

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



ELABORAÇÃO DE UM BANCO DE IMAGENS PARA CALIBRAGEM DE UM SISTEMA SEMIAUTOMÁTICO DE CONTAGEM DE OVOS DE *Aedes aegypti*.

VICTOR ARAÚJO BARBOSA

RECIFE

2022

VICTOR ARAÚJO BARBOSA

ELABORAÇÃO DE UM BANCO DE IMAGENS PARA CALIBRAGEM DE UM SISTEMA SEMIAUTOMÁTICO DE CONTAGEM DE OVOS DE *Aedes aegypti*.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Cláudia Maria Fontes de Oliveira

Coorientadora: Msc. Danielle Cristina Tenório Varjal de Melo

RECIFE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- B238e Barbosa, Victor Araújo
 Elaboração de um banco de imagens para a calibração de um sistema semiautomático de contagem de ovos de *Aedes aegypti* / Victor Araújo Barbosa. - 2022.
 40 f. : il.
- Orientadora: Cláudia Maria Fontes de .
 Coorientadora: Danielle Cristina Tenório Varjal de .
 Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
 Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2022.
1. Processamento de imagens. 2. Mosquito. 3. Ovitrapa. 4. Ovos. 5. *Aedes aegypti*. I. , Cláudia Maria Fontes de, orient. II. , Danielle Cristina Tenório Varjal de, coorient. III. Título

VICTOR ARAÚJO BARBOSA

ELABORAÇÃO DE UM BANCO DE IMAGENS PARA CALIBRAGEM DE UM SISTEMA SEMIAUTOMÁTICO DE CONTAGEM DE OVOS DE *Aedes aegypti*.

Comissão Avaliadora:

Dr^a. Cláudia Maria Fontes de Oliveira – Instituto Aggeu Magalhães
Orientadora

Dr^a. Eloína Maria de Mendonça Santos – Instituto Aggeu Magalhães
Titular

Dr^a. Yone Vila Nova Cavalcanti - UFRPE
Titular

Dr^a. Morgana do Nascimento Xavier - UFPE
Suplente

RECIFE
2022

À minha amada mãe.

A todos aqueles que me impulsionaram durante a graduação.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Evandro e Ana Cláudia, por todo amor dedicado a mim e pelo investimento e incentivo aos meus estudos.

À minha irmã, Vivian Barbosa, que é minha grande parceira, pela atenção, amizade, cuidado e incentivo a todo momento.

Às minhas orientadoras, Dr^a Cláudia Fontes e Msc. Danielle Varjal, as quais tenho grande admiração, por todos os ensinamentos compartilhados durante meu PIBIC. Ambas sempre se demonstraram compreensivas e disponíveis para me auxiliar em qualquer dúvida. Obrigado pela oportunidade!

Ao Dr. André Sá, por me auxiliar na utilização dos programas de processamento de imagem e na estatística deste trabalho.

À Elisângela Dias, técnica do Aggeu Magalhães, por compartilhar seus conhecimentos e me auxiliar na rotina do Insetário no início do meu PIBIC.

Às professoras, Dr^a Flávia Lins e Dr^a Betânia Guilherme, coordenadoras do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFRPE, por toda dedicação e orientações prestadas aos discentes. E em nome delas, a todos (as) os (as) professores (as) que contribuíram para minha formação.

Aos meus amigos de graduação, em especial, Marcos Paulo, Paula Brito, Paolla Oliveira, John Lennon, Jonatas Mota, Júlio Lima e Kawanny Porpilho, por partilharem essa jornada, tornando a experiência mais leve e repleta de aprendizado.

Às minhas grandes amigas, Thais Marinho e Mar Soares, por todo apoio na minha vida acadêmica e pessoal.

À comissão avaliadora, pela disponibilidade em contribuir para este trabalho.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica/CNPq pelo financiamento, que permitiu a realização desse projeto.

RESUMO

A vigilância entomológica é uma importante estratégia para conhecer a ocorrência do *Aedes aegypti* no ambiente, e planejar ações de controle desse mosquito. Para isso, uma das ferramentas que podem ser adotadas são as ovitrampas, que são instrumentos sensíveis em detectar o *A. aegypti* no ambiente, além de possuir um baixo custo e demandar pouca manutenção. No entanto, realizar a contagem dos ovos obtidos através dessas armadilhas tem sido um trabalho laborioso, uma vez que cada substrato de oviposição pode conter centenas ou milhares de ovos, que são contados manualmente com o auxílio de uma lupa por um profissional treinado. O cansaço do operador e a visualização limitada das regiões do substrato pela lupa, bem como a sobreposição de ovos, são fatores que podem levar ao erro nas contagens e tornar a obtenção dos dados entomológicos mais demorados. Pensando nisso, técnicas de contagem de ovos a partir de imagens têm sido estudadas, visando otimizar o trabalho, mas ainda de forma incipiente. Assim, este trabalho buscou estabelecer critérios para a contagem de ovos através de processamento de imagens. Para isso, foi elaborado um banco de imagens, com 40 exemplares, de dois tipos de substratos de oviposição, um em madeirite (M) e outro em tecido (T), possuindo diferentes densidade de ovos. Esses substratos foram submetidos a contagem manual e posteriormente suas imagens foram utilizadas para testes em processamento digital. Como resultados, observamos melhores respostas ao processamento em substratos de tecido (T), não apresentando diferença estatística ($p=0,1091$) entre a contagem manual e semiautomática, já os resultados para o grupo (M) apresentaram diferença estatística (0,00133) entre os métodos de contagem, verificado através do teste estatístico Mann-Whitney. Além disso, pudemos estabelecer critérios para possíveis melhorias na obtenção das imagens que possam favorecer o processamento. Consideramos então, que estabelecer melhores condições de foco, iluminação e secagem dos substratos de oviposição para a obtenção das imagens pode melhorar consideravelmente o resultado para os dois materiais trabalhados, sendo necessário novos testes.

Palavras-chave: Processamento de imagens; Mosquito; Ovitampa; Ovos; *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Entomological surveillance is an important strategy to know the occurrence of *Aedes aegypti* in the environment, and plan actions to control this mosquito. For this, one of the tools that can be adopted are the ovitraps, which are sensitive instruments for detecting *A. aegypti* in the environment, in addition to having a low cost and requiring little maintenance. However, counting the eggs obtained through these traps has been a laborious job, since each oviposition substrate can contain hundreds or thousands of eggs, which are manually counted with the aid of a magnifying glass by a trained professional. Operator fatigue and limited visualization of the substrate regions by the magnifying glass, as well as egg overlap, are factors that can lead to counting errors and make obtaining entomological data more time consuming. With that in mind, egg counting techniques from images have been studied, aiming to optimize the work, but still in an incipient way. Thus, this work sought to establish criteria for egg counting through image processing. For this, an image bank was created, with 40 specimens, of two types of oviposition substrates, one in wood (M) and another in fabric (T), having different densities of eggs. These substrates were submitted to manual counting and later their images were used for tests in digital processing. As a result, we observed better responses to processing on tissue substrates (T), with no statistical difference ($p=0.1091$) between manual and semi-automatic counting, whereas the results for the group (M) showed a statistical difference (0.00133) among the counting methods, verified through the Mann-Whitney statistical test. In addition, we were able to establish criteria for possible improvements in obtaining images that may favor processing. We therefore consider that establishing better conditions of focus, lighting and drying of the oviposition substrates to obtain the images can considerably improve the result for the two materials worked, requiring further tests.

Keywords: Image processing; Mosquito, Ovitrap; Eggs; *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo biológico das espécies <i>Aedes aegypti</i> (A) e <i>Culex quinquefasciatus</i> (B).	12
Figura 2 - Fêmea de <i>Aedes aegypti</i> durante repasto sanguíneo (A); macho da espécie <i>Ae. aegypti</i> (B)	14
Figura 3 - Hematofagia (A); sítios de oviposição/ criadouros (B-E); ovos de <i>Ae. aegypti</i> (F).	15
Figura 4- Armadilhas de oviposição (ovitrampas): substrato de madeirite (A); substrato de algodão (B)	18
Figura 5 - esquema da classificação dos pixels de acordo com o tom de cinza	20
Figura 6- Imagem 7 do grupo M. Imagem original (a), aplicação do filtro de realce (b) e segmentação (c)	28
Figura 7 - Processamento da imagem 8 M. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c)	29
Figura 8 - Processamento da imagem 14 M. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).	29
Figura 9 - Processamento da imagem 12 T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).	30
Figura 10 - processamento da imagem 18 T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).	30
Figura 11 - processamento da imagem 3T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).	31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Resultados obtidos a partir dos experimentos realizados com o grupo M. **25**
- Tabela 2** Resultados obtidos a partir dos experimentos realizados com o grupo T. **26**
- Tabela 3** comparação entre os dados obtidos de modo geral e para cada grupo trabalhado. **27**

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Culicídeos Vetores	12
2.2	Características bioecológicas do mosquito <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	13
2.3	Epidemiologia e vigilância de <i>Aedes aegypti</i> no Brasil	16
2.4	Uso de ovitrampas no monitoramento de <i>Aedes aegypti</i>	18
2.5	Contagem de ovos de <i>Aedes aegypti</i> a partir de imagens	19
3	OBJETIVOS	22
3.1	Geral	22
3.2	Específicos	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	Obtenção de imagens de substratos de oviposição:	23
4.2	Contagem manual dos ovos	23
4.3	Processamento de imagens	23
4.4	Análise dos dados	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÕES	32
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Os mosquitos da família Culicidae despertam grande preocupação para a saúde pública, uma vez que são responsáveis por transmitir diversos patógenos ao homem, sendo considerados os artrópodes vetores mais importantes do mundo (BEERNTSEN; JAMES; CHRISTENSEN, 2000; TOLLE, 2009). Dentre esses mosquitos, as espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* são consideradas de grande importância médica devido à sua ampla distribuição, comportamento antropofílico e por serem vetores de diversos arbovírus. A ocorrência de surtos e epidemias de arboviroses são atribuídas à infestação desses vetores em ambientes com alta concentração populacional e centros urbanos (ARDUINO et al., 2020). Essas doenças podem se apresentar como infecções sem sintomas aparentes, ou na forma aguda, com ocorrência de febre, febre hemorrágica, mialgia ou artralgia, encefalomielite com um grau de letalidade variável, podendo ocasionar sequelas para o resto da vida. Dentre os principais arbovírus circulantes no Brasil, podemos destacar os causadores da dengue, Zika e Chikungunya (MANIERO et al., 2016).

Um grande desafio frente a essa situação, é a inexistência de vacinas disponíveis para população e outras medidas preventivas eficazes para a maioria das doenças causadas por patógenos transmitidos por mosquitos (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017). Assim, a redução e controle das densidades de mosquitos é a principal medida para minimizar a ocorrência dessas doenças, diminuindo o contato vetor-homem e conseqüentemente a circulação e transmissão de patógenos. No Brasil, o controle do principal mosquito urbano, vetor de arbovírus, *Ae. aegypti*, é realizado pelo Plano Nacional de Controle da Dengue (PNCD) instituído em 2002 (BRASIL, 2002). Dentre as estratégias adotadas pelo PNCD podemos destacar, o tratamento de criadouros utilizando larvicidas, como *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) que é à base de bactérias entomopatogênicas e o Piriproxifen, análogo ao hormônio juvenil. Recentemente, este último larvicida vem sendo substituído pelo Espinosade, seguindo as recomendações do Ministério da Saúde, uma vez que este não é acumulativo, não oferece risco ao ambiente e aos animais não alvos. Outras estratégias são, o controle mecânico e legal que orienta o trabalho dos agentes de saúde em situações específicas, quando o imóvel se encontra fechado ou quando a visita é recusada pelo morador (BRASIL, 2009).

Nas últimas décadas, a utilização de várias ações de controle, executadas simultaneamente, para atingir diferentes fases do ciclo de vida dos mosquitos tem gerado um maior impacto sobre a densidade populacional destes insetos (AZEVEDO-SANTOS et al., 2017; REGIS et al., 2008) em comparação com as ações previstas pelo PNCD. Dentre essas ações podemos destacar a remoção massiva e contínua de ovos do ambiente, assim como a remoção de adultos, tratamento de criadouros e conscientização da população. Nesse contexto, a vigilância entomológica se mostra extremamente importante, pois possibilita compreender o risco potencial de exposição humana às doenças causadas por patógenos transmitidos por insetos (NUNES, 2013), facilitando o direcionamento de estratégias de controle.

Diversos estudos têm utilizado a contagem de ovos capturados através de armadilha de oviposição como ferramenta para o monitoramento da infestação de mosquitos *Aedes spp.* (BARRETO et al., 2020; MONTEIRO; CARVALHO; SOUTO, 2014; MONTEIRO et al., 2020). Apesar disso, o processo de contagem desses ovos ainda não tem a agilidade necessária para subsidiar ações de controle no campo mais rapidamente. Isso acontece porque cada substrato de oviposição pode conter centenas ou milhares de ovos, o que demanda muito esforço e tempo do operador para realizar a contagem, estabelecer o número médio de ovos (NMO) e assim escalonar o nível de infestação de uma determinada área.

Em contrapartida, com o avanço tecnológico, algumas estratégias vêm sendo estudadas a fim de otimizar esse processo de contagem de ovos, mas ainda de forma incipiente, como é o caso da utilização de sistemas de contagem através de imagens, sendo necessários maiores estudos para o seu desenvolvimento e aplicabilidade. Assim, o seguinte trabalho visa fornecer subsídios para calibragem de um sistema semi-automatizado de contagem de ovos de *Aedes aegypti*, a partir da criação de um banco de imagens de substratos de oviposição, trabalhadas digitalmente. Através disso, espera-se que futuramente possamos minimizar os esforços na contagem de ovos, diminuir a margem de erro do NMO e otimizar o estabelecimento de indicadores entomológicos fundamentais para a aplicação de ações de controle vetorial.

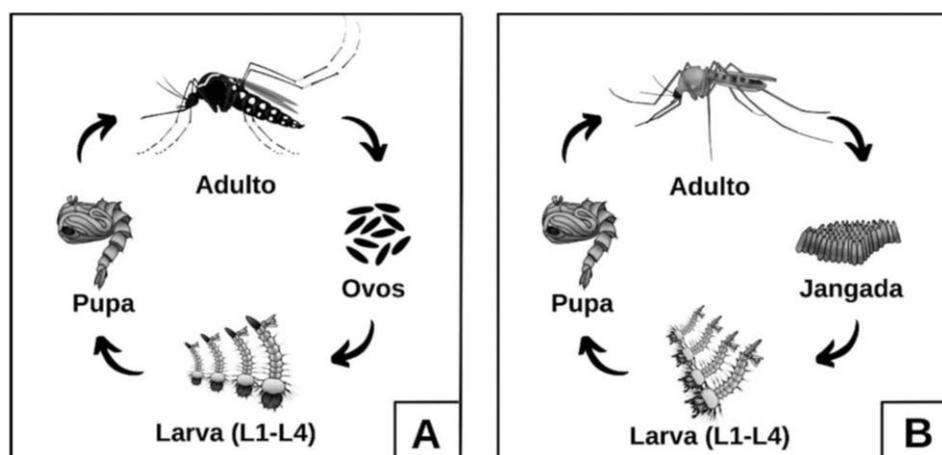
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Culicídeos Vetores

As primeiras espécies de artrópodes da ordem Díptera, pertencentes à família Culicidae, foram descritas em meados do século XVIII, e durante muitos anos acreditou-se que o único problema associado a esses indivíduos era o incômodo proveniente da sua picada, no entanto, no final do século XIX foi possível estabelecer uma relação entre o seu hábito hematofágico e a transmissão de patógenos aos seres humanos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; WU et al., 2019). A exemplo, temos diversos arbovírus, como os causadores da dengue, Zika e Chikungunya; o nematóide *Wuchereria bancrofti*, principal agente da filariose nas Américas; e protozoários do gênero *Plasmodium*, responsáveis pela malária (DEUS, 2011). Por esse motivo, espécies de mosquitos pertencentes ao gênero *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*, que atuam como vetores, são de grande importância médica.

Esses insetos, que são popularmente conhecidos como mosquitos, pernilongos, carapanãs e muriçocas, possuem um ciclo biológico classificado como holometábolo, por apresentarem metamorfose completa durante seu desenvolvimento pós embrionário, que compreende as seguintes fases: ovo, quatro fases larvais (L1-L4), pupa e o mosquito adulto/alado (figura 1) (BECKER et al., 2010; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FOSTER; WALKER, 2019).

Figura 1- Ciclo biológico das espécies *Aedes aegypti* (A) e *Culex quinquefasciatus* (B).



Fonte - Modificado do Google imagens, 2022

Os ovos dos mosquitos eclodem quando em contato com a água, podendo ser depositados em sua superfície, agrupados em forma de jangada, ou em substratos úmidos com potencial para inundação, a depender da espécie, e é nesse meio em

que ocorre o desenvolvimento das suas fases imaturas (larvas e pupas) (FOSTER; WALKER, 2019; MARQUES et al., 2013).

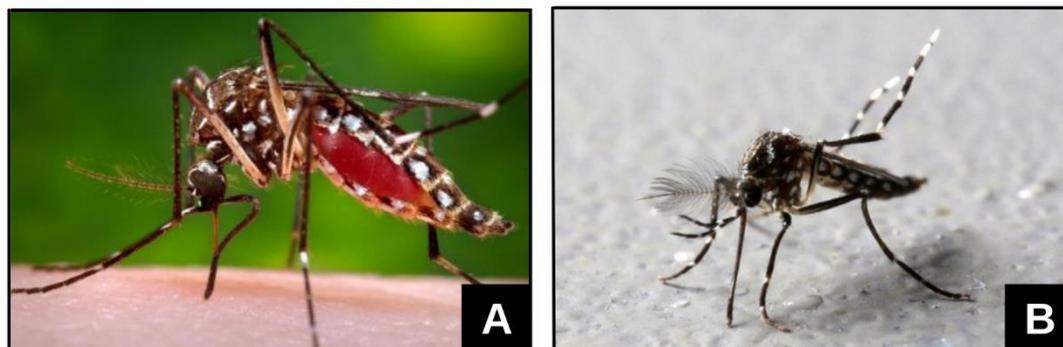
As larvas são amplamente adaptadas a ambientes de água doce, englobando uma grande variedade de habitats, que vão dos criadouros naturais aos artificiais (MARTINS et al., 2010). Durante essa fase, esses imaturos se alimentam de material orgânico e aumentam seu tamanho corporal, passando por três mudas, até que ao final do quarto instar se tenha a origem da pupa, último estágio imaturo. Nessa fase, inicia-se o processo de metamorfose com a passagem do estágio larval para o adulto (CARVALHO; MOREIRA, 2017; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Os culicídeos adultos apresentam dimorfismo sexual e realizam locomoção aérea em busca de alimento e parceiros para acasalar. Através do aparelho bucal do tipo picador-sugador, esses mosquitos ingerem carboidratos como fonte de alimentação, que em geral são provenientes de vegetais. No entanto, as fêmeas podem se alimentar de sangue de diversos animais, objetivando a maturação de seus ovos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002). É durante o repasto sanguíneo que a fêmea pode se infectar e realizar a transmissão de um patógeno ao hospedeiro, através da inoculação de sua saliva (WU et al., 2019).

2.2 Características bioecológicas do mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762

O mosquito *Aedes aegypti* possui uma coloração escura e apresenta escamas branco-prateadas que formam listras e manchas ao longo do seu corpo, sendo uma característica marcante para sua identificação o desenho em forma de “lira” estruturado por essas escamas na região superior do seu tórax (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; FOSTER; WALKER, 2019). A sua coloração pode estar associada ao processo adaptativo ao convívio humano (NATAL, 2002), esse fator atrelado ao seu voo silencioso e corpo pequeno, o torna dificilmente perceptível no ambiente. É possível realizar sexagem desses mosquitos a partir de suas características anatômicas, uma vez que o macho é menor que a fêmea, apresentando palpo maxilar longo e antenas plumosas, enquanto a fêmea tem o palpo maxilar curto e antenas pilosas (figura 2).

Figura 2 - Fêmea de *Aedes aegypti* durante repasto sanguíneo (A); macho da espécie *Ae. aegypti* (B)



Fonte - Adaptado do google imagens, 2022.

Oriundo do continente Africano, provavelmente da região etiópica, *Ae. aegypti* teve sua dispersão influenciada pelo processo de migração humana, estabelecendo populações em ambientes antropizados, em regiões tropicais e subtropicais do globo (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; TERRA et al., 2017). No Brasil, este mosquito foi introduzido durante o período colonial, a partir do tráfego de navios que traziam pessoas negras escravizadas. Em meados da década de 60, o vetor chegou a ser erradicado em diversos países americanos, incluindo o Brasil, seguindo um esforço continental para acabar com a Febre Amarela, no entanto, devido à falta de investimento em campanhas de eliminação do mosquito, houve sua reintrodução no país, sendo proveniente de países infestados (MACIEL; SIQUEIRA JÚNIOR; TURCHI MARTELLI, 2008; SCHATZMAYR, 2000).

O comportamento antropofílico deste vetor, reflete na busca por abrigo no intradomicílio humano, visando uma maior proximidade das fêmeas do mosquito com sua principal fonte de repasto sanguíneo, sendo comum encontrar *Ae. aegypti*, principalmente em ambientes urbanos e suburbanos, com elevado aglomerado de residências (CAMARA; URBINATTI; NETO, 2016). O mosquito apresenta hábitos diurnos, e as fêmeas são extremamente ágeis em realizar a picada, estando aptas a buscar novos hospedeiros após cada oviposição ou quando interrompidas durante o repasto, este comportamento lhe confere seu valor epidemiológico (NATAL, 2002). Apesar de os machos não realizarem a hematofagia, estudos como o de Campos e colaboradores (2017), revelam a possibilidade de transmissão venérea de arbovírus por esses indivíduos às fêmeas.

Após a hematofagia e maturação dos ovos, as fêmeas buscam recipientes preenchidos com água para realizar a oviposição, que ocorre um pouco acima da lâmina d'água. Em geral, são utilizadas estruturas artificiais, como: recipientes

plásticos, pneus, jarros de planta, copos descartáveis e até mesmo reservatórios, que são comumente utilizados em locais que sofrem com intermitência no abastecimento de água, no entanto, também podem ser encontrados em espaços naturais como bromélias e troncos de árvores (figura 3) (ARDUINO; ÁVILA, 2015; CAMARA; URBINATTI; NETO, 2016). Nesse processo, uma estratégia utilizada é a oviposição em saltos (*skip oviposition*), onde a fêmea realiza a distribuição de ovos, do mesmo ciclo gonadotrófico, em diferentes criadouros (DINIZ, 2018; REITER; GLAUBER, 1997), aumentando assim, as chances de sucesso da sua prole. Outro ponto importante é o fato de os ovos da espécie entrarem em estado de quiescência quando recebem estímulos ambientais não favoráveis à eclosão, podendo permanecer viáveis no ambiente por mais de um ano, característica que tem influenciado na dispersão passiva do vetor (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; SILVA; SILVA, 1999).

Figura 3 - Hematofagia (A); sítios de oviposição/ criadouros (B-E); ovos de *Ae. aegypti* (F).



Fonte - (A) Adaptado do canva; (B-F) adaptado do google imagens, 2022

Fatores ambientais como umidade, temperatura e precipitação, podem gerar impactos no ciclo de vida desses mosquitos, sendo capazes de influenciar o período embrionário e viabilidade de seus ovos, assim como, a eclosão e desenvolvimento das larvas e a longevidade e fecundidade dos adultos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MARINHO, 2013). Desse modo, após períodos chuvosos, com uma maior disponibilidade de criadouros para *Ae. aegypti*, há uma tendência do aumento da sua densidade populacional (ZEQUI et al., 2018). Em condições de elevadas temperaturas, o tempo de desenvolvimento do mosquito é reduzido (BESERRA et al., 2019), o que corrobora para sua rápida dispersão. Apesar disso, devido sua

proximidade com os seres humanos, o mosquito é capaz manter uma população considerável mesmo em períodos mais secos, se utilizando de criadouros semiperenes mantidos independentemente das chuvas, indicando a necessidade do direcionamento de atividades de vigilância e controle durante todo o ano para a espécie (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; COSTA et al., 2008).

2.3 Epidemiologia e vigilância de *Aedes aegypti* no Brasil

As arboviroses são doenças causadas por vírus que têm parte do seu ciclo replicativo realizado em artrópodes (arbovírus), podendo ser transmitidos aos seres humanos e outros animais a partir da picada de indivíduos hematófagos. Dentre as espécies de arbovírus descritas, mais de 150 tem causado doenças humanas, com grande parte delas estabelecendo ciclos zoonóticos (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014). O Brasil oferece condições ideais para a disseminação de arbovírus, devido ao seu clima predominantemente tropical que fomenta o estabelecimento de um subsistema ecológico, formado pelos arbovírus, mosquitos vetores, hospedeiros amplificadores e reservatórios (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014). No país *Ae. aegypti* representa o principal mosquito de importância médica, transmitindo especialmente os 4 sorotipos do vírus da Dengue, além do vírus Zika e Chikungunya (TERRA et al., 2017). Apesar disso, a presença de *Ae. albopictus* no ambiente urbano não deve ser negligenciada, uma vez que podem realizar a oviposição em recipientes de origem antrópica e serem abundantes em regiões de vegetação densa próximos a residências humanas, podendo atuar como vetor secundário do dengue (ZEQUI et al., 2018).

A transmissão do arbovírus dengue tem ocorrido de forma contínua no Brasil desde 1986, correspondendo a cerca de 70% dos casos da doença reportados nas Américas (TEIXEIRA et al., 2009; WHO/TDR, 2009). Trata-se da arbovirose mais prevalente do mundo, disseminada especialmente em centros urbanos, sendo uma enfermidade sistêmica, de caráter infeccioso, aguda e febril (MENEZES et al., 2021). De acordo com o Ministério da Saúde, até a décima quinta semana epidemiológica de 2022 (02/01 a 16/04), foram registrados cerca de 464.255 casos prováveis da doença, o que representa um aumento de mais de 100% com relação ao mesmo período do ano anterior, demonstrando o grande risco de exposição à doença pela população brasileira.

O arbovírus Zika chegou ao país no início de 2015 (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015), e no ano seguinte foi responsável por uma epidemia na qual o país foi alvo de preocupação mundial devido ao grande número de casos de síndrome congênita do Zika, assim como complicações associadas à sua infecção. Neste mesmo período, o país também sofreu uma epidemia causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV), afetando milhares de brasileiros e causando morbidades crônicas (AZEVEDO; OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2015). Existem também outros arbovírus circulantes no país que causam infecções humanas em menores proporções, e por isso ainda não são muito comuns à população, mas que podem acarretar surtos e epidemias em condições favoráveis (BALEOTTI; MORELI; FIGUEIREDO, 2003; BRONZONI et al., 2004).

Mesmo diante do grande impacto para a saúde mundial atribuído às arboviroses, ainda há um entrave na prevenção e tratamento dessas doenças, uma vez que atualmente não existem vacinas comerciais ou medicamentos para a maioria delas (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017; MONTEIRO; ARAÚJO, 2020), sendo considerado, portanto, o controle vetorial uma das melhores alternativas para minimizar a expansão viral, buscando promover a contenção de surtos (ACHEE et al., 2015). Nesse contexto, a Vigilância Entomológica assume um caráter primordial no planejamento de prevenção das doenças causadas por arbovírus, uma vez que direciona a elaboração e otimização de ações de controle (GOMES, 1998; NUNES, 2013). Para isso, se utiliza de fatores como a presença do vetor no ambiente, os índices de infestação, previstos a partir de sua densidade, a susceptibilidade à inseticidas e aos vírus, a eficácia dos métodos de controle empregados, além da prevalência das doenças (BRASIL, 2002).

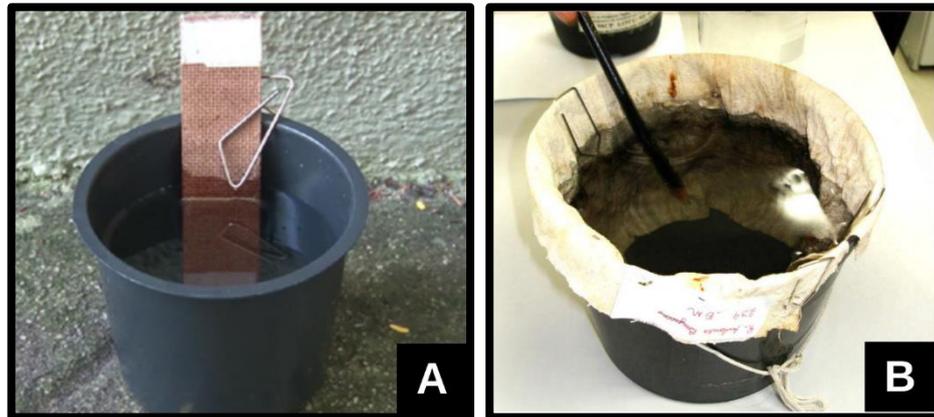
Objetivando a redução da infestação de *Ae. aegypti*, a incidência de casos da dengue e a letalidade por febre hemorrágica, em 2002, foi instituído no Brasil o Plano Nacional de Controle a Dengue (PNCD). Dentre seus componentes, este documento prevê o monitoramento entomológico a partir da busca ativa de possíveis criadouros e a constatação da presença de larvas do mosquito (BRASIL, 2002; MELO, 2019). Para tanto, o Levantamento Rápido de Índices para *Ae. aegypti* (LIRAA) tem sido empregado em diversos municípios brasileiros, demonstrando a infestação larvária através dos índices de Breteau (IB) e Predial (IP) (BRASIL, 2013). Apesar disso, a técnica não tem sido tão sensível em expressar os níveis reais de infestação do vetor, além de demandar bastante esforço dos agentes de endemias na busca por

criadouros de difícil acesso. Assim, estudos sugerem a sua implementação de forma conjunta com outras estratégias, como as armadilhas de oviposição, por exemplo (BRAGA et al., 2000; MONTEIRO et al., 2020; SÁ, 2018).

2.4 Uso de ovitrampas no monitoramento de *Aedes aegypti*

As ovitrampas (FAY; PERRY, 1965) são armadilhas confeccionadas a partir de um recipiente preto de volume variado, que possui duas palhetas de madeirite acopladas ao seu interior, servindo como substrato de oviposição (figura 4 a). Esses recipientes são preenchidos com água, fornecendo um ambiente ideal para a realização da postura de ovos por fêmeas grávidas de *Ae. aegypti*, podendo ser tratados com o larvicida biológico à base de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti), evitando que se tornem um criadouro caso haja a eclosão das larvas (REGIS et al., 2008). Além disso, existe a possibilidade de adaptações da armadilha, com a utilização de tecido de algodão cru como substrato, visando aumentar a superfície de oviposição (SANTOS, 2008) (figura 4 b).

Figura 4- Armadilhas de oviposição (ovitrampas): substrato de madeirite (A); substrato de algodão (B)



Fonte - (A) Adaptado da Comunicação/ Instituto Oswaldo Cruz (2014); (B) adaptado de Santos (2008)

Dentre as vantagens da utilização da ovitampa para o monitoramento de *Ae. aegypti*, podemos destacar sua sensibilidade em detectar o mosquito no ambiente, mesmo em áreas de baixa infestação, ser um material de baixo custo, apresentar uma baixa demanda operacional e demonstrar a distribuição geográfica do vetor (ACIOLI, 2006; ZEQUI et al., 2018). Além disso, essa ferramenta é capaz de realizar a retirada massiva de ovos do ambiente, uma vez que pode coletar milhares de ovos a cada

manutenção (MELO,2019), interferindo assim no ciclo de vida do mosquito, o que configura uma importante estratégia de controle.

A infestação de *Ae. aegypti* em uma determinada região pode ser estipulada através dessas armadilhas utilizando-se o índice de densidade de ovos (IDO), que corresponde ao número total de ovos coletados pelo total de armadilhas instaladas (BRASIL, 2009). Para isso, após a manutenção das ovitrampas, os substratos coletados são levados aos laboratórios onde especialistas realizam a contagem dos ovos com o auxílio de um estereomicroscópio. No entanto, a contagem desses ovos tem demandado bastante esforço do operador, especialmente levando em consideração os substratos que apresentam uma grande densidade de ovos. Outro ponto que torna o trabalho mais laborioso, é o fato de que a lente da lupa não cobre toda a região da palheta, existindo a possibilidade de haver a contagem da mesma área mais de uma vez ou que não seja contada (TIBA et al., 2011). Isso tem favorecido a ocorrência do erro humano nas contagens, especialmente devido ao cansaço e por demandar bastante tempo e atenção do trabalhador (TIBA et al., 2011), além de dificultar a agilidade na obtenção desses dados entomológicos. Outro fator, é que devido ao acúmulo de palhetas, com o passar do tempo os ovos começam a se desprender do substrato, havendo uma perda do material (SILVA, 2011).

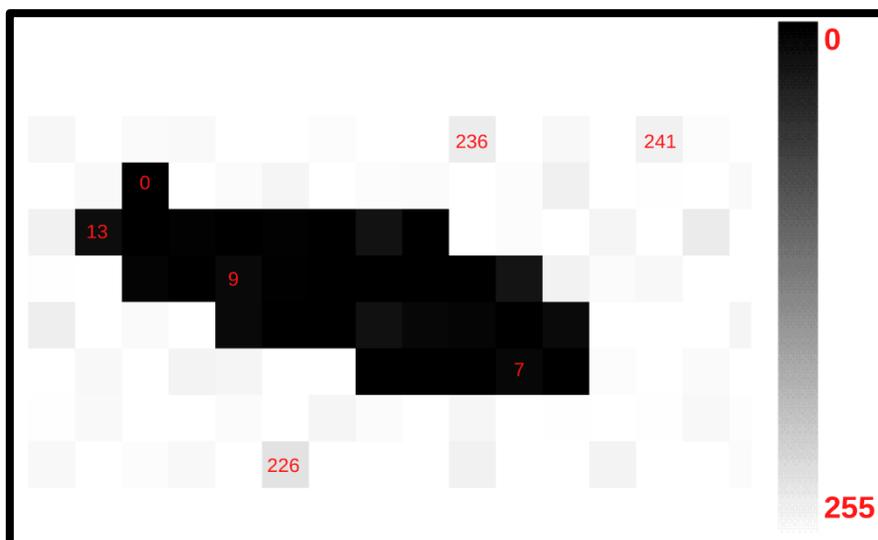
2.5 Contagem de ovos de *Aedes aegypti* a partir de imagens

Partindo da problemática descrita no tópico anterior, a abordagem computacional tem sido estudada como uma estratégia que visa facilitar o processo de contagem de ovos de *Ae. aegypti*, uma vez que a máquina pode ser empregada de forma contínua, com caráter determinístico e sem que haja sua exaustão (BRUN et al., 2020). Para isso, a técnica de processamento de imagens é uma das ferramentas empregadas, valendo-se de diferentes estratégias para alcançar esse objetivo (GABURRO et al., 2016; MAINS; MERCER; DOBSON, 2008; ROCHA et al., 2019).

O processamento de imagens tem duas principais finalidades: aperfeiçoar a informação visual, possibilitando uma melhor interpretação humana da cena e processar dados presentes nas imagens, objetivando a percepção automática desses elementos através de máquinas (GONZALEZ; WOODS, 2000; MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999). O segundo exemplo é o modelo discutido no presente trabalho.

Nessa atividade, o primeiro passo após a obtenção das imagens, é a realização de um **pré-processamento**, buscando melhorá-la. Assim, costuma-se utilizar técnicas para realçar contrastes e minimizar ou remover os ruídos. O próximo passo é a **segmentação**, processo no qual uma imagem de entrada, que possui várias cores é convertida em apenas duas, normalmente preto e branco, sendo dividida em partes ou objetos constituintes, que tipicamente é composta por dados em forma de *pixels* na imagem de saída (GONZALEZ; WOODS, 2000; SILVA, 2011). Para isso, é utilizada a técnica de limiarização do histograma da imagem, em que seus *pixels* são convertidos em preto ou branco a partir da sua proximidade com um valor de limiar estabelecido para a escala em cinza (figura 5) (SILVA, 2011).

Figura 5 - esquema da classificação dos *pixels* de acordo com o tom de cinza



Fonte- Google imagens (adaptado), 2022

Nota - Neste esquema podemos observar os pixels de uma imagem sendo classificados de acordo com o tom de cinza a partir de um limiar, ou seja, valor médio estabelecido na escala. Assim, aqueles que assumem valores abaixo do limiar, mais próximos a 0, são convertidos na cor preta e aqueles mais próximos a 255 na cor branca, possibilitando a diferenciação entre fundo e objeto.

A última etapa está relacionada ao reconhecimento e interpretação desses dados, sendo necessário que o operador atribua significado ao conjunto de *pixels*/objetos (GONZALEZ; WOODS, 2000), neste trabalho, tal processo corresponde a **classificação supervisionada**, realizada a partir do conhecimento prévio dos valores dos pixels.

Para empregar o processamento de imagens na contagem de ovos de *Ae. aegypti*, um desafio enfrentado pelo campo computacional tem sido estabelecer

critérios para identificar de forma precisa os ovos da imagem, destacando-o do fundo e de possíveis ruídos, a partir da otimização das características presentes nas imagens (BRUN et al., 2020). Apesar de diversos trabalhos presentes na literatura terem se dedicado a isso, boa parte deles se utilizaram de um baixo número de imagens para validar a técnica adotada, a exemplo de Santos et al. (2008), Mello et al. (2009), Rocha et al. (2019), entre outros, o que não exprime a variedade de substratos encontrados em campo, não somente no tocante a densidade de ovos, mas também em relação as condições de conservação. Portanto, com este trabalho pretendo verificar o desempenho de um sistema semiautomático para contagem de ovos de *Aedes Aegypti*, utilizando a técnica de processamento de imagens, a partir da montagem de um banco de imagens com diferentes características.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Fornecer subsídios para calibragem de um sistema semiautomatizado de contagem de ovos de *Aedes aegypti*.

3.2 Específicos

- a. Identificar a compatibilidade da forma de obtenção das imagens dos substratos de oviposição com o sistema de processamento;
- b. Verificar o desempenho do sistema no processamento proposto, nas imagens obtidas;
- c. Estimar a quantidade de ovos presentes nas imagens;
- d. Comparar os dados obtidos através do processamento de imagens com a contagem manual para dois tipos de substratos.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção de imagens de substratos de oviposição:

Com o apoio do insetário do Departamento de Entomologia do Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ-PE), foi utilizado três gaiolas contendo diferentes densidades de fêmeas recém emergidas de *A. aegypti* (5, 10, 15 respectivamente), buscando uma variação no número de ovos, e em cada uma dessas gaiolas foram colocados também 10 machos para garantir a cópula. Os mosquitos de todas as gaiolas experimentais receberam alimentação açucarada por 48 horas. As fêmeas grávidas receberam alimentação sanguínea, possibilitando a maturação dos seus ovos. Passadas 24 horas da alimentação sanguínea, foram disponibilizados dois tipos de substratos para oviposição nas gaiolas, um feito em maderite pura (palheta) e outro com maderite revestida por um tecido de algodão. Após três dias as palhetas foram recolhidas e postas para secar. Em seguida, foram capturadas imagens dessas palhetas de oviposição (de maderite e de maderite+tecido de algodão) utilizando um celular com câmera de 12MP e estabilização óptica, encaixado em um suporte, desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, que permitiu padronizar a distância entre o substrato e a câmera do aparelho. Essas imagens foram armazenadas de forma compartilhada, através da plataforma Google Drive, sendo catalogadas de acordo com o tipo de substrato de oviposição e a quantidade de ovos presentes.

4.2 Contagem manual dos ovos

Os substratos de oviposição foram analisados por uma pessoa treinada, utilizando um microscópio estereoscópio com aumento de 10x para possibilitar a contagem individual dos ovos. Assim, foi possível estabelecer o número de ovos por substrato, para uma posterior comparação com os dados obtidos a partir da contagem semi-automática.

4.3 Processamento de imagens

As imagens catalogadas foram tratadas com filtros pré-definidos, utilizando o programa IrfanView, para mostrar ao computador o que deve entender como ovo do mosquito, distinguindo-o de outros elementos, como o substrato em que o ovo está aderido e outros ruídos que possam confundir-lo na detecção do objeto desejado. Para isso, inicialmente, as imagens foram convertidas em preto e branco e em seguida

foram estabelecidos valores de contraste, gama e saturação que melhor atuavam no destaque dos ovos (objeto) em relação ao substrato (fundo da imagem).

Para estimar a quantidade de ovos presentes nas imagens, após a aplicação dos filtros de realce e de contraste, foi realizada a segmentação, a partir do programa Terra View, que realiza uma pré-classificação da imagem com base no conhecimento prévio dos valores dos pixels que correspondem aos ovos, utilizando-se da técnica de limiarização do histograma da imagem. Outra etapa importante nesse programa foi a classificação supervisionada, onde foram selecionadas diferentes amostras de *pixels*, dividindo a imagem em duas categorias: ovo e palheta.

Com a utilização do programa Qgis, foi possível estabelecer o valor médio de um ovo em pixels nas imagens, onde também, foi realizado o processo de contagem total dos pixels da imagem. Após a identificação dos pixels que se comportam como ovo na imagem, foi realizado o cálculo da estimativa do quantitativo de ovos na palheta, considerando o número total de pixels da imagem classificados como ovo dividido pelo número médio de pixels de apenas um ovo.

$$\text{Total de ovos} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de } \textit{pixels} \text{ compreendidos como ovos na imagem}}{\text{n}^\circ \text{ médio de pixels em um ovo}}$$

4.4 Análise dos dados

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada pelo Núcleo de Estatística e Geoprocessamento - NEG (Fiocruz-PE). Para isso, as variáveis envolvidas no estudo foram testadas quanto a sua distribuição de normalidade utilizando o teste de Shapiro Wilk. Sendo avaliados quanto a abordagem paramétrica ou não paramétrica. Observado a violação da normalidade, aplicou-se o teste de Mann-Whitney avaliando assim as diferenças entre as medianas. Também foi adotado o nível de significância de 5% para confirmar as conclusões. O software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2020) foi utilizado na avaliação dos resultados do estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas um total de 40 imagens, sendo 20 referentes aos substratos de oviposição em madeirite pura (grupo M) e as outras 20 aos substratos revestidos com tecido de algodão (grupo T). A densidade de ovos presentes nas amostras variou entre um valor mínimo de 5 e máximo de 183 para o grupo M e um valor mínimo de 12 e máximo de 131 ovos para o grupo T, possibilitando analisar o desempenho do sistema de contagem semiautomática em palhetas com diferentes densidades de ovos, dispostos sobre dois fundos diferentes. Nas imagens classificadas, encontramos um valor médio de aproximadamente 30 *pixels/ ovo*.

Nas tabelas 1 e 2 podemos observar os resultados das contagens, obtidos para os grupos trabalhados. Nestas tabelas, foram discriminados em cinza aqueles cujo sistema semiautomático não foi capaz de realizar a contagem, sendo impossível diferenciar os pixels de ovos dos ruídos da imagem.

Tabela 1 - Resultados obtidos a partir dos experimentos realizados com o grupo M.

Imagem	Contagem Manual	Contagem semiautomática	Diferença
1M	5	9	-4
2M	15	X	X
3M	16	788	-772
4M	18	X	X
5M	28	91	-63
6M	29	X	X
7M	36	40	-4
8M	42	82	-40
9M	45	78	-33
10M	46	65	-19
11M	53	4945	-4892
12M	58	71	-13
13M	62	323	-261
14M	69	X	X
15M	75	1329	-1254
16M	98	1016	-918
17M	102	179	-77
18M	124	151	-27
19M	128	2253	-2125
20M	183	606	-423

Fonte - O autor, 2022

Tabela 2 - Resultados obtidos a partir dos experimentos realizados com o grupo T.

Imagem	Contagem Manual	Contagem semiautomática	Diferença
1T	12	11	1
2T	12	18	-6
3T	14	53	-39
4T	18	49	-31
5T	23	x	x
6T	26	27	-1
7T	26	42	-16
8T	30	60	-30
9T	31	29	-2
10T	48	70	-22
11T	54	69	-15
12T	56	56	0
13T	58	57	1
14T	64	101	-37
15T	65	95	-30
16T	65	72	-7
17T	69	93	-24
18T	78	139	-61
19T	125	159	-34
20T	131	142	-11

Fonte - O autor, 2022.

Apesar de uma maior densidade de ovos no substrato favorecer a sua sobreposição, sendo um fator que interfere na contagem manual e por imagens, os resultados expressos nas tabelas 1 e 2 nos permite constatar que a eficiência na contagem de ovos a partir do sistema semiautomático, nesse estudo, não teve necessariamente a densidade de ovos como principal fator de interferência nos resultados. Isto pode ser observado ao se comparar as imagens 7, 8 e 10 do grupo M que apresentam uma densidade de ovos próxima, mas obtiveram diferenças variadas, bem como as imagens 7 e 18 do mesmo grupo que apresentaram pouca diferença, apesar da distinta densidade de ovos. O mesmo comportamento foi visto no grupo T entre as imagens 5 e 18 para uma diferença considerável e 1 e 13 para uma diferença mínima. Desse modo, outros fatores como a condição de preservação e secagem da palheta, iluminação e foco, especialmente na região em que os ovos estão dispostos, podem ter tido um papel primordial nos resultados expostos.

Na tabela 3 podemos observar que das 40 imagens de substrato selecionadas, 35 foram processadas digitalmente, obtendo-se uma média de 55,92 de ovos por substrato, através da contagem manual, em comparação a 381,94 pela contagem semiautomática o que nos revela uma diferença estatística ($P=0,0014$) entre as duas técnicas adotadas para a contagem dos ovos.

Tabela 3 Comparação entre os dados obtidos de modo geral e para cada grupo trabalhado.

Substrato	Contagem	N	Min	Max	Média	Mediana	Desvio	EP	valor p
Geral	Manual	40	5	183	55,92	50,5	40,08	6,34	0,0014
	Semiautomática	35	9	4945	381,94	78	915,99	154,83	
Madeirite	Manual	20	5	183	61,6	49,5	45,55	10,19	0,0013
	Semiautomática	16	9	4945	751,62	165,00	1277,18	319,30	
Tecido	Manual	20	12	131	50,25	51	33,99	7,6	0,1091
	Semiautomática	19	11	159	70,63	60	41,95	9,62	

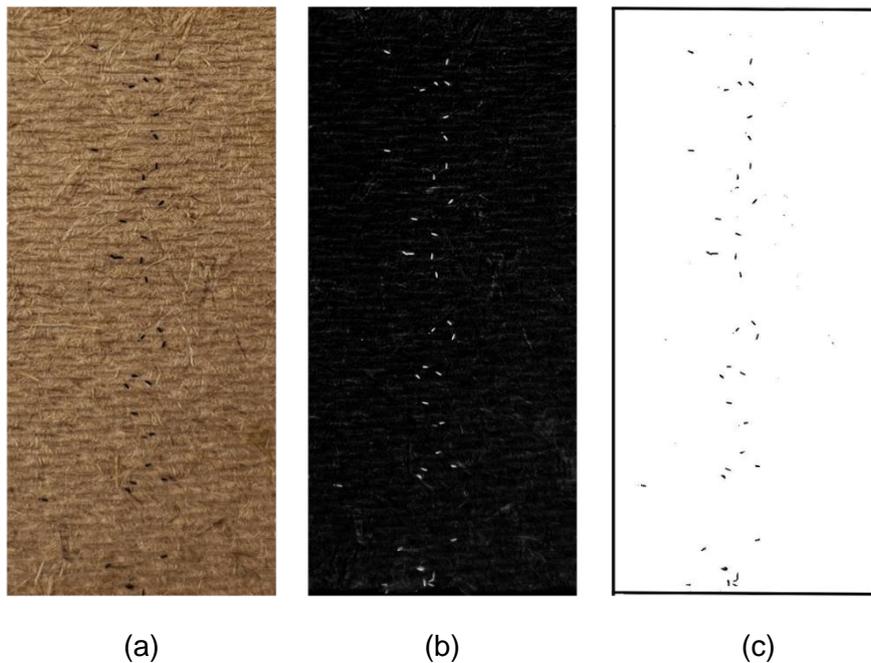
Fonte O autor, 2022

Quando comparada a contagem apenas entre o grupo M, observamos uma média de 61,6 ovos por substrato de madeirite a partir da contagem manual e 751,62 pela contagem semiautomática, havendo uma diferença estatística ($p= 0,0013$) entre os métodos adotados. Já no grupo T, foi obtido uma média de 50,25 ovos por substrato de tecido através da contagem manual, enquanto para a contagem semiautomática obtivemos em média 70,63 ovos por substrato, não existindo diferença estatística entre as técnicas adotadas para esse grupo ($p= 0,1091$). Esses resultados apontam uma maior facilidade de reconhecimento dos ovos, através do computador, em imagens de substratos revestidos pelo tecido de algodão em comparação os de madeirite pura, cujo a cor do fundo da imagem (palheta), em muitos casos, se assemelha a cor do objeto (ovo). Um resultado similar foi visto em Alves (2016) ao trabalhar com os mesmos materiais, provavelmente pelo fato de o substrato de oviposição que é revestido por tecido de algodão apresentar um fundo de imagem mais uniforme e promover um destaque natural aos ovos devido ao contraste entre as cores.

Com o intuito de observar os padrões de comportamento do sistema semiautomático sobre a realidade das fotografias obtidas, 6 imagens representativas foram separadas para expor as intercorrências durante o processo de contagem digital dos ovos, permitindo compreender a obtenção desses resultados. A Figura 6 (imagem 7M) apresentou pouca diferença entre a contagem manual e semiautomática para o

grupo M, havendo um bom destaque entre ovos e o substrato após a aplicação dos filtros de realce, o que oferece condições ideais para o reconhecimento dos *pixels* que representam ovos na imagem após a segmentação. Um fato que pode ter implicado na diferença (4 ovos) entre contagem manual e semiautomática, nesse caso, foi o aglomerado de ovos presentes em algumas regiões, bem como a dificuldade em estabelecer a quantidade exata de *pixels*/ ovos nas imagens uma vez que o tamanho dos ovos é variado e conseqüentemente os *pixels* também.

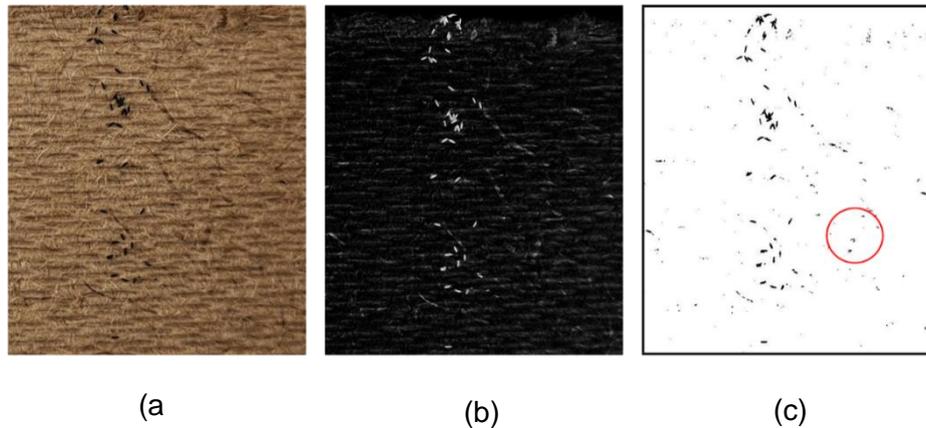
Figura 6- Imagem 7 do grupo M. Imagem original (a), aplicação do filtro de realce (b) e segmentação (c)



A Figura 7 apresenta o processamento da imagem 8M, que obteve uma diferença de 40 ovos entre a contagem manual e semiautomática ao final do experimento. A diferença se justifica devido a presença de *pixels* similares aos que representam ovos na imagem, provenientes de regiões do fundo que não foram devidamente corrigidas com o filtro, como o exemplo destacado na cor vermelha em (C). De acordo com Alves (2016), para minimizar problemas como esses recomenda-se realizar um corte na imagem, definindo uma região mais próxima possível aos ovos, desprezando então, a região da imagem que corresponde apenas a madeirite. No entanto, algumas vezes desprezar uma parte da imagem pode implicar na perda de regiões contendo ovos. Uma solução trabalhada por Santos et al. (2008) foi desprezar

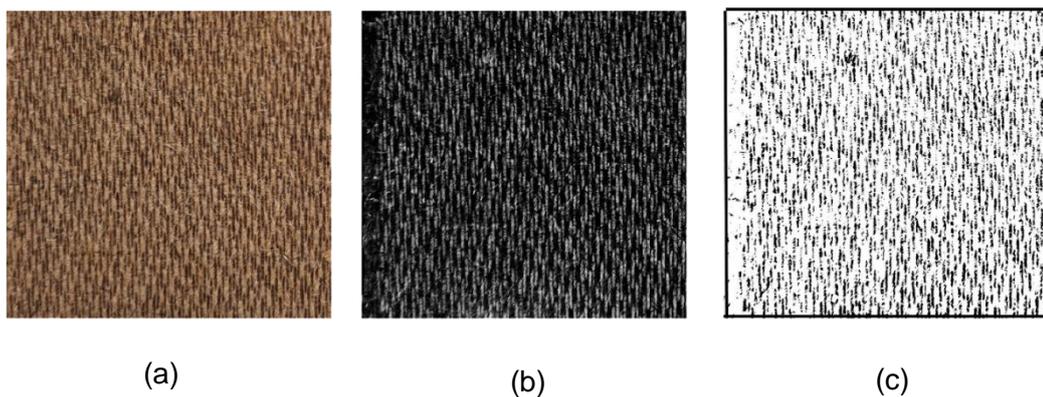
os conjuntos de *pixels* similares a ovos que ocupassem uma área menor que a pré-estabelecida para um ovo, sendo considerado artefato.

Figura 7 - Processamento da imagem 8 M. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c)



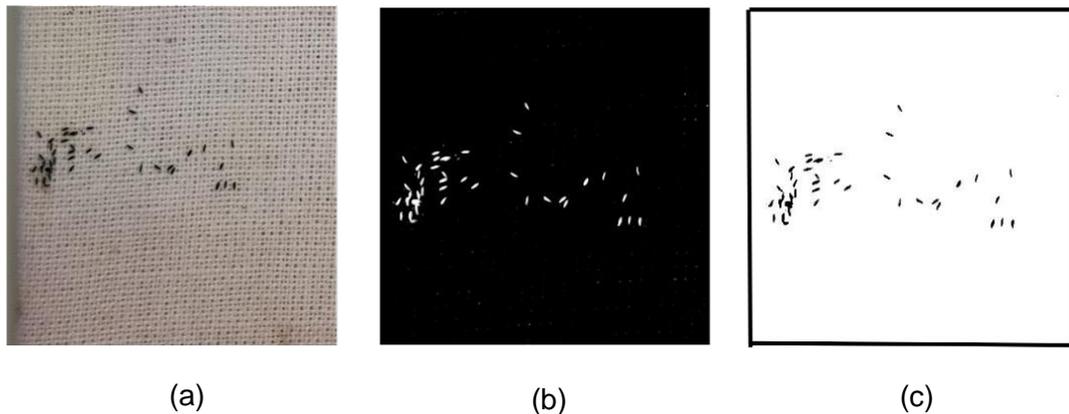
A Figura 8 representa o processamento da imagem 14M, cujo resultado foi considerado incontável. Nela observamos que a tonalidade escura do substrato dificulta a visualização dos ovos mesmo na imagem original 8 (a), essa diferença de tom com relação às imagens em que foi possível estabelecer um número aproximado de ovos, pode estar relacionado ao processo de secagem da palheta, tendo em vista que umidade altera suas características físicas. Outro ponto importante observado foi em relação ao foco e iluminação que não colaboraram para a identificação dos ovos. Estabelecer um foco uniforme em imagens de substratos de oviposição tem sido um desafio, principalmente nas extremidades das imagens (ALVES, 2016). Devido a isso, após a segmentação, as ranhuras do substrato foram erroneamente classificadas como ovos

Figura 8 - Processamento da imagem 14 M. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).



Com relação aos resultados obtidos através dos experimentos realizados com o grupo T, podemos observar na Figura 9 o processamento da imagem 12T, que obteve o melhor resultado, não havendo diferença entre o número de ovos contados através dos dois métodos. Para esse grupo outras imagens como a 1T, 6T e 13T também obtiveram bons resultados, com uma diferença mínima, apresentando condições similares às da 12T. Destacamos nessas imagens a boa conservação do tecido, que promove um destaque natural aos ovos favorecendo o processamento, além do foco na região dos ovos e iluminação adequada.

Figura 9 - Processamento da imagem 12 T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).



As Figuras 10 e 11 representam exemplos de processamentos de imagem do grupo T, cujas diferenças foram elevadas. Nestes casos, uma das intercorrências observadas foi com relação ao foco (destaque em azul), uma vez que em imagens com ovos mais espalhados se obteve uma dificuldade para atingir o foco em toda região da palheta como visto anteriormente. Outro ponto importante para as palhetas com algodão, foram os poros do tecido que muitas vezes foram confundidos pelo sistema com *pixels* de ovos (destaque em vermelho), possivelmente devido a iluminação durante a obtenção da imagem.

Figura 10 processamento da imagem 18 T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).

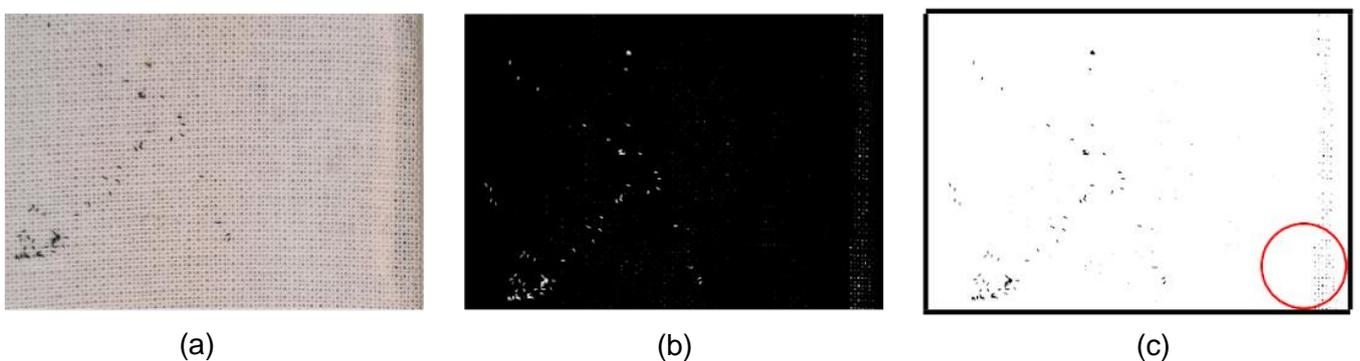
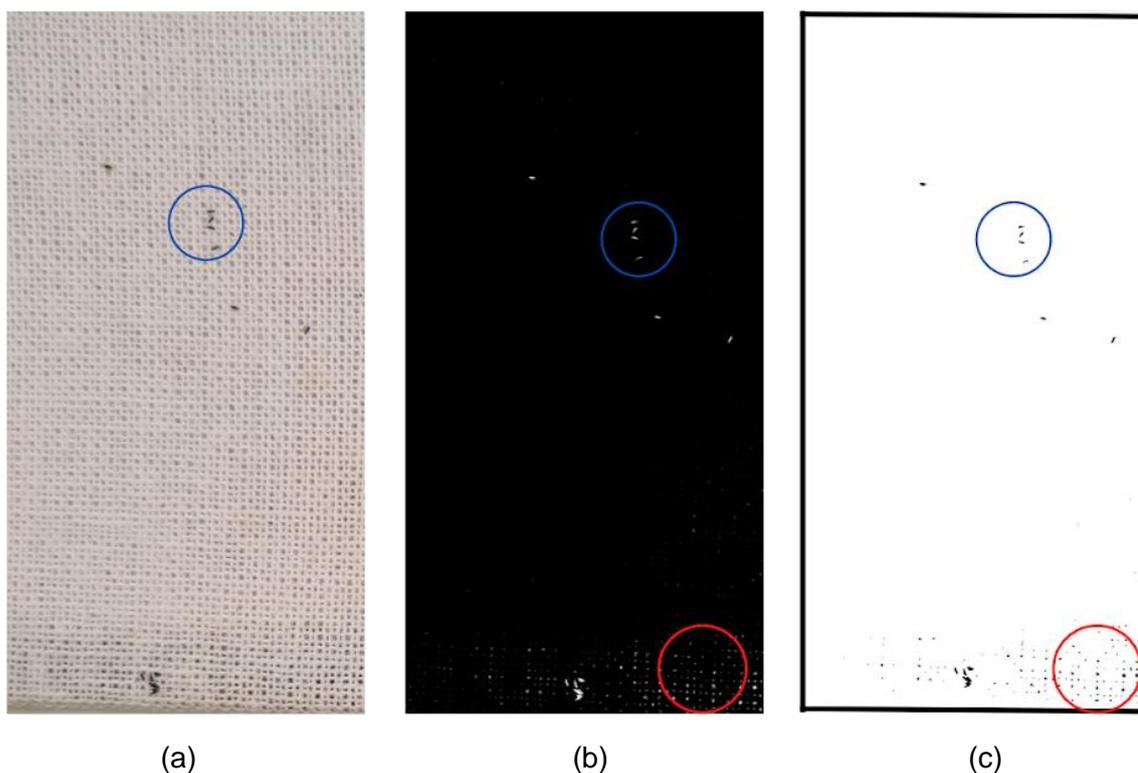


Figura 11 processamento da imagem 3T. Imagem original (a), imagem após filtro de realce (b) e segmentação (c).



Trabalhos como o de Silva (2011) e Rocha et al. (2019), propuseram um sistema automatizado para contagem de ovos, mas pautado no desenvolvimento de um hardware específico para a digitalização de palhetas de oviposição. No entanto, o nosso objetivo é que futuramente possamos facilitar o acesso a uma contagem automatizada por meio da utilização de câmeras de celular. Esse feito foi trabalhado por Alves (2016) em sua pesquisa, no entanto, ainda requerendo esforço humano para a detecção de ovos nas imagens, demonstrando a necessidade da continuação de pesquisas na área. Portanto, para o desenvolvimento futuro de um sistema automático de contagem de ovos, faz-se necessário testes como estes visando estabelecer critérios adequados para utilização das ferramentas adotadas, uma vez que segundo Brun et al. (2020), o desempenho do método pode variar de acordo com a forma de obtenção das imagens (resolução, distância, iluminação).

6 CONCLUSÕES

Um sistema automático para contagem de ovos, tem por principal finalidade reduzir os esforços de trabalhadores que desenvolvem a contagem de forma manual e a taxa de erro, bem como agilizar o processo de obtenção de dados entomológicos, fornecendo um direcionamento para ações de controle do vetor. As ovitrampas oferecem um bom desempenho no monitoramento *Ae. aegypti*, sendo capazes de detectar a presença do vetor em uma região e sua distribuição geográfica. Desse modo, consideramos que estipular valores aproximados de ovos presentes em substratos de oviposição, nos permite compreender o grau de infestação de um local por esse vetor. Assim, mesmo em situações em que valor de ovos encontrados através da contagem manual e semiautomática diferirem, se a diferença absoluta entre o valor real de ovos presentes no substrato e o valor da contagem por processamento de imagens ou contagem manual for baixo, ainda é possível inferir o nível de infestação de formas imaturas no ambiente, sendo a otimização do tempo um importante fator a ser considerado.

Mesmo havendo diversos trabalhos na literatura que tentaram otimizar o processo de contagem de ovos de *Ae. aegypti* através de estratégias computacionais, na prática essa técnica ainda é pouco difundida. Isso porque os substratos de oviposição em situação de campo, estão expostos a diversos fatores que podem alterar suas características originais, como a impregnação por fungos e presença de insetos mortos aderidos a estrutura, além da presença de ovos de outros insetos. E muitos desses trabalhos têm utilizado poucas imagens como teste para validar a técnica, muitas das quais encontram-se em condições que favorecem o reconhecimento dos ovos pelo computador, dificultando o estabelecimento de um padrão geral que funcione para a grande variedade de substratos encontrados em campo.

Este trabalho forneceu informações norteadoras para uma futura otimização do sistema proposto, principalmente no que diz respeito à obtenção das imagens para o processamento. Assim, consideramos que o aperfeiçoamento das condições de iluminação, foco e secagem da palheta podem melhorar consideravelmente os resultados para os dois materiais trabalhados, sendo necessários novos testes para confirmação.

REFERÊNCIAS

ACHEE, N. L. et al. A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 9, n. 5, p. e0003655, 7 maio 2015.

ACIOLI, R. V. **O uso de armadilhas de oviposição (ovitrampas) como ferramenta para monitoramento populacional do *Aedes spp* em bairros do Recife**. Dissertação de mestrado—[s.l.] Instituto Aggeu Magalhães, 2006.

ALVES, L. D. Desenvolvimento de um sistema de baixo custo para contagem automática de ovos de *Aedes aegypti* usando técnicas de processamento de imagens, Mestrado em modelagem matemática da informação, Escola de Matemática Aplicada da Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro, Brasil, 2016.

ARDUINO, M. de B.; DE ÁVILA, G. de O. Aspectos físico-químicos da água de criadouros de *aedes aegypti* em ambiente urbano e as implicações para o controle da dengue. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 89–100, 2015. DOI: 10.5216/rpt.v44i1.34801.

ARDUINO, M. DE B. et al. Importance of microenvironment to arbovirus vector distribution in an urban area, São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 53, p. e20190504, 2020.

AZEVEDO, R. DO S. DA S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. DA C. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, n. 0, p. 1–6, 2015.

AZEVEDO-SANTOS, V. M. et al. Nonnative Fish to Control *Aedes* Mosquitoes: A Controversial, Harmful Tool. **BioScience**, v. 67, n. 1, p. 84–90, 1 jan. 2017.

BALEOTTI, F. G.; MORELI, M. L.; FIGUEIREDO, L. T. M. Brazilian Flavivirus phylogeny based on NS5. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 3, p. 379–382, abr. 2003.

BARRETO, E. et al. Avaliação da armadilha ovitrampa iscada com atraente natural para o monitoramento de *Aedes spp*. em Dili, capital do Timor-Leste. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 665–672, fev. 2020.

BECKER, N. et al. **Mosquitoes and Their Control**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010.

BEERNTSEN, B. T.; JAMES, A. A.; CHRISTENSEN, B. M. Genetics of Mosquito Vector Competence. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 115–137, mar. 2000.

BESERRA, E. B. et al. Efeitos da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Iheringia, Sér. Zool.**, v. V. 99, n. 2, p. 142–148, jun. 2019.

BRAGA, I. A. et al. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição, para detecção de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 347–353, ago. 2000.

BRASIL. **Boletim epidemiológico**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 15 ed. Vol. 53. Brasília, 2022.

BRASIL. Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipo de recipientes. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Brasília, DF. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

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.

BRUN, A. L. et al. Uma revisão das técnicas computacionais para contagem de ovos de *Aedes aegypti* em imagens de ovitrampas. **Revista Brasileira de Computação Aplicada**, v. 12, n. 3, p. 1–15, 13 jul. 2020.

CAMARA, T. N. L.; URBINATTI, P. R.; NETO, F. C. Finding *Aedes aegypti* in a natural breeding site in an urban zone, Sao Paulo, Southeastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 50, n. 0, 2016.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. Atlanta, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, out. 2015.

CAMPOS, S. S. et al. Zika virus can be venereally transmitted between *Aedes aegypti* mosquitoes. **Parasites & Vectors**. London, v. 10, n. 1, p. 605, dez. 2017.

CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species? **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 46, n. 3, p. 243–255, jun. 2017.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. DE. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: Editora FIOCRUZ, 1994.

COSTA, F. S. et al. Dinâmica populacional de *Aedes aegypti* (L) em área urbana de alta incidência de dengue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Brasília, v. 41, n. 3, p. 309–312, jun. 2008.

DEUS, J. T. DE. Hábito alimentar de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* e sua implicação na capacidade reprodutiva. Doutorado em Epidemiologia—São Paulo: Universidade de São Paulo, 17 mar. 2011.

DINIZ, D. F. A. **Avaliação da diapausa e quiescência em populações naturais de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus***. Recife, PE: Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Aggeu Magalhães, mar. 2018.

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 Saúde Pública**. São Paulo, v. 51, n. 0, 2017.

FAY, R. W.; PERRY, A. S. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. **Mosquito News**. New York, v. 25, p. 276-281, 1965.

FORATTINI, O. P. Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. v. V. II

FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Mosquitoes (Culicidae). Em: **Medical and Veterinary Entomology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 261–325.

GABURRO, J. et al. Assessment of ICount software, a precise and fast egg counting tool for the mosquito vector *Aedes aegypti*. **Parasites & Vectors**, London, v. 9, n. 1, p. 590, dez. 2016.

GOMES, A. DE C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (stegomyia) aegypti* e *Aedes (stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do Sus**, v. 7, n. 3, p. 49–57, set. 1998.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento de imagens digitais**. São Paulo: Edgard Blucher, 2000.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. Ananindeua, v. 5, n. 3, fev. 2014.

MACIEL, I. J.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. B.; TURCHI MARTELLI, C. M. Epidemiologia e desafios no controle do dengue. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n. 2, 30 out. 2008.

MAINS, J. W.; MERCER, D. R.; DOBSON, S. L. Digital Image Analysis to Estimate Numbers of *Aedes* Eggs Oviposited in Containers. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno CA, v. 24, n. 4, p. 496–501, dez. 2008.

MANIERO, V. C. et al. Dengue, chikungunya e Zika vírus no Brasil: situação epidemiológica, aspectos clínicos e medidas preventivas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 118–145, 2016.

MARINHO, R. A. Ecobiologia de *Aedes aegypti* (L. 1762) (Diptera: Culicidae) associada a fatores climáticos em três mesorregiões da Paraíba. Paraíba: Universidade Estadual da Paraíba, maio 2013.

MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento digital de imagens**. Rio de Janeiro: BRASPORT, 1999.

MARQUES, G. R. A. M. et al. Água de abastecimento público de consumo humano e oviposição de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo v. 47, n. 3, p. 579–587, jun. 2013.

MARTINS, V. E. P. et al. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 73–77, fev. 2010.

MELLO, A. B. C. et al. Automatic Counting of *Aedes aegypti* Eggs in Images of Ovitrap. Em: R, G. (Ed.). **Recent Advances in Biomedical Engineering**. [s.l.] InTech, 2009.

MELO, D. C. T. V. Avaliação do impacto de ações integradas de controle vetorial sobre a infestação de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* em Recife-PE. (Mestrado em Biociência e Biotecnologia em Saúde)- Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Recife, 2019.

MENEZES, A. M. F. et al. Perfil epidemiológico da dengue no Brasil entre os anos de 2010 à 2019 / Epidemiological profile of dengue in Brazil between 2010 and 2019. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 13047–13058, 14 jun. 2021.

MONTEIRO, F. J. C.; CARVALHO, J. C. T.; SOUTO, R. N. P. Distribuição da Oviposição e Dinâmica Temporal do *Aedes aegypti* (Linnaeus) por Meio de Ovitrapas. **EntomoBrasilis**, v. 7, n. 3, p. 188–192, 5 dez. 2014.

MONTEIRO, R. M. M. et al. Estudo comparativo entre ovitrampa e o método LIRAA para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Pedro II, Piauí, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 38890–38912, 2020.

MONTEIRO, V. B.; ARAÚJO, J. A. Aspectos socioeconômicos e climáticos que impactam a ocorrência de dengue no Brasil: análise municipal de 2008 a 2011 por regressões quânticas para dados em painel. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 28126–28145, 2020.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes Aegypti*. v. V. 64, n. n. 2, p. 205–207, dez. 2002.

NUNES, V.N. Avaliação da metodologia de aspiração de mosquitos adultos para monitoramento da infestação por *Aedes aegypti* em área endêmica de dengue em Recife/PE. 2013. 65 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2013.

REGIS, L. et al. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 50–59, fev. 2008.

REITER, P.; GUBLER, D. J. Surveillance and control of urban dengue vectors. In: Gubler, D. J.; Kuno G. Dengue and dengue hemorrhagic fever. New York: CAB International Publication; p. 45-60. 1997.

ROCHA, C. D. F. DA et al. CONTAGEM AUTOMÁTICA DE OVOS DO *AEDES AEGYPTI* EM PALHETAS DE OVITRAMPAS: UM SISTEMA PARA AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO DE IMAGENS. Em: LUÍS FERNANDO PAULISTA COTIAN (Ed.). **Engenharias, ciência e tecnologia** 4. 1. ed. [s.l.] Antonella Carvalho de Oliveira, 2019. p. 67–74.

SÁ, Á. K. G. **Monitoramento da infestação de *Aedes aegypti* por utilização de ovitampas e pelo método LIRAA em um bairro do município de salgueiro, Pernambuco**. Dissertação de mestrado—Recife: Instituto Federal de Pernambuco, 2018.

SANTOS, M. A.V.M. ***Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): estudos populacionais e estratégias integradas para controle vetorial em municípios da Região metropolitana do Recife, no período de 2001 a 2007**. (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2008.

SANTOS, W. P. et al. Um algoritmo para contagem automática de ovos do mosquito *Aedes aegypti* em ovitampas para controle da dengue, **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**, pp. 1507–1510. (2008) Disponível em <https://tinyurl.com/y88984bd>.

SCHATZMAYR, G. H. Dengue Situation in Brazil by Year 2000. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. V. 95, p. 179–181, 2000.

SILVA, H. H. G. DA; SILVA, I. G. DA. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 349–355, ago. 1999.

SILVA, M. G. N. M. **Sistema de aquisição e processamento de imagens de ovitrampas**. Recife, PE: Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

TEIXEIRA, M. G. et al. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. suppl 1, p. S7–S18, 2009.

TERRA, R. M. et al. *Aedes aegypti* e as arboviroses emergentes no Brasil. v. V. 30, n. nº 3, p. 52–60, 2017.

TIBA, A. K. O. et al. **Sistema Autônomo de Reconhecimento e Contagem de Ovos de *Aedes aegypti***. Anais do 10. Congresso Brasileiro de Inteligência Computacional. **Anais...** Em: 10. CONGRESSO BRASILEIRO DE INTELIGÊNCIA COMPUTACIONAL. Fortaleza, Ceará: SBIC, 2011. Disponível em: <http://abricom.org.br/eventos/cbic_2011/st_27_4>. Acesso em: 5 maio. 2022

TOLLE, M. A. Mosquito-borne Diseases. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 39, n. 4, p. 97–140, abr. 2009.

WHO/TDR. Dengue, guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO Press. 2009.

WU, P. et al. Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 21, p. e1, 2019.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569–572, 9 jun. 2015.

ZEQUI, J. A. C. et al. Monitoramento e controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) com uso de ovitrampas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. V. 39, n. N. 2, p. 93–102, 2018.