

ESTUDO DA REPRODUÇÃO DE MOSQUITOS *Aedes aegypti* CONSIDERANDO ALIMENTAÇÕES SANGUÍNEAS DE 4 E 7 DIAS UTILIZANDO MODELOS LINEARES PARA DADOS DE CONTAGEM

Guilherme Rodrigues¹, Ariane C. Cristino¹, Daniela R. Cantane¹, Helenice O. Florentino¹, Paulo E. M. Ribolla², Rogério A. Oliveira¹

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Bioestatística

²Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Parasitologia.
g.rodrigues2@unesp.br

RESUMO

Muitas doenças graves são causadas por diferentes vírus transmitidos pelo *Aedes aegypti*. Estas doenças tem se tornado um problema de saúde pública cada vez maior devido à dificuldade no controle do mosquito. Os métodos de controle mais empregados são divididos em três: mecânico, que consiste no controle de possíveis criadouros (água parada); químico, que se utilizam de inseticidas e produtos químicos; e biológico que consiste no uso de predadores naturais e por esterilização. A dificuldade de contenção do mosquito, em muito está relacionado com sua fácil adaptação em regiões com alta densidade populacional, onde há disposição de alimento em abundância. Este trabalho visa analisar a quantidade média de ovos postos por fêmea utilizando Modelos Lineares Generalizados, empregando uma variação temporal em sua alimentação, buscando assim compreender o quanto isto interfere em seu ciclo reprodutivo.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Análise Estatística. Modelos Lineares Generalizados.

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é o vetor responsável por diversas doenças graves, entre elas, a febre amarela, *chikungunya*, *zika* vírus e a dengue, esta última de maior incidência na população. É oriundo da África e leva este nome por ser originalmente descrito no Egito. Se distribui, atualmente, por todo o mundo, tendo maior concentração em regiões tropicais e subtropicais bem como em regiões com alta densidade populacional. Tais fatores facilitam sua propagação e adaptação ao ambiente. O mosquito tem maior atividade no período diurno, se alimentando e depositando ovos neste período. Seus ovos apresentam grande resistência, podendo durar meses após sua colocação (BRAGA; VALLE, 2007).

A alimentação do *Aedes aegypti* é diferente no que diz respeito aos machos e as fêmeas. Enquanto os machos se alimentam de frutos e soluções açucaradas, as fêmeas são hematófagas, dependendo de sangue para que possa ocorrer a maturação dos ovos. Após a ingestão sanguínea, ela executa uma postura, podendo ser intercalada com mais de uma

alimentação. Esta característica é mais um aspecto favorável à manutenção da espécie, bem como a transmissão de doenças, tendo em vista a disposição de alimento em abundância. *In natura* a fêmea do *Aedes aegypti* se alimenta de sangue a cada dois ou três dias em condições ótimas, conhecido como ciclo gonotrófico (BARATA et al., 2001).

O controle populacional do *Aedes aegypti* tem se tornado um problema de saúde pública cada vez maior no Brasil. A falta de infraestrutura e má gestão em saneamento básico, recorrentes em vários municípios brasileiros são fatos que elevam o grau do problema. Os planos de controle empregados no combate ao mosquito são divididos em: controle mecânico, o qual consiste no emprego de fiscalização de terrenos baldios bem como na destruição de locais em que se possa encontrar água parada; controle químico, onde emprega-se o uso de inseticidas; controle biológico, o qual utiliza-se de métodos como o emprego de predadores naturais ou modificação genética (TAUIL, 2006).

O trabalho tem como objetivo a análise da taxa de oviposição diária média de mosquitos fêmeas do *Aedes aegypti* em diferentes intervalos de alimentação sanguínea empregando a utilização de Modelos Lineares Generalizados (MLGs) para dados de contagem, a princípio, regressão de Poisson e distribuição binomial negativa, com auxílio do *software* estatístico R.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A realização do experimento se dividiu em duas etapas: coleta dos dados de contagem e análise por meio de MLGs.

A primeira etapa foi realizada com a disponibilização dos ovos de *Aedes aegypti* pelo insetário do Departamento de Parasitologia do IBB/UNESP. O experimento foi engendrado de forma a tornar-se possível a contagem diária de insetos vivos e mortos, bem como da oviposição, que se deu em condições ótimas de experimentação, ou seja, temperatura ambiente por volta de 27°C e umidade relativa do ar em torno de 75%, com luminosidade controlada, simulando períodos de dia e noite.

Cerca de cem ovos foram dispostos aleatoriamente em cada uma das 10 bandejas utilizadas durante o experimento até a eclosão. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração de peixes ornamentais. Na fase alada, os insetos foram distribuídos em gaiolas devidamente enumeradas de 1 a 10, onde os machos foram alimentados com solução de sacarose e as fêmeas com sangue de ratos devidamente anestesiados. As fêmeas das gaiolas de 1 a 5 foram alimentadas a cada 7 dias e as fêmeas

das gaiolas de 6 a 10, foram alimentadas a cada 4 dias. A contagem dos ovos para a composição dos dados foi feita por um período de aproximadamente 40 dias.

Foram utilizados 25 camundongos para alimentação das fêmeas. O experimento foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) com certificação correspondente ao protocolo n° 624-CEUA (CRISTINO, 2015).

A segunda etapa consiste na análise dos dados obtidos no experimento com a aplicação de MGLs.

Os MGLs são uma extensão dos modelos de regressão simples e múltipla. Por meio deles torna-se possível a utilização de outras distribuições da família exponencial para a variável resposta e erros, bem como uma função de ligação relacionando a média da variável resposta, que assume neste estudo a forma de contagem, à combinação linear das variáveis de interesse que assumem a forma de contagem (ALVARENGA, 2015).

Para os dados que foram dispostos, foram escolhidas duas distribuições de contagem: Modelos de Regressão de Poisson e Distribuição Binomial Negativa.

O Modelo de Regressão de Poisson é um modelo específico de modelos lineares generalizado, o qual a variável resposta segue uma distribuição de Poisson onde os dados devem possuir dispersão similar, isto é, a média da variável resposta deve ser igual a variância. Este modelo teve origem na década de 1970 quando Wedderburn (1974) desenvolveu a teoria da quase-verossimilhança, a qual foi analisada de maneira mais profunda por McCullagh (1983) (TADANO et al., 2009).

O processo de Poisson caracteriza um processo de contagem em que $Y(t) \geq 0$ representa o número de eventos que ocorrem até o tempo t , onde $Y(t)$ é inteiro e não negativo, e para $s < t$, $Y(s) \leq Y(t)$. $[Y(t) - Y(s)]$ é o número de eventos que ocorrem no intervalo $[s, t]$. A contagem em cada subintervalo de $[s, t]$ é independente de outros subintervalos.

A distribuição de Poisson é dada pela função de probabilidade,

$$P(Y = y) = \frac{e^{-\mu\lambda} \mu\lambda^y}{y!}, y = 0, 1, 2, \dots, \quad (1)$$

onde temos as principais propriedades listadas abaixo:

- Média: $E(Y) = \mu\lambda$;
- Variância: $Var(Y) = \mu\lambda$;
- Função de ligação canônica: $\ln(\mu\lambda_i) = \eta_i = x_i\beta \Leftrightarrow \mu\lambda_i = E(Y_i) = e^{x_i\beta}$.

Pelo fato desta distribuição ser discreta, é possível aplicá-la a eventos que ocorrem ao longo de intervalos como, por exemplo, o tempo de alimentação dos mosquitos analisados.

A regressão de Poisson é da forma,

$$f(y_i|x_i) = \frac{e^{-\mu_i} (\mu_i)^{y_i}}{y_i!}, y = 0,1,2,\dots, \quad (2)$$

em que as covariáveis são inseridas no modelo por $\ln(\mu_i) = x'_i\beta$, com β sendo o vetor de parâmetros de regressão. Para este modelo, observa-se que os estimadores são consistentes mesmo que a distribuição seja incorreta, não obstante, desde que a média condicional de Y seja declarada corretamente. Este modelo assume variação constante em relação à média.

Ao se obter uma variância que seja maior do que a média, há a ocorrência do chamado fenômeno de sobredispersão. Nestes casos faz-se uso dos modelos com resposta binomial negativa. Uma das possíveis causas deste fenômeno é a heterogeneidade das unidades amostrais que pode ocorrer por causa das variabilidades experimentais.

A função de probabilidade para s esta distribuição é da forma,

$$P(Y = k) = \frac{\Gamma(\alpha + y_k)}{\Gamma(y_k + 1)\Gamma(\alpha)} \left(\frac{\mu\lambda}{\mu\lambda + \alpha}\right)^{y_k} \left(\frac{\alpha}{\mu\lambda + \alpha}\right)^\alpha, y_k = 0,1,3,\dots; \alpha > 0; \mu\lambda > 0, \quad (3)$$

contendo esperança, $E(Y)$, igual a $\mu\lambda$, e variância, $Var(Y)$, igual a $\mu\lambda + \alpha^{-1}\mu\lambda^2$. Logo, para qualquer $\alpha > 0$, obtêm-se $Var(Y) > \mu\lambda$. A distribuição - O caso limite da binomial negativa inclui a distribuição de Poisson como um caso limite, na qual $\alpha \rightarrow \infty$.

Um estímulo para a utilização deste modelo fundamenta-se num processo de contagem heterogêneo, onde $Y \sim Poisson(\theta)$ e θ tem distribuição *Gama*(α, β):

$$g(\theta; \alpha, \beta) = \frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} \theta^{\alpha-1} e^{-\beta\theta}, \quad (5)$$

em que a esperança $E(\theta) = \theta = \alpha/\beta$, e a variância $Var(\theta) = \alpha/\beta^2$.

O resultado é um misto entre Poisson-Gama, no qual o resultado, em relação a θ , é a distribuição binomial negativa. Este modelo pode ser devidamente especificado fazendo $E(y|x) = e^{x\beta}$. Nos casos em que os valores de α são fixos, a distribuição é escrita na forma exponencial linear, a qual, é agraciada pela teoria dos MLG's (ZEVIANI; TACONELLI, 2016).

Para a utilização dos modelos é necessário avaliar se os mesmos se ajustam ou não aos dados coletados. Logo, são feitos alguns testes que verificam os ajustes. Utilizou-se para este fim, os Gráficos de Resíduos de Quantis Envelope, os quais permitem avaliar o comportamento dos resíduos e então a escolha do modelo mais adequado. Nestes testes, gráficos são gerados, demonstrando o comportamento dos resíduos e se os mesmos são satisfatórios ou não aos modelos propostos.

Para a construção destes gráficos deve-se obter os valores ordenados dos resíduos do modelo ajustado, simular n observações a partir dos valores ajustados ao modelo, ajustar o modelo para n observações e obter os resíduos ordenados e calcular os resíduos simulados (PAULA, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O primeiro modelo ajustado aos dados é o de Poisson e os dados estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Estimativas de ajuste de regressão de Poisson para os dados de contagem da oviposição diária.

<i>Coefficiente</i>	<i>Estimativa</i>	<i>Erro Padrão</i>	<i>Exp(Est)</i>	<i>P<0,05</i>
Intercepto	2.250513	0.042401	9,4926	<0,001
Intervalo	0.993872	0.019336	2,7016	<0,001
Dia após alimentação	0.043764	0.005056	1,0447	<0,001
1ª Alimentação				
2ª Alimentação	0.981327	0.023408	2,6679	<0,001
3ª Alimentação	0.616613	0.024528	1,8526	<0,001
4ª Alimentação	1.044246	0.027859	2,8412	<0,001

As Figuras 1 e 2 apresentam os gráficos dos testes de envelope para cada modelo proposto. Nota-se pela Figura 1 que o modelo de Poisson não está bem ajustado aos dados.

Comentado [A1]: Seria interessante apresentar uma descritiva dos dados como média e desvio padrão das contagens de ovos por período de alimentação, para ver se há sobredispersão nos dados

Figura 1: Teste de resíduos de quantis envelope para o modelo de regressão de Poisson gerado pelo *software* estatístico R.

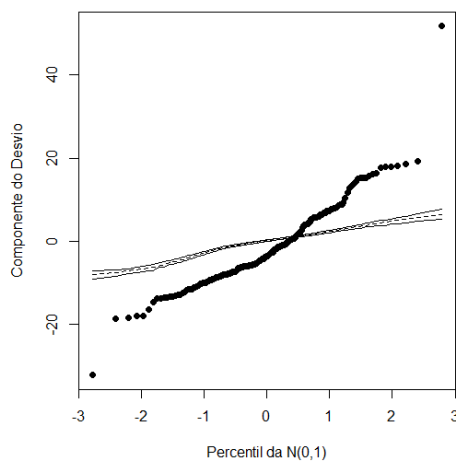
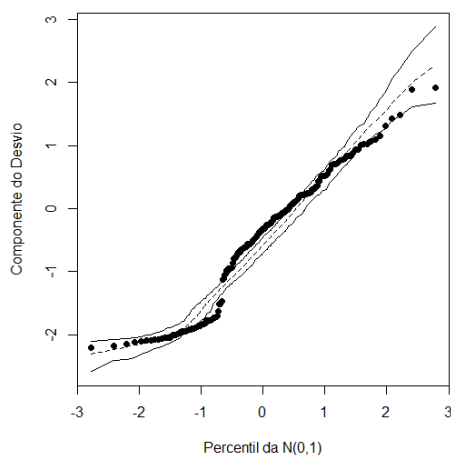


Figura 2: Teste de resíduos de quantis envelope para a distribuição binomial negativa gerado pelo *software* estatístico R.



Ao efetuar a análise dos gráficos gerados, ficou evidente que a distribuição binomial negativa foi a mais adequada para os dados obtidos. Pode-se observar que para o modelo de Poisson, os resíduos ficaram dispersos e não se encaixaram ao envelope. Abaixo, na Tabela 2, pode-se avaliar com mais rigor os resultados obtidos por meio da regressão de Poisson, evidenciando não ser o melhor modelo para a análise dos dados em virtude do alto grau de desvio residual apresentado. Estes dados foram gerados por meio do *software* estatístico R, com o pacote *MASS*.

Após a realização dos testes e escolha do modelo, no caso, distribuição binomial negativa, foram obtidos os seguintes resultados, ajustados na Tabela 2.

Tabela 2: Estimativas de ajuste do modelo binomial negativa para os dados de contagem da oviposição diária.

<i>Coefficiente</i>	<i>Estimativa</i>	<i>Erro Padrão</i>	<i>Exp(Est)</i>	<i>IC 95%</i>		<i>P<0,05</i>
Intercepto	0,7887	0,3059	2,2	1,09	4,63	0,01
Intervalo	0,084	0,2739	1,09	0,62	1,92	0,759
Dia após alimentação	0,1894	0,0652	1,21	1,05	1,39	0,004
1ª Alimentação						
2ª Alimentação	0,8853	0,2986	2,42	1,26	4,71	0,003
3ª Alimentação	0,5844	0,2934	1,79	0,97	3,34	0,046
4ª Alimentação	1,3457	0,4823	3,84	1,43	11,53	0,005

Observou-se que as fêmeas começaram a sua oviposição de 1 a 2 dias após a primeira alimentação hematófaga. Os intervalos de 4 e 7 dias entre as alimentações não apresentaram diferença estatística, tendo em vista o valor de $p = 0,759$. Para que a diferença fosse significativa, este valor deveria ser abaixo de 0,05. Após cada alimentação, nota-se um incremento de aproximadamente 21% na postura de ovos com grande importância estatística. A primeira alimentação representa a referência tomada pelo *software* para o cálculo dos outros dias.

Observa-se que a oviposição diária média das fêmeas foi de 143 ovos, considerando um intervalo de confiança de 95% igual a (136;149).

4 CONCLUSÕES

A análise estatística dos dados de mosquitos *Aedes aegypti* é importante para o entendimento do comportamento do vetor para possível contenção das doenças provenientes, principalmente a dengue, que possui maior incidência no país. A distribuição binomial negativa foi a que melhor descreveu o processo de oviposição realizado pelas fêmeas, segundo o teste do envelope. Assim, os dados implementados não apresentaram significância estatística em relação aos intervalos de alimentação sanguínea. Como trabalhos futuros, deseja-se utilizar dados de mosquitos machos irradiados com radiação ionizante, visando a comparação entre os casos em relação às taxas de oviposição, de mortalidade e predileção das fêmeas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, Ima A.; VALLE, Denise. **Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência.** Epidemiol. Serv. Saúde, v.16, n.4, p.279-293, out-dez, 2007.

BARATA, E. A. M. F.; COSTA, A. I. P.; NETO, F. C.; GLASSER, C. M.; BARATA, J. M.; NATA, D. **População do Aedes aegypti em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil.** Revista de Saúde Pública, 35(3):237-42 2001

TAUIL, Pedro L. **Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 39(3):275-277, mai-jun, 2006.

CRISTINO, Ariane C. **Estimação de taxas de um modelo matemático de dinâmica populacional do mosquito transmissor da dengue.** Trabalho de Conclusão de Curso, UNESP, Botucatu, 2015.

ALVARENGA, Ana M. T. **Modelos lineares generalizados: aplicação a dados de acidentes rodoviários.** Dissertação (Mestrado em Gestão de Informação, Especialização em Gestão e Análise de Dados). Universidade de Lisboa, Portugal, 2015.

TADANO, Yara S.; UGAYA, Cássia M.; FRANCO, Admilson T. **Método de Regressão de Poisson: Metodologia para Avaliação do Impacto da Poluição Atmosférica na Saúde Populacional.** Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica e de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Curitiba, Paraná, Brasil, jul-dez. 2009

ZEVIANI, W. M.; RIBEIRO, E. E. Jr; TACONELI, C. A. **Modelos de Regressão para Dados de Contagem com R.** Curso da 61ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria (61ª RBRAS), 2016. Disponível em <http://rbras2016.ufba.br/wp-content/uploads/2016/06/MC3_Zeviani_Ribeiro-Jr_Taconeli.pdf>. Acesso em 21 set 2019.

PAULA, G. A. **Modelos de Regressão com Apoio Computacional.** Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, pág 281-311.