

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES**  
**DE SAÚDE NA AMAZÔNIA**

JORDAM WILLIAM PEREIRA SILVA

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE VETORES PUTATIVOS DO VÍRUS MAYARO E VÍRUS  
OROPOUCHE EM ESTRATIFICAÇÃO VERTICAL E HORIZONTAL EM AMBIENTES  
FLORESTAIS E ANTROPIZADOS EM UMA COMUNIDADE RURAL NO AMAZONAS

MANAUS

2017

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES**  
**DE SAÚDE NA AMAZÔNIA**

JORDAM WILLIAM PEREIRA SILVA

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE VETORES PUTATIVOS DO VÍRUS MAYARO E VÍRUS OROPOUCHE EM ESTRATIFICAÇÃO VERTICAL E HORIZONTAL EM AMBIENTES FLORESTAIS E ANTROPIZADOS EM UMA COMUNIDADE RURAL NO AMAZONAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, do Instituto Leônidas e Maria Deane, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Felipe Arley Costa Pessoa

MANAUS

2017

JORDAM WILLIAM PEREIRA SILVA

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE VETORES PUTATIVOS DO VÍRUS MAYARO E VÍRUS OROPOUCHE EM ESTRATIFICAÇÃO VERTICAL E HORIZONTAL EM AMBIENTES FLORESTAIS E ANTROPIZADOS EM UMA COMUNIDADE RURAL NO AMAZONAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, do Instituto Leônidas e Maria Deane, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva.

**BANCA EXAMINADORA**

Dr. Felipe Arley Costa Pessoa - Orientador

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Dr. Sérgio Luiz Bessa Luz - Membro

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Dra. Regina Maria Pinto de Figueiredo - Membro

Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD)

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Felipe Arley Costa Pessoa, pela orientação, apoio, ensinamentos, amizade e por ter me apresentado uma linha de pesquisa tão importante.

À minha mãe-científica Dr. Claudia María Ríos Velásquez, pela orientação, amizade, ensinamentos, puxões de orelha e por ter aberto as portas da ciência na minha vida.

À Fundação Oswaldo Cruz, ao Instituto Leônidas e Maria Deane e ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia – PPGVIDA.

À FAPEAM pela concessão da bolsa de estudo, que me auxiliou durante todos os momentos do mestrado.

Ao Dr. Felipe Naveca, por disponibilizar os equipamentos, primers, sondas para a RT-qPCR e pelas discussões esclarecedoras.

À Dra. Alessandra Nava, pelas sugestões e auxílio na construção e análise dos questionários.

À minha esposa Tayná Lima Rodrigues, por todo amor, carinho e compreensão.

À Gervilane Ribeiro pelo intenso e difícil trabalho de identificação dos mosquitos no campo.

Aos meus queridos amigos de laboratório e campo (Patrícia Dantas, Maria de Oliveira, Eric Marialva, Heliana Belchior, Jessica Feijó, Emanuelle Farias, Andreza Carvalho, Alexandre Menezes, Mario Roberto, Ricardo Mota, Sebastião, Lúcio e Evandro).

Aos meus colegas do grupo de virologia do ILMD Valdinete Alves e Arlesson Viana por toda ajuda em Biologia Molecular.

À todos os participantes do questionário e moradores da comunidade rural de Rio Pardo.

Deixo a todos vocês os meus eternos agradecimentos.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Maria Irenilda e  
Raimundo Filho.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
1.1 O impacto das doenças para a população.....	14
1.2 Arbovírus e arboviroses .....	15
1.3 Culicídeos.....	18
1.4 Família <i>Togaviridae</i> , gênero <i>Alphavirus</i> .....	19
1.4.1 Vírus Mayaro.....	20
1.4.2 Febre Mayaro .....	21
1.4.3 Ciclo de transmissão e vetores do MAYV.....	22
1.4.4 Vírus Mayaro no mundo: histórico .....	27
1.4.5 Casos importados do MAYV .....	29
1.4.6 Vírus Mayaro no Brasil: histórico.....	30
1.4.7 Vírus Mayaro em Rio Pardo.....	32
2. Família <i>Bunyaviridae</i> , gênero <i>Orthobunyavirus</i> .....	32
2.1 Vírus Oropouche.....	33
2.1.2 Febre Oropouche.....	34
2.1.3 Ciclo de transmissão e vetores do OROV.....	35
2.1.4 Vírus Oropouche: histórico no Brasil e no mundo.....	37
2.1.5 Diagnóstico das arboviroses.....	39
2.2 Infecção natural em mosquitos por arbovírus.....	40
2.3 Sinantropização.....	41
2.4 Fatores de risco.....	43
3. JUSTIFICATIVA.....	44
4 OBJETIVOS .....	48
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	49
5.1 Área de estudo.....	49
5.2 Coleta de mosquitos.....	53
5.3 Distribuição por estratificação vertical.....	53
5.4 Distribuição por estratificação horizontal.....	55
5.5 Identificação e conservação dos mosquitos coletados.....	58
5.6 Extração de ácido ribonucleico (RNA) .....	58

5.7 Detecção do MAYV e OROV por RT-qPCR.....	59
5.8 Fatores de risco.....	60
5.9 Análise dos dados.....	60
5.10 Considerações éticas.....	61
6. RESULTADOS.....	62
6.1 Abundância geral de mosquitos.....	62
6.2 Estratificação vertical: Plataforma Gusmão e Principal.....	62
6.3 Estratificação horizontal - Peridomicílio, borda de floresta e floresta.....	69
6.4 Fatores de risco.....	75
6.4 Infecção natural de mosquitos por MAYV e OROV.....	78
7. DISCUSSÃO.....	90
7.1 Diversidade, riqueza e abundância geral de mosquitos.....	90
7.2 Diversidade, riqueza e abundância por estratificação horizontal.....	90
7.3 Diversidade, riqueza e abundância por estratificação vertical.....	82
7.4 Infecção natural de mosquitos por MAYV e OROV.....	84
7.5 Fatores de risco.....	86
8. CONCLUSÃO.....	87
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclos de transmissão enzoótica, epizoótica de arbovírus.....	17
<b>Figura 2.</b> Ciclo de vida dos mosquitos.....	18
<b>Figura 3.</b> Representação da estrutura dos <i>Alphavirus</i> .....	19
<b>Figura 4.</b> Representação genômica do MAYV .....	21
<b>Figura 5.</b> Envolvimento de articulações na infecção pelo MAYV. ....	22
<b>Figura 6.</b> Ciclo de transmissão do vírus Mayaro. ....	23
<b>Figura 7.</b> <i>Haemagogus janthinomys</i> , principal vetor do MAYV.....	24
<b>Figura 8.</b> Espécies de mosquitos encontradas naturalmente infectadas com o MAYV.....	26
<b>Figura 9.</b> Mapa mostrando a distribuição do MAYV no mundo e os métodos de detecção, entre 1954 e 2016.....	29
<b>Figura 10.</b> Estados brasileiros com casos humanos confirmados para Febre Mayaro em um inquérito soro epidemiológico realizado pelo Ministério da Saúde entre 2015 e 2016.....	31
<b>Figura 11.</b> Ciclo de transmissão silvestre e urbano do vírus Oropouche.....	36
<b>Figura 12.</b> Países da América Central e do Sul onde ocorreram epidemias de Febre por vírus Oropouche entre 1961 e 2006.....	49
<b>Figura 13.</b> Mapa do Brasil, destacando o Estado do Amazonas <b>(B)</b> Município de Presidente Figueiredo, destacando o assentamento rural de Rio Pardo <b>(C)</b> Mapa do assentamento rural de Rio Pardo.....	49
<b>Figura 14.</b> Laboratório de campo da Fiocruz/ILMD no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	50
<b>Figura 15.</b> Ramal da Maria Gusmão, no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	51
<b>Figura 16.</b> Ambiente desmatado e queimado para construção de lavoura ou casas no ramal do Principal do assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	51
<b>Figura 17.</b> Características dos ramais do assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	52
<b>Figura 18.</b> (A) e (C) Foto das plataformas construídas no Ramal Maria Gusmão e Ramal Principal, respectivamente; (B) Foto de uma armadilha luminosa HP; (D) Foto de método de coleta por atração humana protegida.....	54



<b>Figura 19.</b> Ambientes de coleta das espécies de mosquitos por estratificação horizontal no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	56
<b>Figura 20.</b> Dinâmica das coletas de mosquitos nos ambientes de floresta e antropizados no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	57
<b>Figura 21.</b> Perfis de diversidade de Rényi em função de diversidade de espécies, para as coletas de mosquitos realizadas no dossel e solo no ambiente florestado, Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016.....	67
<b>Figura 22.</b> Curvas de rarefação representando a riqueza acumulativa de espécies de mosquitos coletas no ramal Gusmão no dossel e solo, por armadilhas HP e atração humana protegida, no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016.....	68
<b>Figura 23.</b> Diversidade de Rényi para os ambientes de floresta, borda de floresta e peridomicílio amostrados por armadilhas luminosas HP no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016.....	73
<b>Figura 24.</b> Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) para os ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta amostrados por armadilhas luminosas HP no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016.....	74
<b>Figura 25.</b> Curvas de rarefação para as espécies de mosquitos coletadas no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016 nos ambientes de peridomicílio e borda de floresta e floresta. ....	74
<b>Figura 26.</b> Resultados da RT-qPCR para detecção do vírus Mayaro e vírus Oropouche em mosquitos coletados no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	79

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Oligonucleótidos usados neste estudo.....	59
<b>Tabela 2.</b> Espécies de mosquitos coletadas nas plataformas do Ramal Principal e Ramal da Maria Gusmão por armadilhas HP e atração humana no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016.....	65
<b>Tabela 3.</b> Espécies de mosquitos coletadas em ambiente de peridomicílio, borda de floresta e floresta por armadilhas HP e nas plataformas do ramal Principal e ramal Gusmão por atração humana protegida e armadilhas HP no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016.....	71
<b>Tabela 4.</b> Frequência de pessoas entrevistadas, por sexo e idade, no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	75
<b>Tabela 5.</b> Frequência de pessoas entrevistadas, por ocupação e sexo, no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	76
<b>Tabela 6.</b> Frequência de casas avaliadas quanto à eliminação de resíduos sólidos no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	77
<b>Tabela 7.</b> Frequência de casas quanto a localização das casas em relação à floresta e igarapé no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	77
<b>Tabela 8.</b> Frequência de casas avaliadas quanto à eliminação de resíduos sólidos no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.....	78

## ABREVIATURAS E SIGLAS

**ANOVA** – Análise de variância

**AH** – Atração humana

**BUNV** – Vírus Bunyamwera

**CDC** – Centro de controle e prevenção de doenças

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**cDNA** – DNA cópia

**CEP** - Comitê de Ética em Pesquisa

**CHIKV** – Vírus Chikungunya

**Ct**– Threshold Cycle

**DENV** – Vírus da Dengue

**VFA** – Vírus da febre amarela

**FSA** – Febre Suína Africana

**FMT-HVD** – Fundação de Medicina Tropical – Doutor Heitor Vieira Dourado

**ILMD/FIOCRUZ** – Instituto Leônidas e Maria Deane – Fundação Oswaldo Cruz

**INCRA** – Instituto Nacional da Colonização e Reforma Agrária

**IgM** – Imunoglobulina M

**MAYV** – Vírus Mayaro

**MIR** – Taxa mínima de infecção

**MS** – Ministério da Saúde

**NMDS** – Escalonamento multidimensional não métrico

**NSP** – Proteína não estrutural

**OROV** – Vírus Oropouche

**ROCV** - Vírus Rocio

**SLEV** - Louise encephalitis virus

**RNA** – Ácido Ribonucleico

**RT – qPCR** – Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real

**RRV** - Ross River Virus

**SISBIO** – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

**SIV** - Sindbis vírus

**SVS** – Secretaria de Vigilância em Saúde

**TM** – Taxa mínima de infecção

**VEEV** - Vírus da Encefalite Equina Venezuelana

**WNV** - West Nile Virus

**WHO** – Organização Mundial de Saúde

**ZIKV** – Vírus Zika

## RESUMO

O assentamento rural de Rio Pardo está localizado no município de Presidente Figueiredo, no Estado do Amazonas, Brasil, e é uma área endêmica para vírus Mayaro (MAYV) e vírus Oropouche (OROV). MAYV e OROV causam febre de Mayaro e febre de Oropouche, respectivamente, doenças infecciosas febris agudas e são responsáveis por pequenos surtos na população rural. MAYV e OROV estão relacionados primariamente a ambientes silvestres, no entanto, estudos realizados em Rio Pardo sugeriram uma possível adaptação a outros vetores e a consequente introdução do MAYV em ambiente não-florestal. Este trabalho teve como objetivo estudar as espécies de mosquitos encontradas no assentamento rural de Rio Pardo, avaliar seu papel no ciclo de transmissão de MAYV e OROV, e os fatores de risco a esses vetores na população humana do assentamento. Os mosquitos foram coletados durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016. As coletas por estratificação horizontal foram realizadas usando armadilhas luminosas HP instaladas a 1.5m do solo em três ambientes diferentes, peridomicílio, borda da floresta e floresta. Para avaliar a estratificação vertical, as coletas foram realizadas em áreas de floresta, no dossel e no solo, usando armadilhas luminosas HP e atração humana. No total 3.750 mosquitos foram capturados, sendo que 3.139 espécimes foram coletados nas plataformas. Os espécimes coletados foram classificados em 46 espécies distribuídos em 17 gêneros. As espécies mais abundantes foram *Psorophora ferox* (740 indivíduos – 23.5%), *Ochlerotatus serratus* (576 – 18.3%) e *Ps. cingulata* (258 – 8.2%). O índice de Shannon-Weaver ( $H'$ ) para os mosquitos coletados no dossel foi  $H'=2.86$  e no solo foi  $H' = 2.53$ ; houve diferença estatisticamente significativa em relação a riqueza de espécies coletadas por atração humana no solo e dossel ( $p=0.0465$ ), porém não foi observado diferença estatisticamente significativa por armadilhas HP ( $p=0.2342$ ). Os mosquitos em estratificação horizontal foram coletados apenas por armadilhas HP; sendo coletados 611 espécimes, divididos em 13 espécies. A espécie mais abundante no peridomicílio foi *Culex quinquefasciatus* (149 – 48.8%), na borda de floresta *Cx. quinquefasciatus* (29 – 22.8%) e na floresta *Cx. nigripalpus* (6 – 3.3%). O índice  $H'$  para mosquitos coletados no peridomicílio foi  $H' = 0.91$ , borda de floresta  $H'=1.73$  e floresta  $H'=1.53$  não houve diferença significativa em relação a riqueza de espécies ( $p=0.6353$ ). Em relação aos métodos de coleta o índice de diversidade de Shannon-Weaver ( $H'$ ) por atração humana foi  $H'=2.62$  e por armadilhas HP  $H'=2.16$ . Dos 671 pools analisados por RT-qPCR, três foram positivos para OROV e nenhuma amostra foi positiva para o MAYV. Quanto à taxa mínima de infecção dos mosquitos avaliados, observou-se TM de 0.8%. As espécies de mosquitos positivas para OROV foram: *Oc. serratus*, *Ps. cingulata* e *Hg. tropicalis*, as duas últimas espécies correspondem ao primeiro registro na literatura de infecção natural por OROV. Para descrever fatores de risco foram entrevistadas 490 pessoas em 141 domicílios, 260 (53,06%) pertencem ao sexo masculino e 230 (46,94%) do sexo feminino. A agricultura correspondeu a 204 (41,6%) das atividades desenvolvidas pelos moradores. Em relação ao destino do lixo 124 domicílios (87,9%) queimam o lixo no próprio terreno. Dos 141 domicílios, 85% moram perto da floresta, 63% perto do igarapé e 45% perto da roça. Em relação as características dos domicílios, 83% são feitas de madeira, 88% não possuem telas nas portas e janelas, 86% possuem cozinha interna e 53% possuem banheiro interno. Nossos resultados mostram a circulação de importantes vetores de arbovírus e arbovirose emergentes que são fortemente influenciados pelas transformações nos ambientes como desmatamento, construção de estradas e criação de assentamentos. E registramos a infecção de mosquitos com o OROV no ambiente de floresta, isso é importante pois a população tem contato direto e frequente com esse ambiente, aumentando o risco de adquirir o vírus, e desenvolver síndrome febril que não é de notificação compulsória.

**Palavras-chave:** Mosquitos vetores, antropização, ecologia, vírus Mayaro, vírus Oropouche.

## ABSTRACT

Rio Pardo settlement is located in the municipality of President Figueiredo, Amazonas State, Brazil, is an endemic area to Mayaro virus (MAYV) and Oropouche virus (OROV). MAYV and OROV cause Mayaro and Oropouche fever, respectively, two acute febrile infectious diseases that are responsible for small outbreaks in rural populations. MAYV and OROV are related to wild environments, however, studies carried out in Rio Pardo showed a possible adaptation to other vectors and introduction of the MAYV in non-forested environments. This work aims to study mosquito species in a rural settlement in the Brazilian Amazon, and their role in arbovirus transmission cycles, and evaluate the exposure factors of human population to these vectors in the rural settlement of Rio Pardo. Mosquitoes were collected during June, July, November and December of 2016. The horizontal stratification was performed using HP light traps installed at 1.5 m in three different environments, peridomicile, forest edge and forest. For vertical stratification, the collection was performed by HP light traps and human attraction in canopy and soil environments. At all, 3,750 mosquitoes were captured, 3,139 specimens were collected from platform, distributed in 46 species. The most abundant species were *Psorophora ferox* (740 individuals - 23.5%), *Aedes serratus* (576 - 18.3%) and *Psorophora cingulata* (258 - 8.2%). The Shannon-Weaver index ( $H'$ ) for the mosquitoes collected in the canopy was  $H'=2.86$  and in the soil was  $H'=2.53$ , there was a statistically significant difference in relation to the richness of species collected by human attraction ( $p = 0.0465$ ), but no statistically significant difference was observed for HP traps ( $p = 0.2342$ ). The mosquitoes in horizontal stratification were collected only by HP traps; 611 specimens were collected, distributed in 13 species. The most abundant species in peridomicile was *Culex quinquefasciatus* (149 - 48.8%), in forest edge was *Culex quinquefasciatus* (29 - 22.8%) and in forest was *Culex nigripalpus* (6 - 3.3%). The  $H'$  index to mosquitoes collected in the peridomicile was  $H'=0.91$ , forest edge  $H'=1.73$  and forest  $H'=1.53$ , there was no significant difference in relation to species richness ( $p = 0.6353$ ). The diversity index of Shannon-Weaver ( $H'$ ) was significantly different between the methods of collection by Human Attraction  $H'=2.62$  and HP light traps  $H'=2.16$ . From the 671 pools analyzed by RT-qPCR, three were positive for OROV and no samples were positive for MAYV. As regards the minimum infection rate of the mosquitoes evaluated, an TM of 0.8% was observed. The mosquito species positive for OROV were: *Ochlerotatus serratus*, *Psorophora cingulata* and *Haemagogus tropicalis*, the last two species are being registered by the first time as found naturally infected by OROV. To evaluate risk factors, 490 people were interviewed in 141 domiciles, 260 (53.06%) were male and 230 (46.94%) were female. Agriculture accounted for 204 (41.6%) of the activities carried out by residents. Regarding the destination of the waste, 124 households (87.9%) burn the garbage on the land. Of the 141 households, 85% live near the forest, 63% near the stream and 45% near the countryside. Regarding the house characteristics, 83% are made of wood, 88% do not have screens on the doors and windows, 86% have internal kitchen and 53% have internal bathrooms. Our results suggest that the circulation of important vectors of arbovirus and emergent arboviruses can be strongly influenced by the transformations in the environments by deforestation, road construction and settlement creation. And we recorded mosquito infection with OROV in the forest environment, this is important because the population has direct and frequent contact with this environment, increasing the risk of acquiring the virus, and developing febrile syndrome that is not of compulsory notification.

**Keywords:** Mosquito vectors, anthropization, ecology, Mayaro virus, Oropouche virus.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 O impacto das doenças para a população

O termo Arbovírus é uma abreviação para sigla inglesa **Arthropod-Borne Virus**. A doença causada por arbovírus em humanos é conhecida como arbovirose e até o momento algumas arboviroses como a Dengue, febre Oropouche, febre Mayaro, febre Amarela, febre Zika e febre Chikungunya possuem grande importância para a saúde pública no mundo por causarem mortalidade e morbidade na população (WILDER-SMITH et al., 2017).

Embora as arboviroses representem uma grande ameaça à saúde pública no mundo, muitas destas permanecem largamente negligenciadas. Normalmente, essas arboviroses são endêmicas em regiões tropicais e subtropicais com baixo status socioeconômico e baixos investimentos em estudos epidemiológicos, este cenário leva a uma subestimação da distribuição real dessas arboviroses (MOTA; RIBEIRO; VEDOVELLO, 2015).

O custo econômico que uma doença pode causar ao país pode ser definido de duas formas: custos diretos, indiretos e intangíveis. Os custos diretos englobam tanto o tratamento, exames, internações, consultas e recuperação quanto o transporte para o tratamento, dietas especiais e despesas dos acompanhantes. Os custos indiretos e intangíveis levam em consideração a perda de dias de trabalho, ou a diminuição do ritmo de trabalho influenciadas pelos efeitos da doença, que torna o indivíduo incapaz de exercer normalmente suas atividades (IUNES, 1997).

O impacto das doenças pode ser quantificado a partir de uma unidade de medida que avalia os custos sobre mortalidade ou morbidade que leva em consideração os Anos de Vida Ajustados por Incapacidade, do inglês (DALY - Disability Adjusted Life Years), que é estimado

por meio dos Anos Vividos com Incapacidade (AVI) e Anos Potenciais de Vida Perdidos (APVP) (MURRAY, 1997, GAUVREAU & PAGANO, 2004).

Como a febre Mayaro e febre Oropouche são rotineiramente negligenciadas e acabam sendo subnotificadas, até o momento não há pesquisas mostrando os custos econômicos que essas doenças podem causar no Brasil. No entanto, SUAYA et al., (2009) realizaram um estudo em cinco países da América do Sul (Brasil, Guatemala, Venezuela, Panamá e El Salvador) e três países Asiáticos (Camboja, Malásia e Tailândia) demonstrando o custo econômico que a Dengue gera nesses países. No total, foram gastos U\$ 587 milhões de dólares no ano de 2005, 11% dos gastos foram atribuídos a mortalidade e 90% para morbidade. O Brasil e a Tailândia foram responsáveis por 94% e 60% do custo total, respectivamente.

Apesar das arboviroses não apresentarem quadros severos, elas provocam sintomas que podem afetar o desenvolvimento econômico e social de uma população. Durante o período dos sintomas, os trabalhadores e estudantes são afetados e conseqüentemente há uma redução na produtividade e crescimento da evasão escolar.

## **1.2 Arbovírus e arboviroses**

Os arbovírus possuem genoma constituído de RNA com exceção do vírus da Febre Suína Africana (FSA) que possui o genoma de DNA (ŠMIETANKA et al., 2016). Segundo “International Catalog of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates”, 537 espécies de arbovírus foram registradas até o ano de 2016. Até o momento, cinco famílias de arbovírus são responsáveis por infectar homens e animais: *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae* (RUST, 2012), com mais de 150 espécies relacionadas com infecções humanas, como West Nile Virus (WNV), Rocio Virus (ROCV), St.

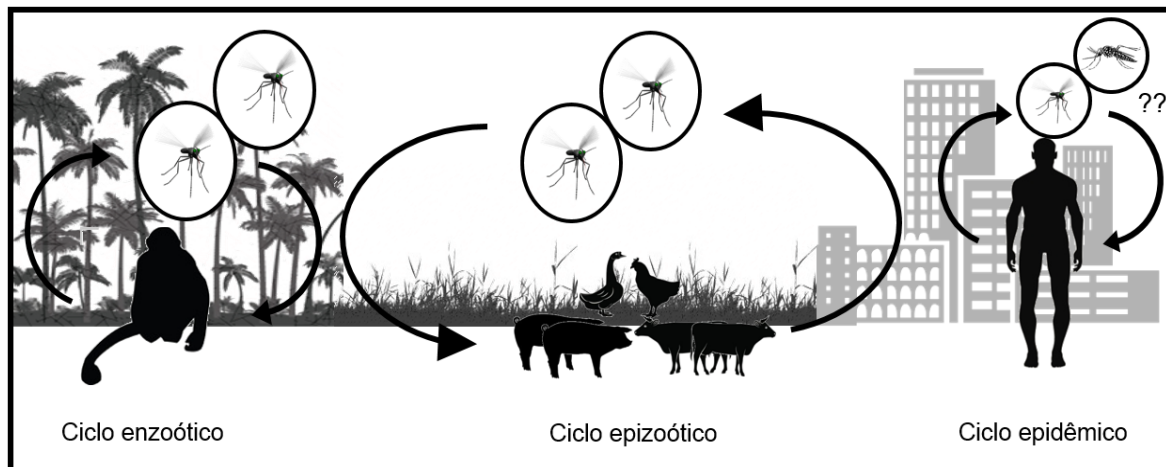
Louise Encephalitis Virus (SLEV), Ross River Virus (RRV) e Sindbis Virus (SIV) (CDC 2016, CLETON et al., 2012, GUBLER, 2001).

Alguns arbovírus estão em destaque para saúde pública mundial como vírus Zika (ZIKV), vírus Dengue (DENV), vírus da Febre Amarela (FAV) e vírus Chikungunya (CHIKV), todos são transmitidos por mosquitos, sendo *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* os vetores em áreas urbanas e periurbanas. Embora os três primeiros pertençam ao gênero *Flavivirus* (Família *Flaviviridae*), o CHIKV pertence ao gênero *Alphavirus* (Família *Togaviridae*), além disso, o CHIKV é intimamente relacionado com MAYV. Todos são transmitidos em ciclos enzoóticos envolvendo primatas não humanos e mosquitos (WILDER-SMITH et al., 2017).

No Brasil a importância é dada principalmente para arbovírus como DENV, CHIKV e ZIKV, que circulam em áreas urbanas; e Vírus Mayaro (MAYV), vírus da Febre Amarela (FAV), vírus Oropouche (OROV) e vírus da Encefalite Equina Venezuelana (VEEV), em áreas rurais (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014, SERRA et al., 2016).

Na natureza os arbovírus circulam em ciclos silvestres mantidos através da transmissão biológica entre hospedeiros vertebrados como, roedores, aves e primatas não humanos, e hospedeiros invertebrados, como mosquitos, flebotomíneos, maruins e piuns (Figura 1) (PFEFFER; DOBLER, 2010). Alguns arbovírus também ocorrem em ciclos urbanos quando hospedeiros, como macacos ou humanos, se infectam na floresta e migram para áreas urbanas onde existem espécies de insetos vetores que completam o ciclo de transmissão, podendo causar epidemias. Os arbovírus mais importantes para saúde humana são transmitidos principalmente por mosquitos do gênero *Aedes* e *Culex* (DONALISIO et al., 2017).





**Figura 1.** Ciclos de transmissão enzoótica, epizoótica de Arbovírus.

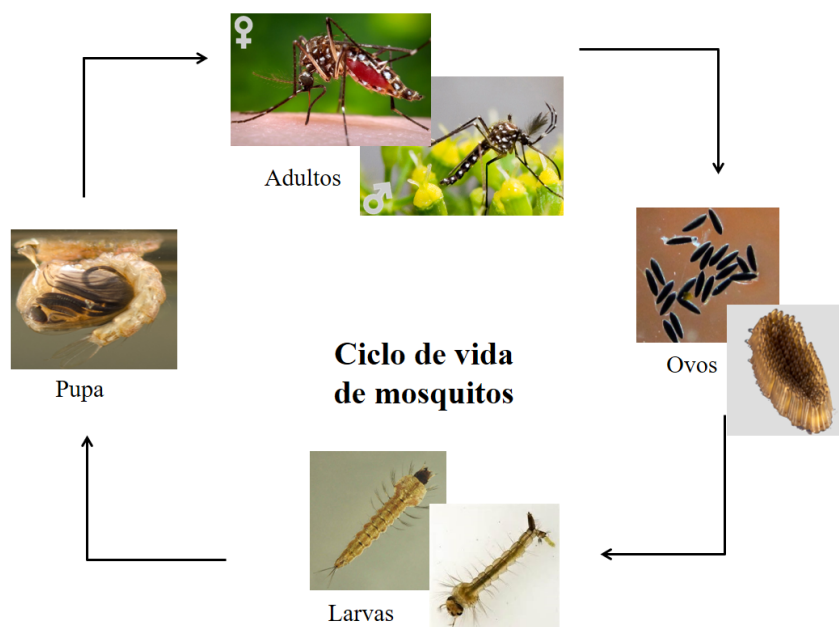
Os mosquitos adquirem o vírus após o repasto sanguíneo em um hospedeiro infectado. Durante a alimentação sanguínea, o mosquito ingere partículas virais que se ligam a receptores específicos do intestino médio do mosquito, se replicam nas células epiteliais intestinais e são liberadas para a hemocele podendo infectar órgãos como os ovários e o corpo gorduroso, por fim chegam até as glândulas salivares onde persistem por toda a vida do mosquito, podendo infectar outro hospedeiro no repasto sanguíneo seguinte. O período de incubação extrínseco equivale ao período do repasto sanguíneo até a capacidade de transmissão, esse período pode durar de 8 a 14 dias. A infecção sistêmica do mosquito com o vírus também se estende para os ovários e fluidos seminais facilitando a transmissão vertical via transovariana, da fêmea para a prole através dos ovos, e venérea, pela troca de fluidos durante o acasalamento (FORRESTER; COFFEY; WEAVER, 2014; MAVALE et al., 2010; SMARTT et al., 2017; THANGAMANI et al., 2016).

As manifestações clínicas das arboviroses podem variar de doença febril leve a síndromes febris neurológicas, articulares e hemorrágicas. Normalmente, os casos graves são identificados após extensas epidemias que por muitas vezes implicam em um impacto nos serviços de saúde, devido a ausência de diagnósticos e tratamentos específicos o que podem refletir diretamente na morbidade e mortalidade de pessoas (DONALISIO et al., 2017).

### 1.3 Culicídeos

Os mosquitos são classificados dentro da ordem Diptera, Família Culicidae. São insetos pequenos e delgados. Geralmente medem de 3-6 mm de comprimento. Os culicídeos estão agrupados em três subfamílias: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae, porém apenas as duas primeiras possuem importância médica. A subfamília Culicinae é composta por 109 gêneros e mais de 3,067 espécies. A subfamília Anophelinae é constituída por 488 espécies distribuídas em 3 gêneros *Anopheles*, *Chagasia* e *Bironella* (HARBACH, 2017).

Os culicídeos são, holometábolos, ou seja, possuem uma metamorfose completa, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (Figura 2). Os ovos, larvas e pupas participam do ciclo aquático, e os adultos da fase terrestre. Os adultos alimentam-se de carboidratos provenientes de seivas, flores e frutos. As fêmeas são hematófagas, precisando de uma fonte de repasto sanguíneo para maturação de ovos (CONSOLI & OLIVEIRA 1994). O hábito hematofágico faz com que os mosquitos sejam os principais responsáveis pela transmissão de arbovírus no mundo.

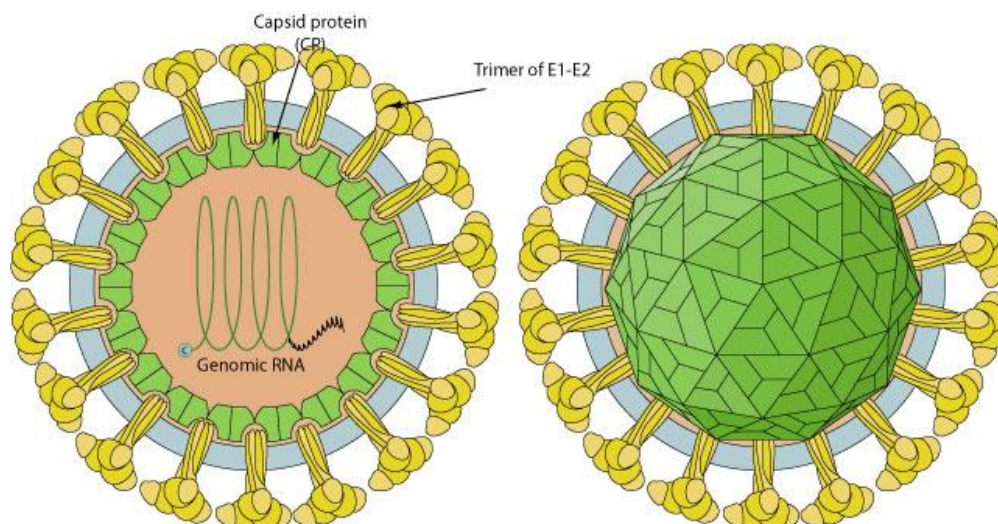


**Figura 2.** Ciclo de vida dos mosquitos (Adaptado de Silva ALC, 2011)

#### 1.4 Família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*

A família *Togaviridae* é subdividida em dois gêneros. O gênero *Alphavirus* com 31 espécies e o gênero *Rubivirus* que possui apenas 1 espécie (CDC 2016). A família *Togaviridae* exibe uma ampla gama de hospedeiros que incluem vertebrados como peixes, equídeos, aves, anfíbios, répteis, roedores, porcos, seres humanos, primatas não-humanos, e insetos incluindo mosquitos, carrapatos e piolhos (VASILAKIS; TESH, 2015).

O genoma dos *Alphavirus* é constituído por RNA não-segmentado de fita simples e polaridade positiva, ligado ao lado interno do capsídeo pela proteína C. Os *Alphavirus* apresentam partículas virais com 70 nm de diâmetro e nucleocapsídeo icosaédrico formado por 240 unidades da proteína C, envolto por um envelope lipídico da membrana plasmática do hospedeiro. As proteínas são codificadas por sete genes, sendo quatro não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3 e NSP4) e três estruturais (glicoproteínas E1, E2 e E3 presente apenas no vírus da Floresta de Semliki) (STRAUSS; STRAUSS, 1994) (Figura 3).



**Figura 3.** Representação da estrutura dos *Alphavirus*. Fonte: [http://viralzone.expasy.org/625?outline=all\\_by\\_species](http://viralzone.expasy.org/625?outline=all_by_species)

Os *Alphavirus* são classificados conforme suas propriedades antigênicas, sendo caracterizada pelas proteínas C e envelope. A proteína C possui um peso molecular de aproximadamente 30 mil daltons e o envelope dos *Alphavirus* possui bicamada lipídica, rica em esfingolipídeos e colesterol, provenientes da membrana plasmática que contém as glicoproteínas virais (E1 e E2) de peso molecular de 48 a 52 mil daltons, respectivamente. Alguns *Alphavirus* como Semliki Forest virus (SFV), possuem uma terceira proteína chamada (E3) com peso molecular entre 10 a 12 mil daltons. Essas glicoproteínas formam dímeros na superfície do vírus que funcionam como fixador e auxiliam na fusão e penetração do vírus na célula (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014).

Pelo menos dez *Alphavirus* transmitidos por artrópodes causam morbidade e mortalidade nos seres humanos, e são considerados de importância médica para saúde pública como (Chikungunya virus - CHIKV, Mayaro virus - MAYV, Equine encephalosis virus - EEV, Ross River virus - RRV, O'nyong nyong virus - ONNV, Sindbis virus - SINV, Semliki forest virus - SFV, Barmah virus - BFV) (GOULD et al., 2010).

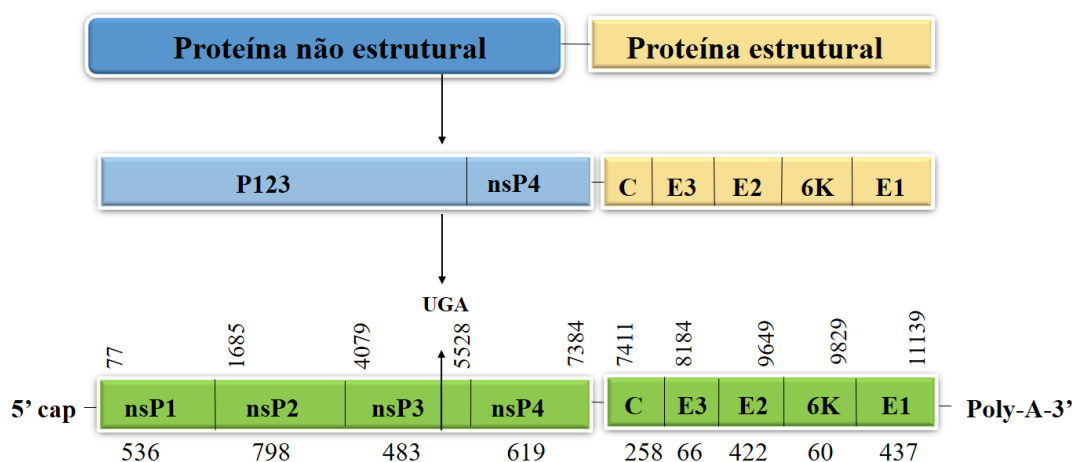
#### **1.4.1 Vírus Mayaro**

O vírus Mayaro (MAYV) pertence à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*. Foi isolado primeiramente em amostras de pacientes febris em Trindade e Tobago em 1954, e depois no ano de 1955 em pessoas que moravam próximas ao Rio Guamá, no Estado do Pará, Brasil (MUÑOZ & NAVARRO 2012, ANDERSON et al., 1957). Desde então, tem sido esporadicamente registrado nas Américas, em especial na região Amazônica do Brasil. As regiões Norte e Centro-Oeste são consideradas endêmicas para o MAYV (MS/SVS 2015).

O MAYV possui dois genótipos diferentes em circulação. O genótipo D, que foi isolado primeiramente em Trinidad e Tobago, e posteriormente foi detectado em vários países do

mundo como, Brasil, Peru, Suriname, Bolívia e Guiana. E o genótipo L, que possui circulação apenas no Brasil (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014; POWERS et al., 2006).

O MAYV apresenta um genoma de RNA de cadeia simples de sentido positivo e codifica quatro proteínas não estruturais nsP1 à nsP4 e cinco proteínas estruturais - C-E3-E2-6k-E1 (Figura 4) (AUGUSTE et al., 2015). Além disso, possui altas taxas de mutações, o que pode aumentar a chance de adaptações a novos hospedeiros invertebrados e vertebrados (MANDELL et al., 2002, FORSHEY et al., 2010).

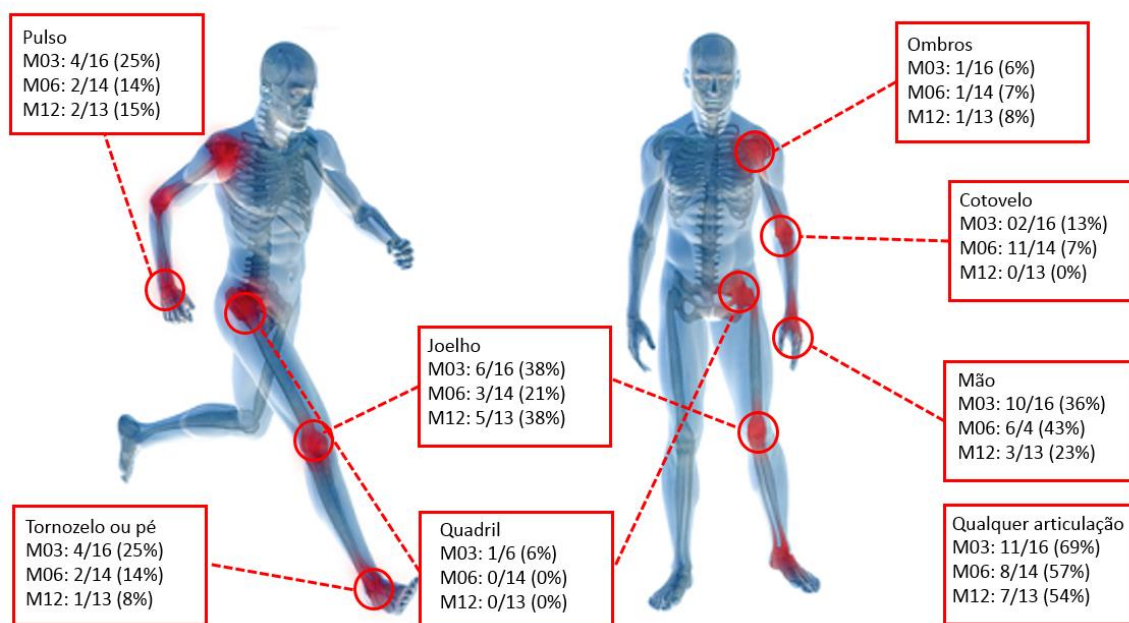


**Figura 4.** Representação genômica do MAYV. Fonte: (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014).

#### 1.4.2 Febre Mayaro

A febre Mayaro é uma doença infecciosa febril aguda (SVS/2016). Possui uma fase aguda e uma fase de convalescência. A fase aguda é caracterizada por um curto período de viremia que pode durar de 3-5 dias. A fase de convalescência é acompanhada por artralgias e artrites que podem durar semanas, meses ou anos (HALSEY et al., 2013). O período de incubação do MAYV varia de 7 a 12 dias, e pode apresentar sintomas como febre, artralgias, mialgia, calafrios, fotofobia, dor de cabeça, vômito, edema articular, diarreia e erupções cutâneas. Em alguns casos podem ocorrer dores abdominais, hemorragia na gengiva e congestão nasal. As pequenas articulações como, pulsos, tornozelos, dedos dos pés e das mãos são as mais afetadas

pelo vírus (HALSEY et al., 2013; MOTA; RIBEIRO; VEDOVELLO, 2015) (Figura 5). Apesar de possuir evolução benigna, as intensas dores nas articulações podem tornar a pessoa incapaz de exercer suas atividades de trabalho.



**Figura 5. Envolvimento de articulações na infecção pelo MAYV.** Estudo realizado no Peru entre 2010-2013. M03, M06 e M12: 3, 6 e 12 meses após infecção, respectivamente. Adaptado de HALSEY et al. (2013).

### 1.4.3 Ciclo de transmissão e vetores do MAYV

Os arbovírus permanecem sem serem detectados até o momento em que os seres humanos invadem o ciclo enzoótico natural ou quando os arbovírus escapam do ciclo primário por meio de um vetor secundário ou por um hospedeiro infectado.

O MAYV faz parte de um ciclo enzoótico, e é responsável por pequenos surtos na população rural. Porém, as infecções humanas ocorrem acidentalmente em pessoas que invadem ambientes florestais e entram no ciclo silvestre e acabam sendo picadas por um vetor infectado (FIGUEIREDO, 2007). Vários vetores artrópodes transmitem o MAYV a hospedeiros primatas não humanos e outros mamíferos, em ciclos rurais e silvestres (Figura 6).

Além disso, outros hospedeiros como roedores, marsupiais e pássaros aliados aos vetores primários e secundários aumentam as chances de disseminação do MAYV (WEAVER; REISEN, 2010).



**Figura 6.** Ciclo de transmissão do vírus Mayaro. Macacos (1) são considerados hospedeiros amplificadores e mosquitos silvestres (2), pessoas (3) e outros animais como cavalos (3) podem ser picados pelo mosquito infectado, mas apenas o ser humano pode desenvolver a doença. Fonte: (Comunicação/Instituto Oswaldo Cruz).

O MAYV é transmitido por mosquitos do gênero *Haemagogus*. Esse gênero é predominantemente silvestre, sendo composto por 28 espécies, distribuídas principalmente na América Central e norte da América do Sul, com nove delas registradas no Brasil (MARCONDES; ALENCAR, 2010; PAJOT; GEOFFROY; CHIPPAUX, 1985). Os mosquitos do gênero *Haemagogus* possuem hábitos silvestres, diurnos, são hematófagos e acrodendrófilos (MARCONDES; ALENCAR, 2010). Mesmo sendo considerados acrodendrófilos, são capazes de picar a nível do solo em áreas desmatadas (PAJOT; GEOFFROY; CHIPPAUX, 1985) e as fêmeas depositam seus ovos em buracos de árvores e frestas de bambu (BARRETT; HIGGS, 2007).

A espécie *Hg. janthinomys* é considerada principal vetor do MAYV (Figura 7), essa espécie é distribuída amplamente de Honduras ao sudeste do Brasil, além de Bolívia, Venezuela, Peru, Guiana e Argentina (MARCONDES; ALENCAR, 2010).



**Figura 7.** *Haemagogus janthinomys*, principal vetor do MAYV (Foto: Acervo EDTA).

A disseminação e introdução de patógenos com o aumento acelerado do comércio e das viagens nas últimas cinco décadas é bem conhecido. Diversos patógenos como o *Plasmodium vivax*, que é responsável pela malária, VFA e CHIKV foram introduzidos em novos continentes e se estabeleceram rapidamente com a presença de vetores competentes (KILPATRICK; RANDOLPH, 2012).

Com a recente descrição de infecção natural em mosquitos *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (SERRA et al., 2016), aliado com o trabalho de LONG et al., (2011) que mostraram que o *Ae. aegypti* possui alto grau de susceptibilidade a infecção em laboratório pelo MAYV, ciclos urbanos do MAYV parecem ser algo não muito distantes, o que pode aumentar o número de pessoas infectadas e gerar um grande problema para os sistemas de saúde no Brasil.



Admite-se a possibilidade de outros gêneros de mosquitos como *Aedes*, *Culex*, *Psorophora* e *Sabethes* (Figura 8), participarem na transmissão de MAYV por terem sido encontrados naturalmente infectados (GALINDO et al., 1966; SERRA et al., 2016).

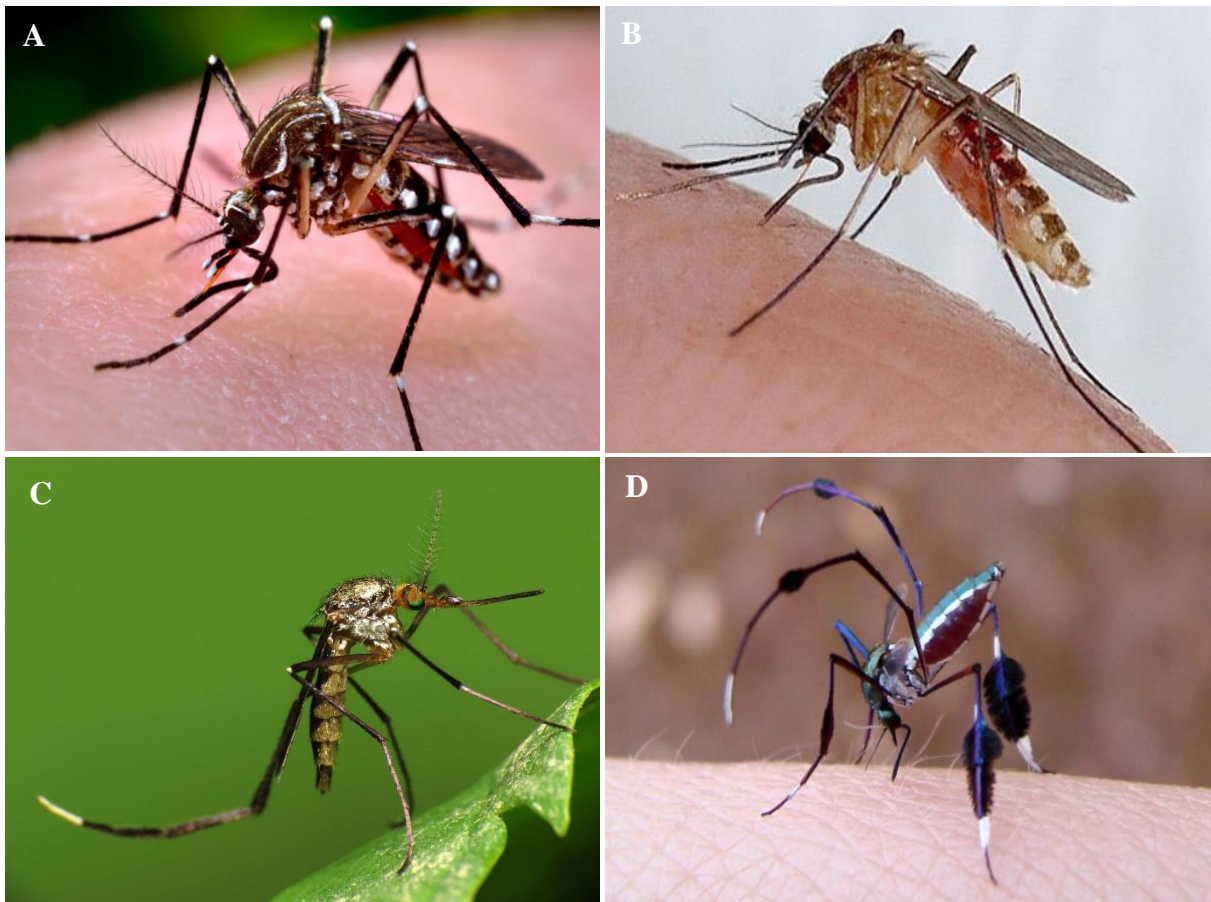
O *Aedes aegypti* possui uma distribuição mundial, a espécie é adaptada a ambientes urbanos e utiliza recipientes nos domicílios para o desenvolvimento da fase larvária. É uma espécie altamente antropofílica e possui hábitos diurnos (BRAGA; VALLE, 2007). Em um estudo realizado por LONG et al., (2011) os autores demonstraram que *Ae. aegypti* possui alto grau de susceptibilidade a infecção pelo MAYV em laboratório. E recentemente durante um surto de Dengue em Cuiabá, estado do Mato Grosso o MAYV foi identificado por PCR em pools de mosquitos *Ae. aegypti* (SERRA et al., 2016). A importância dessa espécie como vetor do MAYV é baseada na sua ampla distribuição geográfica e pelos seus hábitos urbanos e antropofílicos, que favorece o contato direto com o homem, podendo ocasionar a urbanização do MAYV.

O *Cx. quinquefasciatus* está bem estabelecido no Brasil, podendo ser encontrado em quase todas as cidades (MORAIS; MARRELLI; NATAL, 2006; WILKE et al., 2014). A espécie é demograficamente bem distribuída e possui um crescimento acelerado, devido a capacidade de sobrevivência em águas limpas e poluídas (DIBO et al., 2011). Os adultos possuem hábitos noturnos, frequentando normalmente os domicílios, as fêmeas possuem atividade hematófaga iniciando no crepúsculo vespertino até o crepúsculo matutino (DAVID; RIBEIRO; FREITAS, 2012). A espécie é bem adaptada para viver em áreas tropicais e subtropicais, participam na transmissão de diversos arbovírus, inclusive já foi encontrada infectada naturalmente pelo MAYV em Pools de mosquitos (SERRA et al., 2016).

A espécie *Ps. ferox* é encontrada exclusivamente nas Américas (CHAGAS et al., 2013). Na América do Sul, está presente desde a Colômbia até o Norte da Argentina. A espécie possui hábitos preferencialmente diurnos, mas podem picar ao crepúsculo e a noite (CONSOLI;

OLIVEIRA, 1994). Além disso, tem sido encontrada naturalmente infectada por vários arbovírus, em especial o MAYV como já foi demonstrado por GALINDO et al., (1966) e GAMA et al., (2012).

Os mosquitos do gênero *Sabethes* possuem uma ampla distribuição nas Américas (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). São mosquitos florestais, os adultos possuem atividade diurna e picam a nível de solo, porém são mais abundantes no dossel de árvores. Esse gênero parece desempenhar papel importante na transmissão de diversos arbovírus, como por exemplo o VFA e MAYV (PINHEIRO & LEDUC 1988). Além disso, podem ser encontrados facilmente nos habitats dos *Haemagogus*, porém estudo sobre ecologia desse gênero tem sido pouco descrito (CAMARGO-NEVES et al., 2005).



**Figura 8.** Espécies de mosquitos que já foram coletadas infectadas naturalmente com o MAYV. (A) *Ae. aegypti*, (B) *Cx. quinquefasciatus*, (C) *Ps. ferox* e (D) *Sabethes* sp. (Fotos: CDC e Harbach 2017).

#### 1.4.4 Vírus Mayaro no mundo: histórico

O MAYV foi isolado pela primeira vez em 1954 em amostras de sangue de trabalhadores rurais febris na cidade de Mayaro, em Trindade e Tobago (ANDERSON et al., 1957). Após o seu primeiro registro, acreditava-se que o MAYV era restrito a florestas úmidas em áreas tropicais, porém epidemias e surtos já foram registrados em diversos países (MUÑOZ; NAVARRO, 2012; STRAUSS; STRAUSS, 1994) (Figura 9).

Entre 1954-1955 na cidade de Uruma, Bolívia, o MAYV foi detectado em colonos durante uma epidemia que ficou conhecida como “Fiebre de la selva” (PINHEIRO, 1994). Entre os anos 2000 a 2007, através de um trabalho realizado por FORSHEY et al., (2010) com o objetivo de descrever quais arbovírus estavam associados a doenças febris agudas na América do Sul, foi encontrada alta prevalência do MAYV em pessoas residentes nos departamentos de Concepcion, Santa Cruz e Cochabamba na Bolívia.

Em seguida o MAYV foi isolado em um estudo que tentava determinar quais arbovírus estavam sendo vinculados por artrópodes em uma área de floresta tropical em Almirante, Panamá, entre 1959-1962. Foram coletados diversas espécies de culicídeos, que após análises moleculares confirmou-se a infecção pelo MAYV em mosquitos *Ps. ferox* (GALINDO et al., 1966).

Em 1960 o MAYV foi isolado de mosquitos *Ps. ferox*, *Ps. albipes* e *Ochlerotatus serratus*, capturados em San Vicente del Chucurí, Colômbia (GROOT et al., 1961). Em seguida no Suriname, militares holandeses tiveram infecção confirmada pelo MAYV através de uma investigação sorológica de arboviroses na região (KARBAAT et al., 1964).

Em 1998, o MAYV foi isolado na Guiana Francesa (TALARMIN et al., 1998), desde então casos esporádicos do MAYV foram registrados em Caneia, Oyapock e Maroni

(TALARMIN et al., 1998, THOISY et al., 2003, RECEVEUR et al., 2010, LLAGONNE-BARETS et al., 2016).

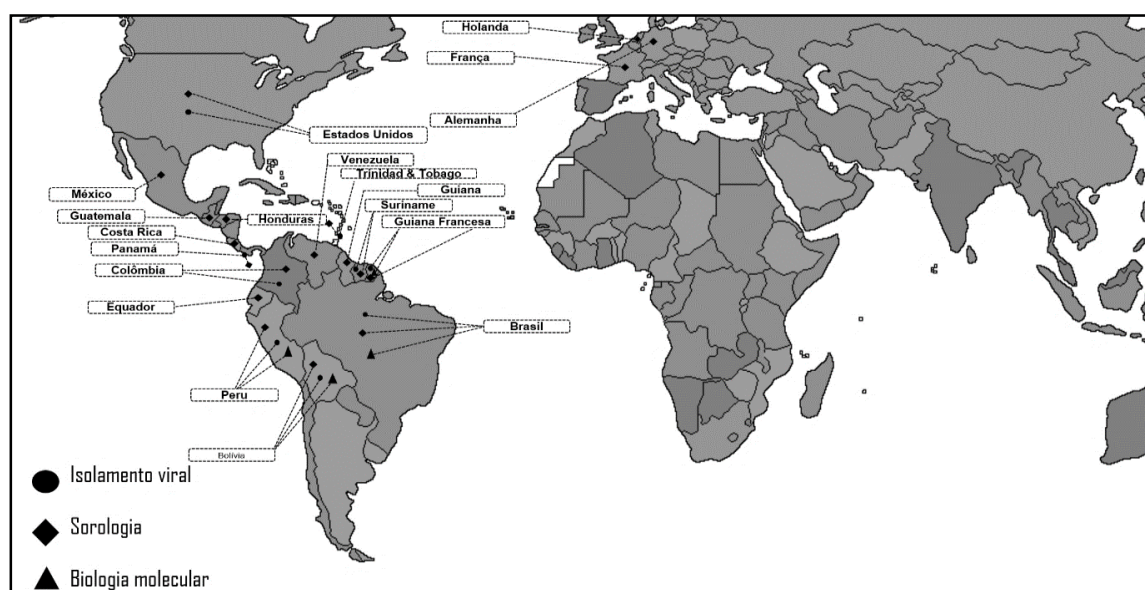
Em 1999 o MAYV foi detectado em diversas cidades do Peru, como Tocache, Pucallpa, Huánuco, Quillabamba, Iquitos, Yurimaguas, Cusco, Puerto Maldonado, Loreto e Tarapoto (FORSHEY et al., 2010; NEUMAYR et al., 2012; SANTIAGO et al., 2015; TESH et al., 1999). Mais recentemente, entre os anos 2010 e 2013, dezesseis pessoas de quatro cidades peruanas, Iquitos, Yurimaguas, Chanchamayo e Puerto Maldonado tiveram infecção confirmada pelo MAYV e foram submetidas a um estudo de coorte, demonstrando que as pessoas infectados pelo vírus, muitas vezes continuam sentindo dores articulares por até 1 ano (HALSEY et al., 2013).

Em 2006 através de uma investigação sorológica de possíveis enfermidades transmitidas por artrópodes vetores no México, foi relatada a presença do MAYV em 25 pessoas residentes de duas cidades mexicanas, Tamaulipas e Veracruz. Os pacientes queixavam-se de fortes dores de cabeça, artralgias intensas e encefalopatia (NAVARRETE-ESPINOSA; GÓMEZ-DANTÉS, 2006).

Em 2009 uma investigação sorológica realizada em militares no Equador com o intuito de identificar os fatores de risco para infecção de Febre amarela, foram identificadas três pessoas positivos para o MAYV (IZURIETA et al., 2009).

Recentemente, pesquisadores da Venezuela descreveram o primeiro caso de infecção por MAYV no país, na cidade de Barlovento, Estado de Miranda, envolvendo diversas pessoas da mesma família, que apresentaram um conjunto de poliartrites associadas à presença do MAYV (TORRES et al., 2004). Aparentemente, um novo surto da Febre Mayaro afetou a Venezuela em 2010, onde 68 casos de MAYV em humanos foram identificados no município de Ospino, Estado de Portuguesa (ALERTA EPIDEMIOLÓGICO 2010).

Através de um inquérito sorológico realizado na savana Rupununi, região do Rio Mazaruni, na Guiana foi encontrada alta soroprevalência para os habitantes da região guianense (MUÑOZ; NAVARRO, 2012). Também há registro de alta soroprevalência em países como Guatemala, Costa Rica e Honduras (PINHEIRO & LEDUC 1988; MUÑOZ & NAVARRO 2012).



**Figura 9.** Mapa mostrando a distribuição do MAYV no mundo e os métodos de detecção, entre 1954 e 2016. (Foto: Acervo EDTA).

#### 1.4.5 Casos importados do MAYV

O primeiro isolamento do MAYV nos Estados Unidos ocorreu em 1967, a partir de aves migratórias capturadas em Louisiana (CALISHER et al., 1974). Esse achado reforça o papel das aves no risco da disseminação de vírus no mundo, e a necessidade de implementar estratégias de vigilância específicas.

Anos depois do primeiro registro, o departamento de saúde de Louisiana, recebeu uma notificação do MAYV em um paciente que viveu e trabalhou no Peru em 2011, apresentando

sintomas característicos que logo foram confirmados, sendo a segunda notificação do MAYV nos Estados Unidos (SCOTT-WALDRON; L.F.MCLELLAN; MONICA DHAND, 2011).

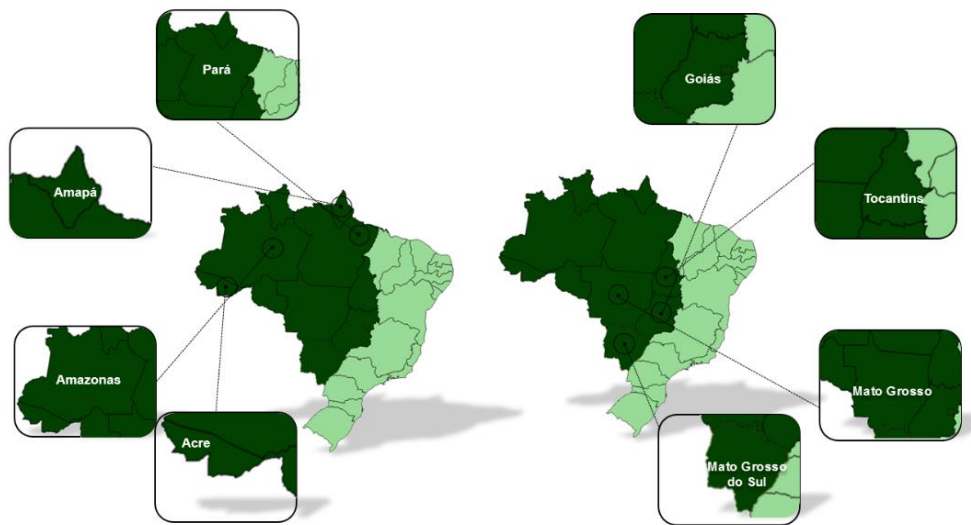
Em fevereiro de 2008, dois pacientes deram entrada no instituto de doenças tropicais de Rotterdam, Holanda, com artralguas intensas que persistiram por 2 dias após viagem para o Suriname, através de sorologia foi detectado mais um caso importado do MAYV na Europa (HASSING et al., 2010).

Em 2013, um caso importado do MAYV foi relatado pela primeira vez na Alemanha, em uma mulher de 20 anos de idade que após uma viagem para Bolívia, Peru e Equador, desenvolveu febre, mialgia, exantema maculopapular e poliartralgia graves que persistiram durante 5 meses (THEILACKER et al., 2013).

E em 2016, casos importados do MAYV foram detectados na França (LLAGONNE-BARETS et al., 2016; RECEVEUR et al., 2010), em um homem de 30 anos que esteve de férias na Guiana Francesa e voltou com sintomas característicos que logo foram confirmados. Isso chamou bastante atenção da vigilância europeia, pelo fato de que o *Ae. albopictus* está bem estabelecido no espaço Europeu e já demonstrou ser susceptível a infecção pelo MAYV em condições laboratoriais (LLAGONNE-BARETS et al., 2016; MOORE; MITCHELL, 1997).

#### **1.4.6 Vírus Mayaro no Brasil: histórico**

Na região Amazônica brasileira foram relatadas quatro epidemias de febre Mayaro no Estado do Pará: A primeira em 1955 em uma comunidade próxima ao Rio Guamá, seguido por Belterra em 1978, Conceição do Araguaia em 1981 e Benevides em 1991 (AITKEN et al., 1959; PINHEIRO et al., 1988; VASCONCELOS et al., 1998).



**Figura 10.** Estados brasileiros com casos humanos confirmados para Febre Mayaro baseado em um inquérito soro epidemiológico realizado pelo Ministério da Saúde entre 2015 e 2016. (Adaptado do Ministério da Saúde).

O MAYV foi responsável por surtos na região Centro-Oeste, na cidade de Itarumã, Goiás em 1987 e em Peixes, Tocantins em 1991 (VASCONCELOS et al., 1998). Recentemente no ano 2000, o MAYV foi isolado em turistas paulistas durante uma viagem à cidade de Camapuã, Mato Grosso do Sul (COIMBRA et al., 2007).

Um inquérito sorológico humano realizado na Reserva Extrativista do Cajari, Amapá, 306 soros foram testados para 19 Arbovírus, do total 53 pessoas tiveram sorologia confirmada para o MAYV (SOUTO; SOUTO, 2012). Durante um levantamento epidemiológico na cidade de Acrelândia no Acre, foi identificada a presença do MAYV em um paciente de 27 anos, com ausência de dores nas articulações, porém apresentava fortes dores de cabeça e febre alta (TERZIAN et al., 2015).

Segundo informe epidemiológico realizado pelo Ministério da Saúde, entre dezembro de 2014 e junho de 2015 foram registrados 197 casos suspeitos do MAYV em humanos. Nove estados brasileiros foram notificados, em especial os Estados de Goiás, Pará e Tocantins (Figura 10). Do total de casos notificados, 46 (23,3%) foram positivos para o MAYV (SVS/MS 2015).

Apesar de ser um arbovírus predominantemente silvestre que envolve ciclos rurais (ABAD-FRANCH et al., 2012), em Manaus, capital do estado do Amazonas, o MAYV foi identificado pela primeira vez em 1999 (FIGUEIREDO et al., 2004). Posteriormente foram notificados 33 casos entre 2007 e 2008 através de sorologia em pacientes negativos para DENV na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD). No mesmo ano em Pau D'Arco no Estado do Pará foram registrados 36 casos (AZEVEDO et al., 2009, MOURÃO et al., 2012). Recentemente, SERRA et al., (2016), encontraram *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, duas espécies de mosquitos urbanos que possuem ampla distribuição geográfica no mundo, infectados com o MAYV, reforçando a possibilidade de urbanização desse arbovírus.

#### **1.4.7 Vírus Mayaro em Rio Pardo**

Em um trabalho realizado por ABAD-FRANCH et al., (2012) no assentamento rural de Rio Pardo, 44% dos 270 participantes que fizeram parte do estudo apresentaram soropositividade para o MAYV, incluindo sete crianças com 3 anos de idade. Tal fato levou a esses autores a acreditarem em uma possível circulação de mosquitos associados a transmissão do MAYV em ambientes antropizados ou peridomiciliares.

## **2. Família *Bunyaviridae*, gênero *Orthobunyavirus***

A família *Bunyaviridae* foi descrita a partir da descoberta de diversos arbovírus que não se enquadravam nos Grupos Antigênicos A e B da família *Togaviridae*. O primeiro vírus alocado no Grupo Antigênico C da família *Togaviridae* foi o vírus Bunyamwera (BUNV) em 1943 isolado de mosquitos do gênero *Aedes* (SMITHBURN et al., 1946). Após essa descoberta,



diversos vírus foram alocados no Grupo C. Alguns anos depois com a separação dos Grupos da família *Togaviridae*, foi criado a família *Bunyaviridae* e os vírus que participavam do grupo C foram alocados para família *Bunyaviridae*. A família é composto por cinco gêneros (*Orthobunyavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus* e *Hantavirus*) e o gênero *Tospovirus* que é infeccioso somente para plantas (CASALS, 1963).

Na família *Bunyaviridae*, o *Orthobunyavirus* é considerado o maior gênero com mais de 150 vírus distribuídos por todo mundo. Os vírions do gênero *Orthobunyavirus* são caracterizados por terem um nucleocapsídeo circular coberto por um envelope lipídico. Variam de 80 a 120nm de diâmetro e são morfologicamente esféricos. O genoma dos *Orthobunyavirus* é formado por três segmentos de RNA fita simples denominadas S, com aproximadamente 900 nucleotídeos; M com cerca de 6 mil nucleotídeos e L com 7 mil nucleotídeos. As sequências terminais são ligadas e pareadas por pontes de hidrogênio, dessa forma a molécula de RNA possui um caráter circular não permanente (SCHMALJOHN & NICHOL 2007).

## 2.1 Vírus Oropouche

O vírus Oropouche (OROV) pertence à família *Bunyaviridae*, gênero *Orthobunyavirus*. Foi isolado primeiramente em 1955 no sangue de um paciente febril e de um grupo de mosquitos *Coquillettidia venezuelensis* em Trindade e Tobago no mesmo ano (KARABATSOS, 1985) e em seguida foi isolado no Brasil do sangue de uma *Bradypus tridactylus* (preguiça) em 1960 (PINHEIRO, 1962). Até o momento foram identificados quatro genótipos do OROV em surtos no Panamá, Brasil, Peru e Trindade e Tobago (ROMERO-ALVAREZ; ESCOBAR, 2017; VASCONCELOS et al., 2011).

Semelhante aos genomas de outros *Orthobunyavirus*, o genoma do OROV apresenta três segmentos, grandes, médios e pequenos de RNA de cadeia simples de sentido negativo. O

grande segmento de RNA codifica uma grande proteína que possui atividade de RNA polimerase para transcrição e replicação de segmentos de RNA genômico. O segmento codifica uma poliproteína precursora dando origem as glicoproteínas de superfícies virais denominadas GC e Gn e uma proteína não estrutural denominada NS<sub>M</sub>. O pequeno RNA codifica uma proteína de nucleocápside estrutural (N), bem como uma proteína não estrutural (NS<sub>S</sub>) (SCHMALJOHN & NICHOL 2007).

Estudos sobre a biologia molecular do segmento pequeno do OROV sugeriram a existência de três genótipos I, II e III (SAEED et al., 2017). Recentemente, o genótipo III foi isolado de um hospedeiro vertebrado *Callithrix* sp. conhecido popularmente como Saguis no sudeste do Brasil, sugerindo possível dispersão do vírus para áreas suscetíveis e povoadas no Brasil (NUNES et al., 2005). Outras análises moleculares que utilizaram linhagens do OROV recuperadas durante surtos no Estado do Pará nos anos de 2003 a 2007 demonstraram a circulação dos genótipos I e II (AZEVEDO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2009).

### **2.1.2 Febre Oropouche**

Antes das epidemias de ZIKV e CHIKV no Brasil, a febre Oropouche era considerada a segunda arbovirose com mais notificações no país (VASCONCELOS et al., 1998). A apresentação clínica clássica da febre Oropouche nos seres humanos inclui febre, mialgia, artralgia, dor de cabeça, fotofobia e erupção cutânea (ROMERO-ALVAREZ; ESCOBAR, 2017). Alguns pacientes podem apresentar exantema morbiliforme, náuseas, diarreia, dor retro ocular e congestão conjuntival. Além disso, casos de hemorragias superficiais são comuns e podem ser acompanhadas por hemorragia gastrointestinal. Os sintomas podem durar de 2 a 7 dias, a recidiva clínica é observada em 56% dos casos (PINHEIRO et al., 1962, BASTOS et al.,

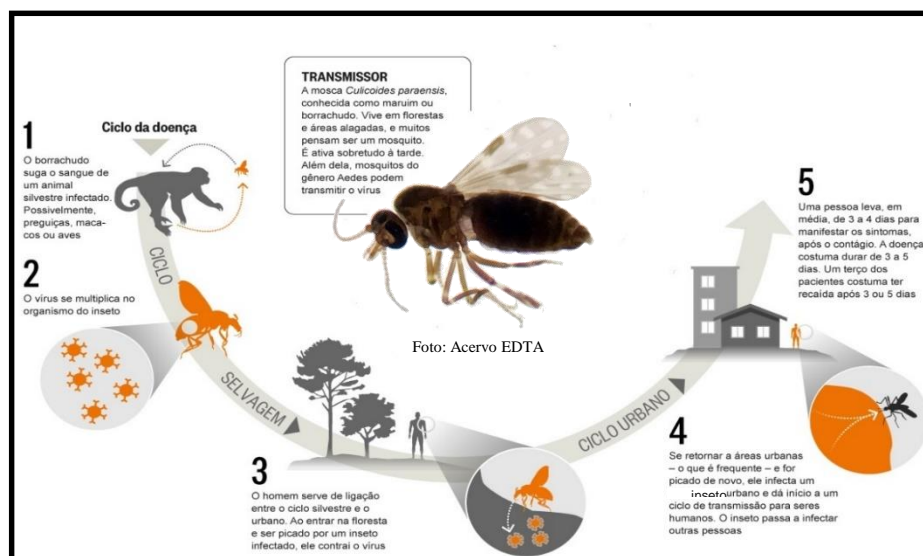
2012). O OROV também pode produzir meningite asséptica após infecção do sistema nervoso central da pessoa infectada (ANDERSON et al., 1961; PINHEIRO et al., 1962).

Em muitas vezes o paciente acometido pela febre Oropouche pode se tornar incapacitante, ficando limitado para realizar suas atividades de trabalho por até duas semanas, podendo levar até mesmo à internação hospitalar (PINHEIRO et al., 1962).

### **2.1.3 Ciclo de transmissão e vetores do OROV**

O OROV possui dois ciclos distintos, o primeiro é denominado ciclo silvestre onde o vírus circula tipicamente entre a transmissão biológica entre os animais vertebrados silvestres como aves, macacos, preguiças e roedores e os hospedeiros invertebrados como mosquitos *Ochlerotatus serratus* e *Cq. venezuelensis* que podem ser responsáveis pela manutenção do OROV no ciclo selvagem. Nas áreas localizadas em florestas degradadas e em áreas urbanizadas, acredita-se que os seres humanos possam atuar como hospedeiros amplificadores e a espécie *Culicoides paraensis* conhecido popularmente como “maruim” que pertence à família Ceratopogonidae seja o principal vetor urbano do OROV (Figura 11). Além disso, VASCONCELOS et al., (1989) especularam que o *Cx. quinquefasciatus* seja um vetor urbano secundário do OROV.

*Culicoides paraensis* pertence à família Ceratopogonidae, é considerada a principal espécie dessa família pela sua importância médica na região neotropical. *C. paraensis* possui hábitos diurnos e encontrado frequentemente picando os humanos (FELIPPE-BAUER e STERNHEIM, 2008). Essa espécie possui distribuição geográfica no Sul e Leste dos Estados Unidos, Panamá, Bolívia, México, Venezuela, Argentina e Brasil (FOX, 1952; WIRTH e BLANTON, 1974).



**Figura 11.** Ciclo de transmissão silvestre e urbano do vírus Oropouche. Fonte: <http://infograficos.oglobo.globo.com/rio/o-parente-da-dengue.html>

A incriminação vetorial do *C. paraensis* como principal vetor urbano do OROV é sustentada com base em estudos experimentais que demonstraram a eficiente susceptibilidade a infecção e transmissão do OROV para hamsters em laboratório. O que não aconteceu com tanta eficiência quando o *Cx. quinquefasciatus* foi infectado com o vírus, mostrando que a transmissão do OROV somente ocorria quando os níveis de viremia eram muito altos (PINHEIRO et al., 1981).

O gênero *Coquillettidia* possui valor epidemiológico devido algumas espécies serem vetores de arbovírus como WNV e OROV. A espécie *Cq. venezuelensis* é caracterizada por ser uma espécie com hábitos noturnos, agressiva e voraz, os locais de reprodução consistem em acumulações de água onde os ovos são depositados por debaixo de vegetações. Além disso, *Cq. venezuelensis* é incriminada como vetor secundário do OROV e já foi encontrada infectada naturalmente com o WNV na Venezuela (ALENCAR et al., 2011).

*Culex quinquefasciatus* é uma espécie de mosquito com ampla distribuição geográfica no Brasil. Sua importância epidemiológica é sustentada por ser uma espécie vetora de patógenos associados a doenças como arboviroses e filarioses, além disso *Cx. quinquefasciatus* é bem

adaptado a ambientes íntegros ou degradados e possui elevado grau de reprodução. VASCONCELOS et al., (1989) já mensuravam a espécie como vetor do OROV e recentemente um estudo feito durante um surto de dengue na área metropolitana da cidade de Cuiabá, Estado do Mato Grosso, CARDOSO et al., (2015) detectaram o OROV em pools de mosquitos *Cx. quinquefasciatus*, reforçando o papel dessa espécie na transmissão desse arbovírus.

#### **2.1.4 Vírus Oropouche: histórico no Brasil e no mundo**

Apesar da sua importância epidemiológica, casos a febre Oropouche tem sido registrado até o momento unicamente em Trinidad e Tobago, Brasil, Panamá, Peru e um caso de detecção sorológica na Argentina (Figura 12). Em Trinidad e Tobago o OROV foi isolado primeiramente no sangue de um paciente febril no vilarejo Oropouche (que deu o nome ao arbovírus) e de um grupo de mosquitos *Cq. venezuelensis* em 1955 (KARABATSOS, 1985).

No Brasil, o OROV foi isolado pela primeira vez em 1960 a partir de sangue de uma *Bradypus trydactylus* (preguiça) capturada durante a construção da rodovia Belém-Brasília e em seguida em um pool de mosquitos *Ochlerotatus serratus* capturados na mesma área (PINHEIRO et al., 1962).

Entre os anos de 1960 até 1980 o OROV foi responsável por diversas epidemias no Estado do Pará, onde aproximadamente 11 mil pessoas foram infectadas pelo vírus. Essas epidemias atingiram diferentes mesorregiões Metropolitanas de Belém, exceto o sudoeste do Estado (PINHEIRO et al., 1962). Somente a partir da década de 1980 é que casos de infecção por OROV começaram a ser registrados na cidade de Manaus e Barcelos no Estado do Amazonas e na década passada, um surto do OROV atingiu a capital amazonense (MOURÃO et al., 2009), além de infecções na cidade de Mazagão, Estado do Amapá (BORBOREMA et al., 1982; PINHEIRO, 1981).

Nos anos seguintes, novas epidemias do OROV foram acontecendo, e em 1988 ocorrem epidemias nas cidades de Tocantinópolis, Estado de Tocantins e Porto Franco, Maranhão (VASCONCELOS et al., 2009). No Estado de Rondônia, o OROV foi registrado em 1991 na cidade de Ariquemes e Ouro Preto D'Oeste (PINHEIRO et al., 1997). Desde então o OROV tem sido registrado em diversos centros urbanos da região norte e nordeste do Brasil (AZEVEDO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2009, CARDOSO et al., 2016).

Fora do Brasil, o OROV também causou epidemias, como no Panamá em 1989 em um vilarejo denominado Benjuco (EVELIA-QUIROZ et al., 1989). Em seguida o OROV causou três epidemias no Peru, atingindo a cidade de Iquitos em 1992, Puerto de Maldonado e Madre de Dios em 1994 (CHAVEZ et al., 1992; WATTS et al., 1997). Recentemente, através de estudos sorológicos e moleculares feitos em amostras coletadas de pacientes febris na província de Jujuy na Argentina em 2005 foi detectado a presença do genoma viral e anticorpos IgM do OROV (FABBRI et al., 2005 dados não publicados).



**Figura 12.** Países da América Central e do Sul onde ocorreram epidemias de Febre por Oropouche entre 1961 e 2006. (Adaptado de Nunes et al. 2007).

### **2.1.5 Diagnóstico das arboviroses**

As infecções causadas por arbovírus apresentam diferentes formas clínicas, e arbovírus de famílias ou sorotipos diferentes podem ocasionar patologias semelhantes e às vezes assintomáticas. Portanto, o diagnóstico clínico de arboviroses torna-se difícil, devido à dificuldade de identificação, porém a detecção rápida do agente responsável pela infecção é essencial para que sejam tomadas medidas necessárias para o tratamento (DELMONT, 2003; DIAS et al., 2010).

O diagnóstico da febre Mayaro e febre Oropouche nas áreas rurais é baseado quase que exclusivamente apenas pelos sintomas clínicos, e pelo fato de possuir sintomas parecidos com a dengue (MOURÃO et al., 2012), casos de febre Mayaro e Oropouche podem estar sendo negligenciados. O método de isolamento viral é considerado padrão ouro, sendo a partir da inoculação *in vivo* em cérebros de ratos recém-nascidos ou *in vitro* utilizando cultura de células C6/36 originadas de mosquitos *Aedes albopictus* (MOTA; RIBEIRO; VEDOVELLO, 2015).

Duas ótimas ferramentas para o diagnóstico mais confiável de arbovírus em mosquitos e humanos são a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR convencional) e a PCR em tempo real, métodos que utilizam primers específicos para detecção viral. A detecção sorológica também pode ser usada, com ensaios imunoenzimáticos, imunofluorescência e inibição da hemaglutinação (ARAÚJO et al., 2002). Até o momento, não há vacinas disponíveis para a prevenção do MAYV, o diagnóstico é baseado apenas pelos sintomas clínicos e o tratamento é realizado com o uso de analgésicos ou anti-inflamatórios (MOTA; RIBEIRO; VEDOVELLO, 2015).

### **2.2 Infecção natural em mosquitos por arbovírus**

Estudos com infecção natural em mosquitos por arbovírus tem se tornado cada vez mais frequentes, tendo em vista a importância desses achados para saúde pública. Esses estudos permitiram a incriminação vetorial de muitas espécies de mosquitos como *Ae. aegypti*, *Cq. venezuelensis* e *Oc. serratus* (FERNANDES et al., 2017, KARABATSOS, 1985, SECUNDINO et al., 2017, VASCONCELOS et al., 1989). A infecção nos mosquitos é caracterizada como vertical ou horizontal. A transmissão vertical refere-se à transmissão de um patógeno dos pais para a prole e no caso da transmissão horizontal, todos os outros modos de transmissão fazem parte desse modelo, como por exemplo transmissão sexual e transmissão durante alimentação sanguínea de um hospedeiro com viremia (EBERT, 2013; FINE, 1975; LEQUIME; PAUL; LAMBRECHTS, 2016).

A taxa de infecção natural em mosquitos foi mostrado por SERRA et al., (2016) com *Cx. quinquefasciatus* e *Ae. aegypti* infectados naturalmente com DENV e MAYV com taxa de infecção de 1,39% e 46,12% respectivamente. CARDOSO et al., (2015) encontraram taxa de 2,3% em mosquitos *Cx. quinquefasciatus* infectados naturalmente com OROV. FERNANDES et al., (2017) que em *Ae. aegypti* infectado naturalmente por DENV encontraram taxa mínima de 17,7% e PESSANHA et al., (2011) encontraram taxa mínima de 13,9% em larvas de *Ae. aegypti* infectadas naturalmente com DENV.

Atualmente diversas técnicas têm sido utilizadas para detecção de arbovírus em mosquitos, como RT-qPCR que possibilita uma identificação mais rápida das espécies de arbovírus. Essa técnica tem sido bastante usada por pesquisadores (KOW et al., 2001; NAVECA et al., 2017; PESSANHA et al., 2011; SERRA et al., 2016) e apresenta resultados altamente satisfatórios, tendo em vista que além de detecção viral é possível calcular taxa de infecção e quantificar a carga viral. Porém no Estado do Amazonas, poucos estudos têm sido realizados com infecção natural de arbovírus em mosquitos, a maioria se restringe na identificação de arbovírus em humanos.



### 2.3 Sinantropização

As alterações ecológicas e mudanças ambientais, como desmatamento, aumento da temperatura global, urbanização desorganizada e construções de rodovias tem exercido uma grande influência na emergência e proliferação de doenças zoonóticas no mundo, essas alterações podem provocar um desequilíbrio ecológico em um contexto dentro do qual os vetores e os patógenos estão envolvidos (PATZ et al., 2000).

O desmatamento é um problema permanente no mundo, cria condições ideais para que os vetores criem e disseminem patógenos causadores de doenças como arboviroses, malária e leishmaniose (MOLYNEUX, 2003). Essa atividade possui um impacto negativo para saúde da população humana, principalmente o desmatamento de florestas tropicas úmidas pois a criação de assentamentos rurais pode favorecer a formação de habitats aquáticos contribuindo para a emergência de mosquitos (GOTTWALT 2013), como foi demonstrado por MARTEIS et al., (2017) que associaram a alta diversidade de mosquitos coletados na Caatinga no estado da Bahia à grande disponibilidade de habitats aquáticos naturais.

Os assentamentos rurais são as principais causas de desmatamento, nos últimos anos a criação de assentamentos aumentou 70% entre os anos 2002 e 2014, passando de 220 mil km<sup>2</sup> para 376 mil km<sup>2</sup>, respectivamente (ASSUNÇÃO; ROCHA, 2016). Em uma comunidade rural amazônica RAMOS et al., (2014) avaliaram os efeitos do desmatamento e densidade populacional na abundância de flebotomíneos e encontraram maior abundância de indivíduos no ambiente peridomiciliar.

Os impactos das alterações climáticas na saúde humana dependem de muitos fatores, como condições ambientais locais, avaliação de vulnerabilidade e a existência de estratégias de adaptação pelos sistemas de saúde pública. As condições de tempo, em especial a temperatura,

umidade e precipitação, podem afetar a taxa de reprodução e a sobrevivência dos vetores, o seu habitat, distribuição e abundância (VONESCH et al., 2016).

Com os recentes surtos de febre Chikungunya, febre Zika e febre Amarela no Brasil, pode-se observar a grande influência do homem na distribuição de doenças, levando em consideração que o CHIKV é um arbovírus que possuía ciclos estritamente silvestres e que hoje circula nas principais capitais do país (AZEVEDO et al., 2015; SVS/MS 2015). Nessa mesma perspectiva LIMA-CAMARA (2016) destaca o impacto econômico que essas arboviroses podem causar a saúde pública, devido as intensas dores nas articulações que interferem as atividades ocupacionais do indivíduo infectado.

ABAD-FRANCH et al., (2012) discutem a possível peridomiciliação de vetores do MAYV ou a introdução de vetores alternativos em uma comunidade rural amazônica, devido a testes sorológicos derem positivos para o MAYV em crianças com idade inferior a 5 anos. Essa hipótese foi sugerida pelo fato de que o MAYV possui circulação estritamente florestal e seu principal vetor o *Hg. janthinonys* vive no dossel de árvores e até o momento não possui registro de circulação no peridomicílio.

PESSOA et al., (2007) fizeram um levantamento da fauna de flebotomíneos antes e depois do corte seletivo de madeira, em uma floresta amazônica, e observaram a redução significativa da abundância de espécimes. E recentemente em um estudo realizado por SOUZA et al., (2012) foi avaliado o efeito do impacto industrial sobre a abundância e diversidade de mosquitos em uma área preservada e outra antropizada e os resultados mostraram menor diversidade de espécies de mosquitos na comunidade antropizada.

Essas regiões tropicais são ocupadas atualmente por muitas espécies que são vetores de patógenos, e projeções futuras indicam um aumento nas condições climáticas para essas áreas. Essas mudanças climáticas podem favorecer alterações na distribuição geográfica dos vetores,

impactando a epidemiologia espacial de doenças transmitidas por insetos como arboviroses, malária e leishmaniose (CARVALHO; RANGEL; VALE, 2016).

## **2.4 Fatores de risco**

O surgimento e o ressurgimento de doenças transmitidas por mosquitos podem muitas vezes estar ligados não só as mudanças ambientais, como desmatamento, agricultura e urbanização (FOLEY et al., 2007; MORSE, 1995) mas também pelo uso indevido do solo e a localização geográfica das residências em uma comunidade (STEIGER; RITCHIE; LAURANCE, 2016). Essas mudanças podem influenciar a prevalência e a distribuição de doenças, aumentando os habitats de reprodução, recursos alimentares e mudando as relações entre vetor e hospedeiro (BAYOH; LINDSAY, 2003; VITTOR et al., 2009).

A substituição de florestas por lavouras, pecuária e criação de pequenos animais pode criar um habitat favorável para a proliferação de vetores e seus respectivos parasitas. A presença de animais próximos às casas pode ser considerado um fator de risco, podendo atrair insetos vetores e ocasionar surtos de doenças infecciosas na população (PATZ et al., 2000), como foi demonstrado por HOYOS-LÓPEZ et al., (2016) que associaram a elevada abundância de mosquitos e alta taxa de infecção natural por arbovírus à disponibilidade de hospedeiros alternativos em uma área rural na Colômbia.

A presença de casas próximas a floresta ou igarapés, também pode ser considerado um fator de risco, pois os igarapés e os ambientes de floresta são habitats que possuem clima ideal para o desenvolvimento de mosquitos. Dessa forma, com a proximidade das pessoas aos habitats de mosquitos pode favorecer o contato direto com um vetor infectado e as chances são altas de contrair alguma doença como malária, arbovirose e leishmaniose (MOLYNEUX, 2003).

### 3. JUSTIFICATIVA

No Brasil, o controle de doenças transmitidas por mosquitos é realizado concomitantemente com a vigilância em saúde, com propostas de promoção, prevenção e controle de doenças e agravos à saúde. A profundidade e amplitude da vigilância de arboviroses diferem regionalmente e várias áreas não possuem vigilância. Há também falta de conhecimento interdisciplinar sobre arbovírus e compreensão de seus vetores.

Com os recentes surtos de febre Amarela, febre Chikungunya e febre Zika a necessidade de definição de áreas de riscos de exposição a artrópodes vetores de patógenos aumentou consideravelmente. As áreas de riscos são criadas graças ao processo de antropização que alteram o padrão ecológico dos vetores, dos hospedeiros vertebrados e a transmissão de agentes patogênicos causadores de doenças.

O assentamento rural de Rio Pardo vem passando por modificações em sua configuração econômica e demográfica, devido ao intenso desmatamento para abertura de novos ramais e atividade de piscicultura. Dessa forma, a população fica exposta a presença de animais silvestres e insetos vetores que procuram abrigos ou alimentos próximos a casa.

Estudos envolvendo entomologia e virologia são importantes ferramentas no monitoramento de acessos febris, podendo com os dados obtidos, ser sugeridas estratégias de intervenção, a fim de prevenir ou controlar epidemias. No entanto, até o momento poucas arboviroses podem ser prevenidas com o uso de vacinas ou medicamentos antivirais. Portanto, a alternativa mais efetiva concentra-se em procedimentos práticos para reduzir os riscos de exposição a artrópodes vetores com uso de repelentes, telas nas portas e janelas das casas e uso de mosquiteiro.

A maioria das pessoas que reside em áreas rurais apresenta picos febris todos os anos, com sintomas parecidos com a dengue (MOURÃO et al., 2012). Arboviroses como febre

Mayaro e febre Oropouche deixam de ser notificadas devido à dificuldade de diagnóstico e, conseqüentemente, acabam sendo negligenciadas.

Em um trabalho realizado por ABAD-FRANCH et al., (2012) no assentamento rural de Rio Pardo, 44% dos 270 participantes que fizeram parte do estudo apresentaram soropositividade para o MAYV, incluindo sete crianças com três anos de idade. Tal fato levou a esses autores a acreditarem em uma possível circulação de mosquitos associados à transmissão do MAYV em ambientes antropizados ou peridomiciliares.

Os mesmos autores então especularam que, nessa comunidade, o MAYV provavelmente não está sendo transmitido exclusivamente por *Hg. janthinomys*, que é considerado o vetor principal de hábitos diurnos associados a florestas preservadas, e sim por vetores noturnos e endofílicos, adaptados a áreas degradadas, portanto, admite-se a possibilidade do MAYV estar sendo transmitido por outros gêneros de mosquitos, como *Sabethes*, *Psorophora* e *Culex*, que podem estar transmitindo o vírus em ambientes antrópicos (SMITH; FRANCY, 1991; NAVARRETE-ESPINOSA; GOMEZ-DANTÉS, 2006; SERRA et al., 2016).

Em relação à infecção por OROV, entre 1998 e 1999 foram detectados três pacientes infectados durante uma epidemia de dengue ocorrida no Estado do Amazonas (FIGUEIREDO et al., 2004). E recentemente no ano de 2009, um surto da febre Oropouche intrigou os pesquisadores, onde 631 pessoas deram entradas na FMT-AM com suspeitas de dengue que logo foram descartadas, e das 631 pessoas, 128 (20.3%) tinham anticorpos IgM para OROV (MOURÃO et al., 2009).

Se a transmissão por vetores sinantrópicos for confirmada, o risco de surgimento de infecções por MAYV e OROV em área não-florestal, talvez peridomicílio, poderia gerar sérias conseqüências para a saúde pública (WEAVER; REISEN, 2010). A possível associação entre outras espécies de mosquitos com a transmissão de MAYV e OROV, como por exemplo o *Cx.*

*quinquefasciatus*, poderia representar grande risco de transmissão para as populações humanas e aumentar a distribuição geográfica desses arbovírus (FIGUEIREDO & FIGUEIREDO 2014).

Caso exista a possibilidade de peridomiciliação da febre Mayaro ou surtos da febre Oropouche o comportamento das pessoas, tais como circulação em ambientes silvestres, manutenção de animais domésticos próximos de casas, hábitos de dormir em ambientes não telados, distância das casas com relação à floresta e igarapé, dentre outros, podem ser fatores relacionados com o aumento de diversas endemias transmitidas por insetos (ABAD-FRANCH et al., 2012).

O risco de emergência de novos arbovírus no país relaciona-se a existência de cidades que recebem constantemente pessoas vindas de zonas rurais e que podem estar infectadas por algum arbovírus. A maioria das cidades brasileiras está infestada por mosquitos antropofílicos como *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* que foram coletados infectados pelo MAYV e OROV na cidade de Cuiabá, Mato Grosso (CARDOSO et al., 2015; SERRA et al., 2016).

Poucos estudos sobre a fauna de culicídeos foram realizados na comunidade e nenhum estudo foi feito para verificar taxas de infecção natural de arbovírus em mosquitos. Dessa forma, o conhecimento da fauna de culicídeos aliado com a verificação da taxa de infecção natural em mosquitos pode ser importante no desenho de estratégias de controle vetorial a fim de evitar ou controlar surtos de doenças.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Avaliar aspectos ecológicos de mosquitos por estratificação vertical e horizontal em ambientes de floresta e antropizados, fatores de risco e vetores putativos do vírus Mayaro e vírus Oropouche em uma comunidade rural amazônica.

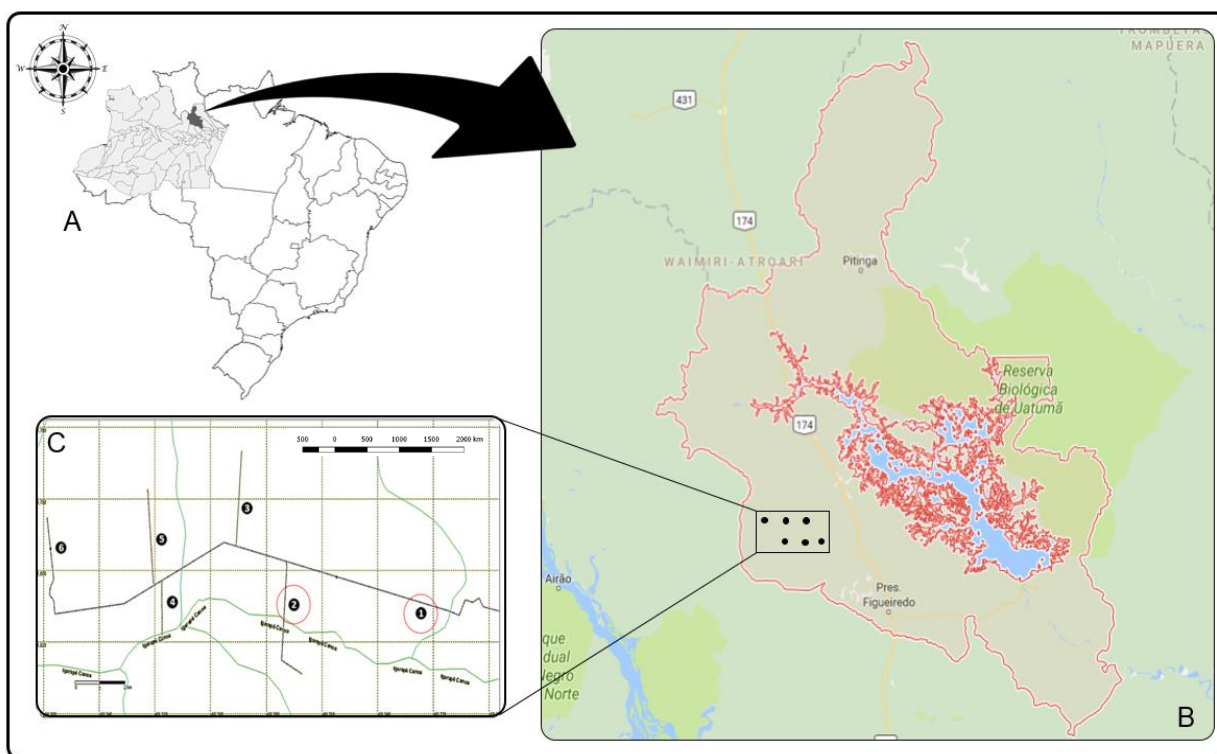
### 4.2 Objetivos específicos

1. Realizar um levantamento da fauna de mosquitos no assentamento rural e comparar abundância, riqueza e diversidade em:
  - Estratificação horizontal (Peridomicílio, borda de floresta e floresta);
  - Estratificação vertical (solo e dossel);
2. Descrever fatores de risco a vetores do MAYV e OROV, para a população humana do assentamento, por meio de um questionário estruturado;
3. Detectar o MAYV e OROV nos mosquitos coletados e calcular taxas de infecção natural.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no Assentamento Rural de Rio Pardo ( $S01^{\circ}49'02.4''$   $W060^{\circ}19'03.6''$ ), localizado no município de Presidente Figueiredo, estado do Amazonas, a 110 km de Manaus, com acesso pela rodovia BR-174, que liga o estado do Amazonas ao estado de Roraima. O assentamento agrícola, oficialmente criado em 1996 pelo Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), possui uma área de 27.980 hectares sendo composto por 6 ramais: Ramal principal, Ramal Maria Gusmão, Ramal Samuel, Ramal Terra Preta, Ramal Taxista e Ramal Novo Paraíso (Figura 13).



**Figura 13.** (A) Mapa do Brasil, destacando o Estado do Amazonas (B) Município de Presidente Figueiredo, destacando o assentamento rural de Rio Pardo (C) Mapa do assentamento rural de Rio Pardo, em vermelho os locais onde as duas plataformas foram construídas a aproximadamente 12 metros de altura. 1. Ramal Principal, 2. Ramal Gusmão, 3. Ramal Terra Preta, 4. Ramal Samuel, 5. Ramal Novo Paraíso e 6. Ramal Taxista.



O acesso é feito por via terrestre pela BR-174 e depois por 17 km em estrada de terra, ou por via fluvial, através do igarapé do Rio Pardo, um pequeno afluente do Rio Negro. A principal atividade econômica é a agricultura familiar. Alguns moradores possuem gados para fins comerciais, mas a maioria dos assentados mantêm animais domésticos para o consumo como galinhas, porcos e mais recentemente a criação de peixes.

De acordo com o último censo, realizado no ano de 2015 pelo Instituto Leônidas e Maria Deane, atualmente há 584 moradores. O clima do assentamento rural de Rio Pardo caracteriza-se como tropical úmido (tipo Af), conforme classificação de Köppen<sup>1</sup>, com temperatura média anual de 27°C. Na localidade ocorrem dois períodos climáticos: um período chuvoso, de Novembro a Maio, e um período seco, de Junho a Outubro (SOUZA-SILVA et al., 2014).

Além disso, a Fiocruz possui um Laboratório de Pesquisas Avançadas em Rio Pardo, que é uma base permanente de trabalho de campo, facilitando o desenvolvimento da pesquisa (Figura 14).



**Figura 14.** Laboratório de campo da Fiocruz/ILMD no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (Foto: Acervo EDTA).

---

<sup>1</sup> Clima tropical (tipo Af) é um clima no qual a precipitação ocorre durante todo o ano. Devido ao aquecimento intenso da superfície e à alta umidade, as máximas diárias são em cerca de 32° e a temperatura noturna é de 22°C.



**Figura 15.** Ramal da Gusmão do assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (Foto: Acervo EDTA).



**Figura 16.** Ambiente desmatado e queimado para construção de lavoura ou casas no ramal do Principal do assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (Foto: Acervo EDTA).



**Figura 17.** Características dos ramais do assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (A) Ramal do Samuel, ponto de coleta, (B) A mobilidade das pessoas é feita a pés ou por motos, (C) Ramal Principal, ponto de coleta, (D) Ponto de coleta, mostrando a proximidade da casa em relação a floresta. (Foto: Acervo EDTA).

## 5.2 Coleta de mosquitos

Foram feitas quatro excursões para o assentamento rural de Rio Pardo. As coletas de mosquitos foram realizadas durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016. Foram feitas duas coletas no período seco (junho e julho) e duas coletas no período chuvoso (novembro e dezembro). A cada evento de excursão as coletas foram feitas por cinco dias consecutivos.

## 5.3 Distribuição por estratificação vertical

Algumas espécies de mosquitos como *Hg. janthinomys* e *Sa. chloropterus* que são incriminadas como vetores de arbovírus são acrodendrófilos, sendo necessário a coleta no dossel e solo das árvores. Para isso, foram construídas duas plataformas, uma no Ramal Principal (S01°48'13.4" W060°18'44.3") e outra no Ramal Maria Gusmão (S01°49'02.3" W060°19'03.5"), em áreas de floresta, à aproximadamente 12 m de altura (Figura 18a, c).

No dossel e base de árvore as coletas foram realizadas utilizando armadilhas luminosas HP das 18:00 às 06:00, e por meio de atração humana protegida (Figura 18b, d), usando aspiradores manuais e puçá, das 06:00 às 08:00, 14:00 às 16:00 e 17:00 às 19:00. Em cada plataforma, as coletas foram realizadas por uma pessoa no dossel e outra no solo, simultaneamente.



**Figura 18.** (A) e (C) Foto das plataformas construídas no Ramal Gusmão e Ramal Principal, respectivamente; (B) Foto de uma armadilha luminosa HP; (D) Foto de método de coleta por atração humana protegida. (Foto: Acervo EDTA).

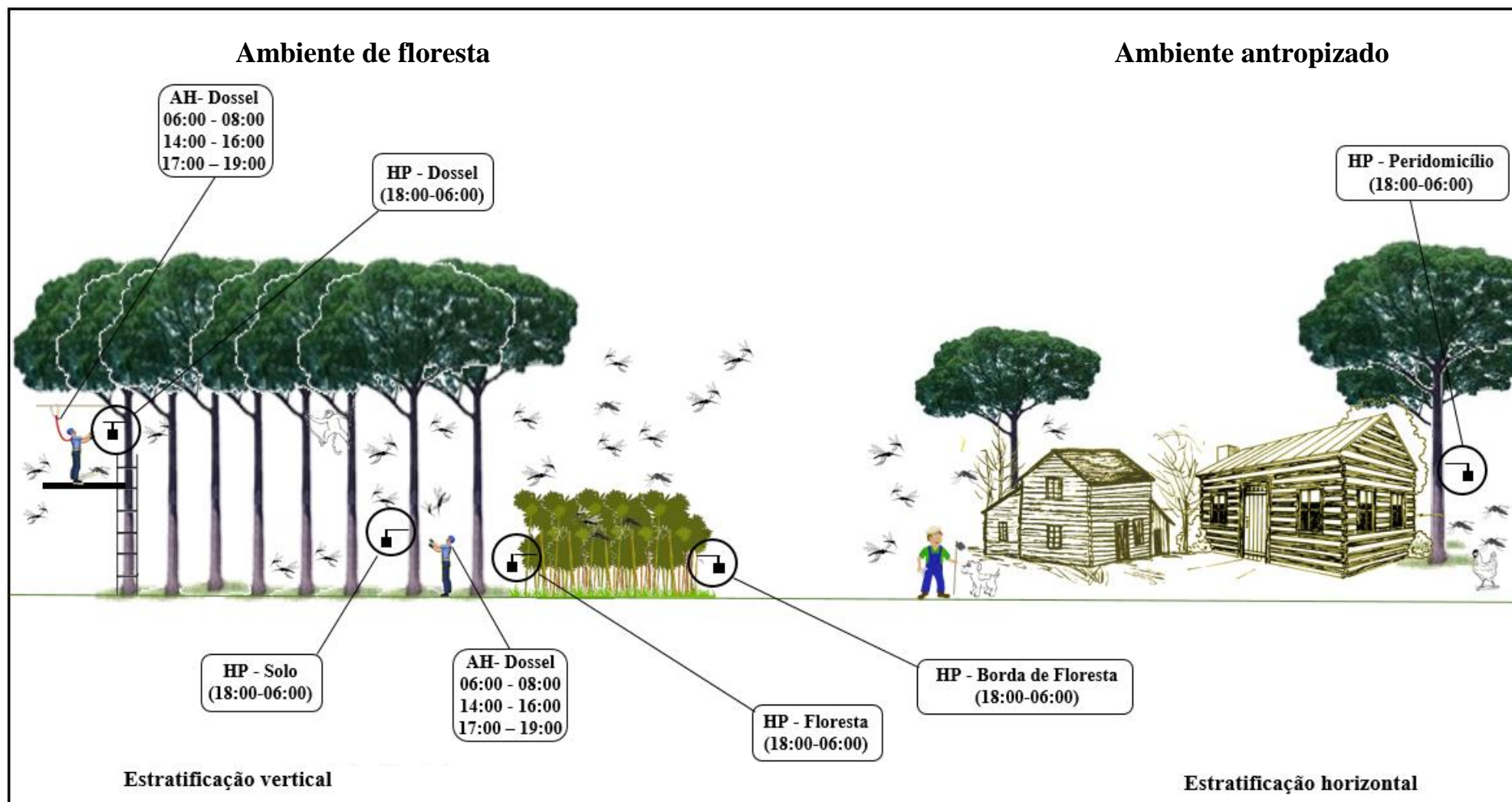
#### **5.4 Distribuição por estratificação horizontal**

Para avaliar a distribuição das espécies por estratificação horizontal foram realizadas coletas nos seis ramais da comunidade rural de Rio Pardo: Ramal Taxista, Ramal Maria Gusmão e Ramal Samuel, Ramal Principal, Ramal Novo Paraíso e Ramal Terra Preta. Em cada ramal foram escolhidos dois locais separados por uma distância superior a 300 metros, cada um contendo os ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta. Em cada ambiente foram instaladas, simultaneamente, duas armadilhas luminosas HP, por cada noite, no período das 18:00 às 06:00.

Diariamente os mosquitos coletados foram transportados vivos até o laboratório de campo, dentro de caixas de isopor adaptadas com papel toalha umedecido para mantê-los vivos até o momento da identificação taxonômica. Após identificação, os mosquitos foram transferidos para microtubos contendo 1 mL de RNAlater™ e armazenado em geladeira a 4° C até o término da excursão.



**Figura 19.** Ambientes de coletas das espécies de mosquitos por estratificação horizontal no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (A) Laboratório de campo da Fiocruz em Rio Pardo; (B), (C), (D) Armadilhas HP montadas no peridomicílio; (E) Floresta e (F) Borda de floresta. (Foto: Acervo EDTA).



**Figura 20.** Dinâmica das coletas de mosquitos nos ambientes de floresta e antropizados no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (Foto: Acervo EDTA). AH- Atração humana, HP - Armadilha luminosa HP.



## **5.5 Identificação e conservação dos mosquitos coletados**

Os mosquitos coletados foram identificados até o nível de espécie, utilizando as chaves dicotômicas de LANE (1953), CONSOLI (1998), FORATTINI (2000) e SEGURA & CASTRO (2007). Após a identificação, os mosquitos foram agrupados em pools de 10 por espécie (quando possível), em microtubos contendo 1 mL de RNAlater™, devidamente etiquetados e mantidos refrigerados a 4°C. Ao término da excursão as amostras foram transportadas para o Laboratório de Ecologia de Doenças Transmissíveis na Amazônia do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/FIOCRUZ), e conservados a -80°C.

## **5.6 Extração de ácido ribonucleico (RNA)**

Os mosquitos conservados em RNAlater™ foram transferidos para microtubos contendo 1 mL de Reagente Trizol LS®. O RNA viral foi extraído pelo método do Reagente Trizol LS®, seguindo as instruções do fabricante. Os pools foram macerados com auxílio de pistilos de plástico, utilizando 5µl de MS2 como controle interno positivo e centrifugados a 12.000g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi transferido para um tubo limpo e o pellet resultante foi descartado. Após incubação de 5 minutos a temperatura entre 15 e 30°C, foi adicionado clorofórmio e centrifugado a 12.000g por 15 minutos a 4°C. Ao término da centrifugação o líquido no tubo dividiu-se em três fases (fase inferior contendo fenol-clorofórmio, uma interfase contendo o RNA e uma fase aquosa superior que consiste de proteína). A fase composta por RNA foi transferida para um microtubo novo, e o RNA foi precipitado adicionando álcool isopropílico, incubado por 10 minutos a 15-30°C e centrifugado a 12.000g por 10 minutos a 4°C. O pellet formado foi lavado com etanol 75% e centrifugado a 7.500g por 5 minutos a 4°C.

O pellet resultante foi seco em temperatura ambiente, ressuspendido em água DEPC e armazenado a -80°C.

### 5.7 Detecção do MAYV e OROV por RT-qPCR

O RNA extraído foi submetido a um protocolo de RT-qPCR. Foi utilizado o kit TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix (Applied Biosystems™). O protocolo da técnica foi padronizado por NAVECA et al., (2017). O volume total da reação foi de 10 µL, consistindo de 2.5 µL da TaqMan, 0.1 µL da sonda MAYV [10µm], 0.6 µL do primer para MAYV [5µm], 0.1 µL da sonda OROV [10µm] VIC, 0.6 µL do primer para OROV [5µm], 0.1 µL da sonda MS2 [10µm], 0.6 µL do primer MS2 [5µm], 2.9 µL de H<sub>2</sub>O e 2.5 µL do RNA.

**Tabela 1** Oligonucleótidos usados neste estudo.

Oligo	Sequências	Start	Stop
MAYV_FNF	5' CACGGACMTTTTGCCTTCA 3'	465	483
MAYV_FNR	5' AGACTGCCACCTCTGCTKGAG 3'	524	504
MAYV_FNP	5' (VIC) ACAGATCAGACATGCAGG 3'	485	502
OROV_FNF	5' TCCGGAGGCAGCATATGTG 3'	98	116
OROV_FNR	5' ACAACACCAGCATTGAGCACTT 3'	160	139
OROV_FNP	5' (FAM) CATTGAAGCTAGATACGG 3'	118	136
MS2_IC_FNF	5' GCGCAGAATCGAAATACA 3'	1494	1512
MS2_IC_FNR	5' CAACAGTCTGGGTTGCCACTT 3'	1554	1534
MS2_IC_FNP	5' (NED) ATCAAAGTCGAGGTGCC 3'	1515	1531

Os números Start/Stop referem-se à posição dos nucleotídeos do segmento S do MAYV e OROV, e as sequências do controle positivo interno MS2 são sequências disponíveis no GenBank (NC\_003417.1, NC\_005777.1 e NC\_001417.2).

A reação de amplificação foi realizada utilizando um termociclador QuantStudio® 5 (Applied Biosystems™) e consistiu dos seguintes passos: 5 minutos a 50° C para atividade da enzima Transcriptase reversa, 20 segundos a 95° C para inativação da enzima Transcriptase reversa e ativação da enzima DNA polimerase, seguido por 45 ciclos de amplificação de 3

segundos a 95°C e 30 segundos a 60° C para o passo de hibridização e extensão. Os dados foram analisados com a utilização do software QuantStudio™ Firmware v1.3.1.

## **5.8 Fatores de risco**

Um questionário foi aplicado aos moradores dos 144 domicílios, onde 490 pessoas foram entrevistadas e a avaliação do questionário foi dividida em dois grupos de fatores de risco:

- I. À nível individual: idade, sexo e ocupação;
- II. À nível doméstico: tipo de casa, distância da residência em relação a floresta e igarapé; Saneamento básico em relação a presença de banheiro interno ou externo; Eliminação de resíduos sólidos se foram eliminados dos arredores da família, principalmente enterrando/queimando;

## **5.9 Análises dos dados**

A diversidade de espécies foi calculada utilizando o índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), que é constituído pelo número e equitabilidade de espécies, e adicionalmente foi usado o índice de Rényi que agrega os índices de Shannon-Wiener ( $H'$ ) e índice de Simpson ( $D$ ).

A uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies foi calculada pelo índice de equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) que permite representar a uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies existentes e para avaliar a semelhança entre as espécies coletadas nos ambientes foi calculado o índice de Similaridade de Jaccard ( $C_j$ ) que compara

qualitativamente a semelhança entre espécies ao longo de um gradiente ambiental (MAGURRAN, 2005).

Para análise de riqueza foi considerado o número de espécies em cada ambiente, calculada pela soma do número de espécies coletadas. A abundância foi considerada como o número total de mosquitos coletados em cada ambiente. Uma análise de variância (ANOVA) foi realizada para comparar o número de espécies coletadas de cada ambiente (peridomicílio, borda florestal e floresta). Além disso, utilizamos uma Escala Dimensional Não Métrica (NMDS) para representar a posição dessas comunidades em um espaço multidimensional.

A taxa mínima de infecção (TM) dos pools de mosquitos foi analisada conforme o cálculo proposto pelo CDC (Centers of Disease Control and Prevention) que é estimada pelo número total de pools positivos, dividido pelo número total de pools analisados x 1000. Os resultados foram comparados com os dados disponíveis na literatura e os testes tiveram nível de confiança de 95%.

Foram utilizados os seguintes softwares para análises ecológicas: Microsoft Excel<sup>®</sup> 2013, RStudio<sup>®</sup>, DiVES 3.0 e PAST 3.0.

## **5.10 Considerações éticas**

Para a coleta dos insetos o coordenador do projeto possui: Licença permanente SISBIO: N° 12186.

Questionário: CEP: O projeto: Arboviroses emergentes na Amazônia: fatores de risco de incidência de *Alphavirus*, com ênfase em Mayaro, na fronteira agrícola com número CAAE 40108114.7.0000.5248.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Abundância geral de mosquitos

O esforço amostral totalizou 2.400 horas de coletas, sendo 480 horas de coletas por atração humana protegida e 1.920 horas por coletas utilizando armadilhas HP.

Foram coletados 3.750 espécimes, distribuídos em duas subfamílias, Anophelinae e Culicinae, 17 gêneros e 46 espécies. Das subfamílias coletadas a Culicinae foi a que apresentou maior número de indivíduos (94,46%), enquanto que a Anophelinae representou somente (5,54%).

No geral, os gêneros mais abundantes foram *Psorophora*, com sete espécies e 1.230 mosquitos (32,6%), seguido por *Culex*, com quatro espécies e 889 mosquitos (23,5%) e *Ochlerotatus*, com quatro espécies e 695 mosquitos (17,8%). Em contrapartida, os gêneros menos representativos foram *Runchomya*, com apenas um mosquito identificado até nível de gênero (0,03%) e *Mansonia*, com uma espécie e 03 mosquitos (0,08%). No geral, as espécies mais abundantes foram *Ps. ferox* com 740 mosquitos (19,7%), seguida de *Oc. serratus* com 590 mosquitos (15,7%) e *Ps. cingulata* com 263 mosquitos (7%). O número de fêmeas de *Culex* do subgênero *Melanoconion* foi de 606 mosquitos (16,1%) (Tabela 2).

### 6.2 Estratificação vertical: Plataforma Gusmão e Principal

A riqueza de espécies coletadas nas plataformas dos Ramais Maria Gusmão e Principal correspondeu a 46 espécies distribuídas em 3.139 mosquitos (Tabela 2). Os gêneros mais abundantes foram *Psorophora*, com sete espécies e 1.219 mosquitos (31,8%), seguido por

*Ochlerotatus*, com quatro espécies e 675 mosquitos (21,5%). As espécies mais abundantes foram *Ps. ferox*, com 740 mosquitos (23,5%) *Oc. serratus* com 576 (18,3%).

Em relação aos métodos de coleta, por armadilhas luminosas HP foram capturados 289 mosquitos, distribuídos em vinte e cinco espécies (Índice de diversidade de Shannon-Wiener -  $H' = 1,86$ ). Os gêneros mais abundantes foram *Culex* com três espécies e 131 mosquitos (45,3%), seguido por *Ochlerotatus* com quatro espécies e 58 mosquitos (20%). As espécies mais abundantes foram *Oc. serratus*, com 53 mosquitos (18,3%) e *Cx. nigripalpus*, com 32 mosquitos (11%).

Por atração humana protegida, foram coletados 2.850 mosquitos distribuídos em quarenta e duas espécies ( $H' = 2,62$ ). Os gêneros mais abundantes foram *Psorophora*, com sete espécies e 1.179 mosquitos (41,3%), seguido por *Ochlerotatus*, com quatro espécies e 617 mosquitos (21,6%). As espécies mais abundantes foram *Ps. ferox*, com 735 mosquitos (25,7%) e *Oc. serratus*, com 523 mosquitos (18,3%). O teste de Mann-Whitney U demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos de coleta ( $p < 0,001$ ).

No dossel foram coletados 681 mosquitos, distribuídos em 32 espécies ( $H' = 2,86$ ). Os gêneros mais abundantes coletados no dossel foram *Psorophora* com cinco espécies e 187 mosquitos (27,4%), seguido por *Anopheles* com 79 mosquitos (11,6%). As espécies mais abundantes foram *Ps. albipes* com 103 mosquitos (15,1%), seguida por *Ps. ferox* com 70 mosquitos (10,2%) (Tabela 2).

No solo foram coletados 2.458 mosquitos, distribuídos em trinta e três espécies ( $H' = 2,53$ ). Os gêneros mais abundantes foram *Psorophora* com seis espécies e 1.031 mosquitos (41,9%), seguido por *Ochlerotatus* com 633 mosquitos (25,7%). As espécies mais abundantes foram *Ps. ferox* com 670 mosquitos (27,2%), seguido por *Oc. serratus* com 537 mosquitos (21,8%) (Tabela 2).

Em relação às coletas realizadas no solo por atração humana, foram capturados 2.289 mosquitos. As espécies mais abundantes foram *Ps. ferox* com 665 mosquitos (29%), seguida por *Oc. serratus* com 503 mosquitos (21,9%) e *Ps. cingulata* com 225 mosquitos (9,8%). No dossel por atração humana foram coletados 561 mosquitos, as espécies mais abundantes foram *Ps. albipes* com 103 mosquitos (18,3%), seguida por *Ps. ferox* com 70 mosquitos (12,4%) e *Anopheles mediopunctatus* com 54 mosquitos (9,6%).

**Tabela 2.** Espécies de mosquitos coletadas na plataforma Principal e Gusmão por armadilhas HP e atração humana no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016.

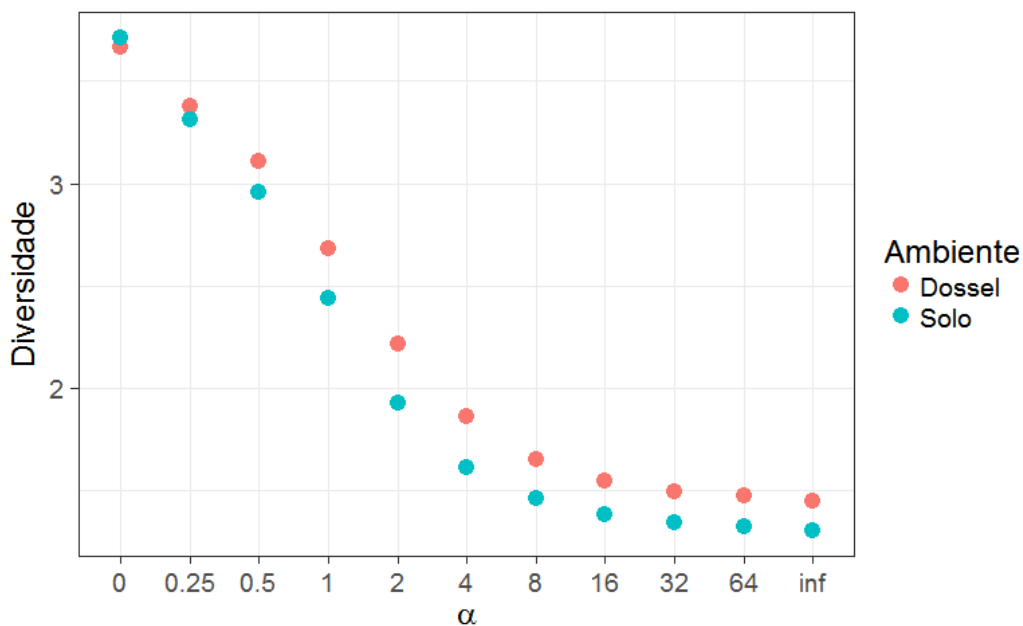
Espécies	Plataforma Principal e Gusmão									
	Atração Humana Solo	%	Atração Humana Dossel	%	Armadilha HP Solo	%	Armadilha HP Dossel	%	Total	%
<i>Aedes albopictus</i>	2	0,09	1	0,18	0	0,00	0	0,00	3	0,10
<i>Aedes fulvus</i>	54	2,36	9	1,60	2	1,19	4	3,33	69	2,20
<i>Aedes</i> sp	5	0,22	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	0,16
<i>Aedomyia squamipennis</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
<i>Anopheles oswaldoi</i>	0	0,00	0	0,00	2	1,19	0	0,00	2	0,06
<i>Anopheles eiseni</i>	1	0,04	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles mattogrossensis</i>	1	0,04	0	0,00	0	0,00	7	5,83	8	0,25
<i>Anopheles mediopunctatus</i>	16	0,70	49	8,73	7	4,17	3	2,50	75	2,39
<i>Anopheles nimbus</i>	73	3,19	1	0,18	2	1,19	1	0,83	77	2,45
<i>Anopheles nuneztovari</i>	3	0,13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	0,10
<i>Anopheles peryassui</i>	0	0,00	1	0,18	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles rondoni</i>	0	0,00	1	0,18	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles squamifemur</i>	0	0,00	1	0,18	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles triannulatus</i>	19	0,83	8	1,43	5	2,98	7	5,83	39	1,24
<i>Chagasia</i> sp	1	0,04	1	0,18	4	2,38	1	0,83	7	0,22
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	3	0,13	0	0,00	2	1,19	0	0,00	5	0,16
<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	48	2,10	0	0,00	1	0,60	0	0,00	49	1,56
<i>Coquillettidia lynchi</i>	35	1,53	0	0,00	1	0,60	0	0,00	36	1,15
<i>Coquillettidia nigricans</i>	0	0,00	0	0,00	1	0,60	0	0,00	1	0,03
<i>Culex (Melanoconium) sp</i>	90	3,93	110	19,61	47	27,98	50	41,67	297	9,46
<i>Culex coronator</i>	0	0,00	0	0,00	2	1,19	0	0,00	2	0,06
<i>Culex nigripalpus</i>	12	0,52	2	0,36	17	10,12	15	12,50	46	1,47
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
<i>Haemagogus (Haemagogus) sp</i>	0	0,00	7	1,25	0	0,00	0	0,00	7	0,22
<i>Haemagogus janthinomys</i>	8	0,35	35	6,24	0	0,00	0	0,00	43	1,37
<i>Haemagogus tropicalis</i>	1	0,04	27	4,81	0	0,00	0	0,00	28	0,89



<i>Jhonbelkinia longipes</i>	65	2,84	7	1,25	0	0,00	1	0,83	73	2,33
<i>Limatus durhamii</i>	8	0,35	0	0,00	0	0,00	2	1,67	10	0,32
<i>Limatus pseudomesthysticus</i>	70	3,06	1	0,18	0	0,00	0	0,00	71	2,26
<i>Mansonia titillans</i>	1	0,04	0	0,00	0	0,00	2	1,67	3	0,10
<i>Ochlerotatus argyrothorax</i>	7	0,31	1	0,18	0	0,00	0	0,00	8	0,25
<i>Ochlerotatus fulvithorax</i>	82	3,58	0	0,00	3	1,79	2	1,67	87	2,77
<i>Ochlerotatus scapularis</i>	4	0,17	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4	0,13
<i>Ochlerotatus serratus</i>	503	21,97	20	3,57	34	20,24	19	15,83	576	18,35
<i>Psorophora albipes</i>	84	3,67	103	18,36	1	0,60	0	0,00	188	5,99
<i>Psorophora ciliata</i>	0	0,00	1	0,18	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Psorophora cilipes</i>	8	0,35	4	0,71	3	1,79	0	0,00	15	0,48
<i>Psorophora cingulata</i>	225	9,83	3	0,53	24	14,29	6	5,00	258	8,22
<i>Psorophora dimidiata</i>	14	0,61	0	0,00	0	0,00	0	0,00	14	0,45
<i>Psorophora ferox</i>	665	29,05	70	12,48	5	2,98	0	0,00	740	23,57
<i>Psorophora saeva</i>	2	0,09	0	0,00	1	0,60	0	0,00	3	0,10
<i>Runchomyia sp</i>	1	0,04	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Sabethes chloropterus</i>	0	0,00	20	3,57	0	0,00	0	0,00	20	0,64
<i>Sabethes glaucodaemon</i>	0	0,00	3	0,53	0	0,00	0	0,00	3	0,10
<i>Sabethes albiprivus</i>	2	0,09	32	5,70	0	0,00	0	0,00	34	1,08
<i>Sabethes amazonicus</i>	0	0,00	4	0,71	0	0,00	0	0,00	4	0,13
<i>Sabethes belisarioi</i>	0	0,00	9	1,60	0	0,00	0	0,00	9	0,29
<i>Sabethes sp</i>	0	0,00	13	2,32	0	0,00	0	0,00	13	0,41
<i>Trichoprosopon digitatum</i>	7	0,31	1	0,18	0	0,00	0	0,00	8	0,25
<i>Trichoprosopon sp</i>	2	0,09	2	0,36	0	0,00	0	0,00	4	0,13
<i>Uranotaenia colosomata</i>	0	0,00	1	0,18	0	0,00	0	0,00	1	0,03
<i>Uranotaenia geometrica</i>	0	0,00	0	0,00	1	0,60	0	0,00	1	0,03
<i>Wyeomyia aporonoma</i>	18	0,79	1	0,18	0	0,00	0	0,00	19	0,61
<i>Wyeomyia sp</i>	149	6,51	12	2,14	4	2,38	0	0,00	165	5,26
<b>Total</b>	<b>2289</b>	<b>100</b>	<b>561</b>	<b>100</b>	<b>169</b>	<b>100,60</b>	<b>120</b>	<b>100,00</b>	<b>3139</b>	<b>100,00</b>

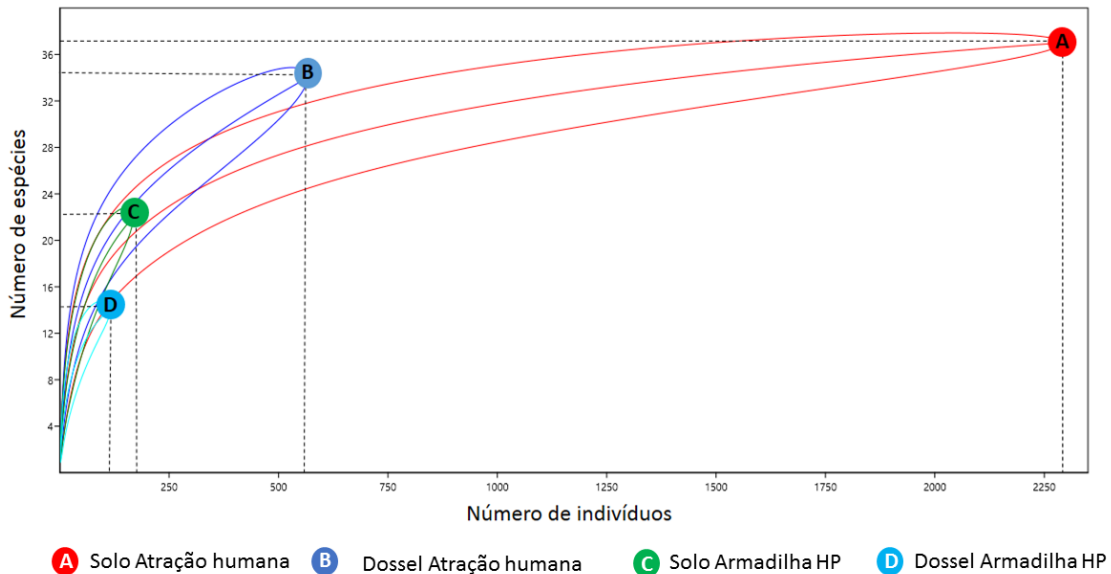
Nas coletas realizadas no solo por armadilhas luminosas HP foram capturados 169 mosquitos. As espécies mais abundantes foram *Oc. serratus* com 34 mosquitos (20,1%), seguida por *Ps. cingulata* com 24 mosquitos (14,2%) e *Cx. nigripalpus* com 17 mosquitos (10%). No dossel por armadilhas HP foram coletados 120 mosquitos, as espécies mais abundantes foram *Oc. serratus* com 19 mosquitos (15,8%), seguida por *Cx. nigripalpus* com 15 mosquitos (12,5%) e *Anopheles triannulatus* com 7 mosquitos (5,8%).

A análise feita pelo índice de Rényi para as coletas realizadas no dossel e no solo nas plataformas da Gusmão e Principal mostrou que a diversidade de espécies foi maior no dossel (Figura 21). Para verificar a diferença estatística entre as coletas realizadas no dossel e solo utilizou-se o teste PERMANOVA. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa na composição de espécies entre dossel e solo ( $p=0,3333$ ).



**Figura 21.** Perfis de diversidade de Rényi em função de diversidade de espécies, para as coletas de mosquitos realizadas no dossel e solo no ambiente florestado, Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016. Alfa ( $\alpha$ ) zero = log riqueza, 1 = Índice de Shannon, 2 = Índice de Simpson, Inf = Índice de Berger Parker.

Ao compararmos a riqueza de espécies nas coletas realizadas por armadilhas HP no solo e dossel não observamos diferença estatisticamente significativa ( $p=0,2342$ ). No entanto, as coletas realizadas por atração humana protegida no solo e dossel apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p<0,0465$ ).



**Figura 22.** Curvas de rarefação representando a riqueza acumulativa de espécies de mosquitos nas plataformas do ramal Principal e Maria Gusmão no dossel e solo por armadilhas HP e atração humana no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016. Intervalo de confiança de 95%.

Em relação às coletas realizadas nas plataformas do ramal Principal e Maria Gusmão, a curva de rarefação nos mostra que a riqueza de espécies de mosquitos coletadas por armadilhas HP no solo e dossel e por atração humana protegida no dossel poderia ser maior caso houvesse mais coletas. Essa hipótese não é sugerida quando olhamos a curva referente a coleta realizada no solo por atração humana, onde é possível observar uma estabilização o que mostra que independentemente do esforço amostral, ou seja, se houvessem mais coletas, o número de espécies de mosquitos não mudaria significativamente (Figura 22).

### 6.3 Estratificação horizontal – Peridomicílio, borda de floresta e floresta

Por estratificação horizontal nos ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta foram coletados 611 mosquitos, e a riqueza correspondeu a treze espécies. No geral, os gêneros mais abundantes foram *Culex* com duas espécies e 544 mosquitos (89%), seguido por *Uranotaenia* com 22 mosquitos (3,6%) e *Ochlerotatus* com 20 mosquitos (3,27%). As espécies mais abundantes foram *Cx. quinquefasciatus* com 184 mosquitos (30,11%), seguido por *Cx. nigripalpus* com 51 mosquitos (8,34%), *Ur. colosomata* com 22 mosquitos (3,60%) e *Oc. serratus* com 14 mosquitos (2,29%) (Tabela 3).

No peridomicílio foram coletados 305 mosquitos, a riqueza correspondeu a sete espécies. Os gêneros mais abundantes foram *Culex* com 298 mosquitos (97,7%), seguido por *Aedomyia* com 2 mosquitos (0,66%) e *Ochlerotatus* com 2 mosquitos (0,66%). As espécies mais abundantes foram *Cx. quinquefasciatus* com 149 mosquitos (48,85%), seguido por *Ae. squamipennis* com 2 mosquitos (0,66%) e *Oc. fulvithorax* com 2 (0,66%) (Tabela 3).

Na borda de floresta foram coletados 127 mosquitos e a riqueza correspondeu a 12 espécies. Os gêneros mais abundantes foram *Culex* com 99 mosquitos (77,9%), seguido por *Ochlerotatus* com 12 mosquitos (9,4%) e *Psorophora* com 08 mosquitos (6,2%). As espécies mais abundantes foram *Cx. quinquefasciatus* com 29 mosquitos (22,8%), seguida por *Cx. nigripalpus* com 16 mosquitos (12,60%) e *Oc. serratus* com 09 mosquitos (7,09%) (Tabela 3).

Na floresta foram coletados 179 mosquitos e a riqueza correspondeu a oito espécies. Os gêneros mais abundantes foram *Culex* com 147 mosquitos (82,1%), seguido por *Uranotaenia* com 19 mosquitos (10,6%) e *Ochlerotatus* com 06 mosquitos (2,7%). As espécies mais abundantes foram *Cx. nigripalpus* com 28 mosquitos (15,64%), seguida por *Ur. geometrica* com 19 mosquitos (10,61%) e *Oc. serratus* com 05 mosquitos (2,79%) (Tabela 3).

Usando o índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ) obtivemos os seguintes resultados: Peridomicílio ( $H' = 0,91$ ), borda de floresta ( $H' = 1,81$ ) e floresta ( $H' = 1,23$ ). A diversidade encontrada não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os diferentes ambientes (ANOVA  $p = 0,6353$ ).

Para calcular a uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies, foi escolhido o índice de equitabilidade estimada pelo índice de Pielou ( $J'$ ), mostrando que no ambiente de borda de floresta ( $J' = 1,56$ ) a equitabilidade foi maior com relação aos ambientes de peridomicílio ( $J' = 1,01$ ) e floresta ( $J' = 1,23$ ). O índice de similaridade de Jaccard ( $C_j$ ) apontou maior semelhança entre as espécies capturadas nos ambientes de borda de floresta e floresta ( $C_j = 0,53$ ).

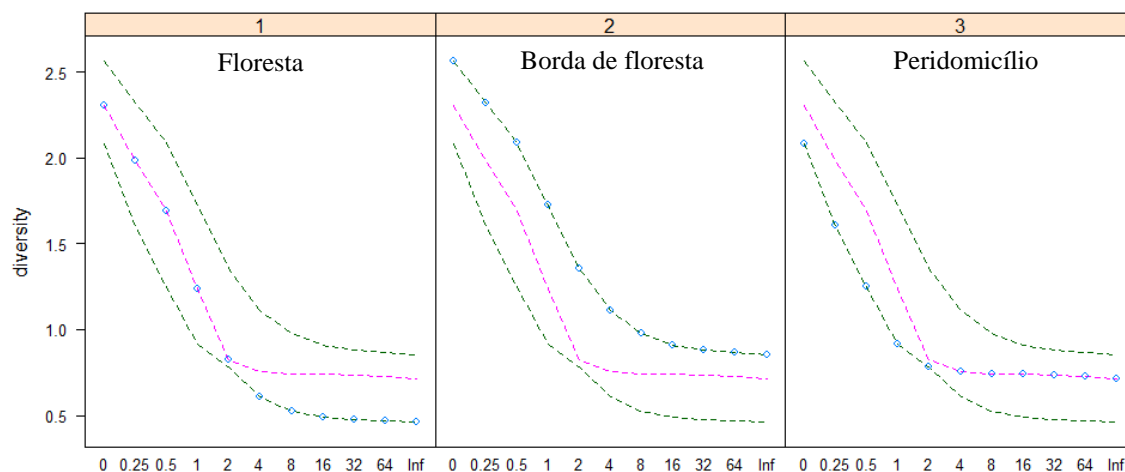
**Tabela 3.** Espécies de mosquitos coletadas em ambiente de peridomicílio, borda de floresta e floresta por armadilhas HP e nas plataformas do ramal Principal e Maria Gusmão por atração humana e armadilhas HP no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas durante os meses de junho, julho, novembro e dezembro de 2016.

Espécies	Plataformas		Ambientes						Total	%Total
	G.P.	%	Peridomicílio	%	Borda	%	Floresta	%		
<i>Aedes albopictus</i>	3	0,10	0	0,0	0	0,0	0	0,00	3	0,08
<i>Aedes fulvus</i>	69	2,20	0	0,0	0	0,0	0	0,00	69	1,84
<i>Aedes</i> sp	5	0,16	0	0,0	0	0,0	0	0,00	5	0,13
<i>Aedomyia squamipennis</i>	0	0,00	2	0,66	1	0,79	0	0,00	3	0,08
<i>Anopheles oswaldoi</i>	2	0,06	0	0,0	1	0,79	0	0,00	3	0,08
<i>Anopheles eiseni</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles mattogrossensis</i>	8	0,25	0	0,0	0	0,0	0	0,00	8	0,21
<i>Anopheles mediopunctatus</i>	75	2,39	0	0,0	0	0,0	0	0,00	75	2,00
<i>Anopheles nimbus</i>	77	2,45	0	0,0	0	0,0	0	0,00	77	2,05
<i>Anopheles nuneztovari</i>	3	0,10	0	0,0	0	0,0	0	0,00	3	0,08
<i>Anopheles peryassui</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles rondoni</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles squamifemur</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Anopheles triannulatus</i>	39	1,24	0	0,0	0	0,0	0	0,00	39	1,04
<i>Chagasia</i> sp	7	0,22	0	0,0	0	0,0	0	0,00	7	0,19
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	5	0,16	0	0,0	3	2,36	30	16,76	38	1,01
<i>Coquillettidia arribalzagae</i>	49	1,56	0	0,0	0	0,0	0	0,00	49	1,31
<i>Coquillettidia lynchi</i>	36	1,15	0	0,0	0	0,0	0	0,00	36	0,96
<i>Coquillettidia nigricans</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	1	0,56	2	0,05
<i>Culex (Melanoconium) sp</i>	297	9,46	142	46,56	54	42,52	86	48,04	579	15,44
<i>Culex coronator</i>	2	0,06	0	0,0	0	0,0	0	0,00	2	0,05
<i>Culex nigripalpus</i>	46	1,47	7	2,3	16	12,6	28	15,64	97	2,59
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0	0,00	149	48,85	29	22,83	6	3,35	184	4,91
<i>Haemagogus (Haemagogus) sp</i>	7	0,22	0	0,0	0	0,0	0	0,00	7	0,19
<i>Haemagogus janthinomys</i>	43	1,37	0	0,0	0	0,0	0	0,00	43	1,15

<i>Haemagogus tropicalis</i>	28	0,89	0	0,0	0	0,0	0	0,00	28	0,75
<i>Jhonbelkinia longipes</i>	73	2,33	0	0,0	0	0,0	0	0,00	73	1,95
<i>Limatus durhamii</i>	10	0,32	0	0,0	0	0,0	0	0,00	10	0,27
<i>Limatus pseudomesthysticus</i>	71	2,26	0	0,0	0	0,0	0	0,00	71	1,89
<i>Mansonia titillans</i>	3	0,10	0	0,0	0	0,0	0	0,00	3	0,08
<i>Ochlerotatus argyrothorax</i>	8	0,25	0	0,0	0	0,0	0	0,00	8	0,21
<i>Ochlerotatus fulvithorax</i>	87	2,77	2	0,66	1	0,79	1	0,56	91	2,43
<i>Ochlerotatus scapularis</i>	4	0,13	0	0,0	2	1,57	0	0,00	6	0,16
<i>Ochlerotatus serratus</i>	576	18,35	0	0,0	9	7,09	5	2,79	590	15,73
<i>Psorophora albipes</i>	188	5,99	1	0,33	4	3,15	1	0,56	194	5,17
<i>Psorophora ciliata</i>	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Psorophora cilipes</i>	15	0,48	0	0,0	0	0,0	0	0,00	15	0,40
<i>Psorophora cingulata</i>	258	8,22	1	0,33	4	3,15	0	0,00	263	7,01
<i>Psorophora dimidiata</i>	14	0,45	0	0,0	0	0,0	0	0,00	14	0,37
<i>Psorophora ferox</i>	740	23,57	0	0,0	0	0,0	0	0,00	740	19,73
<i>Psorophora saeva</i>	3	0,10	0	0,0	0	0,0	0	0,00	3	0,08
<i>Runchomyia</i> sp	1	0,03	0	0,0	0	0,0	0	0,00	1	0,03
<i>Sabethes chloropterus</i>	20	0,64	0	0,0	0	0,0	0	0,00	20	0,53
<i>Sabethes glaucodaemon</i>	3	0,10	0	0,0	0	0,0	0	0,00	3	0,08
<i>Sabethes albiprivus</i>	34	1,08	0	0,0	0	0,0	0	0,00	34	0,91
<i>Sabethes amazonicus</i>	4	0,13	0	0,0	0	0,0	0	0,00	4	0,11
<i>Sabethes belisarioi</i>	9	0,29	0	0,0	0	0,0	0	0,00	9	0,24
<i>Sabethes</i> sp	13	0,41	0	0,0	0	0,0	0	0,00	13	0,35
<i>Trichoprosopon digitatum</i>	8	0,25	0	0,0	0	0,0	0	0,00	8	0,21
<i>Trichoprosopon</i> sp	4	0,13	0	0,0	0	0,0	0	0,00	4	0,11
<i>Uranotaenia colosomata</i>	1	0,03	0	0,0	1	0,79	0	0,00	2	0,05
<i>Uranotaenia geometrica</i>	1	0,03	1	0,33	2	1,57	19	10,61	23	0,61
<i>Wyeomyia aporonoma</i>	19	0,61	0	0,0	0	0,0	0	0,00	19	0,51
<i>Wyeomyia</i> sp	165	5,26	0	0,0	0	0,0	2	1,12	167	4,45
<b>Total</b>	<b>3139</b>	<b>100,0</b>	<b>305</b>	<b>100,0</b>	<b>127</b>	<b>100,0</b>	<b>179</b>	<b>100,0</b>	<b>3750</b>	<b>100,0</b>

Borda = borda de floresta; sp = espécie, G = Gusmão, P = Principal

Corroborando com o Índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ), o índice de Rényi mostrou que o ambiente de borda de floresta apresentou maior diversidade, seguido por floresta e peridomicílio. Os pontos mostram os valores para cada local, as linhas verdes tracejadas mostram os valores extremos e a linha rosa a mediana (Figura 23).



**Figura 23.** Diversidade de Rényi para os ambientes de floresta, borda de floresta e peridomicílio amostrados por armadilhas luminosas HP no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas 2016.

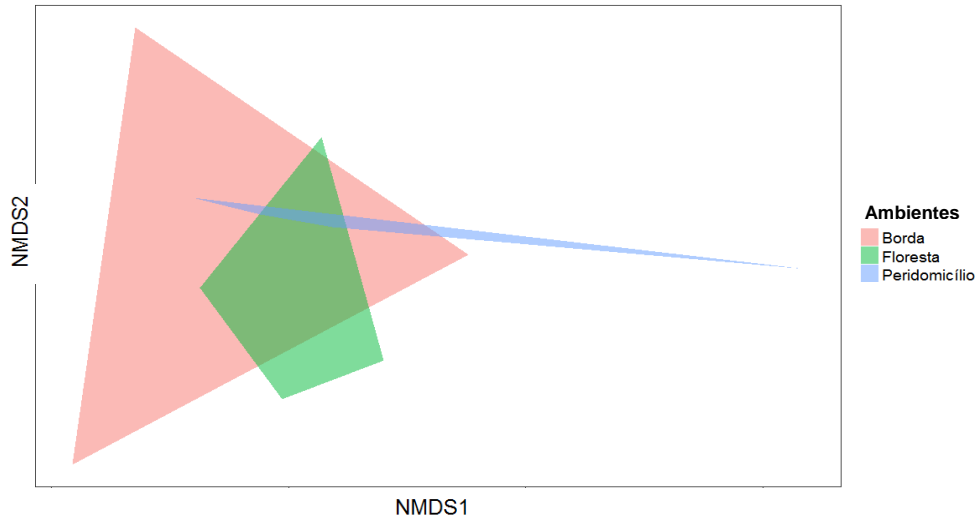
Para verificar a diferença na composição de espécies entre os ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta foi utilizado o teste PERMANOVA. Nesse caso, não foi observado diferença estatística entre os ambientes ( $p = 0,4598$ ).

A representação gráfica do escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) demonstra a diversidade das espécies de mosquitos nos ambientes estudados. A área rosa indica a distribuição das espécies no ambiente de borda de floresta, área verde indica a distribuição no ambiente de floresta e área azul a distribuição das espécies no ambiente de peridomicílio. O NMDS mostrou que os ambientes de borda de floresta e floresta apresentam composição de espécies semelhante (Figura 24).

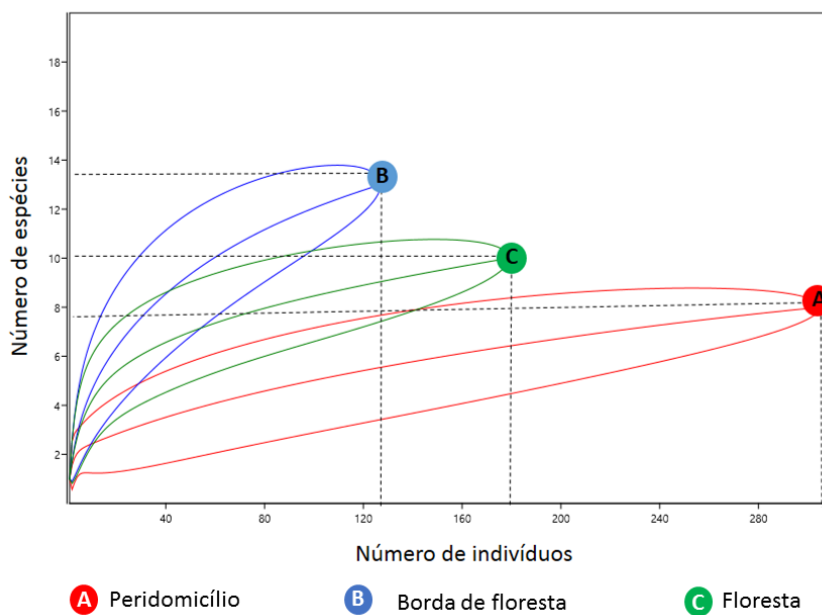
Algumas espécies de mosquitos como *Oc. scapularis*, *An. oswaldoi* e *Ur. geometrica* foram encontradas exclusivamente no ambiente de borda de floresta, e *Cq. nigricans* foi a única



espécie exclusiva para o ambiente de floresta. O ambiente de peridomicílio não apresentou espécies exclusivas.



**Figura 24.** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) para os ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta amostrados por armadilhas luminosas HP no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas em 2016.



**Figura 25.** Curvas de rarefação para as espécies de mosquitos coletadas no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas em 2016 nos ambientes de peridomicílio e borda de floresta e floresta. Intervalo de confiança de 95%.

Em relação as coletas realizadas nos ecótopos de peridomicílio, borda de floresta e floresta, a curva de rarefação nos mostra que os ecótopos borda de floresta e floresta tendem

ao crescimento, ou seja, quanto maior o número de coletas provavelmente o número de espécies também aumentaria. O que não é observado no ecótopo de peridomicílio, onde a curva tende a estabilização, dessa forma concluímos que mesmo que fossem realizadas outras coletas, o número de espécie seria relativamente o mesmo (Figura 25).

#### 6.4 Fatores de risco

Foram entrevistadas 490 pessoas em 141 domicílios no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. Das 490 pessoas que participaram do estudo, 260 (53,06%) pertencem ao sexo masculino e 230 (46,94%) do sexo feminino.

Os indivíduos amostrados tinham entre 2 a 99 anos de idade, dos quais 82 indivíduos (16,7%) estavam na faixa etária de 0 a 10 anos, 103 (21,02%) estavam entre 11 a 20 anos, 55 (11,2%) entre 21 a 30 anos, 57 (11,6%) entre 31 a 40 anos, 65 (13,6%) entre 41 a 50 anos e 128 (25,1%) igual ou acima de 51 anos de idade (Tabela 4).

**Tabela 4.** Frequência de pessoas entrevistadas, por sexo e idade no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

Grupo etário	Número de participantes			% Frequência		
	Homens	Mulheres	Total	Homens	Mulheres	Total
0-10	29	53	82	11,32	22,64	16,73
11-20	57	46	103	22,26	19,65	21,02
21-30	31	24	55	12,10	10,25	11,22
31-40	29	28	57	11,32	11,96	11,63
41-50	41	24	65	16,01	10,25	13,26
≥51	60	59	128	26,95	25,21	26,12
Total	245	226	490	100,00	100,00	100,00

Em relação a ocupação, dos 490 indivíduos que participaram do estudo, 240 (41,6%) declararam exercer atividade econômica através da agricultura sendo 130 (50%) do sexo masculino e 74 (32,1%) do sexo feminino. Seguido por estudantes com 151 (30,8) indivíduos,

sendo 74 (28,4%) do sexo masculino e 77 (33,4%) do sexo feminino. Em contrapartida, as atividades econômicas menos representativas foram a caça/pesca e turismo com apenas 1 (0,3%) indivíduo cada (Tabela 5).

**Tabela 5.** Frequência de pessoas entrevistadas por ocupação e sexo no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

Ocupação	Número de participantes			% Frequência		
	Homens	Mulheres	Total	Homens	Mulheres	Total
Agricultura	130	74	204	50,0	32,1	41,6
Pecuária	2	3	5	0,7	1,3	1,0
Doméstica	0	3	3	0,0	1,3	0,6
Turismo	0	1	1	0,0	0,4	0,2
Caça/Pesca	1	0	1	0,3	0,0	0,2
Do lar	0	47	47	0,0	20,4	9,5
Estudante	74	77	151	28,4	33,4	30,8
Outros	32	17	49	12,3	7,3	10,0
Não se aplica	21	8	29	8,0	3,4	5,9
Total	260	230	490	100,0	100,0	100,0

O destino dos resíduos sólidos foi avaliado nos 141 domicílios, deste 5 (3,5%) declararam ter o lixo doméstico coletado, 124 (87,9%) declararam queimar o lixo na própria residência, 7 (4,9%) optam por enterrar, 1 (0,7%) jogam no terreno e 4 (2,8%) declararam outras formas de eliminação do lixo (Tabela 6).

**Tabela 6.** Frequência de casas avaliadas quanto a eliminação de resíduos sólidos no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

Destino do lixo doméstico	Número de casas (Frequência%)	
	N	%
Coletado	5	3,54
Queimado na propriedade	124	87,9
Enterrado	7	4,9
Jogado no terreno	1	0,7
Outros	4	2,8
<b>Total</b>	<b>141</b>	<b>100%</b>

Dos 141 domicílios visitados, 21 (15%) foram caracterizados como longe da floresta (>0,5km) e 120 (85%) perto da floresta (<0,5km). Em relação à distância de igarapé 51 (37%) dos domicílios se enquadram na variável longe de igarapé (>0,5km) e 90 (63%) perto de igarapé (<0,5km). E com relação a distância dos domicílios da roça, 27 (19%) foram caracterizados como longe (>0,5km) e 63 (45%) como perto (<0,5km). E outros 51 (36%) dos domicílios não possuem roça (Tabela 7).

**Tabela 7.** Frequência quanto a localização das casas em relação a floresta, igarapé e roça no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

Variáveis	Número de casas	Frequência%
Em relação a floresta		
Longe (>0,5km)	21	15%
Perto (<0,5km)	120	85%
Em relação ao igarapé		
Longe (>0,5km)	51	37%
Perto (<0,5km)	90	63%
Em relação a roça		
Longe (>0,5km)	27	19%
Perto (<0,5km)	63	45%
Não possui roça	51	36%
<b>Total</b>	<b>141</b>	<b>100%</b>

Em relação às características dos 141 domicílios visitados, 117 (82,9%) foram construídas de madeira, seguida por construções em alvenaria 20 (14,1%). Além disso, apenas 06 (12%) domicílios possuíam telas nas janelas e portas da casa. Em relação a presença de cozinha 120 (86%) declararam possuir cozinha no ambiente interno e 21 (14%) no ambiente externo. E os banheiros 74 (53%) possuem no ambiente interno e 67 (47%) no ambiente externo (Tabela 8).

**Tabela 8.** Frequência de casas avaliadas quanto a eliminação de resíduos sólidos no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

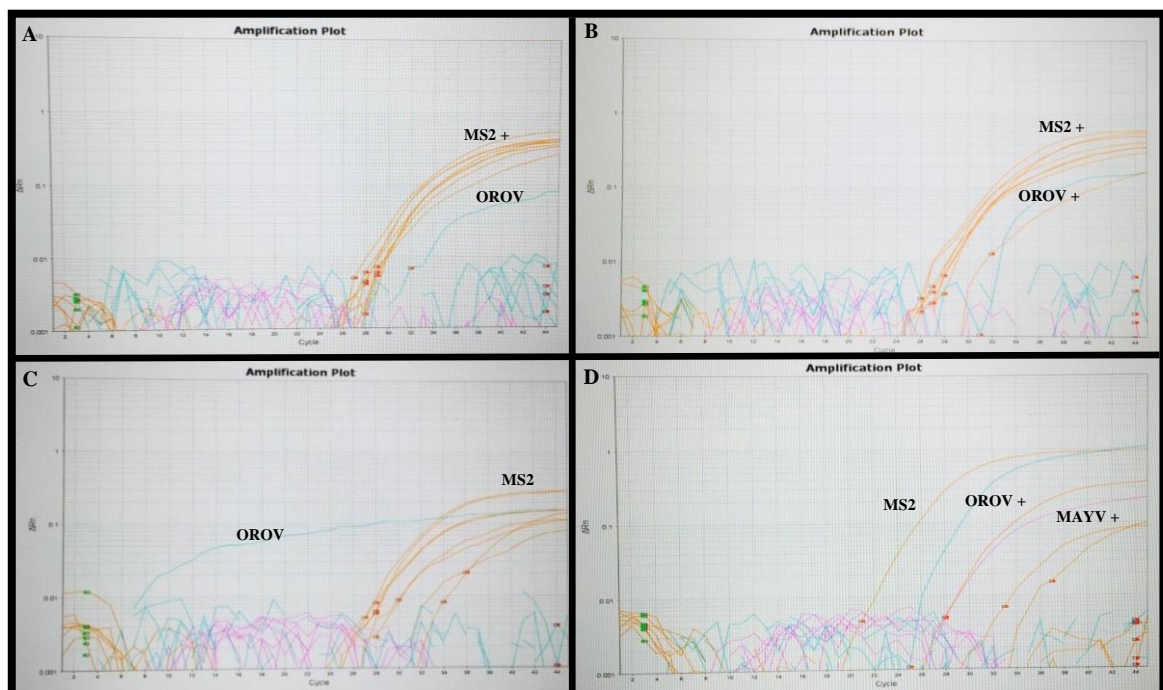
Características da casa	Número de casas	Frequência%
Tipo de casa		
Madeira	117	83%
Alvenaria	20	15%
Taipa/pau a pique	0	0%
Palha	0	0%
Lona/plástico	0	0%
Outros	04	2%
Casa telada		
Sim	06	12%
Não	135	88%
Como dormem		
Cama	87	62%
Rede	54	38%
Tipo de cozinha		
Interna	120	86%
Externa	21	14%
Tipo de banheiro		
Interno	74	53%
Externo	67	47%
<b>Total</b>	<b>141</b>	<b>100%</b>

## 6.5 Infecção natural de mosquitos por MAYV e OROV

Um total de 3.750 mosquitos fêmeas foram agrupadas em 671 pools. Deste total, 532 (79,28%) pools foram provenientes de coletas realizadas nas plataformas Maria Gusmão e

Principal e 139 (20,72%) pools provenientes de coletas feitas nos seis ramais do assentamento rural de Rio Pardo por armadilhas HP nos ambientes de peridomicílio, borda de floresta e floresta. Os maiores números de pools foram das espécies *Oc. serratus* (81), *Ps. ferox* (80) e *Ps. cingulata* (41).

Dos 671 pools analisados por RT-qPCR, três foram positivos para OROV e nenhuma amostra foi positiva para o MAYV. As espécies de mosquitos positivas para OROV foram: *Ps. cingulata*, um pool com 10 mosquitos coletados por atração humana protegida no solo da plataforma Gusmão entre as 14:00-16:00 horas com Ct 35,32, seguido por *Hg. tropicalis*, um pool com 03 mosquitos coletados por atração humana protegida no dossel da plataforma Gusmão entre as 14:00-16:00 horas com Ct 36,18 e *Oc. serratus*, um pool com 10 mosquitos coletados por atração humana protegida no solo da plataforma Gusmão entre as 17:00-19:00 horas com Ct 25,12 (Figura 26).



**Figura 26.** Resultados da RT-qPCR para detecção do vírus Mayaro e vírus Oropouche em mosquitos coletados no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (A) Pool de *Hg. tropicalis* positivo para OROV (B) Pool de *Ps. cingulata* positivo para OROV; (C) Pool de *Oc. serratus* positivo para OROV; (D) controles positivos para MS2, OROV e MAYV. A linha de cor azul corresponde a sonda OROV, de cor laranja ao controle interno positivo MS2 e de cor roxa ao MAYV.

A taxa mínima de infecção (TM) foi de 0,8%. As reações de RT-qPCR foram analisadas pelos valores de Ct - Threshold Cycle sendo  $\leq 38$  considerados positivos para MAYV e OROV. Além disso, nós descrevemos aqui o primeiro registro na literatura de *Ps. cingulata* e *Hg. tropicalis* infectadas com o OROV e o primeiro registro para o Amazonas de *Oc. serratus* infectado naturalmente com OROV.

## **7. DISCUSSÃO**

### **7.1 Diversidade, riqueza e abundância geral de culicídeos**

Neste estudo foram coletados 3.750 mosquitos, distribuídos em 46 espécies, isso equivale a 27% do registro de 175 espécies já coletadas no estado do Amazonas (XAVIER & MATOS 1976). Aqui demonstramos uma fauna rica e diversificada quando comparado com os trabalhos de JULIÃO et al., (2010) que em métodos de coletas semelhantes coletaram 31 espécies de mosquitos no estado de Rondônia e FÉ et al., (2003) que em municípios da zona rural do Estado do Amazonas coletaram 27 espécies de mosquitos.

No entanto, ao ser comparado com o trabalho de HUTCHINGS et al., (2011) em área de fragmento florestal dentro do Distrito Agropecuário da SUFRAMA a 80 km ao norte de Manaus no Amazonas onde foram coletados 5,204 mosquitos, distribuídos em 145 espécies, percebe-se a riqueza de espécies de mosquitos pode ser ainda maior.

### **7.2 Diversidade, riqueza e abundância por estratificação horizontal**

Por estratificação horizontal, foram coletados 611 mosquitos, distribuídos em treze espécies. Era esperado que a abundância de mosquitos e a riqueza de espécies coletadas por

estratificação horizontal utilizando armadilhas HP fosse maior no ambiente de floresta, porém isso não foi observado nesse trabalho. A maior abundância de mosquitos foi registrada no peridomicílio com 305 mosquitos, e a maior riqueza foi na borda de floresta com oito espécies. Dados semelhantes, para outras famílias de vetores em Rio pardo como maruins (FARIAS, 2014) e flebotomíneos (RAMOS et al., 2014) corroboraram esses dados quanto a riqueza desses outros vetores.

Utilizando metodologia semelhante BARBOSA et al., (2008) coletaram 101 mosquitos no peridomicílio na Comunidade de São João, no km 4 da BR-174 que liga Manaus a Boa Vista, no entanto a maior riqueza de espécies foi observada na floresta com registro de 39 espécies.

Nesse trabalho é mostrado que algumas espécies de mosquitos com importância médica foram coletadas nos três ecótopos. O número de espécies foi distribuído uniformemente entre os ecótopos e o maior índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ) foi observado no ecótopo de borda de floresta ( $H'=1,81$ ) em relação ao peridomicílio ( $H'=0,91$ ) e floresta ( $H'=1,23$ ). Nossos achados corroboram com o trabalho de STEIGER et al., (2016) que reforçam a ideia de mudança de habitats dos mosquitos, que estão cada vez mais presentes em ambientes perturbados. A resposta para isso pode ser explicada pela disponibilidade de repasto sanguíneo e pelas características ambientais tais como temperatura elevada, níveis altos de luz e pH que podem acelerar o desenvolvimento das larvas e aumentar a longevidade dos mosquitos.

No geral, a maior abundância e diversidade foi do gênero *Culex*, o que está de acordo com estudo prévio realizado no Estado do Amazonas por HUTCHINGS et al., (2005). A espécie mais abundante foi *Cx. quinquefasciatus* com 184 mosquitos, apresentando capacidade de dispersão nos três ecótopos, porém, predominando no peridomicílio. Resultados semelhantes foram observados por BARBOSA et al., (2008) em área rural no Estado do Amazonas onde *Cx. quinquefasciatus* representou 52% dos 101 indivíduos coletados no peridomicílio. Esse



resultado sustenta o que já se conhece sobre o comportamento dessa espécie, que mostra hábito acentuadamente antropofílico.

Além disso, registramos oito espécies de mosquitos no ecótopo de peridomicílio e borda de floresta com importância médica incriminadas como vetores de arbovírus na região amazônica brasileira, as espécies foram: *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. nigripalpus*, *Oc. scapularis*, *Oc. serratus*, *Cq. venezuelensis*, *Ps. albipes* e *Ps. cingulata*.

### **7.3 Diversidade, riqueza e abundância por estratificação vertical**

Por estratificação vertical, foram coletados 3,139 mosquitos, distribuídos em 46 espécies, corroborando com o trabalho realizado por JULIÃO et al., (2010) que utilizando métodos de coletas semelhantes capturaram 10,649 mosquitos, distribuídos em 31 espécies no Estado de Rondônia.

No geral, a maior abundância no nosso estudo foi do gênero *Psorophora* com sete espécies, distribuídas entre 1,219 mosquitos o que corrobora com estudos de ANJOS & NAVARRO-SILVA (2008) que obtiveram dominância do gênero *Psorophora* na área dos Mananciais da Serra, Estado do Paraná. A dominância de mosquitos do gênero *Psorophora* que são comuns em ambientes alterados sugerem alto grau de degradação ambiental (TEODORO et al., 1994).

A importância do registro da espécie *Ps. ferox* se dá pelo seu potencial papel na transmissão de diversos arbovírus como já foi demonstrado por FORATTINI (1956) que a descreveu como um potencial vetor de encefalite equina venezuelana, em seguida Groot et al., (1961) encontraram a espécie infectada com o MAYV, e recentemente TURELL et al., (2005) relataram isolamentos dos vírus Ilhéus e vírus Una em mosquitos coletados na bacia amazônica.

A presença de *Ps. albipes* pode representar um problema para população em Rio Pardo, tendo em vista que a espécie possui hábitos diurnos e possui picadas dolorosas ocasionando muito incomodo. Além disso, *Ps. albipes* é incriminada como vetor de vírus Ilhéus e um provável vetor do vírus da Encefalite Equina Oeste (NUNES et al., 2008).

Em relação as coletas realizadas no dossel com auxílio de plataformas, foram capturados 681 mosquitos, distribuídos em trinta e duas espécies, os resultados apresentados em nosso estudo são mais robustos comparados com o trabalho de CANTUÁRIA (2015) que coletou 9 espécies de mosquitos no dossel em área verde no Estado de Macapá. Em relação as coletas feitas no solo das plataformas, foram capturados 2,458 mosquitos, distribuídos em trinta e nove espécies o que também demonstramos maior riqueza e abundância do nosso trabalho comparado com o trabalho de CANTUÁRIA (2015).

O registro de espécies de mosquitos com importância médica que são incriminadas como vetores de patógenos ao homem foram coletadas no nosso trabalho, como por exemplo: *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. nigripalpus*, *Ps. ferox*, *Ps. albipes*, *Oc. serratus*, *Ae. fulvus*, *Oc. scapularis*, *Cq. venezuelensis*, *Sa. albiprivus* e *Sa. chloropterus* e *Hg. janthinomys* o que está de acordo com os trabalhos ecológicos publicados por outros autores (BARBOSA et al., 2008; HUTCHINGS et al., 2016; HUTCHINGS; SALLUM; HUTCHINGS, 2011) que mostram que essas espécies são encontradas com frequência na região Amazônica Brasileira.

Algumas espécies acrodendrófilas no nosso trabalho também foram capturadas no solo, como *Sa. albiprivus* e *Hg. janthinomys* o que está de acordo com o trabalho de (HERVÉ et al., 1986; OBARA et al., 2012) que sugerem que algumas espécies de mosquitos descem a nível de solo em busca de habitats aquáticos para depositar seus ovos ou alimentação sanguínea. A presença de *Hg. janthinomys* a nível de solo pode aumentar o risco de transmissão de doenças para a população humana uma vez que em Rio Pardo muitos moradores frequentam as matas para atividades de extração de madeira e caça.

Estudos sobre espécies de mosquitos silvestres que frequentam o alto das árvores ganham importância pelo fato de muitos patógenos que causam doenças ao homem estarem presentes em ciclos enzoóticos, tendo como hospedeiros, vertebrados que habitam preferencialmente o dossel das florestas, como macacos e aves (GARNHAM et al., 1946). Dessa forma, o homem pode invadir o ciclo de transmissão e entrar em contato com um vetor infectado.

A presença de *Cx. quinquefasciatus* em todos ecótopos pode ocasionar um risco a população humana pelo fato que a espécie possui importância médica e é incriminada como vetor do OROV e recentemente foi encontrada infectada com o MAYV e DENV no Estado do Mato Grosso (SERRA et al., 2016). O registro de *Cx. quinquefasciatus* em todos os ecótopos possivelmente se deve à ausência de rede de abastecimento de água e destinos de esgotos na comunidade, promovendo a formação de criadouros em áreas de peridomicílio.

Esses resultados sugerem que a circulação de importantes vetores de arbovírus emergentes pode ser fortemente influenciada pelas transformações nos ambientes pelo desmatamento, construção de estradas e criação de assentamentos. Assim, esses arbovírus podem surgir em áreas que sofreram alterações antrópicas e alteram a característica socioeconômica da população dessas áreas.

#### **7.4 Infecção natural de mosquitos por MAYV e OROV**

Em nosso trabalho obtivemos uma taxa mínima de infecção de 0,8% em 3.750 mosquitos, distribuídos em 671 pools. Pouco se conhece sobre infecção natural em mosquitos por OROV e MAYV. Alguns poucos autores relataram a infecção natural de mosquitos por OROV, como foi mostrado por CARDOSO et al., (2015) que detectaram o OROV em pools de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* coletados na cidade de Cuiabá, Estado do Mato Grosso,

encontrando taxa mínima de infecção de 2,3%. Além de estudos de PINHEIRO et al., (1981) que isolaram o OROV de pools de mosquitos *Oc. serratus* e *Cq. venezuelensis* e FIGUEIREDO et al., (2013) que detectaram os 4 sorotipos do DENV em *Ae. aegypti* em Manaus.

Em nosso estudo, um pool com 10 mosquitos *Oc. serratus* foi positivo para OROV. Apesar do seu papel epidemiológico ser pouco conhecido, *Oc. serratus* já foi encontrado infectado com o OROV e vírus da encefalite São Luís (VASCONCELOS et al., 1998). Nessa dissertação é feito então o primeiro registro na literatura de *Ps. cingulata* e *Hg. tropicalis* infectadas naturalmente com o OROV além do primeiro registro para o Estado do Amazonas de *Oc. serratus* infectada naturalmente com o OROV. A importância médica dessas três espécies já é reconhecida, porém, com o registro de infecção natural por OROV deve-se reforçar a necessidade de vigilância epidemiológica de infecção por Oropouche pelas autoridades de saúde.

Registramos a infecção de mosquitos com o OROV no ambiente de floresta, isso é importante pois a população tem contato direto e frequente com esse ambiente, aumentando o risco de adquirir o vírus, e desenvolver síndrome febril que não é de notificação compulsória.

Utilizando outros modelos de infecção natural, como *Ae. aegypti* e DENV, FOUQUE et al., (2004) encontraram taxa mínima de infecção de 0,36% em 2,755 mosquitos na Guiana Francesa. KHIN & THAN (1983) obtiveram taxa mínima de infecção de 0,48% e KOW et al., (2001) encontraram taxa mínima de infecção 0,13% em Singapura.

Não foram encontrados mosquitos infectados por MAYV. A infecção natural por MAYV em mosquitos foi mostrado por SERRA et al., (2016) no Mato Grosso, onde encontraram taxa mínima de 1.39% em *Cx. quinquefasciatus* e 9.09% em *Ae. aegypti*. Apesar de não ter se encontrado mosquitos infectados por MAYV não se descarta a hipótese de circulação do vírus na comunidade, sendo sustentada pelos altos níveis de soropositividade do

MAYV na população do assentamento e não exclui o risco de infecção pelo arbovírus (ABAD-FRANCH et al., 2012).

## **7.5 Fatores de risco**

A composição e a distribuição de espécies de mosquitos está mudando constantemente, como demonstrado por diversos autores (BAYOH; LINDSAY, 2003; STEIGER; RITCHIE; LAURANCE, 2016; VITTOR et al., 2009). O uso inadequado da terra e as alterações na relação vetor-hospedeiro é um fator de risco e pode favorecer o surgimento de doenças quando um vetor é introduzido a um habitat diferente ou exposto a um novo hospedeiro (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2001).

Esse estudo avaliou os fatores de risco dos moradores do assentamento rural de Rio Pardo a vetores de patógenos. Os resultados indicaram que a maioria dos hábitos da população enquadraram-se nos fatores de risco a diversos patógenos que podem causar doenças em humanos.

Dos 490 indivíduos que participaram do estudo, 240 (41,6%) declararam exercer atividade econômica através da agricultura. A atividade na agricultura exerce um papel fundamental no contato entre o homem e os insetos, dessa forma o trabalhador fica mais exposto a contrair diversas doenças como malária, leishmaniose e arboviroses.

Com relação ao destino do lixo, 87,9% dos domicílios visitados queimam o lixo doméstico no próprio terreno. Esses resultados corroboram com o trabalho de BARBOSA et al., (2008) que demonstraram associação positivo sobre a presença de lixo próximo das casas com a abundância de mosquitos em uma comunidade amazônica, isso pode promover a formação de criadouros peridomiciliares e conseqüentemente aumentar o risco de exposição a vetores infectados.

Ao analisarmos a frequência quanto à localização das casas em relação à floresta, igarapé e roça, dos 141 domicílios (85%) foram construídos perto (<0,5km) da floresta. Esse contato quase que direto com a floresta pode favorecer o aparecimento de insetos vetores na residência e aumentar o grau de exposição dos moradores.

Em relação à distância dos domicílios do igarapé, 63% foram construídos perto (<0,5km) de igarapé. Esse talvez seja o fator de risco que mais preocupa, pelo fato de que os pequenos igarapés podem funcionar como criadouros de larvas de mosquitos que quando emergirem irão em busca de alimentação sanguínea.

Dos 141 domicílios visitados, 117 (83%) foram construídos de madeira. O problema de casas construídas de madeira são os espaços criados entre uma madeira e outra que são suficientes para entrada de insetos que podem estar infectados com algum patógeno infectante ao homem. Além disso, 88% dos domicílios não possuíam telas nas portas e janelas das casas.

Banheiros e cozinhas externas podem atuar como fatores de risco, e em nosso estudo 86% dos domicílios possuem cozinha dentro de casa e 53% dos domicílios possuem banheiros também dentro de casa, isso é importante, tendo em vista que as pessoas passam muito tempo na cozinha ou no banheiro, e esse intervalo de tempo pode ser suficiente para os insetos vetores entrarem em contato com o homem.

## **8. CONCLUSÃO**

- A diversidade e riqueza de mosquitos em ambientes de floresta e alterados são semelhantes.
- Em Rio Pardo, ocorre a circulação de vetores de dossel no solo, vetores selváticos em ambientes domésticos e vice e versa.
- Os mosquitos infectados com OROV no solo indicam que pode ocorrer transmissão peridomiciliar.

- A abundância de *Oc. serratus* e o registro de infecção natural por OROV pode indicar que essa espécie é vetor de arbovírus no assentamento rural de Rio Pardo.
- A não detecção de infecção natural por MAYV em mosquitos, não exclui a ocorrência de um ciclo peridomésticos da febre Mayaro em Rio Pardo.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD-FRANCH, F. et al. Mayaro Virus Infection in Amazonia: A Multimodel Inference Approach to Risk Factor Assessment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 10, 2012.

AITKEN, T. H. G. et al. Mayaro Virus Isolated from a Trinidadian Mosquito, *Mansonia venezuelensis*. **Science**, n. 3405, p. 131, 1959.

ALENCAR, J. et al. New report on the bionomics of *Coquillettidia venezuelensis* in temporary breeding sites (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 247–248, 2011.

ALERTA EPIDEMIOLÓGICA N° 132 Situación en Venezuela, América Latina y el Mundo: Brote epidémico de Fiebre Mayaro. Una enfermedad viral emergente en Venezuela y una nueva censura de información epidemiológica. **Red de Sociedades Científicas Médicas de Venezuela**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ovsalud.org/doc/red132.pdf>>.

ANDERSON CR. et al. Mayaro virus: a new human disease agent. II. Isolation from blood of patients in Trinidad, B.W.I. **Am J Trop Med Hyg** 6:1012–1016.

ANJOS, A. F. DO; NAVARRO-SILVA, M. A. Culicidae (Insecta: Diptera) em área de Floresta Atlântica, no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, p. 23–27, 2008.

ARAÚJO, T. P. et al. Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 579–584, 2002.

ASSUNÇÃO, J.; ROCHA, R. **Rural Settlements and Deforestation in the Amazon**, 2016.

AUGUSTE, A. J. et al. Evolutionary and ecological characterization of mayaro virus strains isolated during an outbreak, Venezuela, 2010. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1742–1750, 2015.

AZEVEDO, R. DO S. DA S. et al. Reemergence of Oropouche Fever, Northern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. 1–4, 2007.

AZEVEDO, R. DO S. DA S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. DA C. Chikungunya risk for Brazil. **Rev Saúde Pública**, p. 3–6, 2015.

AZEVEDO, R. S. S. et al. Mayaro fever virus, Brazilian amazon. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, p. 1830–1832, 2009.

BARBOSA, M. DAS G. V. et al. Record of epidemiologically important Culicidae in the rural area of Manaus, Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 658–663, 2008.

BARRETT, A. D. T.; HIGGS, S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. **Annual review of entomology**, v. 52, p. 209–229, 2007.

BASTOS MS. et al. Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the cerebrospinal fluid of three patients in the Amazonas, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**. 2012;86:732–735.

BAYOH, M. N.; LINDSAY, S. W. Effect of temperature on the development of the aquatic stages of *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae). **Bulletin of entomological research**, v. 93, n. May 2017, p. 375–381, 2003.

BORBOREMA CAT. et al. Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche no estado do Amazonas. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. 1982;24:132–139.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007.

CALISHER, C. H. et al. Isolation Of Mayaro Virus From A Migrating Bird Captured In Louisiana In 1967. **Boletim de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 8, p. 243–248, 1974.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. DE et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. **Cadernos de saude publica / Ministerio da Saude, Fundacao Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saude Publica**, v. 21, n. 4, p. 1278–1286, 2005.

FERREIRA CANTUÁRIA, M. Ecologia De Culicideos (Diptera: Culicidae) Da Área De Proteção Ambiental Do Rio Curiaú, Macapá, Amapá. **Dissertação de mestrado** [s.l: s.n.]. 2015.

CARDOSO, B. F. et al. Detection of Oropouche virus segment S in patients and in *Culex quinquefasciatus* in the state of Mato Grosso , Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. September, p. 745–754, 2015.

CARVALHO, B. M.; RANGEL, E. F.; VALE, M. M. Evaluation of the impacts of climate change on disease vectors through ecological niche modelling. **Bulletin of Entomological Research**, n. May, p. 1–12, 2016.

CASALS, J. Relationships Among Arthropod-Borne Animal Viruses Determined by Cross-Challenge Tests. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 12, n. 4, p. 4–5, 1963.

CDC. **International committee on taxonomy of viruses 2016**. Disponível em: <<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>>.

CHAGAS, A. C. et al. A deep insight into the sialotranscriptome of the mosquito, *Psorophora*



albipes. **BMC genomics**, v. 14, p. 875, 2013.

CLETON, N. et al. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. **Journal of Clinical Virology**, v. 55, n. 3, p. 191–203, 2012.

COIMBRA, T. L. et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. DE. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. [s.l: s.n.]. v. 11, 1994.

CHAVEZ, R.; COLAN, E.; PHILIPS, I. Fiebre de Oropouche em Iquitos: reporte preliminar de 5 casos. **Revista de Farmacologia y Terapéutica**. v. 2, n. 1 p. 12 - 14, 1992.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**, v. 78, n. 2, p. 103–116, 2001.

DAVID, M. R.; RIBEIRO, G. S.; FREITAS, R. M. DE. Bionomics of *Culex quinquefasciatus* within urban areas of Rio de Janeiro , Southeastern Brazil em áreas urbanas no Rio de Janeiro , RJ ABSTRACT. **Rev Saúde Pública**, v. 46, n. 5, p. 858–865, 2012.

DELMONT, J. Aspects cliniques et biologiques des arboviroses. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 33, n. 11, p. 545–548, 2003.

DIAS, L. B. D. A. et al. Dengue: Transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. **Medicina**, v. 43, n. 2, p. 143–152, 2010.

DIBO, M. R. et al. Presença de culicídeos em município de porte médio do estado de são paulo e risco de ocorrência de febre do nilo ocidental e outras arboviroses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 4, p. 496–503, 2011.

DONALISIO, M. R. et al. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. p. 10–15, 2017.

EBERT, D. The Epidemiology and Evolution of Symbionts with Mixed-Mode Transmission. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 44, n. 1, p. 623–643, 2013.

FARIAS ES. Efeito antrópico na diversidade de maruins (Diptera: Ceratopogonidae) em uma área de assentamento rural na Amazônia. **Dissertação de mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia.2014 UFAM/FIOCRUZ. 74pp.

FÉ, N. F. et al. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do Estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 343–348, 2003.

FELIPPE-BAUER, M.L.; STERNHEIM, U.S. 2008. *Culicoides paraensis* (Diptera: Ceratopogonidae) infestations in cities of the Itapocú River Valley, Southern Brazil. **Entomological News**, 119(2): 185-192.

FERNANDES, C. et al. Transovarial transmission of DENV in *Aedes aegypti* in the Amazon

basin: a local model of xenomonitoring. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 249, p. 1–9, 2017.

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

FIGUEIREDO, R. M. P. et al. Identification of dengue viruses in naturally infected aedes aegypti females captured with BioGents (BG)-sentinel traps in Manaus, Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 221–222, 2013.

FIGUEIREDO, R. M. P. DE et al. Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 6, p. 476–479, 2004.

FIGUEIREDO, M. L. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. Emerging alphaviruses in the americas: Chikungunya and mayaro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 677–683, 2014.

FINE, P. E. . Vectors and Vertical Transmission: an Epidemiologic Perspective. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 266, n. 1, p. 173–194, 1975.

FOLEY, J. A. et al. Amazonia revealed: forest degradation and loss of ecosystem goods and services in the Amazon Basin. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, n. 1, p. 25–32, 2007.

FORRESTER, N. L.; COFFEY, L. L.; WEAVER, S. C. Arboviral bottlenecks and challenges to maintaining diversity and fitness during mosquito transmission. **Viruses**, v. 6, n. 10, p. 3991–4004, 2014.

FORSHEY, B. M. et al. Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in western south America, 2000-2007. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. 2000–2007, 2010.

FOUQUE, F.; GARINCI, R.; GABORIT, P. Epidemiological and entomological surveillance of the co-circulation of DENV-1, DENV-2 and DENV-4 viruses in French Guiana. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n. 1, p. 41–46, 2004.

FOX, I. 1952. Six New Neotropical Species of Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 45: 364-368.

GALINDO, P. et al. An ecological survey for arboviruses in Almirante, Panama, 1959-1962. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 15, p. 385–400, 1966.

GAMA, R. A. et al. Fauna of Culicidae in rural areas of Porto Velho and the first record of *Mansonia (Mansonia) flaveola* (Coquillett, 1906), for the state of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 125–127, 2012.

GARNHAM, P.C.C., et al. The mosquitoes of the Kaimosi forest, Kenia Colony, with special reference to yellow fever. **Bull. Ent. Res** v. 36, p. 473-496, 1946.

GAUVREAU, KIMBERLEE & PAGANO, MARCELLO. Princípios de bioestatística. 2ª edição. **Brasil: Cengage learning**, 2004. 506p.

GOULD, E. A. et al. Understanding the alphaviruses: Recent research on important emerging pathogens and progress towards their control. **Antiviral Research**, v. 87, n. 2, p. 111–124, 2010.

GOTTWALT, A. Impacts of deforestation on vector-borne disease incidence. **The Journal of Global Health**, 2013.

GROOT H , MORALES A , VIDALES H , 1961 . Virus isolation from forest mosquitoes in San Vicente de Chucuri, Colombia . **Am J Trop Med Hyg** 10: 397 – 402.

GUBLER, D. J. Human arbovirus infections worldwide. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 951, p. 13–24, 2001.

HALSEY, E. S. et al. Mayaro virus infection, Amazon Basin region, Peru, 2010-2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 11, p. 1839–1842, 2013.

HARBACH RE 2017. Family Culicidae Meigen, 1818. Em: **Mosquito Taxonomic Inventory**. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/familyculicidae-meigen-1818>. Acessado em: 27/03/2017.

HASSING, R. J. et al. Imported Mayaro virus infection in the Netherlands. **Journal of Infection**, v. 61, n. 4, p. 343–345, 2010.

HERVÉ, J.-P. et al. Ecologia da Febre Amarela silvestre no Brasil. **Revista da Fundação SESP**, v. 31, p. 131–135, 1986.

HOYOS-LÓPEZ, R. et al. Molecular detection of flaviviruses and alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from coastal ecosystems in the Colombian Caribbean. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. October, p. 625–634, 2016.

HUTCHINGS, R. S. G. et al. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 19, n. 4, p. 428–441, 2005.

HUTCHINGS, R. S. G. et al. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) From the Northwestern Brazilian Amazon: Paduari River. **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 6, p. 1330–1347, 2016.

HUTCHINGS, R. S. G.; SALLUM, M. A. M.; HUTCHINGS, R. W. Mosquito (Diptera: Culicidae) diversity of a forest-fragment mosaic in the Amazon rain forest. **Journal of medical entomology**, v. 48, n. 2, p. 173–187, 2011.

IUNES, RF. III- Impacto econômico das causas externas no Brasil: em esforço de mensuração. Ver. **Saúde Pública**, 1997; 31(4 Suplemento): 38-46.

IZURIETA, R. O. et al. Assessing yellow Fever risk in the ecuadorian Amazon. **Journal of global infectious diseases**, v. 1, n. 1, p. 7–13, 2009.

JULIÃO, G. R. et al. Measuring Mosquito Diversity Patterns in an Amazonian Terra Firme Rain Forest. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 2, p. 121–128, 2010.

- KARABATSOS, N. International catalogue of arboviroses and certain other viroses of vertebrates. San Antonio, USA. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1147p, 1985.
- KARBAAT, J.; JONKERS, A. H.; SPENCE, L. Arbovirus Infections in Dutch Military Personnel stationed in Surinam. A Preliminary Study. **Tropical and Geographical Medicine**, v. 16, p. 370–76, 1964.
- KHIN, M. M.; THAN, K. A. Transovarial Transmission of Dengue 2 Virus by *Aedes Aegypti* in Nature. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 32, n. 3, p. 590–594, 1983.
- KILPATRICK, A. M.; RANDOLPH, S. E. Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. **Lancet (London, England)**, v. 380, n. 9857, p. 1946–55, 2012.
- KOW, C. Y. et al. Detection of dengue viruses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-specific PCR. **Journal of medical entomology**, v. 38, n. 4, p. 475–9, 2001.
- LEQUIME, S.; PAUL, R. E.; LAMBRECHTS, L. Determinants of Arbovirus Vertical Transmission in Mosquitoes. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 5, p. 1–14, 2016.
- LIMA-CAMARA, T. N. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. **Revista de saúde pública**, v. 50, p. 1–7, 2016.
- LLAGONNE-BARETS, M. et al. A case of Mayaro virus infection imported from French Guiana. **Journal of Clinical Virology**, v. 77, p. 66–68, 2016.
- LONG, K. C. et al. Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 4, p. 750–757, 2011.
- MAGURRAN, A. E. **Species abundance distributions: Pattern or process? Functional Ecology**, 2005.
- MANDELL, G., et al. Enfermedades infecciosas principios y prácticas. Volumen 2. 5ta edición. **Madrid: Editorial Médica Panamericana**; p. 3500, 2002.
- MARTEIS, L. S. et al. Mosquitoes of the Caatinga : 1. Adults stage survey and the emerge of seven news species endemic of a dry tropical forest in Brazil. **Acta Tropica**, v. 166, p. 193–201, 2017.
- MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston ( Diptera : Culicidae ) do Brasil. **Revista Biomedica**, v. 21, n. 3, p. 221–238, 2010.
- MAVALE, M. et al. Venereal transmission of chikungunya virus by *Aedes aegypti* mosquitoes (Diptera: Culicidae). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 6, p. 1242–1244, 2010.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Situação epidemiologica vírus Mayaro no Brasil. **Portal da Saúde**, v. 1, n. Figura 1, 2015.

MOLYNEUX, D. H. Common themes in changing vector-borne disease scenarios. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. June 2002, p. 129–132, 2003.

MOORE, C. G.; MITCHELL, C. J. *Aedes albopictus* in the United States: Ten-Year Presence and Public Health Implications. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 329–334, 1997.

MORAIS, S. A. DE; MARRELLI, M. T.; NATAL, D. Aspectos da distribuição de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say (Diptera, Culicidae) na região do rio Pinheiros, na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 3, p. 413–418, 2006.

MORSE, S. S. Factors in the emergence of infectious diseases. **Emerging Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 7–15, 1995.

MOTA, M. T. DE O.; RIBEIRO, M. R.; VEDOVELLO, D. Mayaro virus: a neglected arbovirus of the Americas. **Future Virol**, v. 10, p. 1109–1122, 2015.

MOURÃO, M. P. G. et al. Oropouche Fever Outbreak, Manaus, Brazil, 2007–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 12, p. 2063–2064, 2009.

MOURÃO, M. P. G. et al. Mayaro Fever in the City of Manaus, Brazil, 2007–2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 42–46, 2012.

MUÑOZ, M.; NAVARRO, J. C. Virus Mayaro: un arbovirus reemergente en Venezuela y Latinoamérica. **Biomédica**, v. 32, n. 2, p. 286–302, 2012.

MURRAY, CJL; Acharya AK. Understanding DALY's. **Journal of Health Economics**, 1997; 16: 703-730.

NAPOLEÃO-PEGO, P. et al. Mayaro Virus Disease. **Journal of Human Virology & Retrovirology**, v. 1, n. 3, p. 1–11, 2014.

NAVARRETE-ESPINOSA, J.; GÓMEZ-DANTÉS, H. Arbovirus causales de fiebre hemorrágica en pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social. **Rev Med inst mex Seguro Soc**, v. 44, p. 347–353, 2006.

NAVECA, F. G. et al. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 7, p. 510–513, 2017.

NEUMAYR, A. et al. Mayaro virus infection in traveler returning from Amazon Basin, Northern Peru. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 695–696, 2012.

NUNES, M. R. T. et al. Oropouche Virus Isolation, Southeast Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 10, p. 1610–1613, 2005.

OBARA, M. T. et al. Infecção natural de *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus* pelo vírus da febre amarela no Distrito Federal, Brasil, 2007-2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 21, n. 3, p. 457–463, 2012.

PAJOT, F.-X.; GEOFFROY, B.; CHIPPAUX, J.-P. Ecologie d' *Haemagogus janthinomys* Dyar (Diptera, Culicidae) en Guyane Française. **Ent. méd. et Parasitol.**, v. XXIII, n. 3, p. 209–216, 1985.

PATZ, J. A. et al. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12–13, p. 1395–1405, 2000.

PESSOA, F. A. C.; MEDEIROS, J. F.; BARRET, T. V. 2007. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(5): 593-599.

PESSANHA, J. E. M. et al. Cocirculation of two dengue virus serotypes in individual and pooled samples of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 103–105, 2011.

PFEFFER, M.; DOBLER, G. Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration. **Parasites & vectors**, v. 3, n. 1, p. 35, 2010.

PINHEIRO, F. P.; PINHEIRO, M.; BENSABATH, G.; CAUSEY, O. R.; SHOPE, R. E. Epidemia de Oropouche em Belém. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, 12, 15-23, 1962.

PINHEIRO FP. et al. Oropouche virus. IV. Laboratory transmission by *Culicoides paraensis*. **Am J Trop Med Hyg.** 1981;30:172–176.

PINHEIRO, F. P. T. DA R. Fiebre de Mayaro. In: **Handbook of Zoonoses, Second Edition: Viral Zoonoses**. [s.l: s.n.]. p. 275–77. 1988.

PINHEIRO FP. et al. Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico. **CEJUP; Belém:** 1997. Febre por Oropouche; pp. 285–298.

POWERS, A. M. et al. Genetic relationships among Mayaro and Una viruses suggest distinct patterns of transmission. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 461–469, 2006.

RAMOS, W. R. et al. Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. **Acta Tropica**, v. 139, p. 44–52, 2014.

RECEVEUR, M. C. et al. Infection with Mayaro virus in a French traveller returning from the Amazon region, Brazil, January, 2010. **Eurosurveillance**, v. 15, n. 18, p. 1–3, 2010.

ROMERO-ALVAREZ, D.; ESCOBAR, L. E. Vegetation loss and the 2016 Oropouche fever outbreak in Peru. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. April, p. 292–298, 2017.

RUST, R. S. Human Arboviral Encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130–151, 2012.

SAEED, M. F. et al. Nucleotide sequences and phylogeny of the nucleocapsid gene of

- Oropouche virus. **Journal of General Virology**, v. 81, n. 2000, p. 743–748, 2017.
- SANTIAGO, F. W. et al. Long-Term Arthralgia after Mayaro Virus Infection Correlates with Sustained Pro-inflammatory Cytokine Response. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 10, p. e0004104, 2015.
- SCOTT-WALDRON, C.; L.F.MCLELLAN, S.; MONICA DHAND. Mayaro Virus Infection Louisiana, 2011. **LA Morbidity Rep.**, v. 22, n. 504, 2011.
- SECUNDINO, N. F. C. et al. Zika virus transmission to mouse ear by mosquito bite: A laboratory model that replicates the natural transmission process. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 346, p. 4–10, 2017.
- SERRA, O. P. et al. Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. ahead, p. 0–0, 2016.
- SCHMALJOHN, C. S.; NICHOL, S. T. Bunyaviridae. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. *Field's Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. v. 2. p. 1741-1789.
- SMARTT, C. T. et al. Evidence of Zika Virus RNA Fragments in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Field-Collected Eggs From Camaçari, Bahia, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 0, p. 1–3, 2017.
- ŚMIETANKA, K. et al. African Swine Fever Epidemic, Poland, 2014–2015. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 7, p. 2014–2015, 2016.
- SMITHBURN K.C.; A.J., H.; A.F., M. A neurotropic virus isolated from *Aedes* mosquitoes caught in the Semliki forest. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 26, n. 2, p. 189–208, 1946.
- SOUTO, R. N. P.; SOUTO, R. C. C. Sorologia para arbovírus em população humana da região da Reserva Extrativista. **Biota Amazônia**, v. 2, p. 8–14, 2012.
- SOUZA-SILVA, F. A. et al. Duffy Antigen Receptor for Chemokine (DARC) polymorphisms and its involvement in acquisition of inhibitory anti-Duffy Binding Protein II (DBPII) immunity. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.
- SOUZA, A. S.; COURI, M. S.; FLORINDO, L. The Impact of Industrial Anthropization on Mosquito (Diptera, Culicidae) Communities in Mangrove Areas of Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brazil). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 1, p. 68–73, 2012.
- STEIGER, D. B. M.; RITCHIE, S. A.; LAURANCE, S. G. W. Mosquito communities and disease risk influenced by land use change and seasonality in the Australian tropics. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 387, 2016.
- STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. The alphaviruses: Gene expression, replication, and evolution. **Microbiological reviews**, v. 58, n. 3, p. 491–562, 1994.
- SUAYA, JÁ. et al. Cost of Dengue Cases in Eight Countries in the Americas and Asia: A

Prospective Study. **A. J. Trop. Med. Hyg.**, 2009, 80(5): 846-855.

TALARMIN, A. et al. Mayaro virus fever in French Guiana: Isolation, identification, and seroprevalence. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 3, p. 452–456, 1998.

TERZIAN, A. C. B. et al. Isolation and characterization of Mayaro virus from a human in Acre, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 2, p. 401–404, 2015.

TEODORO, U. et al. Mosquitos de ambientes peri e extradomiciliares na região sul do Brasil. **Revista de Saude Publica**, v. 28, n. 2, p. 107–115, 1994.

TESH, R. B. et al. Mayaro virus disease: an emerging mosquito-borne zoonosis in tropical South America. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 28, n. 1, p. 67–73, 1999.

THANGAMANI, S. et al. Vertical Transmission of Zika Virus in *Aedes aegypti* Mosquitoes. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 95, n. 5, p. 1169–1173, 2016.

THEILACKER, C. et al. Prolonged polyarthralgia in a German traveller with Mayaro virus infection without inflammatory correlates. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. September 2011, p. 369, 2013.

THOISY, B. et al. Mayaro virus in wild mammals, French Guiana. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 10, p. 1326–1329, 2003.

TORRES, J. R. et al. Family cluster of Mayaro fever, Venezuela. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 7, p. 1304–1306, 2004.

TURELL MJ. et al. Isolation of viruses from mosquitoes (Diptera:Culicidae) collected in the Amazon basin region of Peru. **J Med Entomol.** 2005; 42(5): 891-898.

VASCONCELOS PFC. et al. Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche nos estados do Maranhão e Goiás, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** 1989;31:271–278.

VASCONCELOS, P. F. C., et al. Arboviruses pathogenic for man in Brazil. In: An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries. **Instituto Evandro Chagas**, p. 72-99, 1998.

VASCONCELOS, H. B. et al. Oropouche fever epidemic in Northern Brazil: Epidemiology and molecular characterization of isolates. **Journal of Clinical Virology**, v. 44, p. 129–133, 2009.

VASCONCELOS, H. B. et al. Molecular epidemiology of Oropouche virus, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 800–806, 2011.

VASILAKIS, N.; TESH, R. B. Insect-specific viruses and their potential impact on arbovirus transmission. **Current Opinion in Virology**, v. 15, p. 69–74, 2015.



VITTOR, A. Y. et al. Linking Deforestation to Malaria in the Amazon: Characterization of the Breeding Habitat of the Principal Malaria Vector, *Anopheles darlingi*. **Am J Trop Med Hyg.** 2009 July, v. 81, n. 1, p. 5–12, 2009.

VONESCH, N. et al. Climate change, vector-borne diseases and working population. **Ann Ist Super Sanità**, v. 3, n. 1, p. 397–405, 2016.

WATTS, D. M.; PHILLIPS, I.; CALLAHAN, J. D.; GRIEBENOW, W.; HYAMS, K. C.; HAYES, C. G. Oropouche virus transmission in the Amazon river basin of Peru. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.** v. 56, n. 2, p. 148 - 152, 1997.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and Future Arboral Threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 1–36, 2010.

WILDER-SMITH, A. et al. Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. e101–e106, 2017.

WILKE, A. B. B. et al. Population genetics of neotropical *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 468, 2014.

WIRTH, W.W.; BLANTON, F.S. 1974. The west indian sandflies of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). USDA **Agricultural Research Service, Washington, D.C, USA.** 99pp.

XAVIER, S. H. & S. S. MATTOS. 1976. Geographical distribution of Culicinae in Brazil - IV. State of Amazonas (Diptera, Culicidae). **Mosquito Systematics** 8: 386–412.