeos de comprimento, RNA de fita simples, linear, de polaridade positiva que funcionam tanto como o mRNA viral, quanto um modelo para síntese de RNA de cadeia inferior. A região 5' não codificante (NCR) é curta, com apenas 100 nt, enquanto o 3' NCR é mais variável, com cerca de 340 a 700 nt. A extremidade 3’ do NCR não é poliadenilada, e termina com um CUOH conservado (LINDENBACH, MURRAY et al. 2013)

A replicação acontece quando glicoproteínas presentes na superfície da membrana de células hospedeiras interagem com o envelope viral, permitindo a ligação do vírus com a célula. Esta ligação pode ser mediada também por integrinas, proteínas do citoesqueleto e lipídeos (BOGACHEK et al., 2010).

Após a etapa de adsorção, é iniciada a etapa de internalização (penetração) da partícula viral, onde é formada uma vesícula revestida com clatrina (CHU; NG, 2004). A subsequente acidificação faz com que as proteínas do cápside viral se fundam com a membrana da vesícula, liberando o genoma viral no citoplasma da célula que é direcionado ao retículo endoplasmático (RE), onde é criado o ambiente molecular que permite o processo do ciclo viral, ao mesmo tempo que impede a sinalização para resposta do interferon (WELSCH et al., 2009) (**Figura 3**)
.

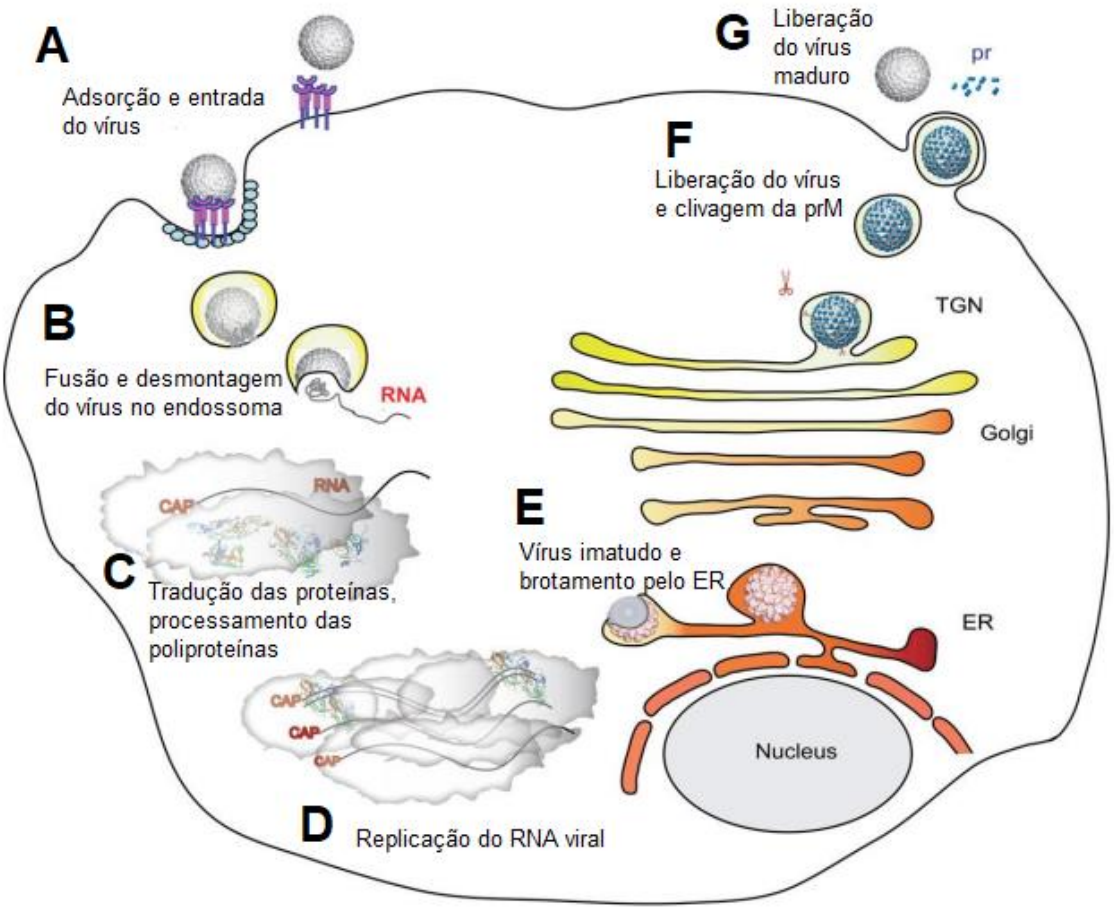


Figura 3. Modelo de replicação dos Flavivirus. Fonte: Adaptado de (SAMPATH; PADMANABHAN, 2009).

Na fase inicial do ciclo dos flavivirus, o genoma viral é empregado principalmente como mRNA na síntese proteica viral. O início da tradução ocorre de maneira dependente. No caso do DENV, o processo começa com a ligação de fatores de iniciação 4E (eIF4E) da 5'cap, e mais adiante com o recrutamento de eIF4G e eIF4A. Este complexo de ribonucleoproteínas liga-se ao 43S (40S + eIF1A + eIF3) e ao códon de iniciação AUG para serem reconhecidos. Por fim, a subunidade ribossomal 60S é recrutada e a tradução começa, e então é codificada uma grande poliproteína precursora.

Esta grande poliproteína precursora é responsável por produzir três proteínas estruturais individuais: cápside (C), membrana precursora/ Membrana (prM/ M), envelope (E); e sete proteínas não estruturais: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, MS4B E NS5 (FERNÁNDEZ-SANLÉS et al., 2017; LINDENBACH; RICE, 2003) (**Figura 4**).

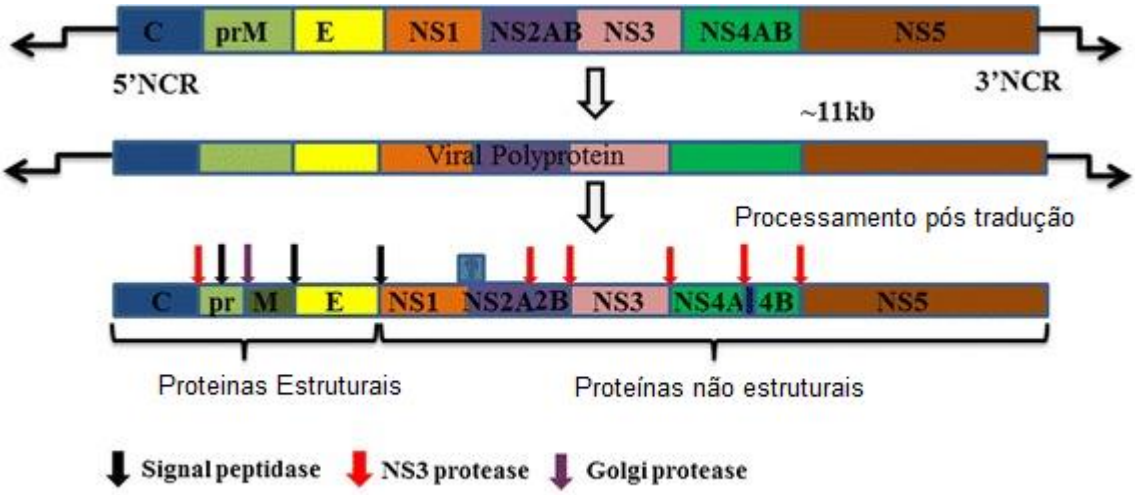


Figura 4. Organização genética do genoma dos Flavivirus e funções das proteínas. As setas indicam os locais de clivagem da protease viral. Fonte: adaptado de (RASTOGI; SHARMA; SINGH, 2016).

A proteína C é a menor (PM de 12 a 14 kDa) dentre as estruturais e múltiplas cópias desta, associam-se para compor o nucleocapsídeo icosaédrico. A proteína E é a maior proteína estrutural (PM 53 a 58 kDa), mais abundante do envelope e está diretamente relacionada à ligação aos receptores, montagem e fusão celular, além de possuir epítopos que definem sorotipos de determinadas espécies (BURKE et al., 2001).

A prM (PM 20 a 24 kDa) é a proteína precursora que dará origem à proteína M (7 a 9 kDa) durante o processo de brotamento, que após a integração com a proteína E do envelope, torna o vírus completo e infeccioso (BURKE et al., 2001).

As sete proteínas não estruturais são obtidas a partir de clivagens realizadas por proteases presentes na região N-terminal de NS3 (Figura 4). A NS3 funciona também como protease e helicase, além de fazer parte do complexo RNA polimerase (BURKE et al., 2001).

A proteína NS5 apresenta sequências nucleotídicas bastante conservadas, tem atividade de polimerase, além de ser responsável pela adição de cap ao RNA mensageiro. O fato desta proteína ser bastante conservada, torna-a alvo de diversos estudos para pesquisa de flavivírus (JOHNSON et al., 2010; BROZONI et al., 2005).

2.4 Alphavirus

O gênero Alphavirus, da família *Togaviridae*, consiste em mais de 40 espécies de vírus, tais como o vírus Chikungunya (CHIKV), vírus Mayaro (MAYV), vírus da Encefalite Equina Venezuelana (VEEV), entre outros.

Tratam-se de vírus esféricos e envelopados que medem em torno de 60 a 70 nm de diâmetros, cujo genoma é composto de RNA de fita simples com orientação positiva de cerca

de 12.000 nucleotídeos, dividido em dois segmentos com fase de leitura aberta (ORF – do inglês "open reading frame"): ORF N-terminal (região genômica), cuja tradução origina quatro proteínas não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3 e NSP4) e ORF C-terminal (região sub-genômica), originando duas ou três proteínas estruturais (C, E1 e E2) sendo, um capsídeo e duas glicoproteínas formando pontas heterodiméricas na superfície da partícula viral (MADARIAGA; TICONA; RESURRECION, 2016) (**Figura 5**).

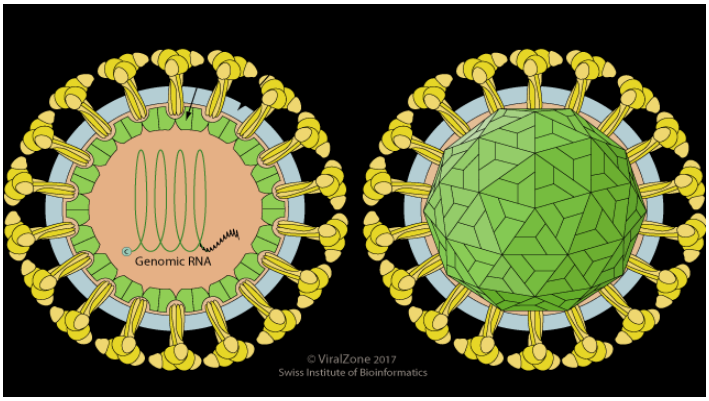


Figura 5. Representação do vírion do gênero Alphavirus.

Parte do genoma viral, a partir da extremidade 5' codificam uma única poli proteína, a P1234, que é constituída pelas quatro proteínas não estruturais. A síntese da P1234 parece ativar a NSP4 que é clivada primeiro, e logo em seguida o complexo P123/NSP4 sintetiza o RNA de polaridade negativa complementar ao RNA genômico. Depois a poli proteína P123 é clivada entre a junção 1 e 2 e passa a compor o complexo P1/P23/NSP4 que é capaz de sintetizar o RNA fita negativa e também o RNA genômico 49S. Após isso, ocorre a separação das proteínas NSP2 e NSP3 e o complexo de replicação passa a ser formado pelas proteínas não estruturais, as quais são capazes de sintetizar o RNA subgenômico 26S que contém os genes das proteínas virais. As proteínas estruturais também são formadas a partir de um poli proteína, que quando clivada, dá origem a duas ou três proteínas do envelope, dependendo do vírus, e a proteína C do capsídeo (TOMAR et al., 2006). A proteína estrutural C é uma serina protease que é necessária para a formação do nucleocapsídeo do vírion. Já a proteína E1 é responsável pela atividade de fusão de membrana e a E2 apresenta os principais epítopos de neutralização sendo

responsável pela ligação ao receptor (BOURAI et al., 2012) (**Figura 6**).

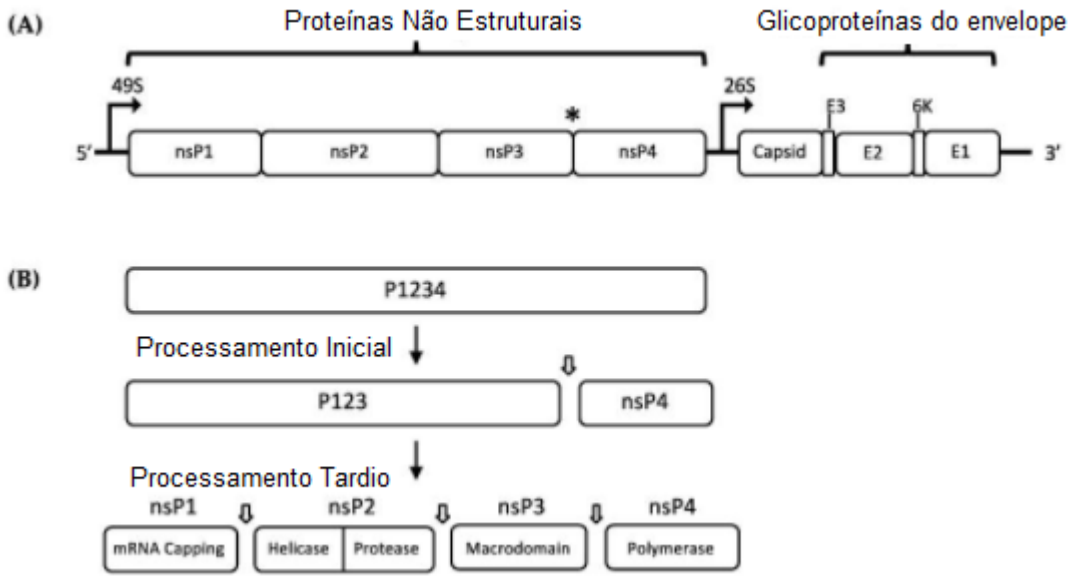


Figura 6. Representação do genoma dos Alphavirus. A) Mostra os quadros de leitura aberta da sequência de RNA (ORFs). O (*) indica a posição do códon de terminação. B) Esquema representativo de processamento de poliproteína estrutural (NSP2) por protease nsP2. **Fonte:** (BAKAR; NG, 2018)

2.5 Bunyavirus

Os Bunyavirus pertencem à família Bunyaviridae e compreende cinco gêneros: Hantavírus, Nairovirus, Orthobunyavirus, Phlebovirus e Tospovirus, com mais de 350 espécies de vírus isolados distribuídos em todo o mundo. A maioria destes são vírus transmitidos por artrópodes, com exceção dos Hantavírus, pois estes são transmitidos por roedores e nenhum vetor de artrópodes foi identificado até o momento (HEDIL; KORMELINK, 2016; SCHMAJJOHN; ELLIOTT, 2014).

Tratam-se de vírus de RNA de fita simples tri-segmentado de polaridade negativa ou ambisense a depender do gênero representante (**Figura 7a**). Neste caso, os Phlebovirus e os Tospovírus diferem dos demais bunyavírus, já que seu segmento S adota uma estratégia de codificação ambisense. Sendo assim, as estratégias de organização do genoma acabam variando entre os membros dos diferentes gêneros (HEDIL; KORMELINK, 2016).

O genoma dos bunyavirus é constituído de 3 segmentos de RNA de fita simples, denominado pequeno (S), médio (M) e grande (L) (ELLIOTT, 2014). O maior segmento de RNA genômico (segmento L) codifica a RNA polimerase L dependente de RNA(RpRd ou Proteína L), importante para o início da replicação viral. Já o segmento médio (segmento M) codifica um polipeptídeo precursor que é posteriormente processado em duas glicoproteínas de envelope, GN e GC que são responsáveis pela ligação e penetração do vírus às células alvo.

O menor segmento (segmento S) codifica a nucleoproteína N, que se associa ao genoma do RNA viral e, juntamente com a polimerase viral L, constitui as ribonucleoproteínas pseudo-helicoidais (RNP), desempenhando um papel importante na proteção da informação genética viral, além de produzir também a proteína não estrutural NSs em uma "overlapping open reading frame"(HEDIL; KORMELINK, 2016; VARELA et al., 2013) (**Figura 7b**).

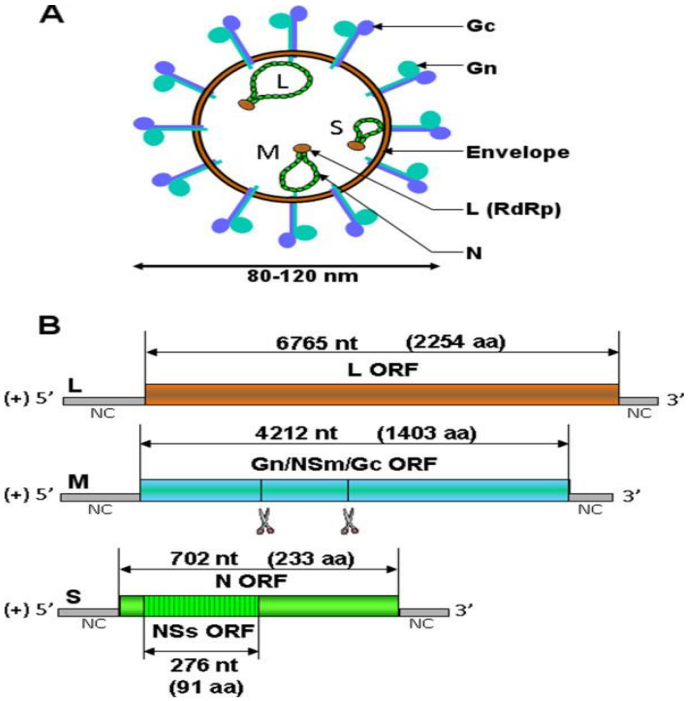


Figura 7. Representação esquemática da partícula viral e genoma de Bunyavirus. (A) Demonstração do vírion de bunyavirus. Os três segmentos de RNA (S, M e L) associam-se à polimerase L e à nucleoproteína N para formar RNP (ribonucleoproteínas pseudo-helicoidais). **(B)** Os três segmentos de RNA codificam para várias ORFs como mostrado nas setas. (**nt):** nucleotídeos; **(aa)** aminoácidos. **Fonte:** (ALBORNOZ et al., 2016).

O material genético quando liberado no citoplasma da célula hospedeira, é transcrito pela polimerase viral. Os ribossomos livres são então responsáveis por traduzir os mRNAs de S e L, enquanto o mRNA de L é lido no ergastoplasma. Então, são sintetizadas cópias do material genético, tanto por processo de encapsidamento, quanto para servir de molde do RNA complementar na síntese de proteínas. Os segmentos de RNA genômico unem-se à proteína N, formando os nucleocapsídeos de formato helicoidal. Por fim, após a montagem, ocorre o brotamento a partir do aparelho de golgi e as partículas maduras são liberadas das células por fusão das vesículas citoplasmáticas com a membrana plasmática (ELLIOTT; SCHMALJOHN; COLLETT, 1991).

A capacidade dos bunyavirus de infectar uma grande variedade de hospedeiros, incluindo vertebrados, invertebrados e até mesmo plantas tem aumentado a frequência de surtos de doenças, com algumas graves, tais como hepatite fatal, encefalites e febres hemorrágicas, causadas pelo Rift Valley fever virus (RVFV)(PEPIN et al., 2010), La Crosse virus (WESTBY

et al., 2015), Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) (DUYGU et al., 2018) dentre outros Bunyavirus responsáveis por causar doenças que resultam em altas taxas de morbi-mortalidade de animais domésticos e humanos, tornando-os grandes ameaças globais à pecuária, à produtividade agrícola e à saúde humana (ALBORNOZ et al., 2016; JUNGLEN; DROSTEN, 2013).

2.6 Arbovírus no Brasil

O Brasil é o maior país sul-americano, com uma população de aproximadamente 207 milhões de pessoas em uma área de 8,514,215 km2 (IBGE, 2015). Cerca de mais de 30% de seu território é coberto por florestas tropicais e outros ecossistemas naturais que permitem predominância de fauna e flora extremamente diversificada, que impulsionado pela crescente taxa de desmatamento que o país vem sofrendo, proporcionam condições ideais para ocorrência de Arboviroses (FIGUEIREDO, 2007). Somente no território brasileiro, até o ano de 2007, cerca de 200 espécies de Arbovírus diferentes foram isolados, com mais de 40 espécies responsáveis por causar doenças em humanos (DA ROSA; VASCONCELOS; DA ROSA, 1998; FIGUEIREDO, 2007).

Várias espécies de artrópodes são responsáveis por transmitir Arbovírus no país, dentre eles o *Haemagogus sp.*, *Sabethes sp.*, *Culicoides Paraensis*, entre outros. Entretanto, os principais vetores são espécies de *Aedes sp.*, com atividade voltada geralmente a áreas urbana infectando humanos, e espécies de *Culex sp*., com ciclos no meio selvagem, infectando aves, mamíferos e outras espécies de vertebrados (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017)

Atualmente, dentre os Arbovírus já isolados no Brasil, o DENV é ainda um dos vírus de maior importância em saúde pública. Este, segundo o Ministério da Saúde (2019), somente entre o mês de dezembro de 2018 até março de 2019 foi responsável por causar mais de 273.193 casos de febre da Dengue, com um aumento de mais de 283% em comparação ao mesmo período do ano passado.

Além do DENV, outros flavivírus de importância médica transmitidos por mosquitos têm trazido prejuízos à saúde pública e ecológica do país, principalmente pelo acometimento de humanos e animais silvestres. Um bom exemplo disso foi o surto causado pelo YFV que somente entre o mês de dezembro de 2016 até o mês de março de 2017 foi responsável por cerca de 1.456 casos suspeitos de infecção em humanos, resultando em mais de 241 óbitos. No mesmo período foram notificados mais de 1185 casos de epizootias em primatas não humanos causados por esse vírus (COES, 2017). Outro bom exemplo do “poder” dos Arbovírus é o ZKV,

que somente no ano de 2019 até a Semana Epidemiológica (SE) 11, foi responsável por mais de 2.344 casos de infecções em humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Outros Arbovírus de importância médica, pertencentes à família *Flaviviridae* também já foram relatados no país causando infecções em animais e humanos, como o vírus da Encefalite de Saint Louis (SLEV), Ilhéus vírus (ILHV), Rocio virus (ROCV), Bussuquara virus (BSQV), Cacipacoré virus (CPCV) e o vírus do Oeste do nilo (WNV) (OMETTO et al., 2013; BATISTA et al. 2011; FIGUEIREDO 2000), muitos destes possivelmente ainda circulando no território, podendo ocasionar surtos a qualquer momento.

Embora hoje os Flavivirus sejam reconhecidos como os principais responsáveis por doenças arbovirais emergentes e reemergentes no Brasil, vale ressaltar também que outros vírus, não menos importantes, como o CHIKV e o MAYV pertencente à família *Togoviridae*, e o vírus Oropouche (OROV) pertencente à *Bunyaviridae*, também são responsáveis por surtos importantes de doenças no território brasileiro, principalmente em populações que habitam próximo à região da Amazônia (BRONZONI et al., 2004; FIGUEIREDO, 2007; LORENZ et al., 2017).

Uma estimativa mostrada no estudo de Lopez et al. (2014) aponta que somente em Manaus no estado da Amazônia no Brasil, o MAYV foi transmitido a mais de 2 milhões de pessoas. Além do mais, pesquisas indicam que desde o início da década de 1960, aproximadamente 500.000 pessoas na região da Amazônia foram infectadas com o OROV (DA ROSA; VASCONCELOS; DA ROSA, 1998). Segundo dados do Instituto Evandro Chagas (2007), somente na Amazônia são conhecidos mais de 34 distintos Arbovírus, responsáveis por causar doenças em humanos.

Os estados de Rondônia e Amazonas situado na região norte do país possuem parte de seus territórios ocupados pela Floresta Amazônica, com clima equatorial caracterizado por chuvas abundantes. Tais características geográficas e climáticas, juntamente com a biodiversidade de fauna e flora, somado às intensas atividades antropogênicas que os estados vêm sofrendo ao longo dos anos, tais como desmatamentos, criação de barragens, usinas, garimpos etc., propiciam a emergência e reemergência de várias doenças (CARVALHO et al. 2011; TOSCANO 2007; OLIVEIRA 2002).

Além disso, as precárias condições de saneamento básico de grande parte da população situada, principalmente na capital Porto Velho-RO, e em pequenos municípios, como por exemplo o município de Monte Negro-RO, que já sofrem com doenças de transmissão vetorial como Malária, Leishmaniose, Chagas, Febre amarela etc., potencializa o surgimento de Arboviroses na região (CARVALHO et al. 2011; TOSCANO 2007; OLIVEIRA 2002).

3. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho objetiva detectar a presença de Arbovírus de importância médica, tais como *Flavivirus, Alphavirus e Bunyavirus*, em espécies de Dípteros coletados nos estados de Rondônia e Amazonas, Brasil.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a presença de Arbovírus por método de RT-PCR e qPCR com Sybr Green em pool de dípteros provenientes dos estados de Rondônia e Amazonas, no Brasil.
- Caracterização molecular e análise filogenética das estirpes circulantes, através do sequenciamento pelo método de Sanger do material genético das amostras positivas.
- Analisar a epidemiologia dos vírus encontrados, correlacionando seus respectivos vetores com a proximidade das regiões urbanas, verificando o risco para a saúde pública e econômica do país.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENHO AMOSTRAL

Trata-se de um estudo retrospectivo e prospectivo, que pretendeu-se analisar cerca de 10.000 artrópodes pertencentes à fauna Diptera *Nematocera* coletados nos estados de Rondônia e Amazonas. Dentre eles, foram analisados: mosquitos, família *Culicidae*; borrachudos, família *Simuliidae*; maruins, família *Ceratopogonidae*; flebotomíneos, família *Psycodidae*; além de tabanídeos, família *Tabanidae*, pertencentes à subordem *Brachycera*.

As amostras foram provenientes de expedições realizadas pela equipe de campo do Instituto de Ciências Biomédicas V (ICBV) em conjunto com a equipe de campo do Laboratório de Virologia Clínica e Molecular (LVCM) do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo (ICBII-USP) em determinadas regiões ao longo dos estados de Rondônia e Amazonas no Brasil.

4.2 ÁREA DE ESTUDO

As áreas de realização deste estudo foram selecionadas a partir de estudos observacionais descritivos contemporâneos e prospectivos da fauna Díptera, evidenciando locais propensos à circulação e/ou ocorrência de microrganismos parasitas, como os transmitidos por vetores artrópodes, tais como espécies de Plasmodium, Tripanossomatídeos e o principal foco deste estudo: os Arbovirus.

Para este estudo, foram analisados dípteros capturados e coletados nos anos de 2017, 2018 e 2019 em pontos distintos da Reserva Nacional Tabajara, próximo ao município de Ji Paraná (área periurbana e floresta), nas proximidades da cidade de Porto Velho (área periurbana e urbana), no município de Monte Negro (área urbana, periurbana e de floresta) e em locais da região do Município de Humaitá-AMA (área periurbana, urbana) (**Figura 8)**. Nestas localidades há rica diversidade de vida animal, além de regiões que sofrem considerável impactos ambientais por meio de ações antropogênicas (BRASIL, 2017).

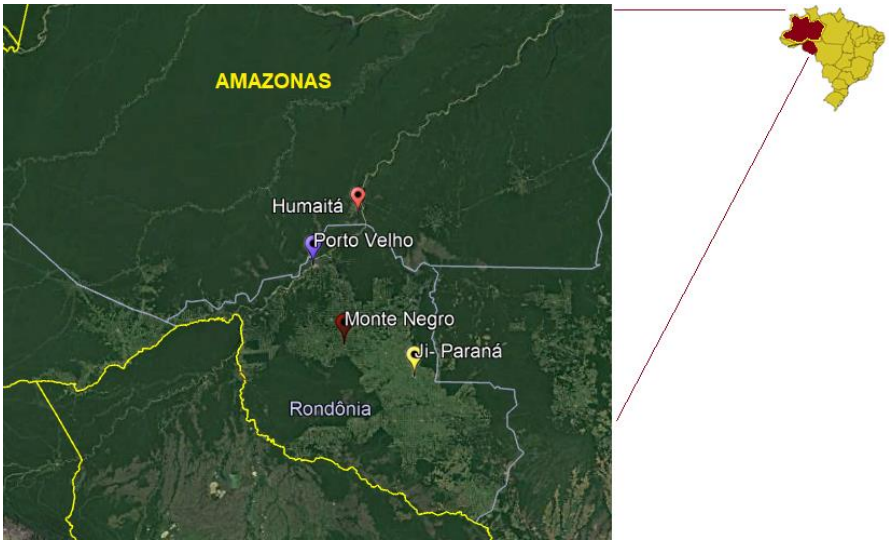


Figura 8. Pontos de referência de coleta dos Dípteros no estado de Rondônia e Amazonas, Brasil. Principais pontos de referência de coletas dos dípteros em 2017, 2018 e 2019. Em amarelo o município de Ji-Paraná-RO; em roxo a capital do estado, Porto Velho-RO; ao centro, em vermelho escuro é destacado o município de Monte Negro-RO; e em laranja é demonstrado o município de Humaitá-AM. **Fonte:** Google Earth (2019).

4.3 CAPTURA DOS DÍPTEROS

A captura dos Dípteros ocorreu de forma diversificada devido à dificuldade de acesso, disponibilidade de tempo, armazenamento de materiais, entre outros. Para a captura, foram utilizadas armadilhas noturnas, tais como barracas de Shannon, armadilhas luminosas do tipo CDC (Center Disease Control, Atlanta, USA) em copas de árvores e solo, além de aspiradores elétricos. As capturas ocorreram nos períodos de chuva e de seca, respeitando-se a sazonalidade de ocorrência dos insetos.

4.4 TRIAGEM, ACONDICIONAMENTO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Os insetos capturados foram identificados segundo o local, data, ambiente de coleta e tipo de armadilha. Depois foram identificados taxonomicamente por microscopia estereoscópica pela equipe de pesquisa, conforme nomenclatura proposta por CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; LANE, 1953. Os insetos identificados foram estocados individualmente ou agrupados em pools (1-30 indivíduos) e armazenados em Etanol Absoluto (PA) segundo categoria taxonômica, local e data de coleta. As amostras foram enviadas ao ICBII-USP e então passaram pelas seguintes etapas de processamento:

4.4.1 Maceração

Foram macerados, no máximo 50, e no mínimo um mosquito, a depender da quantidade de espécies disponíveis para cada pool. A maceração foi realizada com o aparelho MagNA Lyser (Roche) em temperatura ambiente, utilizando criotubos de 2,0mL, o reagente

Lysis/Binding Solution do MagMAX™-96 Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) juntamente com *beeds* de vidro (estéreis) durante 3 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 2.500 x g por 10 minutos à 4°C para sedimentação da carcaça. Em seguida, parte do sobrenadante foi colhido e usado para posterior extração do material genético viral, enquanto o restante do macerado foi acondicionado em ultrafreezer à -80°C (**Figura 9**).

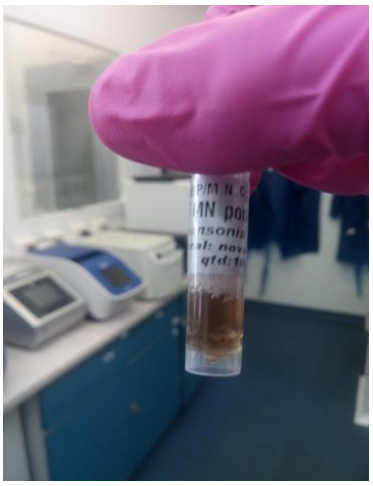


Figura 9. Pool de mosquitos macerados em criotubo pronto para o armazenamento.

4.4.2 Extração do material genético viral dos pools de Dípteros

O RNA viral foi extraído no Laboratório de Biossegurança nível 2+ LVCM do ICBII-USP. A extração foi realizada a partir das alíquotas de sobrenadante das amostras obtidas do processo de maceração de pools de dípteros com o “MagMAX™-96 Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)", conforme as instruções do fabricante, no aparelho “MagMAX™ Express” (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Resumidamente, 300µl da amostra foi misturada a 400µl de Lysis/Biding Solution buffer e colocada no equipamento, que realizou duas lavagens com tampão de lavagem-1 para retirada de macromoléculas, seguido de duas lavagens com tampão de lavagem-2 para retirada de micromoléculas, seguida da eluição do RNA/DNA das beads magnéticas e posterior armazenamento em freezer -80 ºC até o momento do uso (**Figura 10**). Alíquotas dos ácidos nucleicos totais extraídos foram enviados ao Laboratório de Taxonomia e Filogenia de Tripanossomatídeos liderados pela prof. Dra. Marta Maria Geraldes Teixeira, destinados à análise de detecção de tripanossomatídeos constituindo um outro estudo.

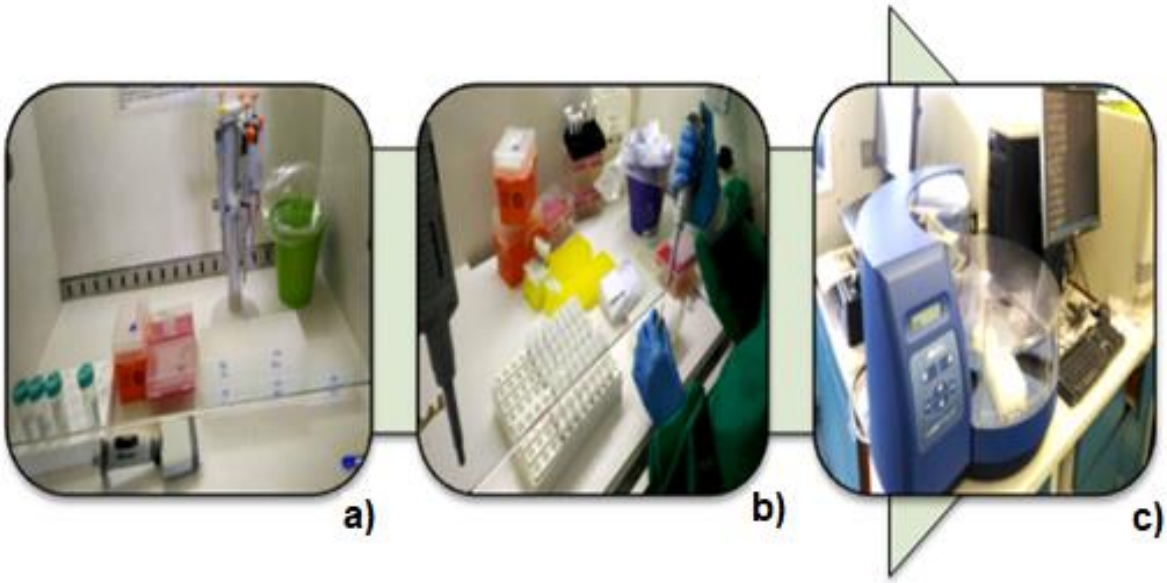


Figura 10. Processo de extração automatizado. A) Materiais e reagentes utilizados. B) Processo de adicionamento dos reagentes e amostras para extração. C) Aparelho MagMAX ™ utilizado para extração automatizada

4.5 PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE RT-qPCR COM SYBR GREEN PARA DETECÇÃO DE ARBOVÍRUS (FLAVIVIRUS, ALPHAVIRUS E BUNYAVIRUS)

Um levantamento bibliográfico foi realizado a respeito de protocolos e primers mais usados para detecção de regiões alvo em estudos de Arbovírus. Para este projeto, primers degenerados descritos por JOHNSON et al. (2010), que tem como alvo a região conservada não estrutural NS5 para detecção geral de Flavivirus, primers degenerados descritos por SANCHEZ-SECO et al (2001) que tem como alvo a região NSP4 do genoma dos Alphavirus e primers sintetizados *"in-house"*pelo grupo do Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes (LEVE) coordenados pelo prof. José Luiz Proença Módena, que detectam Orthobunyavirus pertencentes ao sorogrupo simbu e que tem como alvo uma região do segmento S destes vírus, foram selecionados (**Tabela 1**).

Tabela 1. Descrição dos primers selecionados

Família	Gênero	Primer	Sequência (5'-3')	Alvo	Amplicon (pb)	Referência
Flaviviridae	Flavivirus	Flavi-For (sense)	GCMATHTGGTWCATGTGG	NS5	200pb	Johnson et al. (2010)
		Flavi-Rev (anti-sense)	GTRTCCCAKCCDGCNGTRTC			
Togaviridae	Alphavirus	Alpha2F (sense)	GIAAYTGYAAYGTIACICARATG	NSP4	195pb	Sanchez-Seco et al. (2001)
		Alpha2R (anti-sense)	GCRAAIARIGCIGCIGCYTYIGGICC			
Bunyaviridae	Orthobunyavirus	PanBunya Fwd. (sense)	AUGATGTACCACAACGGAC	Segmento S		Desenhado *
		PanBunya Rev. (anti-sense)	CTAACAACACCAGCATTGAG			Desenhado *

Legenda: (**pb**): pares de base. (*****): primers desenhados "in-house" pelo grupo do LEVE da Unicamp.

4.5.1 Avaliação da especificidade do ensaio para detecção de Arbovírus

A especificidade dos primers selecionados foi testada em ensaios de RT-qPCR de sete amostras de controles positivos com diferentes Cts (Cycle Threshold) de ***Flavivirus*** (DENV 1, 2, 3, 4, ZIKV, YFV e WNV), uma amostra de ***Alphavirus*** **(**CHIKV), e uma amostra de ***Bunyavirus*** (OROV) todas obtidas de culturas de células cultivadas no LVCM (**Tabela 2**). Todos os foram diluídos para serem utilizados como controle, com Ct entre 30 e 35.

Tabela 2. Controles positivos utilizados, com os respectivos Cts.

AMOSTRA	CT	TM
DENV-1	15.9	82,1
DENV-2	14.8	83,1
DENV-3	29.6	83.8
DENV-4	18.01	83.1
ZIKV	24.0	83.5
YFV	22.4	84.9
WNV	15.0	84.9
CHIKV	21.73	79.5
OROV	21.01	78.8

Legenda: **DENV-1:** Vírus da Dengue sorotipo 1; **DENV-2:** Vírus da Dengue sorotipo 2; **DENV-3:** Vírus da Dengue sorotipo 3; **DENV-4**: Vírus da dengue sorotipo 4; **ZIKV:** Zika vírus; **YFV:** Vírus da Febre Amarela; **WNV:** vírus do Oeste do Nilo; **CHIKV:** Vírus Chikungunya; **OROV:** Vírus Oropouche; **Ct:** Cycle Threshold. **TM:** Temperatura de Melting.

4.5.1.1 Extração do material genético dos controles

A extração do RNA viral dos controles positivos oriundos de cultivo celular foi realizada de forma automatizada e como descrito no item 4.4.2 acima.

4.5.1.2 RT-qPCR com SYBR GREEN (Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction)

O método de real time PCR (qPCR) com SYBR GREEN, consiste na utilização de uma molécula intercalante de dupla fita- DNA (SYBR GREEN), incluindo primer dimers e ligações inespecíficas, o que torna a reação pouco específica (ESPY et al., 2006), mas com alta sensibilidade (ZIPPER et al., 2004) usualmente utilizado para pesquisa de diversos tipos de vírus.

A RT-qPCR foi realizada em duas etapas (ensaios distintos): uma etapa de RT (Transcrição Reversa) e outra de qPCR com SYBR GREEN (Quantitative Polymerase Chain Reaction) com primers JOHNSON et al. (2010), SANCHEZ-SECO et al. (2001) e Panbunya (*in-house*).

Primeiro, a reação de RT foi desenvolvida utilizando a enzima "*Kit High Capacity cDNA Reverse Transcription* " (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), a partir de 10,0µl de RNA extraído, 2,0µl do RT buffer (10x); 0,8µl de dNTPs (25x 100mM); 2,0µl de random primers (10mM); 1,0µl de enzima MultScribe™ Reverse Transcriptase (50U/µL); 1,0µl de DTT (0.1M), 0,5µl de RNAse out (40U/µL) e 2,7µl de água (UltraPureTM DEPC-treated

Water, Invitrogen). A mistura foi submetida a uma temperatura de 25°C por 10 minutos, seguido de 37°C a 120 minutos, 85°C a 5 minutos e armazenada em -20 ºC até o momento do uso.

Em seguida, a reação de qPCR com SYBR GREEN foi realizada com o kit PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Life Technologies, Carlsbad, USA) segundo as recomendações do fabricante. Para a reação foi utilizado 5,0µl de PowerUp ™SYBR™ Green Master Mix (2x); 1,0µl de primers Flavi-For/Alpha2F/PanBunyaFwd (10,0pMol/µL); 1,0µl de primers Flavi-Rev/Alpha2R/PanBunyaRev (10,0pMol/µL); 3,0µl Água (UltraPureTM DEPC-treated Water, Invitrogen) e 5,0µl de cDNA, completando volume final de 15,0µl. A reação foi realizada no equipamento 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), com as amostras submetidas a temperatura de 50°C por 2 minutos, 95ºC por 2 minutos, seguidos de 40 ciclos de amplificação de 95°C por 15 segundos, 60°C por 1 minuto para os primers de *Flavivirus* e *Orthobunya*virus, ou 55°C para os *Alphavirus*. Depois do término dos 40 ciclos, uma etapa de dissociação (curva de dissociação) de 95°C por 15 segundos, seguido de 60°C por 30 segundos e 95°C por 15 segundos.

4.5.1.3 Curva de Dissociação

A "curva de dissociação" ou "curva de *melting*" consiste na análise da Temperatura de *Melting* (TM) pelo incremento da temperatura de 60°C até 95°C com taxa de transição linear de 0.1°C/seg, ao final da amplificação (ARAUJO; DE ARAUJO, [s.d.])). Esta etapa foi essencialmente utilizada para identificação dos a*mplicons* gerados na presença do SYBR GREEN após a amplificação e a possível formação de dímeros inespecíficos. Durante esta etapa, a fluorescência dos amplicons gerados foi continuamente monitorada enquanto a temperatura aumentava e a fluorescência diminuía gradativamente. Como o SYBR GREEN é liberado durante a desnaturação, resultando em um decréscimo do sinal de fluorescência, o software calcula a TM, ou seja, a taxa de mudança da fluorescência, sendo então apresentada como uma função da temperatura (ARAUJO; DE ARAUJO, [s.d.]).

O resultado da carga viral é subentendido de acordo com o *cycle threshold* (CT), que se entende pelo momento em que a fluorescência gerada pelo fluorocromo ultrapassa o limiar estabelecido, visto que quanto menor o valor do CT, maior a quantidade de produtos amplificados. Sendo assim, o valor do CT é inversamente proporcional à quantidade de produtos da reação (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008).

4.6 TESTE DE INFECÇÃO DE MOSQUITOS

Foi realizado um teste de infecção, onde infectou-se uma espécie de mosquito (*Ae. scapularis*) com CHIKV. Este teste objetivou demonstrar a quantidade limite de espécimes infectados com CHIKV em meio a outros não infectados (pools) que fosse capaz de ser detectado pelo método de RT-qPCR com SYBR padronizado neste estudo e que não fossem capaz de inibir a reação de qPCR.

Para este teste, primeiramente foi realizada a preparação dos espécimes, que envolveu desde etapas de crescimento da forma larvária (L1 e L2), pulpas, até a cópula dos mosquitos adultos. Cerca de 70 fêmeas adultas de *Ae. scapularis* e *Ae. fluviatilis* com 4-7 dias de idade, foram privadas de açúcar por cerca de 24h, alimentadas com sangue contendo partículas virais viáveis de CHIKV (cultivadas no LVCM) em alimentador artificial Glytube, seguindo o trabalho desenvolvido por Costa-da-Silva et al. (2013). Todos esses ensaios foram conduzidos no Laboratório de Insetos Vetores da Prof. Dra. Margareth Capurro do ICB II.

Após a infecção dos mosquitos, estes foram encaminhados ao LVCM onde foram separados em nove pools contendo diferentes quantidades de espécimes (de 2 até 35) infectados e não infectados, conforme demonstrado na **Tabela 6** e mantidos em Etanol P.A durante cerca de um mês.

Passado esse período, os pools foram submetidos às etapas de maceração, extração de material genético (RNA) e três distintos protocolos de qPCR com diferentes primers e sondas Taqman e SYBR Green (**Tabela 3**).

Tabela 3. Descrição dos primers usados nos distintos protocolos para o teste de infecção.

Gênero	Primer	Sequência	Alvo	Amplicon (pb)	Referência	Método Testado
Alphavirus	CHIK E1 F (sense)	TCGACGCGCCCTCTTTAA	E1	127pb	Edwards et al (2007)	RT-qPCR (Taqman e SYBR Green)
	CHIK E1 R (anti-sense)	ATCGAATGCACCGCACACT				
	CHIK E1 P (Probe)	ACCAGCCTGCACCCATTCCT CAGAC				
Alphavirus	Alpha2F (sense)	GIAAYTGYAAYGTIACICARA TG	NSP4	195pb	Sanchez-Seco et al. (2001)	qPCR (SYBR Green)
	Alpha2R (anti-sense)	GCRAAIARIGCIGCIGCYTYIG GICC				

4.7 DETECÇÃO MOLECULAR DE ARBOVIRUS POR RT-qPCR COM SYBR GREEN

A etapa de RT-qPCR foi realizada conforme descrito no item 4.5.1.2 acima. Após o final da reação, foram analisadas as curvas de amplificação e dissociação das amostras potencialmente positivas. Como controle endógeno da reação foi realizado uma PCR convencional utilizando em pools aleatórios de dípteros, um par de primers para o RNA ribossômico mitocondrial 16S (SPICER; DUNIPACE, 2004) (**Tabela 4**).

Tabela 4. Descrição dos primers de controle interno.

GÊNERO	PRIMER	SEQUÊNCIA	REFERÊNCIA
	16Sa (sense)	ATGTTTTTAAACAGTC	
rRNA 16S			(SPINCER; DUNIPACE, 2004)
	16Sbr (antisense)	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	

4.8 PCR CONVENCIONAL DAS AMOSTRAS SUSPEITAS

Foi realizado PCR convencional das amostras suspeitas de positividade no ensaio de RT-qPCR com SYBR GREEN, utilizando os mesmos pares de primers para cada família de vírus. Para reação de PCR convencional foi utilizado 5,0µl de Buffer para PCR sem Mg++ (10x); 1,0µl de $MgCl_2$ (50mM); 1,0µl de dNTPs (10,0 µM); 1,0µl de primers Forward (10,0pMol/µL); 1,0µl de primers reverse (10,0pMol/µL); 0,3 µl de enzima *Platinum® Taq DNA Polimerase* U/µL (Invitrogen™); 10,7µl Água (UltraPureTM DEPC-treated Water, Invitrogen) e 5,0µl de cDNA, completando volume final de 25µl. A reação foi realizada no equipamento Termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), com as amostras submetidas a temperatura de 95°C por 5 minutos, seguidos de 40 ciclos de amplificação de 94°C por 15 segundos, 50°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos. Depois do término dos 40 ciclos, um período de 7 minutos a 72°C foi aplicado, e por final a reação foi mantida a 4°C até o posterior uso.

O produto de PCR das amostras foi submetido à eletroforese em gel de agarose em concentração de 2,0% para visualização das bandas de interesse. O gel foi corado com brometo de etídio e visualizado em luz ultravioleta, com fragmentos amplificados de acordo com cada par de primers utilizado (**Tabela 1**) determinado com auxílio de um marcador de peso molecular de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen).

4.9 SEQUENCIAMENTO

Amplicons (produtos da RT-PCR) das amostras consideradas positivas foram submetidos a uma reação de purificação. Para esta reação, foi utilizado 4,0µl do reagente do Kit ExoSap-IT® (Thermofisher, Waltham, MA, USA) em 10,0µl da amostra, submetidos à temperatura de 37°C por 15 minutos, seguido de 80°C por 15 minutos e mantidas à 4°C até o uso.

Os purificados foram sequenciados conforme SAMBROOK et al. (1989) e SANGER et al. (1977), utilizando 3,0µL de tampão Save Money (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 1,0µL *Big-Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit reagent* (Thermofisher, Waltham, MA, USA), 1,0µL de Primer (10,0pmol) e 5,0µL do purificado, totalizando um produto final de 10,0µL. A mistura foi submetida a uma temperatura de 96°C por 1 minuto, seguido de 25 ciclos de amplificação de 96°C por 15 segundos, 50°C por 15 segundos, 60°C por 4 minutos, e mantidos em 4°C até o posterior uso.

Ao término da reação de sequenciamento outra purificação foi realizada, utilizando 5,0µL o reagente Big-Dye X-terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermofisher, Waltham, MA, USA) e 30,0µL de Buffer SAM em 10,0µL de amostra. A mistura foi levada ao agitador durante 30 minutos para homogeneização total e centrifugado a 1000 rpm por 2 minutos até a decantação das impurezas. O sobrenadante foi transferido para uma placa de sequenciamento e colocado no aparelho ABI PRISM 3130XL Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) para leitura das reações.

4.9.1 Análises das Sequências

As sequências obtidas foram então comparadas com outras no GenBank, usando a *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)

5. RESULTADOS

5.1 Dípteros capturados, processados e analisados

Cerca de 9.299 dípteros foram coletados, identificados e catalogados desde 2017 até 2019 (**Tabela 5**), provenientes de diferentes regiões dos estados de Rondônia e Amazonas.

Tabela 5. Número de Dípteros coletados nos meses de cada ano de estudo.

MÊS	**ANO**		
	2017	**2018**	**2019**
Janeiro	-	899	-
Fevereiro	-	33	279
Março	1050	83	32
Abril	2	40	-
Maio	1369	594	-
Junho	720	-	-
Julho	1067	-	-
Agosto	1032	-	-
Setembro	809	-	-
Outubro	567	-	-
Novembro	448	-	-
Dezembro	83	-	-
Não identificado	167	25	
TOTAL	7314	1674	311

O maior número de indivíduos capturados é proveniente de localidades da região do município de Monte Negro-RO (n=5.992), seguido da região de Nova Mutum-RO (n=1.251), locais da região de Humaitá-AM (n=1.050), dentre outros, representados na **Figura 11**.

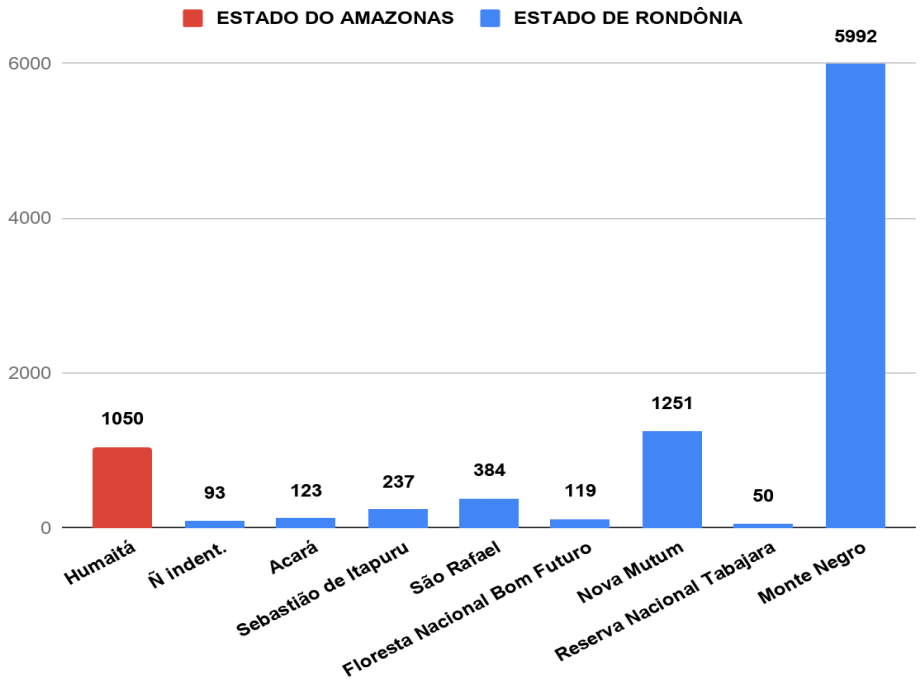


Figura 11. Regiões de captura dos dípteros e quantidades absolutas de amostras obtidas.

Do total de dípteros coletados até o momento, cerca de 6.786 indivíduos foram processados e tiveram o material genético extraído. Destes, 69,46% (n=4.714) pertencem à família *Culicidae*, 15,5% (n=1.050) a *Ceratopogonidae*, 8,2% (n=557) a *Psychodidae*, 6,8% (462) a *Tabanidae* e 0,04% (n=3) a *Simullidae* (**Figura 12**), divididos em mais de 35 espécies, com as principais mostradas na (**Figura 13**).

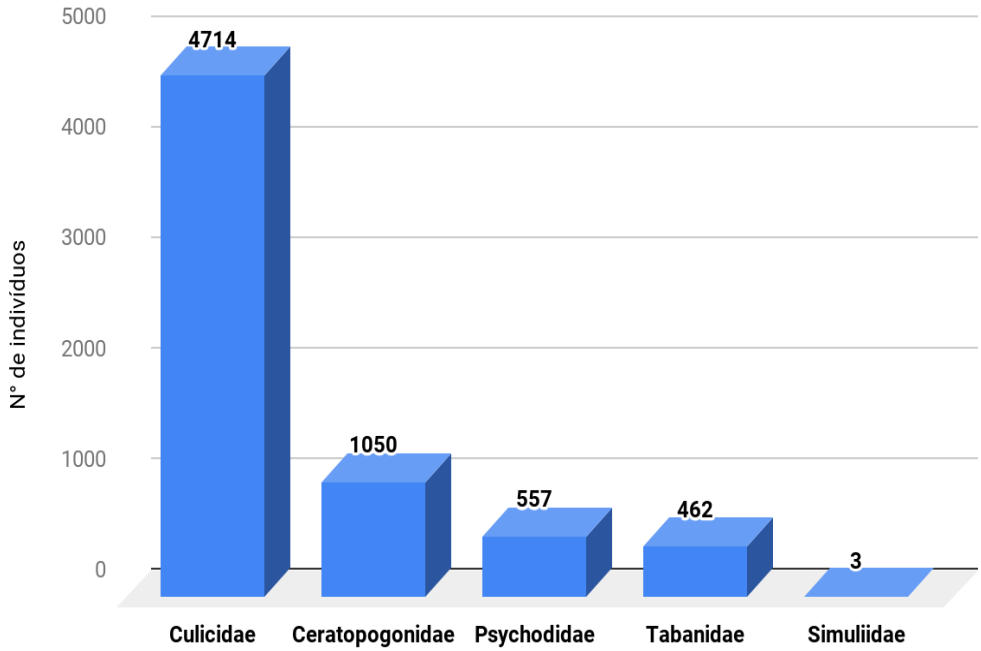


Figura 12. Famílias de dípteros que já passaram pelo processo de extração de ácidos nucléicos totais.

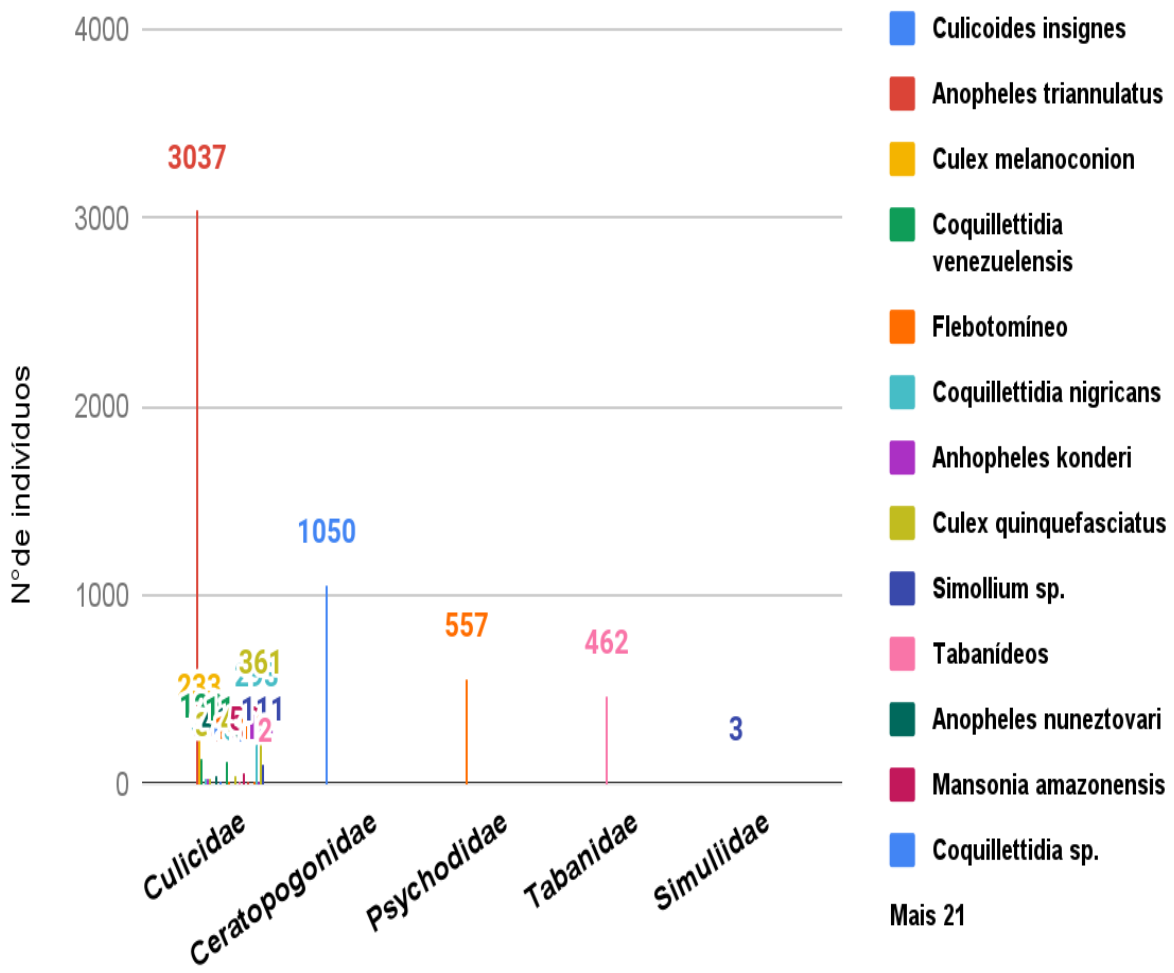


Figura 13. Principais espécies de dípteros analisados.

5.2 Padronização do protocolo RT-qPCR com SYBR GREEN

Os primers descritos por JOHNSON et al. (2010) e SANCHEZ-SECO et al. (2001) para detecção de *Flavivirus* e *Alphavirus*, respectivamente, e os primers Pan-Bunya (in-house) para detecção de *Bunyavirus* (gênero: Orthobunyavirus) demonstraram-se eficientes no protocolo de RT-qPCR com SYBR GREEN testado, uma vez que foi possível detectar todos os controles positivos de diferentes CT's e/ou suas diluições (**Figura 14, 15 e 16**).

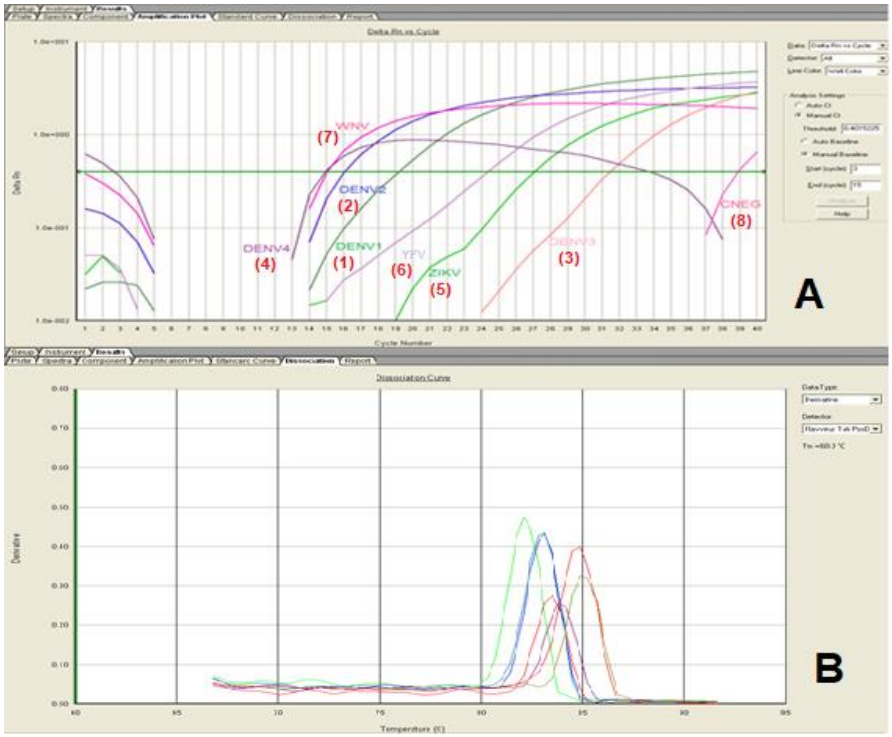


Figura 14. Resultado da detecção dos controles de Flavivirus no ensaio de RT-qPCR com SYBR GREEN. Em A, observa-se as curvas de amplificação dos controles positivos. (1):DENV-1; (2) DENV-2; (3) DENV-3; (4) DENV-4; (5) ZIKV; (6) YFV; (7) WNV, (8) CNEG. Em B, demonstram-se as curvas de dissociação de cada controle positivo com suas respectivas temperaturas, demonstradas na tabela 2.

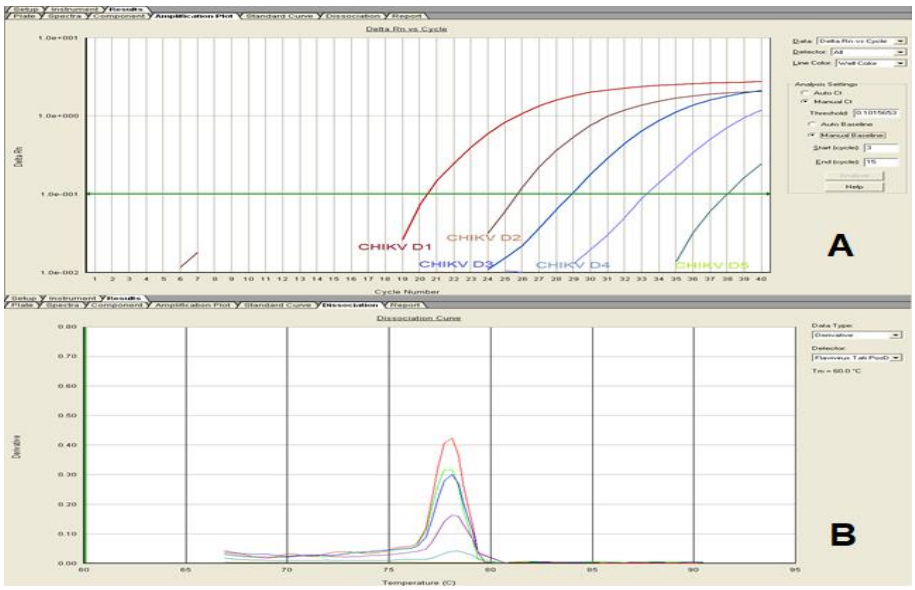


Figura 15. Resultado da detecção dos controles de Alphavirus no ensaio de RT-qPCR com SYBR GREEN. Em A, observa-se as curvas de amplificação das diluições do controle positivo de CHIKV, desde CHIKV D1 (diluição 1:10) até CHIKV D5 (diluição 1:100.000). Em B, demonstram-se as curvas de dissociação de cada diluição do controle positivo todas na mesma temperatura de melting (**TM:** 79,5).

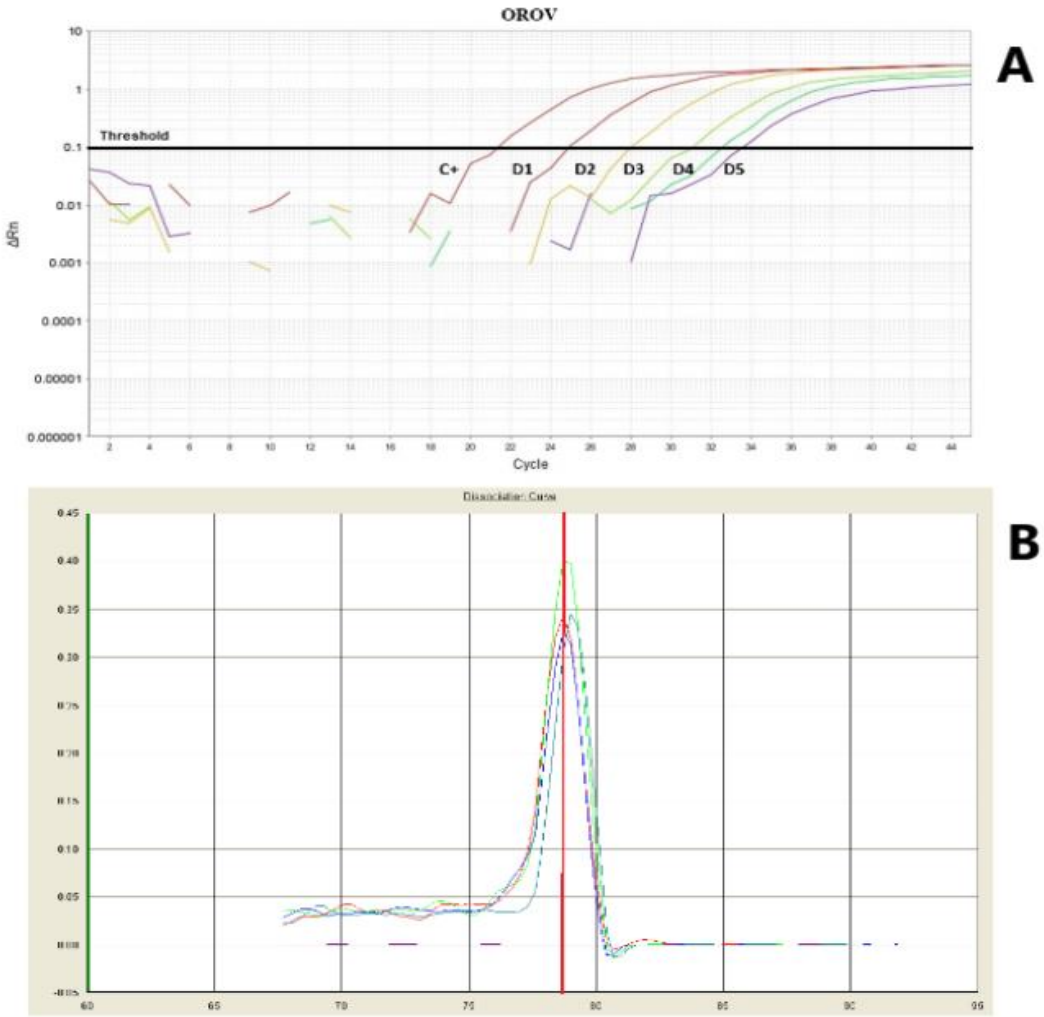


Figura 16. Em A, Amplificação das diluições do controle de Oropouche (OROV) com os primers Pan-Bunya. Na imagem, observa-se as curvas de amplificação das diluições do controle positivo de OROV, desde C+ (Controle puro de OROV) e da D1 (diluição 1:10) até D5 (diluição 1:100.000). Em **B**, demonstram-se as curvas de dissociação de cada diluição do controle positivo todas na mesma temperatura de melting (**TM:** 78,8) marcado pela linha vermelha.

5.3 Teste de Infecção

Este teste demonstrou resultados satisfatórios, uma vez que foi possível detectar material genético do CHIKV em todos os nove pools montados nos distintos métodos com os diferentes pares de primers, inclusive no método escolhido para pesquisa de *Alphavirus* neste estudo (**Tabela 6**).

Tabela 6. Resultado do teste de infecção em mosquitos perante três protocolos distintos.

				qPCR Taqman*	qPCR SYBR Green*		qPCR SYBR Green+	
Pool	**N° Mosq. Infec.**	**N° Mosq. Ñ.Infe.**	**Total Mosq.**	**CT-Chikv**	**CT-SYBR Chikv**	**T.M**	**CT- Pan Alpha**	**T.M**
01 PA	1	1	2	20.65	20.14	80.62	30.14	78.37
02 PA	1	2	3	21.85	20.06	80.24	30.27	78.19
03 PA	1	4	5	20.91	20.55	80.99	31.29	78.75
04 PA	1	9	10	21.62	20.72	80.99	30.35	78.75
05 PA	1	14	15	23.41	22.16	80.99	32.28	78.75
06 PA	1	19	20	22.72	21.45	80.62	30.03	78.56
07 PA	1	24	25	25.26	23.96	80.62	32.92	78.56
08 PA	1	29	30	24.03	25.16	80.62	32.55	78.19
09 PA	1	34	35	26.29	24.82	80.43	36.53	78.56

Legenda: PA: entanol absoluto; **N°:** número. **Mosq**: mosquito; **Infect:** infectado; **Ñ.Infe:** não infectado; **CT:** Cycle Threshold; Chikv: vírus Chikungunha; **T.M:** temperatura de *melting;* **(*):** ensaio realizado com primers descrito por Edwards et al (2007); **(+):** ensaio realizado com primers descritos por Sanchez-seco (2001).

5.3 RT-qPCR com SYBR Green dos dípteros

Até o momento, do total de dípteros processados que tiveram o material genético extraído (n=6798), todos (100%) foram testados no protocolo de RT-qPCR com SYBR Green para pesquisa de *Flavivirus*, *Alphavirus* e *Orthobunyavirus.* Do total de pools analisados para Orthobunyavirus, nove amostras (1,8%) amplificaram e/ou apresentaram dissociação próxima ao controle positivo de OROV (T.M: 78,8) durante os ensaios de qPCR com SYBR Green (**Tabela 7**).

Tabela 7. Amostras (pools) suspeitas de positividade para bunyavirus no ensaio de qPCR com Sybr Green.

Cód. Amostra (Pool)	Espécie	Cycle Threshold (CT)	Temperatura Melting (T.M)
PL2d3	*Anopheles triannulatus*	41.9	72,9
PL2a5	*Anopheles triannulatus*	41.5	83.4
PL2b7	*Anopheles triannulatus*	40.9	72.1
PL2a8	*Anopheles triannulatus*	42.0	80.9
PL3e6	*Anopheles triannulatus*	42.5	83.0
PL3g5	*Culex (Melanoconion)*	43.0	80.0
PL3h4	*Anopheles triannulatus*	41.0	82.0
PL4g2	*Anopheles triannulatus*	35.16	82.1
PL4g12	*Anopheles triannulatus*	41.0	81.84
Controle de OROV	-	25	78.8

5.4 PCR Convencional das amostras suspeitas

Das nove amostras suspeitas para *Orthobunyavirus*, foi possível a observação de bandas de apenas três (PL2a5, PL4g2, PL3g5) com fragmentos (amplicons) em altura de aproximadamente 100pb (**Figura 17**). Então, com a realização de um segundo ensaio de PCR (R-PCR), foi possível observar bandas referentes a quase todas as amostras suspeitas (**Figura 18**). Por fim, decidiu-se realizar sequenciamento de todas as nove amostras suspeitas para *Orthobunyavirus*.

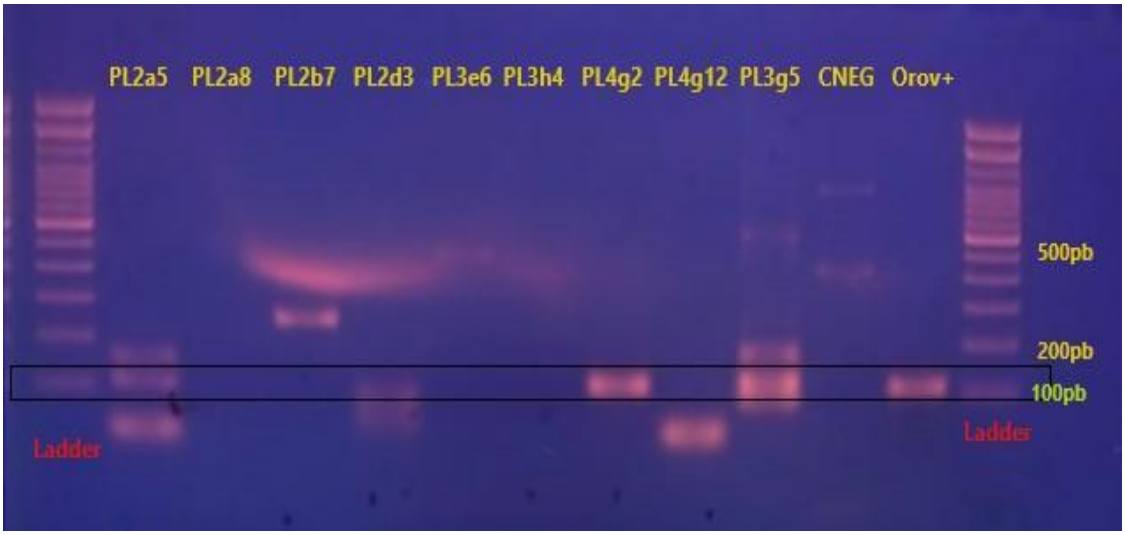


Figura 17. Análise eletroforética em gel de agarose 2,0% dos produtos de PCR das amostras (pools) suspeitos de bunyavirus utilizando primers Pan-bunya, apresentando bandas de aproximadamente 100 pb. Peso 100 kb DNA Ladder (Invitrogen). Orov+: Controle Positivo de Oropouche virus; **pb:** pares de base.

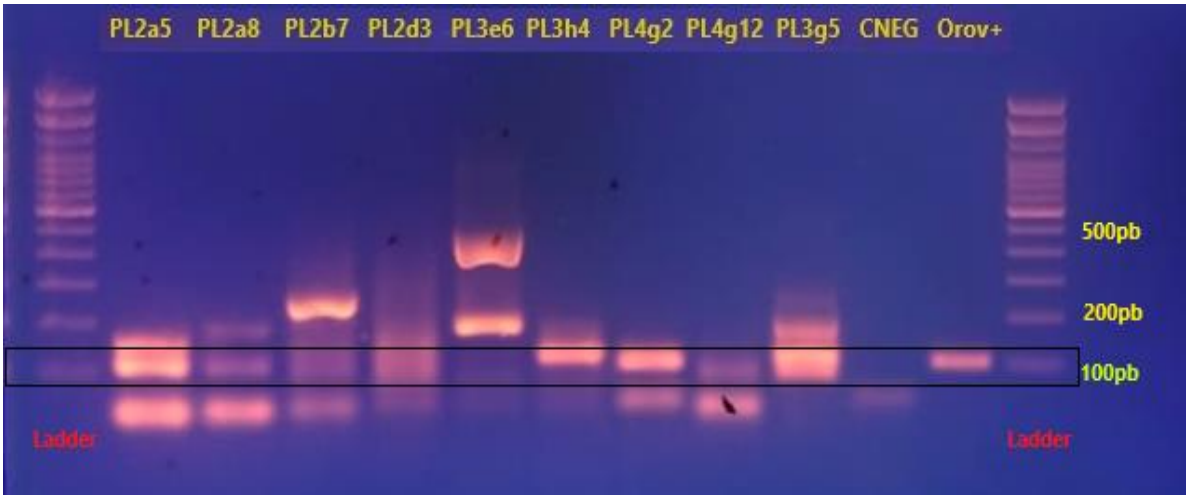


Figura 18. Análise eletroforética em gel de agarose 2,0% dos produtos de R-PCR das amostras (pools) suspeitas de bunyavirus utilizando primers Pan-bunya, apresentando bandas de aproximadamente 100 pb. Peso 100 kb DNA Ladder (Invitrogen). Orov+: Controle Positivo de Oropouche virus; **pb:** pares de base.

5.5 Controle interno

A utilização do par de primers para RNA ribossômico 16s descritos por SPICER et al. (2004) como controle endógeno da reação, mostrou que a técnica de extração e a técnica de PCR foram capazes de detectar o RNA ribossômico de amostras de pools aleatórias que apresentavam diferentes quantidades de dípteros, confirmando que os métodos de extração foram bem estabelecidos e que as amostras continham RNA íntegros (**Figura 19**).

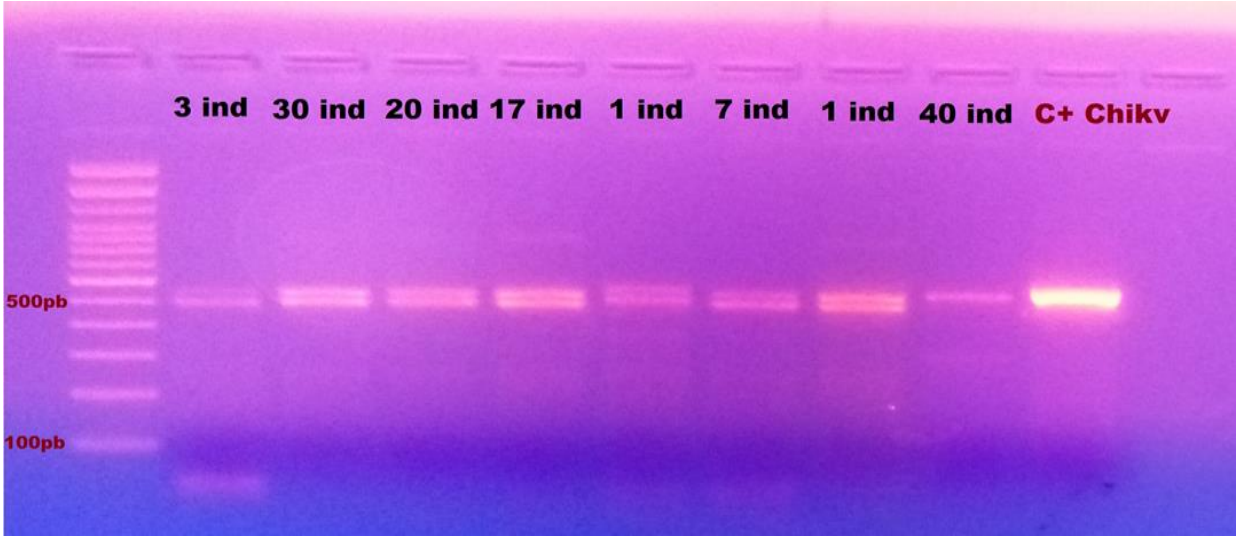


Figura 19. Resultado da amplificação do rRNA 16S de pools com diferentes quantidades de dípteros. Legenda: (ind): indivíduos; (pb): pares de base; C+ Chikv: controle positivo de Chikungunya.

5.6 Sequenciamento

Das nove amostras suspeitas amplificadas, em apenas uma única amostra (PL3g5- Pool 158) não foi possível obter sequencia. Uma das sequências obtidas segregou com rRNA de *Anopheles sp.*(PL2b7- Pool 76) (**Figura 20)**, enquanto que as outras, apesar de algumas com má sequência (**Anexo 2**), não foram compatíveis com nenhuma espécie viral.

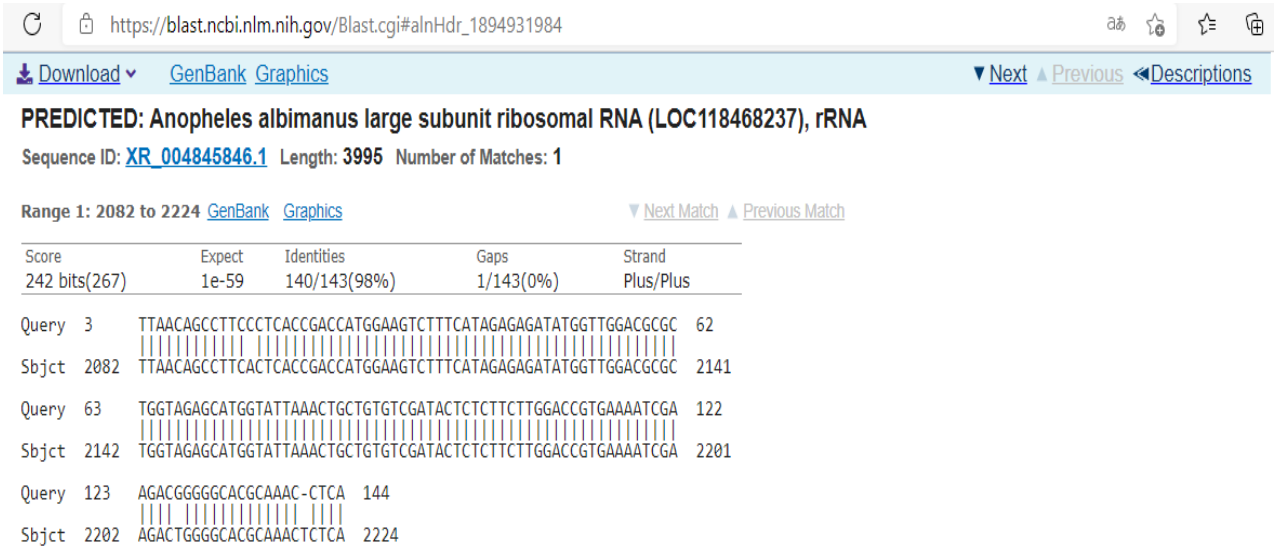


Figura 20. Alinhamento de 144 nucleotídeos da amostra suspeita (PL2b7- Pool 76) que segregou com rRNA de Anopheles obtido no NCBI/Blast.

6. DISCUSSÃO

A capacidade de transmissão e dispersão de Arbovírus para novas áreas geográficas por intermédio de vetores artrópodes e de animais reservatórios tem sido uma crescente ameaça, muito significativa à saúde global. O potencial dos Arbovírus, tais como *Alphavirus, Bunyavirus* e principalmente os *Flavivirus* em causar doenças em seres humanos e induzir perdas de animais de importância econômica e ecológica é muito grande (MORALES et al., 2017).

As características climáticas, a presença de uma grande e variada população de espécies vetoras e animais reservatórios, juntamente com a exploração dos recursos naturais, atividades antropogênicas e falta de sanitização em algumas regiões faz dos estados de Rondônia e Amazonas possíveis "focos" de emergência de Arbovírus no Brasil.

Segundo (MORAIS et al, 2012) o desmatamento intensivo, mudanças no uso da terra e exploração do potencial hidrelétrico tem amplamente impactado nas mudanças do ecossistema natural do estado de Rondônia. Estas ações estão impactando na saúde ambiental e humana, pois favorecem habitats para algumas espécies de mosquitos vetores, incluindo espécies de Anophelinae, além de promover a migração de seres humanos susceptíveis para a região.

DE OLIVEIRA (2016) em seu estudo, demonstra que o impacto gerado pela negligência e/ou falta de sanitização e acúmulo de lixo na cidade de Humaitá no Amazonas, causam não somente poluição do ar, do solo e das águas superficiais, mas criam também ambientes propícios para os vetores de doenças, tanto os macrovetores (cachorros, gatos, ratos, urubus, pombos e outros) como os microvetores (moscas, mosquitos, bactérias, fungos, entre outros). A esta realidade, justifica-se a necessidade de estudos sobre a presença de arbovirus nos potenciais transmissores destas regiões para que possam ser desenvolvidas ações preditivas de identificação e combate a essas doenças.

Para isto, técnicas moleculares utilizadas para teste de vigilância epidemiológica devem ser capazes de detectar e identificar espécies de Arbovírus com especificidade e sensibilidade (PATEL et al., 2013), fato esse que vem de encontro à técnica de RT-qPCR para detecção de *Flavivirus*, *Alphavirus* e *Bunyavirus* utilizada em nosso estudo.

Segundo Johnson et al. (2010), os primers degenerados Flavi-For (sense) e Flavi-Rev (antisense) descritos em seu trabalho são capazes de detectar uma variedade de Flavivirus comuns e exóticos, uma vez que estes têm como alvo a região conservada NS5, que é comum a todos os vírus desse gênero. Os amplicons gerados por esses primers são pequenos (aproximadamente 200 pb), tornando-os efetivos na detecção de vírus em ensaios de PCR em tempo real através da incorporação de Sybr Green (JOHNSON et al., 2010). Este fato pode

aplicar-se também aos primers Alpha2F (Sense) e Alpha2R (antisense) descritos por Sanchez-Seco (2001), que tem como alvo a região NSP4 do genoma dos Alphavirus, os quais são descritos para reações de Nested-PCR e os primers PanBunyaFoward (sense) e PanBunyaRev (antisense) sintetizados *"in-house"* que foram padronizados para utilização em RT-qPCR com Sybr Green neste estudo.

Primeiro, foi testada a capacidade dos primers do Johnson et al. (2010) em detectar controles positivos de ZKV, DENV-1, 2, 3, 4, YFV, WNV. Os ensaios foram capazes de detectar todos os controles testados que apresentavam CT inicial entre 14.8-29.6. Estes resultados corroboram com os demonstrados no estudo de Johnson et al. (2010), em que os primers Flavi-For e Flavi-Rev usados no ensaio de SYBR Green real time PCR em seu trabalho detectaram todos os nove controles de Arbovírus de Cts entre 13.04 a 32.6 e todas as 20 distintas cepas do vírus Oeste do Nilo (WNV) testadas, as quais apresentavam-se com Ct em torno de 28.5 e 36.18.

Como não dispunhamos de material genético de outros vírus (Alphavirus e Bunyavirus) para usar como controle positivo, testamos a eficiência de detecção dos primers do Sanchez-Seco (2001) e Pan-Bunya (*in house*) apenas em diluições dos controles de CHIKV e OROV, respectivamente, em ensaios de RT-qPCR com SYBR Green, utilizando parâmetros estabelecidos em nosso estudo. Os ensaios foram capazes de detectar os controles positivos de CHIKV e OROV com CT inicial de 21.73 e 21.01, respectivamente, e todas as suas cinco diluições (de 1/10 até 1/100.000).

Os resultados desses testes comprovaram que mesmo em um ensaio de RT-qPCR ambos os primers demonstraram-se eficientes na detecção dos controles, uma vez que conseguiram amplificar fragmentos de todos os controles positivos e/ou suas diluições.

A utilização dos primers Flavi-For (Sense) e Flavi-Rev (Antisense) do Johnson et al. (2010), dos primers Alpha2F (Sense) e Alpha2R (Antisense) do Sanchez-Seco et al. (2001) e dos primers Pan-Bunya (*in house*) neste ensaio de RT-qPCR com SYBR Green, trouxe avanços à metodologia em relação a não necessidade de uma etapa de Nested-PCR, a qual está frequentemente associada a problemas de contaminação segundo Nunes et al. (2011), diminuição do tempo de reação, do gasto com materiais e reagentes, além de possibilitar o rastreamento (screening) de amostras em larga escala, capaz de detectar *Flavivirus*, *Alphavirus* e *Bunyavirus* até mesmo em baixas cargas virais (alto Ct) nas amostras analisadas.

O fato deste estudo ter iniciado a partir de amostras, das quais grande parte já havia sido coletadas e armazenadas antes mesmo da vigência do projeto deste estudo, e que seriam primordialmente utilizadas para pesquisa de outros microrganismos (tripanossomatídeos),

trouxe dúvidas quanto à integridade destas amostras. Segundo HAACH et al. (2018) para pesquisa de vírus devem utilizar-se de meios específicos de transporte e acondicionamento de amostras, para que não ocorram interferências negativas na detecção viral.

Os resultados obtidos no teste de infecção foram fundamentais para que este estudo pudesse seguir em frente, já que nos pools de mosquitos mantidos no Etanol Absoluto (PA) após por cerca de um mês em temperatura ambiente, não resultou em problemas na integridade dos RNAs virais.

Bangs et al. (2007) notaram que o RNA viral do DENV, mantém sua integridade para ser detectado por RT-PCR em mosquitos mortos com até 13 semanas após a exposição à temperatura ambiente de 26,3 a 31,7ºC. Já Cáceres et al. (2003), detectaram o vírus da dengue em cerca de 58,3% dos mosquitos acondicionados em álcool 70% no freezer a -20ºC.

Além disso, os resultados do teste de infecção realizado neste estudo, mostraram que apesar de haver diferença na capacidade de detecção (CT) nos três protocolos testados, o RNA viral do CHIKV pôde ser detectado em todos os métodos, até mesmo em pools que continham um único mosquito infectado em meio a outros 34 não infectados.

Este resultado corrobora, em partes, com o teste de infecção realizado por (HENRIQUES, [s.d.]), no qual pools de 15 indivíduos contendo três, cinco, sete, nove, 13 e 15 mosquitos infectados com o vírus do DENV-2 puderam ser detectados em seu método de RT-PCR (convencional). Contudo, a detecção destes vírus só foi possível nos pools contendo acima de um mosquito infectado. Este fato contradiz o resultado do teste de infecção realizado neste estudo, uma vez que o método de detecção escolhido (qPCR com Sybr Green) conseguiu detectar RNA viral em todos os pools com um único mosquito infectado, como já mencionado no parágrafo acima.

Apesar do qPCR com SYBR Green ter detectado o material genético do CHIKV em CTs mais altos que os outros protocolos, este se mostrou viável para a pesquisa destes arbovírus neste estudo, uma vez que fornece a capacidade de detectar não somente uma única espécie de vírus, mas também outros vírus pertencentes a esta família. Ademais, os resultados obtidos no teste de infecção sugerem que o limite máximo para pesquisa destes vírus com primers degenerados em ensaios de qPCR com Sybr Green é de aproximadamente 35 indivíduos por pools, sem que possa haver possíveis inibições.

A captura dos Dípteros na natureza é complexa, e envolve preparo, utilização de materiais adequados, equipe treinada, disponibilidade de tempo, etc. Além do mais, muitas das localidades (pontos de coleta) deste estudo são regiões de florestas de difícil acesso, oque comprometeu em partes a captura de espécimes em algumas localidades. Ademais, fatores

relacionados à sazonalidade e o clima, no que diz respeito à presença ou não de chuva no momento das capturas, entre outros, desfavoreceram em parte as coletas dos dípteros.

Este estudo contou com cerca de 9.299 dipteros capturados, identificados e catalogados entre os anos de 2017 a 2019. Porém, apenas cerca de 6.786 indivíduos foram agrupados (658 pools) e tiveram o material genético extraído, representando 69,46% pertencentes ao gênero *Culicidae*, 15,5% *Ceratopogonidae*, 8,2% a *Psychodidae*, 6,8% a *Tabanidae* e 0,04% a *Simullidae.*

Nota-se que neste estudo o maior número de espécies capturadas foi de Culicídeos (n=4714), onde destaca-se espécie de *Anopheles sp*. como a mais numerosa (n=3037), coletados em regiões de floresta e peri-urbana, principalmente na região do município de Monte Negro-RO. Essa espécie é um vetor conhecido de diferentes espécies de *Plasmodium* sp, agente etiológico da malária. Porém, estudos relatam que estes dípteros podem veicular outros patógenos, dentre eles vírus pertencentes à *Bunyaviridae*, como o vírus Guaroa e Oropouche (AGUILAR et al., 2010); à *Alphaviridae,* como o vírus *O'nyong nyong;* e à *Flaviviridae* como o vírus Cacipacoré (HENRIQUES, [s.d.]), dentre outros.

A presença destes artrópodes nas regiões estudadas é ubíqua, e o fato destes serem vetores competentes de diferentes espécies de vírus traz preocupação quanto a transmissão e disseminação de arboviroses, uma vez que há proximidade destes vetores com populações situadas em pequenas cidades, municípios, etc., a exemplo da cidade de Porto Velho, do município de Monte Negro em Rondônia, da cidade de Humaitá no Amazonas, dentre outros pontos de coleta neste estudo; que somado à rica diversidade de vida animal e impactos ambientais por meio de ações antropogênicas (BRASIL, 2017), favorecem o espalhamento de possíveis arboviroses.

Gama et al. (2012) investigaram a fauna de *Culicidae* em áreas rurais de Porto Velho, e observaram que os gêneros *Mansonia* e *Anopheles* são aqueles que apresentaram maior número de espécies. Outros estudos de ecologia e epidemiologia de dípteros em regiões do estado de Rondônia mostram que os mosquitos pertencentes à *Culicidae*, dentre eles os que fazem parte do gênero *Anopheles sp*, são bastante abrangentes nestas regiões (DE MELO et al. 2019; SANTOS, 2017), fato este que corrobora com a amostragem obtida neste estudo.

Além do mais, nesta amostragem há presença de outros vetores conhecidos por transmissão de arbovírus, como espécies de *Culicoides sp., Culex sp*., *Aedes sp.* dentre outros "alvos" importantes para pesquisa de arbovirus (SERRA et al., 2016). Entretanto, poucos ou nenhum *Culex sp*., *Aedes Aegypti e Aedes Albopictus* foram capturados e/ou catalogados.

Segundo Costa et al. (2013), os culicoides são mosquitos hematófagos agressivos e os ataques que realizam sobre os vertebrados, incluindo o homem, podem causar impactos em áreas úteis para a agricultura, pecuária e turismo, tornando-os importantes tanto a nível médico e veterinário, como também para a economia e o meio ambiente.

Estes insetos são abundantes na região Amazônica, e podem ser encontrados desde ambientes florestais úmidos, poças, praias, montanhas e mangues, a abrigos de animais domésticos de zonas rurais, periurbanas e urbanas (chiqueiros, galinheiros, curral) (CARVALHO, 2016; CARVALHO E SILVA, 2014). Este fato vem de encontro a este estudo, uma vez que os *Culicoides insignis* pertencentes a *Ceratopogonidae* foram a segunda espécie mais abrangente na amostragem deste estudo (n=1050) coletados principalmente em áreas rurais e periurbanas.

Segundo alguns autores, *Culicoides insignis* é considerado o vetor do Vírus da Língua Azul para ruminantes silvestres e domésticos na América do Sul (TANYA et al., 1992; SÁENZ e GREINER, 1994). Outros estudos de ecoepidemiologia da fauna diptera realizados no estado de Rondônia e Amazonas também relatam esta espécie como a mais abundante, constituindo cerca de pelo menos 72% da amostragem (CARVALHO, 2016; CARVALHO E SILVA, 2014).

Quanto à extração automatizada do material genético dos mosquitos, esta mostrou-se eficiente. Com a qual, foi possível detectar o RNA ribossomal 16s em todos os pools aleatórios de dípteros. Além do mais, nos pools que continham um indivíduo e em pools com até 30 indivíduos conseguiu-se detectar o RNA ribossomal 16s dos mosquitos sem que houvesse notado presença de qualquer inibição da PCR. Contudo, pôde-se inferir com os resultados mostrados na **Figura 20**, que nos pools de dípteros com 40 ou mais indivíduos, a reação parece ter sido um pouco prejudicada, possivelmente pela maior quantidade de inibidores da PCR.

Essa inibição pode ocorrer por conta dos potenciais inibidores presentes nos exoesqueletos e/ou no sistema imune dos insetos, por exemplo a Fenoloxidase, que é uma pró enzima presente na hemolinfa da maioria dos insetos, que quando ativa, fica aderida à superfície de agentes patogênicos ao inseto, promovendo o aumento de hemócitos ao redor e facilitando a remoção do mesmo por meio da formação de nódulos (WU et al., 2019; FRANZ et al., 2015; SILVA, 2002). Esta enzima, juntamente com a ação de outros agentes quelantes presentes na hemolinfa dos insetos podem inibir as reações de PCR, quer seja pela destruição da Taq polimerase, ou pela captura de íons de Mg^{+2}, co fator necessário para a atividade da polimerase (HENRIQUES, [s.d.]).

Segundo COVA et al. (2015) a presença destes componentes químicos são fatores que estão diretamente relacionados e que podem interferir na sensibilidade da reação de PCR. Além do mais, alguns autores relatam que os métodos de extração escolhidos influenciam significativamente na eficiência da sensibilidade do ensaio molecular (COVA et al. 2015; BRITTO et al. 2014).

Em nosso estudo, mesmo havendo um potencial inibição em pools com 40 ou mais indivíduos, foi possível detectar a presença do rRNA 16s. Este resultado pode estar relacionado ao método de extração automatizado utilizado em nosso estudo. Já é citado que a pureza de ácidos nucleicos totais extraídos de uma diversidade de amostras biológicas em plataformas automatizadas, apresentam concentrações de contaminantes residuais insuficientes para induzir a inibição completa da amplificação do material genético (COVA et al.2015; JEDDI; PIARROUX; MARY, 2013).

HOFFMANN et al. (2004) em seu estudo, utilizaram um par de primer para o gene ribossomal 18s para verificar a integridade do RNA viral antes de concluir que o pool de mosquitos é negativo. Alguns autores optaram pela utilização de primers para detecção do gene constitutivo de B-actina como controle endógeno (HENRIQUES, [s.d]). Já outros, utilizaram o gene ribossomal 16S como controle interno ou alvo para estudos de microrganismos em vetores artrópodes (BELDA et al., 2017; LINDH; TERENIUS; FAYE, 2005), este último, vem de encontro ao nosso estudo.

Apesar dos protocolos bem estabelecidos e da boa viabilidade das amostras, não foi detectado nenhum vírus pertencente aos gêneros *Flavivirus* e *Alphavirus* nos 658 pools de dípteros analisados. Já nos ensaios utilizando os protocolos para pesquisa de *Bunyavirus* detectou-se nove amostras suspeitas de positividade. Contudo, apesar de ter sido encontrado produto sugestivo de genoma de *Bunyavirus*, após algumas tentativas de sequenciamento, não foram encontradas sequências compatíveis com nenhuma espécie viral.

Justificamos esse rendimento pelo fato da utilização de protocolos com primers degenerados junto a um método de detecção molecular quantitativa com a incorporação de Sybr Green, que por um lado nos permitiu uma maior sensibilidade na detecção de espécies vírus pertencentes às famílias alvo deste estudo, mas por outro possibilitou um risco de ligações inespecíficas com outros materiais genéticos, como por exemplo o gene de mosquito detectado.

Segundo Pauvolid-Corrêa et al. (2010) a negatividade em estudos de eco epidemiologia de vírus em mosquitos pode também estar relacionada a fatores como o período de não epizootia durante a captura dos mosquitos e possível perda de infectividade do vírus perante as condições ambientais no campo, como por exemplo: temperatura e umidade elevadas. Dessa forma, a não

detecção de vírus no presente estudo, pode estar relacionada ao baixo título de vírus nos mosquitos, quer seja pelo tempo entre o momento da infecção do mosquito e o momento de sua captura, pelas condições de temperatura no campo, entre outros fatores.

As informações trazidas neste trabalho fornecem dados importantes sobre a eco epidemiologia dos principais gêneros e espécies de dípteros que circulam principalmente em fragmentos de floresta, reservas, regiões periurbanas e urbanas de algumas localidades do estado de Rondônia e Amazonas. Apesar do presente estudo não detectar arbovírus nas amostras de mosquitos, diversos trabalhos encontraram exemplares ou pools infectados, no Brasil e Região Amazônica. ARAÚJO et al, (2019) em seu estudo, coletaram cerca de 16.725 espécimes de mosquitos (680 pools) de mais de 56 espécies diferentes, sendo que apenas quatro foram positivos: três flavivirus (vírus Ilhéus, vírus Rocio e Bussuquara vírus) e um alphavirus (Mucambo vírus). Já CARDOSO et al. (2015) pesquisaram a circulação de espécies de Orthobunyavirus em áreas metropolitanas de Cuiabá, no estado do Mato Grosso e encontraram 8 pools positivos para o OROV em Culex quinquefasciatus em um total de 387 analisados.

Apesar da comum circulação de arbovírus nos estados de Rondônia e Amazonas, a detecção de mosquitos potencialmente infectados com arbovírus é difícil. A taxa de infecção nas populações de mosquitos geralmente é baixa, em torno de 0,001% (HENRIQUES, [s.d]). Segundo Leduc et al. (1988), a proporção de isolamento do vírus Oropouche em seu vetor urbano, mesmo em períodos de epidemia, é de 1:125000.

Em seu estudo, Gu et al. (2004) relatam que devido aos baixos níveis de infecção dos mosquitos é importante que sejam analisados grandes números de amostras (superior a 1.600 indivíduos) para que possa haver uma probabilidade de infecção de 0,8%. Henriques, D. A [s.d] em seu estudo analisou cerca de 37.519 espécies de dípteros pertencentes a mais de 20 famílias e gêneros, nos quais detectou Arbovírus em apenas 1,32% das amostras (0,66% para Flavivirus e 0,66% para o vírus Oropouche). SANTOS, C. A. C. D. (2017) investigou a presença de arbovírus em 3.837 espécimes de mosquitos em três áreas florestais do estado de Rondônia e não detectou flavivirus, CHIKV, MAYV ou OROV nas amostras testadas.

Em resumo, este trabalho fornece um método rápido, eficiente e sensível para detecção de vírus pertencentes às famílias *Flaviviriae*, *Alphaviridae* e *Bunyaviridae*, contribuindo para o estudo e vigilância da presença destes vírus em dípteros. Além do mais, os resultados obtidos sobre os locais de captura, as principais espécies de dipteros coletadas, e os resultados da pesquisa de vírus em nosso trabalho fornecem dados importantes à respeito da atual situação epidemiológica brasileira, principalmente nos possíveis “focos” de transmissão e disseminação desses vírus, sem que seja descartado a potencial circulação nas regiões estudadas.

7. CONCLUSÃO

- Diferentes espécies de dípteros foram capturados nas áreas de estudo em anos distintos.
- As principais espécies de dípteros coletados foram correlacionadas com o potencial de transmissão e dispersão de vírus nas regiões de estudo.
- A metodologia utilizada para extração de ácidos nucleicos, análise e detecção de vírus pertencentes à Flavi, Alpha e Bunyavirus nos dípteros coletados mostrou-se eficiente e adequada para pesquisa e vigilância destes vírus.
- Arbovírus de extrema importância médica foram pesquisados em diferentes espécies de dipteros. Porém, alguns fatores como: quantidade total de espécimes analisadas, o período de não epizootia durante a captura, assim como a possível baixa carga viral, dentre outros; podem ter influenciado na ausência de detecção de mosquitos infectados por arbovírus de interesse.
- A ausência de detecção não descarta a potencial circulação de arbovírus nas localidades estudadas, uma vez que as regiões ainda sofrem com intensas atividades antropogênicas, além da presença de fatores ambientais favoráveis, e de macro e micro vetores competentes. Portanto, a circulação de arbovírus nas regiões de estudo deve ser cuidadosamente e constantemente monitorada para evitar que surtos acometam o país de forma repentina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, P. V. et al. Guaroa virus infection among humans in Bolivia and Peru. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 3, p. 714–721, set. 2010.

ALBORNOZ, A. et al. Early Bunyavirus-Host Cell Interactions. **Viruses**, v. 8, n. 5, 24 maio 2016.

ARAUJO, J. DE; DE ARAUJO, J. **Detecção molecular de hantavírus pela técnica de real-time PCR em amostras de roedores silvestres coletadas na região do Vale do Ribeira no Estado de São Paulo**, [s.d.]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.11606/t.42.2011.tde-11082011-101311>

ARAÚJO, P. A. et al. Investigation about the Occurrence of Transmission Cycles of Arbovirus in the Tropical Forest, Amazon Region. **Viruses**, v. 11, n. 9, 22 ago. 2019.

ASHRAF, U. et al. **Usutu Virus: An Emerging Flavivirus in EuropeViruses**, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/v7010219>

BAKAR, F. A.; NG, L. **Nonstructural Proteins of Alphavirus—Potential Targets for Drug DevelopmentViruses**, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/v10020071>

BANGS M. J., Pudiantari R. & Gionar Y. R. (2007). Persistence of dengue virus RNA in dried *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to natural tropical conditions. *J. Med. Entomol.* **44:** 163-167.

BELDA, E. et al. Preferential suppression of Anopheles gambiae host sequences allows detection of the mosquito eukaryotic microbiome. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 3241, 12 jun. 2017.

BERA, A. K.; KUHN, R. J.; SMITH, J. L. Functional Characterization ofcisandtransActivity of the Flavivirus NS2B-NS3 Protease. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 17, p. 12883–12892, 2007.

BICHAUD, L. et al. **Arthropods as a source of new RNA virusesMicrobial Pathogenesis**, 2014a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2014.09.002>

BICHAUD, L. et al. **Arthropods as a source of new RNA virusesMicrobial Pathogenesis**, 2014b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2014.09.002>

BLAIR, C. D.; ADELMAN, Z. N.; OLSON, K. E. Molecular strategies for interrupting arthropod-borne virus transmission by mosquitoes. **Clinical microbiology reviews**, v. 13, n. 4, p. 651–661, out. 2000.

BOGACHEK, M. V. et al. Characterization of glycoprotein E C-End of West Nile virus and evaluation of its interaction force with αVβ3 integrin as putative cellular receptor. **Biochemistry** , v. 75, n. 4, p. 472–480, 2010.

BOURAI, M. et al. **Mapping of Chikungunya Virus Interactions with Host Proteins Identified nsP2 as a Highly Connected Viral ComponentJournal of Virology**, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.06390-11>

BATISTA, W. C. Mapeamento das Arboviroses no estado de Rondônia. 110 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde.Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica 12 de 2019 e Levantamento Rápido de Índices para Aedes aegypti (LIRAa). Boletim Epidemiolgógico. v. 50, n. 13, p. 18, 2019.

BRASIL. Floresta Nacional do Jamari (RO). Disponível em: . Acesso em: 20 abril 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre do chikungunya e febre pelo vírus Zika até a semana epidemiológica 5. 2016. **Boletim Epidemiológico**. 2016. v.47, n. 8. ISSN: 2359-9450. Disponível em :http://portal.saude.gov.br/portal/default.cfm. Acesso em: 19/07/19.

BRINTON, M. A.; BASU, M. Functions of the 3′ and 5′ genome RNA regions of members of the genus Flavivirus. **Virus research**, v. 206, p. 108–119, 2015.

BRONZONI, R. V. M. et al. Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 8, p. 456–461, ago. 2004.

BURKE, D. S; MONATH, T. P. Flaviviruses. In: Fields Virology. 4 ed. New York: Lippincott Williams &Wilkins, 2001. cap.33, v. II, p. 852-921.

CÁCERES R. O. (2003) Detección rápida de los serotipos del virus dengue en el mosquito *Aedes aegypti*. ***Rev. Peru Med. Exp. Salud Publica***. **20:** 156-158.

CARDOSO, B. F. et al. Detection of Oropouche virus segment S in patients and inCulex quinquefasciatus in the state of Mato Grosso, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 6, p. 745–754, set. 2015.

CARVALHO, Luis Paulo Costa de. Fauna de culicoides (diptera: ceratopogonidae) do Estado de Rondônia, Brasil. 2016.

CARVALHO, L.P.C.; SILVA, F.S. 2014. Seasonal abundance of livestock-associated Culicoides species in northeastern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, 28(2): 228-231.

CHU, J. J. H.; NG, M. L. Infectious entry of West Nile virus occurs through a clathrin-mediated endocytic pathway. **Journal of virology**, v. 78, n. 19, p. 10543–10555, out. 2004.

COES. Monitoramento dos casos de óbito de Febre Amarela no Brasil. Centro de Operações de Emergência em Saúde Pública sobre Febre Amarela (COES- Febre Amarela). Ministério da saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. n. 28, p. 6, 2017.

COOK, S. et al. Molecular evolution of the insect-specific flaviviruses. **The Journal of general virology**, v. 93, n. 2, p. 223–234, 2011.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. [S.l: s.n.], 1994. Disponível em: . Acesso em: 20 fev. 2020.

COVA, Bruno et al. Padronização das condições para a extração automatizada do DNA de

Flebotomíneos no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, p. 125-125, 2015.

DE OLIVEIRA, Benone Otávio Souza. Impactos ambientais decorrentes do lixão da cidade de Humaitá, Amazonas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 4, p. 80-84, 2016.

DA ROSA, A. P. A. T.; VASCONCELOS, P. F. C.; DA ROSA, J. F. S. T. **An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries**. [s.l: s.n.].

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de saude publica**, v. 51, p. 30, 10 abr. 2017.

ELLIOTT, R. M.; SCHMALJOHN, C. S.; COLLETT, M. S. **Bunyaviridae Genome Structure and Gene ExpressionCurrent Topics in Microbiology and Immunology**, 1991. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-76018-1_4>

ESPY, M. J. et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 165–256, jan. 2006.

FERNÁNDEZ-SANLÉS, A. et al. Functional Information Stored in the Conserved Structural RNA Domains of Flavivirus Genomes. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 546, 3 abr. 2017.

FIGUEIREDO, L. T. M. **The Brazilian flavivirusesMicrobes and Infection**, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s1286-4579(00)01320-4>

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224–229, mar. 2007.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia Vol. 2**. [s.l.] EdUSP, 1996.

FORATTINI, O. P. Culicidologia médica. [S.l.]: Edusp, 2002.

FRANZ, A. et al. **Tissue Barriers to Arbovirus Infection in MosquitoesViruses**, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/v7072795>

GOULD, E. A.; HIGGS, S. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 2, p. 109–121, 2009.

HAACH, V. et al. **INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DO VÍRUS INFLUENZA NA DETECÇÃO POR RT-qPCR E ISOLAMENTO VIRALCiência Animal Brasileira**, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v19e-46789>

HEDIL, M.; KORMELINK, R. Viral RNA Silencing Suppression: The Enigma of Bunyavirus NSs Proteins. **Viruses**, v. 8, n. 7, 23 jul. 2016.

HENRIQUES, D. A. **Caracterização molecular de arbovírus isolados da fauna diptera nematocera do Estado de Rondônia (Amazônia ocidental brasileira)**, [s.d.]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.11606/t.42.2008.tde-27032009-124003>

HOFFMANN, P. R. et al. West Nile virus surveillance: A simple method for verifying the integrity of RNA in mosquito (Diptera: Culicidae) pools. **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 4, p. 731–735, jul. 2004.

HONÓRIO, N. A. et al. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 31, n. 5, p. 906–908, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 18.nov.2017.

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS. Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas - SAARB, 2007. Disponível: <http://www.iec.pa.gov.br/saarb.htm>. Acesso em: 19 ago. 2019.

JEDDI, F.; PIARROUX, R.; MARY, C. Application of the NucliSENS easyMAG system for nucleic acid extraction: optimization of DNA extraction for molecular diagnosis of parasitic and fungal diseases. **Parasite** , v. 20, p. 52, 12 dez. 2013.

KUNO, G. **Dengue transmission without involvement of mosquito vectorClinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, 1 mar. 2005.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flaviviruses. **Advances in virus research**, v. 59, p. 23–61, 2003.

LINDH, J. M.; TERENIUS, O.; FAYE, I. **16S rRNA Gene-Based Identification of Midgut Bacteria from Field-Caught Anopheles gambiae Sensu Lato and A. funestus Mosquitoes Reveals New Species Related to Known Insect SymbiontsApplied and Environmental Microbiology**, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.71.11.7217-7223.2005>

LINDENBACH, BD.; MURRAY, CL.; THIEL, H-J.; RICE, CM. Flaviviridae. **Wolters Kluwer/Lippencott Williams & Wilkins**; 2013.

LOPES N.; NOZAWA C.; LINHARES R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. Rev Pan Amaz Saude. 2014; 5(3): 55–64.

LORENZ, C. et al. Impact of environmental factors on neglected emerging arboviral diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 9, p. e0005959, set. 2017.

MADARIAGA, M.; TICONA, E.; RESURRECION, C. **Chikungunya: bending over the Americas and the rest of the worldThe Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2015.10.004>

MARUNIAK, J. E.; GARCIA-MARUNIAK, A. **Doenças Transmitidas e Causadas por Artrópodes Marcondes, C. B. (ed.). 2009. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. 557 pp. Editora Atheneu, São Paulo, Brazil. ISBN 978-85-388-0028-6, paperback, 147 Reais (about 81)Florida Entomologist**, 2010a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1653/024.093.0125>

MARUNIAK, J. E.; GARCIA-MARUNIAK, A. **Doenças Transmitidas e Causadas por Artrópodes Marcondes, C. B. (ed.). 2009. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. 557 pp. Editora Atheneu, São Paulo, Brazil. ISBN 978-85-388-0028-6, paperback, 147 Reais (about 81)Florida Entomologist**, 2010b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1653/024.093.0125>

MEZENCIO, J. M. et al. Ultrastructural study of Mayaro virus replication in BHK-21 cells. **Archives of virology**, v. 114, n. 3-4, p. 229–235, 1990.

MORAIS, S. A. et al. Brazilian mosquito (Diptera: Culicidae) fauna: I. Anopheles species from Porto Velho, Rondônia state, western Amazon, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 54, n. 6, p. 331–335, dez. 2012.

MORALES, M. A. et al. Detection of the mosquito-borne flaviviruses, West Nile, Dengue, Saint Louis Encephalitis, Ilheus, Bussuquara, and Yellow Fever in free-ranging black howlers (Alouatta caraya) of Northeastern Argentina. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005351, 2017.

MOURÃO, M. P. G. et al. **Oropouche Fever Outbreak, Manaus, Brazil, 2007–2008Emerging Infectious Diseases**, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1512.090917>

NEMETH, N. et al. **North American Birds as Potential Amplifying Hosts of Japanese Encephalitis VirusThe American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0141>

OLIVEIRA, A. O. Geografia de Rondônia: Espaço & Produção. Rondônia: Dinâmica Editora, 2002.

OMETTO, T. et al. West Nile virus surveillance, Brazil, 2008-2010. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 107, n. 11, p. 723–730, nov. 2013.

PAUVOLID-CORRÊA, A. et al. **Preliminary investigation of culicidae species in South Pantanal, Brazil and their potential importance in arbovirus transmission**. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 52, n. 1, p. 17–23, 2010.

RÁCZ, M. L. Doenças virais transmitidas por artrópodes e roedores. In: **Microbiologia**. 4°. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. cap97, p.691-678.

RASTOGI, M.; SHARMA, N.; SINGH, S. K. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. **Virology journal**, v. 13, p. 131, 29 jul. 2016.

RATHORE, M. H. **Zika Virus - Pediatricians Be AwarePediatrics in Review**, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1542/pir.2016-0003>

SÁEZ, M.R.; GREINER, E.C. 1994. Culicoides aspirated from cattle in Costa Rica, Honduras, Panama and Puerto Rico, and their role as potential vectors of bluetongue viruses. **Medical and Veterinary Entomology**, 8: 15-19.

SAMBROOK, J; FRITSCH, EF, MANIATIS, T. **Molecular Cloning.** 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Press, 1989.

SAMPATH, A.; PADMANABHAN, R. **Molecular targets for flavivirus drug discoveryAntiviral Research**, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2008.08.004>

SANGER, F; NICKLEN, S; COULSON, AR. DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 74, n.12, p. 5463-5467, 1977.

SANTOS, Cícera Alexandra Costa dos. Detecção de arbovírus em mosquitos (Diptera: Culicidae) capturado em três áreas florestais do Estado de Rondônia. 2017.

SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. **Analyzing real-time PCR data by the comparative CT methodNature Protocols**, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2008.73>

SERRA, O. P. et al. Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 1, p. 20–29, jan. 2016.

SPICER, G. S.; DUNIPACE, L. Molecular phylogeny of songbirds (Passeriformes) inferred from mitochondrial 16S ribosomal RNA gene sequences. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 30, n. 2, p. 325–335, 2004.

TANYA, V.N.N.; Greiner, E.C.C.; Gibbs, E.P.J.P. 1992. Evaluation of Culicoides insignis (Diptera: Ceratopogonidae) as a vector of Bluetongue virus. Veterinary Microbiology, 32(1): 1-14.

TRENT, D. W.; QURESH, A. A. Structural and nonstructural protein of Saint Louis encephalits virus. **Journal of virology**, v.7, n.3, p.379-388, 1971.

TOMAR, S. et al. **Catalytic Core of Alphavirus Nonstructural Protein nsP4 Possesses Terminal Adenylyltransferase ActivityJournal of Virology**, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01067-06>

TOSCANO, S. Estados Brasileiros: Rondônia, 2007. Disponível: <http:www.portalbrasil.net/estado_ro.htm>. Acesso em: 19 ago. 2019.

VARELA, M. et al. Schmallenberg virus pathogenesis, tropism and interaction with the innate immune system of the host. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 1, p. e1003133, jan. 2013.

VIEIRA, C. J. DA S. P. et al. **Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, BrazilActa Tropica**, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.020>

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, fev. 2010.

WELSCH, S. et al. Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites. **Cell host & microbe**, v. 5, n. 4, p. 365–375, 23 abr. 2009.

WU, P. et al. Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 21, p. e1, 13 mar. 2019.

ZIPPER, H. et al. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. **Nucleic acids research**, v. 32, n. 12, p. e103, 12 jul. 2004.

ANEXO 1 - Tabela descritiva dos locais de coleta, data, armadilhas utilizadas e classificação dos mosquitos coletados.

Identificação	Qtd. individuos	Local de Coleta	Data Coleta	*ORDEM*	*FAMÍLIA*	*GENERO*	*ESPÉCIE*	SEXO	Armadilha	Outra Identificação
Pool 1	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 2	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 3	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 4	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 5	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 6	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 7	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 8	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 9	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 10	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 11	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 12	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 13	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 14	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 15	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 16	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 17	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 18	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 19	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 20	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 21	50	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides insignis*	Não informado	Não Informado	-
Pool 22	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Não informado	Não Informado	-
Pool 23	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Não informado	Não Informado	-
Pool 24	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Não informado	Não Informado	-
Pool 25	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Não informado	Não Informado	-
Pool 26	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Não informado	Não Informado	-
Pool 27	Não informado	Rancho	23/03/17	*DIPTERA*	*Ceratopogonidae*	-	*Culicoides foxi*	Fêmea	Não Informado	-
Pool 28	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 29	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 30	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 31	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 32	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-

Pool 33	4	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 34	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 35	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 36	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 37	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 38	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 39	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 40	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 41	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 42	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 43	2	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 44	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 45	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Aedes*	*Aedomyia squamipennis*	não informado	SHANNON	-
Pool 46	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	PL2d3
Pool 47	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 48	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 49	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 50	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 51	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 52	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 53	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 54	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 55	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles deaneorum*	não informado	SHANNON	-
Pool 56	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 57	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 58	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 59	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	PLa5
Pool 60	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia nigricans*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 61	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 62	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles konderi*	não informado	SHANNON	-
Pool 63	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 64	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 65	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 66	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 67	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-

Pool 68	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 69	8	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 70	6	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex quinquefasciatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 71	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 72	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Aenopheles mattogrossensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 73	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 74	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 75	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 76	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	PL2b7
Pool 77	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 78	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 79	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 80	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia hunserdis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 81	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 82	1	Sítio Cabeça	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anophleles Deancorum*	não informado	SHANNON	-
Pool 83	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	PL2a8
Pool 84	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 85	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 86	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 87	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 88	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 89	6	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 90	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia amazonensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 91	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 92	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 93	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 94	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 95	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia*	não informado	SHANNON	-
Pool 96	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 97	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 98	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 99	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 100	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia pseudotitilians*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 101	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 102	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-

Pool 103	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 104	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 105	3	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Pso. Lutizii*	não informado	SHANNON	-
Pool 106	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 107	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 108	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 109	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles Konderi*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 110	1	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansoni wilsoni*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 111	9	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 112	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 113	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 114	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 115	5	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 116	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 117	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 118	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 119	6	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 120	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 121	10	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 122	20	Sítio Careca	26/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*C. melanoconion*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 123	20	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 124	30	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 125	1	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*M. pseudotittilians*	não informado	SHANNON	-
Pool 126	3	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*M. humeralis*	não informado	SHANNON	-
Pool 127	1	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	SHANNON	-
Pool 128	2	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 129	1	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 130	24	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 131	2	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 132	4	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 133	26	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 134	5	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 135	2	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia humeralis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 136	26	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-

Pool 137	20	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 138	10	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 139	5	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 140	26	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 141	20	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 142	10	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 143	4	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles konderi*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 144	3	Sítio Careca	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles rangeli*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 145	30	não informado	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 146	3	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 147	30	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 148	1	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia nigricans*	não informado	SHANNON	-
Pool 149	4	não informado	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 150	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 151	1	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles sp.*	não informado	SHANNON	PL3h4
Pool 152	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 153	1	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia sp.*	não informado	SHANNON	-
Pool 154	30	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 155	10	não informado	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 156	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 157	10	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 158	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	PL3g5
Pool 159	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 160	20	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	PL3e6
Pool 161	10	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	SHANNON	-
Pool 162	30	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 163	30	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 164	2	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 165	10	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 166	32	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 167	1	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex sp.*	não informado		-
Pool 168	6	Sítio Careca	29.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 169	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 170	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 171	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-

Pool 172	1	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Aedes*	*Aedes fuluus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 173	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 174	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 175	10	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 176	30	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 177	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 178	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 179	10	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 180	30	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 181	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 182	10	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 183	24	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 184	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 185	7	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Limatus*	*Limatus pseudomothysitoris*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 186	1	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 187	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 188	20	Sítio Careca	28.06.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 189	32	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 190	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 191	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 192	26	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 193	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 194	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 195	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 196	43	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 197	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 198	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 199	40	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 200	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 201	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 202	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 203	6	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Uranotaenia*	*Uranotaenia sp.*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 204	4	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 205	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 206	3	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-

Pool 207	7	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	SHANNON	-
Pool 208	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Aedes*	*Aedes sp.*	não informado	SHANNON	-
Pool 209	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Aedes*	*Escapulário*	não informado	SHANNON	-
Pool 210	50	Sítio Mueller	19.05.18	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	SHANNON	-
Pool 211	25	Sítio Mueller	19.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 212	30	Sítio Mueller	19.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 213	30	Sítio Mueller	19.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 214	40	Sítio Mueller	19.05.18	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	SHANNON	-
Pool 215	1	Sítio Careca	18.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles Konderi*	não informado	SHANNON	-
Pool 216	30	Sítio Careca	18.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 217	30	Sítio Careca	18.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 218	20	Sítio Careca	18.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 219	30	Sítio Careca	18.05.18	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 220	1	Sítio Mueller	19.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 221	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 222	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 223	4	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex quiquefasciatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 224	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 225	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-

Pool 226	10	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Uranotaenia*	*Uranotaemia colosamata*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 227	10	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 228	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 229	16	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	PL4g2
Pool 230	10	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 231	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	-	*An. T/ Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 232	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 233	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 234	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 235	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Ochlerotatus*	*Ochlerotatus senatuscomplex*	não informado	SHANNON	-
Pool 236	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 237	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Uranotaenia*	*Uranotaemia sp*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 238	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 239	16	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- COPA	-

Pool 240	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 241	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 242	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 243	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 244	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 245	6	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 246	9	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Uranotaenia*	*Uranotaenia sp*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 247	1	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles matogrossensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 248	40	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	SHANNON	-
Pool 249	50	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 250	50	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 251	50	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 252	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 253	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 254	40	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 255	30	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 256	1	Sítio Mueller	19.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*An. gostai*	não informado	SHANNON	-
Pool 257	10	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 258	7	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 259	40	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 260	9	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Uranotaenia*	*Uranotaenia sp*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 261	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 262	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 263	1	Sítio Mueller	19.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquilettidia*	*Coquillettidia venezuelensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 264	1	Sítio Mueller	19.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*An. gostai*	não informado	SHANNON	-
Pool 265	10	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 266	7	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	SHANNON	-
Pool 267	20	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 268	20	Sítio Mueller	19.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 269	30	Sítio Cabeça	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 270	26	Sítio Cabeça	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 271	20	Sítio Cabeça	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 272	1	N identificado	30.08	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Cullex sp*	não informado	??	-
Pool 273	1	N identificado	31.08	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 274	10	Tabajara	31.08	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- SOLO	-

Pool 275	12	Bom futuro	06.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 276	3	Bom futuro	06.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia humeralis*	não informado	Atração Humana	-
Pool 277	6	Bom futuro	07.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	-	*???*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 278	14	Tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex (Melanoconion)*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 279	1	Tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*C. nigricans*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 280	3	Tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	*Simollium*	*Simollium*	*Simollium spp*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 281	2	Tabajara	15.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 282	30	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 283	10	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia wilseni*	não informado	AHP	-
Pool 284	18	Sítio Cabeça	19.10.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Aedes*	*Aedys scapularis*	não informado	AHP	-
Pool 285	14	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 286	30	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 287	20	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 288	20	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 289	1	São Sebastião de Itapuru	10.09.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*Flebotomíneo*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 290	13	Bom futuro	08.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicidae*	*Culicóides*	não informado	Aspirador Elétrico oco das arvores	-
Pool 291	3	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	não informado	AHP	-
Pool 292	1	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	AHP	-
Pool 293	1	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*culicideo*	*Culicoides*	não informado	AHP	-
Pool 294	27	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 295	20	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 296	20	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 297	22	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 298	30	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 299	28	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 300	29	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 301	6	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 302	3	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	SHANNON	-
Pool 303	11	Sítio Cabeça	21.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 304	30	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 305	19	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles triannulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 306	3	Sítio Careca	18.05.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles nuneztovari*	não informado	SHANNON	-

Pool 307	3	Sítio Cabeça	27/07/17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles deanorum*	não informado	SHANNON	-
Pool 308	30	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 309	30	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 310	3	Sítio Cabeça	22.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	SHANNON	-
Pool 311	26	Sítio Cabeça	22.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 312	20	Sítio Cabeça	22.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 313	30	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 314	5	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 315	6	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 316	23	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 317	20	Sítio Cabeça	20.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culicideo*	*Culicideos*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 318	27	Tabajara	16.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 319	1	Tabajara	16.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 320	7	Tabajara	16.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	SHANNON	-
Pool 321	21	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	PL4g12
Pool 322	22	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia*	não informado	SHANNON	-
Pool 323	1	Tabajara	16.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 324	20	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia*	não informado	SHANNON	-
Pool 325	20	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia*	não informado	SHANNON	-
Pool 326	40	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia wilsoni*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 327	1	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*??*	*??*	*Macho*	Macho	SHANNON	-
Pool 328	30	Nova Mutum	10.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia*	não informado	SHANNON	-
Pool 329	23	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia wilsoni*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 330	3	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 331	7	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coq Venezuelensis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 332	30	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*C. melanoconium*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 333	30	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia wilsoni*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 334	20	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex culex*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 335	20	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia wilsoni*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 336	20	Nova Mutum	09.11.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex culex*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 337	28	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 338	5	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex culex*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 339	28	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*coq Venezuelensis*	não informado	CDC- SOLO	-

Pool 340	3	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Konderi*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 341	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Limatus*	*LImatus sp*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 342	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia amazonensis*	não informado	SHANNON	-
Pool 343	26	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 344	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Limatus*	*LImatus sp*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 345	26	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*C. melanoconium*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 346	3	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia titilans*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 347	28	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 348	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*Mansonia humeralis*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 349	20	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*Culex quinquefasciatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 350	24	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*C. melanoconium*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 351	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*nuneztovari*	não informado	SHANNON	-
Pool 352	3	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*nuneztovari*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 353	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 354	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*??*	*??*	*Araneorum*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 355	28	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 356	7	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Nuneztovari*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 357	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- COPA	-
Pool 358	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 359	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 360	2	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles benalochi*	não informado	CDC- SOLO	-
Pool 361	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 362	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 363	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 364	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 365	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 366	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 367	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 368	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 369	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 370	30	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 371	20	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles trianulatus*	não informado	SHANNON	-
Pool 372	1	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles benearochi*	não informado	SHANNON	-
Pool 373	9	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Konderi*	não informado	SHANNON	-
Pool 374	2	Sítio Careca	23.08.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*Anopheles rongeli*	não informado	SHANNON	-

Pool 375	10	São Rafael	08.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coq Nigricans*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 376	10	tapuru	09.10.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquillettidia*	*Coq Nigricans*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 377	1	tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*flebotomineo*	ñ informado	Asp. Arvore oco	-
Pool 378	17	tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Limatus*	*limatus sp*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 379	10	bom futuro	07.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquellettidia*	*coq venezuelensis*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 380	2	tapuru	09.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia amazonensis*	ñ informado	CDC- COPA	-
Pool 381	1	???	02.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquellettidia*	*coq sp*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 382	2	bom futuro	08.09.17	*DIPTERA*	Psychodidae	-	*flebotomineo*	ñ informado	Asp. Arvore oco	-
Pool 383	15	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 384	20	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 385	9	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*c. melanoconion*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 386	2	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia humeralis*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 387	12	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	CDC-COPA	-
Pool 388	1	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	-	*Aedeomyia squamepenssis*	ñ informado	CDC-COPA	-
Pool 389	2	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquellettidia*	*coq nigricans*	ñ informado	CDC-COPA	-
Pool 390	1	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia humeralis*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 391	3	cacará	11.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*c. melanoconion*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 392	2	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia humeralis*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 393	1	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*c. melanoconion*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 394	17	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 395	1	carara	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Anopheles*	*an. matogrosensis*	ñ informado	SHANNON	-
Pool 396	1	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Limatus*	*limatus sp*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 397	2	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 398	1	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Coquellettidia*	*coq venezuelensis*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 399	2	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Culex*	*c. melanoconion*	ñ informado	CDC-SOLO	-
Pool 400	15	Acará	10.09.17	*DIPTERA*	*Culicidae*	*Mansonia*	*mansonia sp*	ñ informado	CDC-COPA	-
Pool 401	1	Monte Negro	abril 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 402	1	Monte Negro	abril 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 403	1	Monte Negro	abril 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 404	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 405	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 406	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 407	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 408	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 409	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 410	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 411	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 412	1	Monte Negro	maio 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 413	1	Monte Negro-LHC 35	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 414	1	Monte Negro - LHC 35	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 415	1	Monte Negro-LHC 35 RO	jum 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 416	1	Monte Negro-LHC 35	jum 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 417	1	Monte Negro-LHC 35	jum 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 418	1	Monte Negro-LHC 35	jum 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 419	1	Monte Negro-LHC 35	jum 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 420	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 421	1	Monte Negro-sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 422	1	Monte Negro-sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 423	1	Monte Negro - LHC 35 RO	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 424	1	Monte Negro - LHC 35	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 425	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 426	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 427	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 428	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 429	1	Monte Negro - sítio Miller	jun. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 430	1	Monte Negro	out. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 431	1	Monte Negro	out. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 432	1	Monte Negro	out. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 433	1	Monte Negro	out. 2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 434	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 435	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 436	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 437	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 438	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 439	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 440	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 441	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 442	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 443	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 444	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 445	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 446	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 447	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 448	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 449	1	Monte Negro	abr. 2018	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 450	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 451	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 452	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 453	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 454	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 455	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 456	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 457	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 458	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 459	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 460	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 461	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 462	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 463	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 464	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 465	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 466	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 467	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 468	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 469	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 470	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 471	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 472	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 473	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*tabanideo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 474	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 475	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 476	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 477	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 478	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*vespa ?*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 479	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*predador*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 480	1	Monte Negro	fev. 2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*vespa ?*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 481	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 482	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 483	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 484	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 485	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 486	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 487	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 488	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 489	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 490	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 491	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 492	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 493	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 494	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 495	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 496	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 497	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 498	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 499	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 500	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 501	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 502	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 503	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 504	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 505	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 506	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 507	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 508	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 509	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 510	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 511	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 512	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 513	1	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 514	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 515	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 516	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 517	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 518	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 519	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 520	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 521	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 522	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 523	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 524	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 525	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 526	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 527	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 528	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 529	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 530	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 531	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 532	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 533	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 534	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 535	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 536	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 537	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 538	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 539	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 540	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 541	5	Monte Negro	ñ informado	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 542	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 543	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 544	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 545	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 546	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 547	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 548	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 549	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 550	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 551	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 552	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 553	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 554	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 555	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 556	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 557	1	Manoel Travessão 30/35	2/26/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 558	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 559	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 560	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 561	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 562	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 563	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 564	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 565	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 566	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 567	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 568	1	Manoel Travessão 30/35	2/27/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 569	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 570	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

Pool 571	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 572	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 573	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 574	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 575	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 576	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 577	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 578	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 579	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 580	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 581	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 582	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 583	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 584	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 585	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 586	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 587	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 588	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 589	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 590	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 591	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 592	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 593	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 594	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 595	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

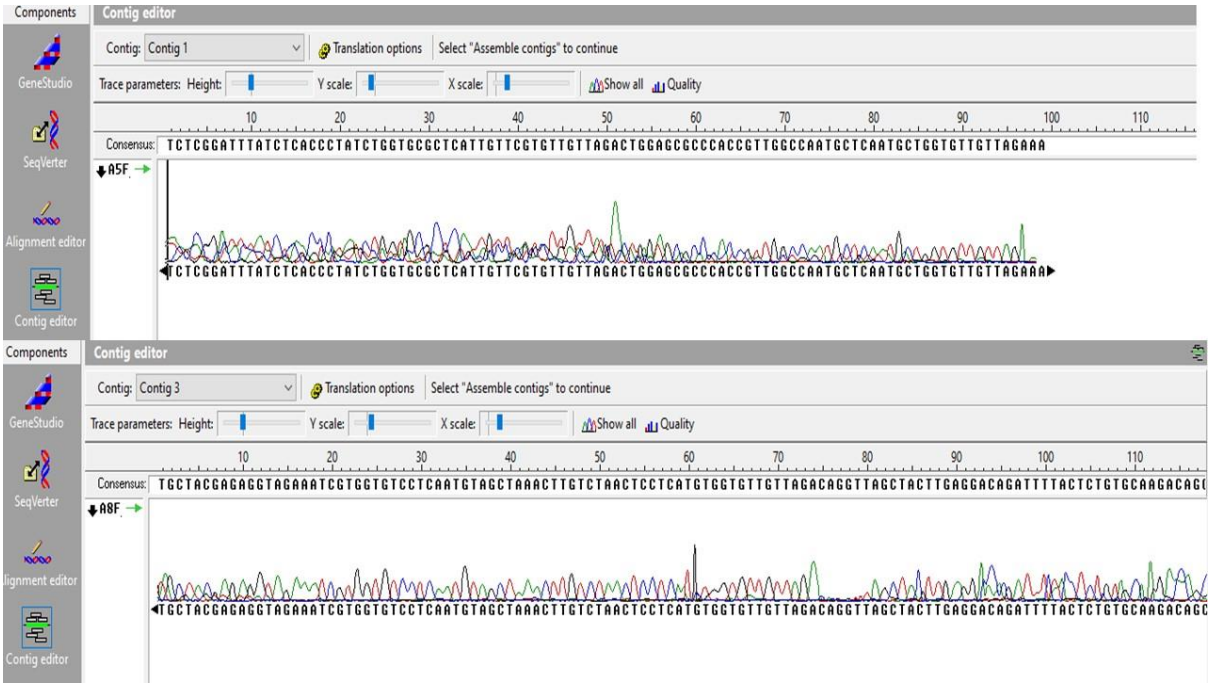
Pool 596	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 597	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 598	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 599	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 600	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 601	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 602	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 603	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 604	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 605	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 606	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 607	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 608	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 609	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 610	1	Manoel Travessão 30/35	2/28/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

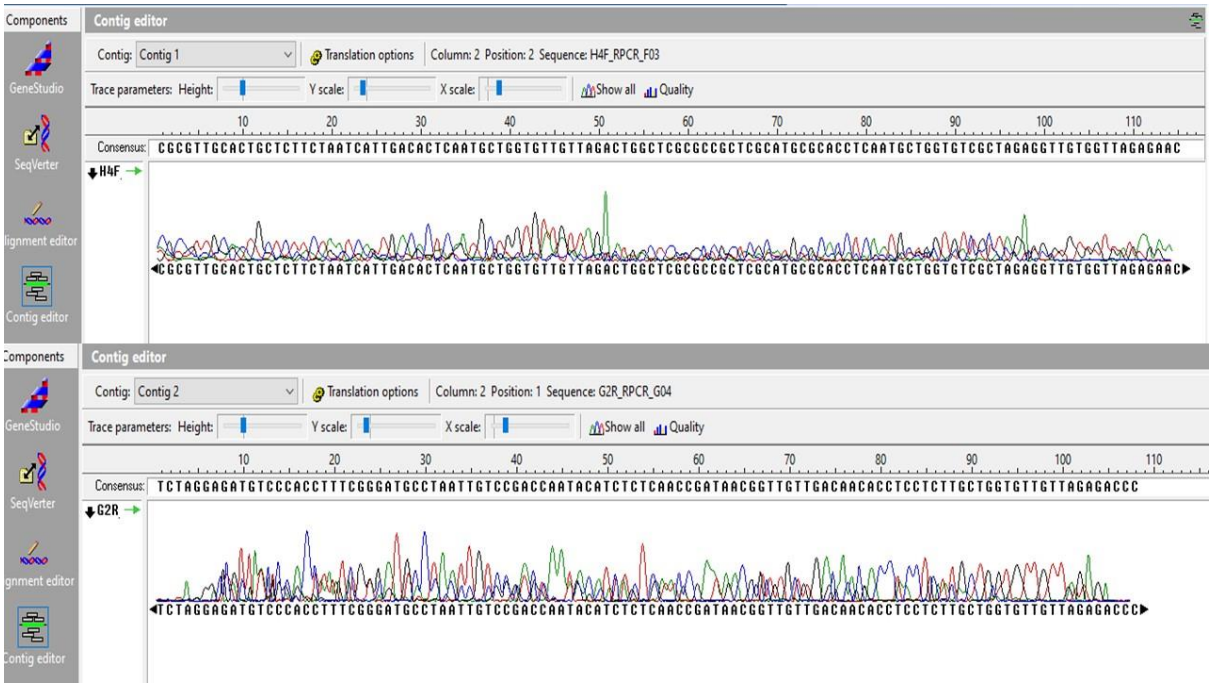
Pool 611	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 612	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 613	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 614	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 615	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 616	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 617	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 618	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 619	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

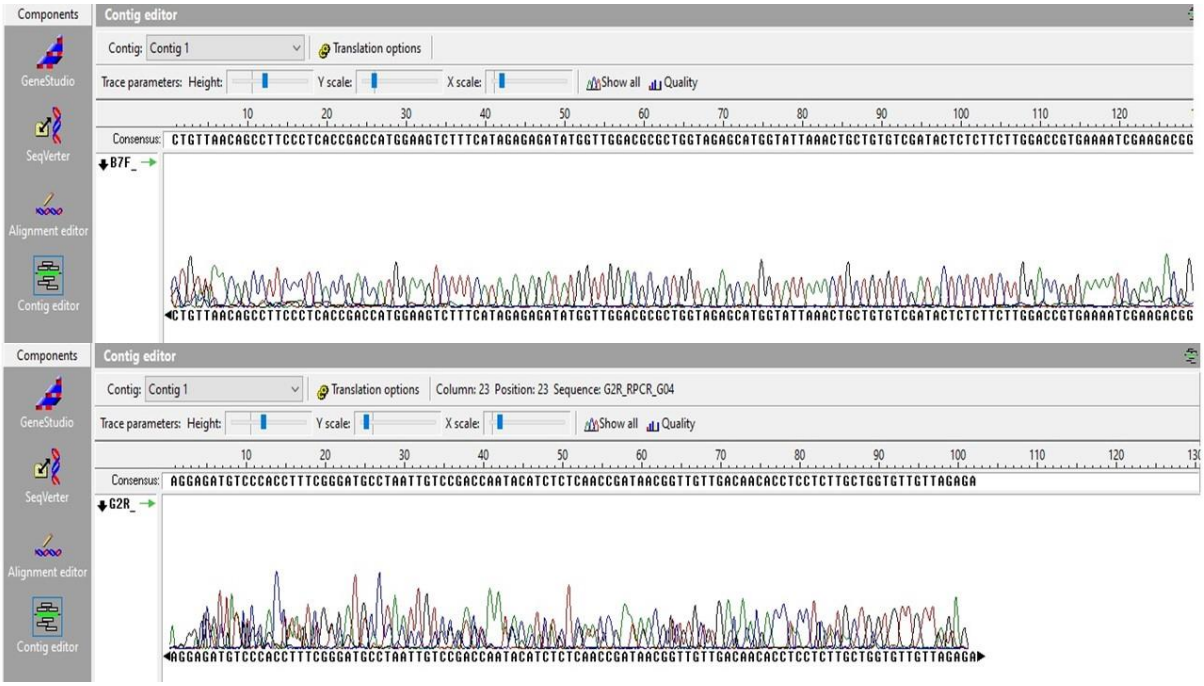
Pool 620	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 621	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 622	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 623	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 624	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 625	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 626	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 627	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 628	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 629	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 630	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 631	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 632	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 633	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 634	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 635	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 636	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 637	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 638	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 639	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 640	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 641	1	Manoel Travessão 30/35	3/2/2019	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 642	1	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 643	4	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 644	6	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 645	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

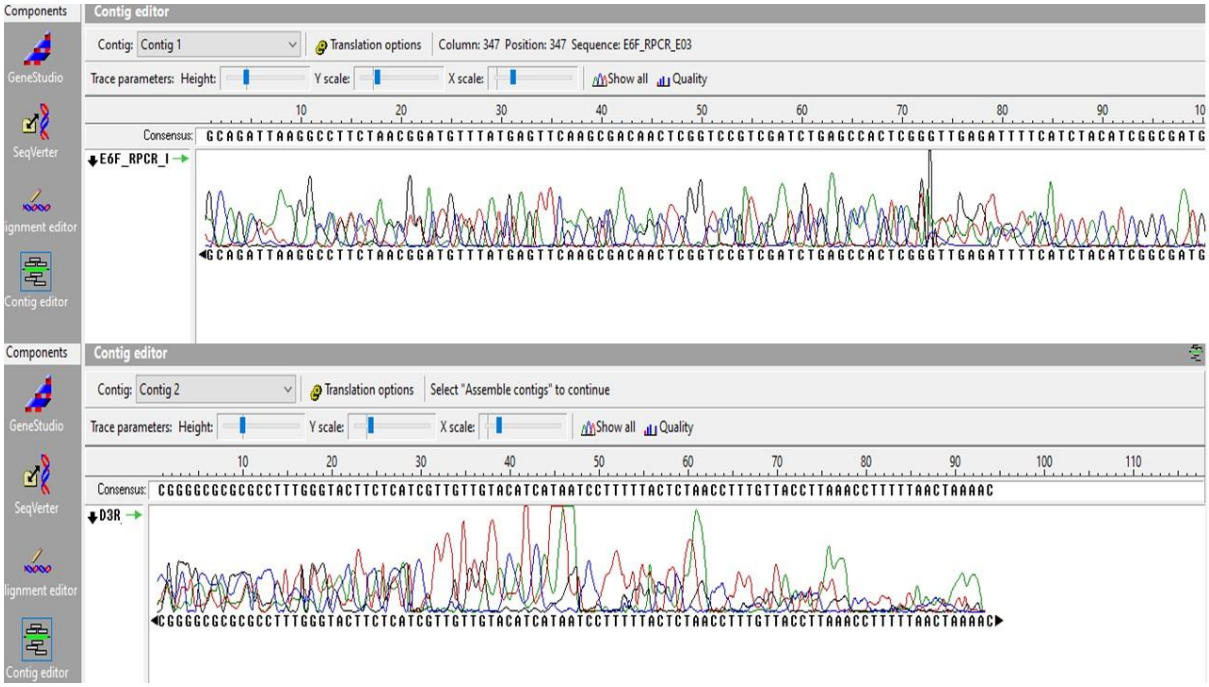
Pool 646	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 647	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 648	1	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 649	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 650	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 651	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 652	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 653	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 654	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 655	4	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 656	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 657	6	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-
Pool 658	5	Monte Negro	2017	*DIPTERA*	*Tabanidae*	*Tabanidae*	*Tabanídeo*	ñ informado	ñ informado	-

ANEXO 2- Sequências obtidas das amostras suspeitas.




Components
Contig editor
Contig: Contig 1
Translation options
Column: 2 Position: 2 Sequence: H4F_RPCR_F03
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: CGCGTTGCACTGCTCTTCTAATCATTGACACTCAATGCTGGTGTTGTTAGACTGGCTCGCGCCGCTCGCATGCGCACCTCAATGCTGGTGTCGCTAGAGGTTGTGGTTAGAGAAC
H4F_
GeneStudio
SeqVerter
Alignment editor
Contig editor
Components
Contig editor
Contig: Contig 2
Translation options
Column: 2 Position: 1 Sequence: G2R_RPCR_G04
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: TCTAGGAGATGTCCCACCTTTCGGGATGCCTAATTGTCCGACCAATACATCTCTCAACCGATAACGGTTGTTGACAACACCTCCTCTTGCTGGTGTTGTTAGAGACCC
G2R_
GeneStudio
SeqVerter
Alignment editor
Contig editor


Components
Contig editor
Contig: Contig 1
Translation options
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: CTGTTAACAGCCTTCCCTCACCGACCATGGAAGTCTTTCATAGAGAGATATGGTTGGACGCGCTGGTAGAGCATGGTATTAAACTGCTGTGTCGATACTCTCTTCTTGGACCGTGAAAATCGAAGACGG
B7F_
GeneStudio
SeqVerter
Alignment editor
Contig editor
Components
Contig editor
Contig: Contig 1
Translation options
Column: 23 Position: 23 Sequence: G2R_RPCR_G04
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: AGGAGATGTCCCACCTTTCGGGATGCCTAATTGTCCGACCAATACATCTCTCAACCGATAACGGTTGTTGACAACACCTCCTCTTGCTGGTGTTGTTAGAGA
G2R_
GeneStudio
SeqVerter
Alignment editor
Contig editor


Components
Contig editor
GeneStudio
SeqVerter
Contig editor
Contig: Contig 1
Translation options
Column: 347 Position: 347 Sequence: E6F_RPCR_E03
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: GCAGATTAAGGCCTTCTAACGGATGTTTATGAGTTCAAGCGACAACTCGGTCCGTCGATCTGAGCCACTCGGGTTGAGATTTTCATCTACATCGGCGATG
E6F_RPCR_I
Components
Contig editor
Contig: Contig 2
Translation options
Select "Assemble contigs" to continue
Trace parameters: Height:
Y scale:
X scale:
Show all
Quality
Consensus: CGGGGCGCGCGCCTTTGGGTACTTCTCATCGTTGTTGTACATCATAATCCTTTTTACTCTAACCTTTGTTACCTTAAACCTTTTTAACTAAAAC
D3R