

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Medicina Tropical

DIVERSIDADE E VIGILÂNCIA DE CULICIDAE COM ÊNFASE NA  
EMERGÊNCIA DE ARBOVIROSES EM GRADIENTE URBANO-RURAL  
NA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

DANIEL CARDOSO PORTELA CÂMARA

Rio de Janeiro  
Março de 2018



Câmara, Daniel Cardoso Portela.

Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arboviroses em gradiente urbano-rural na mata atlântica do estado do Rio de Janeiro / Daniel Cardoso Portela Câmara. - Rio de Janeiro, 2018.

XXII, 235 f.; il.

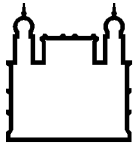
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2018.

Orientadora: Nildimar Honório Rocha.

Co-orientadora: Claudia Torres Codeço.

Bibliografia: f. 173-219

1. Culicidae. 2. Arbovírus. 3. Diversidade. 4. Vigilância entomológica. I. Título.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

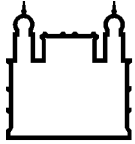
*Daniel Cardoso Portela Câmara*

Diversidade e Vigilância de Culicidae com Ênfase na Emergência de Arboviroses em Gradiente Urbano-Rural na Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz  
como parte dos requisitos para obtenção do título  
de Doutor em Medicina Tropical

**Orientador (es):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório Rocha  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Torres Codeço

**RIO DE JANEIRO**  
Março de 2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

***AUTOR: DANIEL CARDOSO PORTELA CÂMARA***

**Diversidade e Vigilância de Culicidae com Ênfase na Emergência de  
Arboviroses em Gradiente Urbano-Rural na Mata Atlântica do Estado do Rio de  
Janeiro**

**ORIENTADOR (ES): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório Rocha  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Torres Codeço**

**EXAMINADORES:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flavia Barreto dos Santos (IOC/FIOCRUZ) - Presidente**  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tamara Nunes Lima-Câmara (FSP/USP)**  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariane Branco Alves (IM/UFRJ)**  
**Prof. Dr. Roberto de Andrade Medronho (IESC/UFRJ)**  
**Prof. Dr. Ronaldo Figueiró Portella Pereira (UEZO)**  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gerusa Belo Gibson dos Santos (IESC/UFRJ) - Suplente**  
**Prof. Dr. Eduardo Martins Venticinque (UFRN) - Suplente**

Rio de Janeiro, 28 de março de 2018



## **AGRADECIMENTOS**

À minha querida orientadora e amiga, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório Rocha, por toda a sua dedicação, afinco, carinho e incentivo durante tantos anos de parcerias de sucesso! Agradeço não apenas pela inegável competência científica e profissional que fundamentaram este trabalho, mas também pelo lado humano e leve. Toda minha gratidão pela oportunidade incrível que é passar os dias ao seu lado, seja trabalhando ou em aventuras por esse mundo afora!

À minha querida co-orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Torres Codeço, por sua leveza humana e profissionalismo, pelos comentários em trabalhos e dicas sobre a vida sempre importantes em tantos momentos ao longo desses anos. Sou muito grato a todos os momentos que passamos juntos e pelos que virão;

Aos amigos e amigas do Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores, Andiária, Carmen, Célio, Fernanda, Gláucio, Larissa, Luciane e Renata, por todos os momentos especiais que temos vivido nesses quase oito anos de companheirismo e trabalho árduo;

Aos meus queridos amigos que a vida me deu, Célio Pinel e Gláucio Rocha. Gostaria de deixar registrado o quão importante é a nossa amizade, o quão inspirador vocês são e o quanto aprendo com vocês todos os dias. Essa tese só foi possível pelo seu apoio! Ah, e nunca me esquecerei do dia 31 de janeiro!

As minhas queridas Izabel Reis e Tania Ayllón, doutoras brutais e companheiras de todos os momentos. Essa tese deve muito a vocês duas! Amo muito vocês!

Aos amigos e amigas do Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários - LATHEMA, do Laboratório de Doenças Parasitárias - LDP, do Programa de Computação Científica - PROCC, da Escola Nacional de Saúde Pública - ENSP, e tantos e tantos outros laboratórios e institutos dessa incrível e fundamental instituição que é a Fundação Oswaldo Cruz. Vocês foram fundamentais por todo o apoio e dedicação nos momentos alegres e graves;

Aos amigos e amigas do projeto ArboAlvo, por todas as nossas trocas, aprendizados e lutas diárias no fortalecimento da vigilância do nosso país. É muito gratificante

atuar num projeto com tanta excelência profissional e com uma gestão tão humana e atenta;

À querida Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Martha Cecilia Suárez Mutis, coordenadora da Pós-Graduação em Medicina Tropical, por sua gestão humana e de estreita relação com os discentes, por sua sensibilidade com os problemas do mundo e dedicação inabalável para nos auxiliar na luta contra as inequidades;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Verissimo Junqueira, pelo seu apoio em palavras e em presença ao longo de tantos anos, por suas palavras duras e necessárias nos momentos certos e também por seu sorriso radiante e acolhedor em momentos de dúvida. Um agradecimento especial pelo convite para colaboração e coordenação e na elaboração de material didático para as equipes de agentes de saúde dos municípios do estado do Rio de Janeiro;

À toda a coordenação da Pós-Graduação em Medicina Tropical e todos os colegas de curso, por apoiarem de diferentes maneiras meu sonho de realizar um doutorado nessa linda e tão importante área;

À querida Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monique de Albuquerque Motta, por todas as suas valiosas contribuições, seja para o projeto inicial da tese e para o planejamento da logística e identificações do material coletado;

Ao amigo Prof. Dr. Jeronimo Augusto Fonseca Alencar, pelo apoio na identificação do material coletado e por todos os comentários e conversas feitos ao longo do período de desenvolvimento da tese;

À querida Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Sá Carvalho, pela sua competência em todas as críticas realizadas ao trabalho ao longo desses anos, por todo o seu apoio nas horas de dúvidas em relação a análises e planejamentos, e também aconselhamentos nos momentos difíceis;

Ao Prof. Dr. Davis Fernandes Ferreira e a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata de Mendonça Campos, pelo apoio logístico, financeiro e treinamento para a detecção viral nas amostras de mosquitos coletados ao longo do desenvolvimento desse doutorado;



Ao Prof. Dr. Steven A. Juliano e Prof. Dr. L. Phillip Lounibos, por seus comentários e sugestões enriquecedoras nos manuscritos dessa tese e ao longo da minha trajetória acadêmica;

Ao Mário Sérgio Ribeiro, da Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, pelo apoio e auxílio com algumas das bases de dados utilizadas nessa tese;

Ao amigo Jefferson Pereira Caldas dos Santos, por sua ajuda imprescindível para a consolidação da projeção populacional de Itaboraí e por tantas madrugadas de ideias e conversas;

À minha revisora e presidente da banca, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flavia Barreto dos Santos, por todos os comentários e sugestões imprescindíveis para essa tese;

Aos demais membros da banca de defesa, por aceitarem o convite e participarem desse momento profissional tão importante, cada um dotado de excelência em suas áreas de atuação;

A população e equipes das Secretarias Municipais de Saúde dos municípios de Itaboraí, Cachoeiras de Macacu e Guapimirim, por apoiarem o trabalho de campo realizado durante esta tese na forma de autorizações e na presença em campo em muitas das saídas realizadas;

A equipe da Reserva Ecológica de Guapiaçu, especialmente Nicholas, Raquel, Jorge e às queridas cozinheiras das estalagens, por todo o apoio e logística durante o desenvolvimento desta tese. Diversos foram os dias que chegávamos cansados, feridos e/ou esfomeados precisando de algum descanso ou ponto de apoio, e a REGUA nunca hesitou em abrir as portas para nossa equipe. Poucas instituições são tão humanas em sua vivência quanto esse pequeno paraíso escondido nos confins de Cachoeiras de Macacu;

À equipe da DIRAC e da garagem da FIOCRUZ, em especial os amigos Vander e Altair, pelo apoio e logística que permitiram o desenvolvimento desta tese e pela companhia inestimável ao longo de tantas horas de trabalho pesado debaixo de sol e chuva. Um agradecimento especial e um pedido de desculpas ao amigo Vander pelas cochiladas eventuais enquanto ele conversava comigo;

À CAPES pela bolsa de estudos, a FAPERJ e a Pós-Graduação em Medicina Tropical pelo apoio financeiro, inestimáveis para a realização desta tese;

Ao meu pai, pelo exemplo de vida que representa através de sua perseverança, competência, sinceridade, seriedade e carinho em todas as ações e palavras. Essa tese é dedicada, sobretudo, a você;

À minha querida esposa Alice, companheira de tantos momentos, por sempre ser o farol nas noites mais escuras e a luz mais acolhedora que, felizmente, me entreguei há quase cinco anos;

À minha família, pelo apoio diário e segurança de um lar duradouro e seguro, independente da presença física;

Aos meus queridos e épicos amigos de infância, pela permanente presença e amizade duradoura, mesmo que meses se passem sem que nos encontremos. A simples existência de vocês me transforma numa pessoa melhor, seja nesse ou em qualquer mundo da nossa imaginação;

Aos amigos e amigas da Pós-Graduação em Medicina Tropical, alguns que conheci ainda na época do mestrado, por serem pessoas de enorme competência profissional e humana e por ajudar a moldar meu caráter nessa longa trajetória. Amanda, Angélica, Andréia, Daiana, Fábio, José Joaquin, Leonardo, Manoela, Nádia, Vivian... Relembrar desses anos todos juntos me emociona profundamente. Ainda que a vida insista em separar amizades tão bacanas, basta uma ida ao Chico para que tudo volte a ser como antes. Espero ansiosamente pela nossa viagem de 35 anos depois do Rio Negro;

Aos amigos e amigas do Lote I, por serem algumas das pessoas mais inspiradoras e cheias de energia que conheço, seja para discutir nossa profissão, seja para comer hambúrgueres, seja para tomar uma boa cerveja gelada;

Ao amigo Alexandre de Medeiros, por todas as nossas aventuras e conversas por essa linda América Latina, e mal posso esperar para estarmos juntos novamente contribuindo seja com a saúde pública ou com uma boa noite de risadas e histórias;

Finalmente, a todos que por ventura tenham contribuído de alguma forma no desenvolvimento desse trabalho.

*“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”.*

- Isaac Newton

x

## RESUMO

Dentre os artrópodes vetores, os culicídeos destacam-se por serem os mais importantes transmissores de arbovírus para o ser humano. Dentre estes, destaca-se o vírus dengue, responsável por um importante número de casos e óbitos registrados. A introdução e expansão dos vírus chikungunya e Zika no Brasil trazem preocupação para as autoridades de saúde, uma vez que se tornaram endêmicos no país e responsáveis por milhares de casos nos últimos anos. Dado o complexo cenário de endemicidade de arboviroses no país, tornam-se imprescindíveis os estudos sobre biologia e ecologia de mosquitos vetores, assim como sua relação com a paisagem onde se inserem e seu impacto na circulação de arbovírus. Aliado a isso, o fortalecimento da vigilância entomológica e virológica são ações fundamentais para o enfrentamento de surtos e epidemias de arboviroses transmitidas por mosquitos ao ser humano. Esta tese tem como principal objetivo avaliar a diversidade de culicídeos residentes e detectar a circulação de arbovírus patogênicos ao homem ao longo de gradientes urbano-rurais em diferentes municípios do Rio de Janeiro, integrando ações de promoção e educação em saúde para equipes de agentes de saúde locais. Realizaram-se coletas entomológicas em dois municípios da região metropolitana do Rio de Janeiro entre 2015 e 2016: Itaboraí e Cachoeiras de Macacu. Foram selecionados 14 pontos de coleta em seis áreas caracterizadas como urbanas, periurbanas e rurais. Utilizaram-se diferentes métodos de coleta para mosquitos adultos. Investigaram-se os principais arbovírus circulantes, dengue, chikungunya e Zika, a partir dos mosquitos coletados na área de estudo e em outras regiões endêmicas. Realizou-se um estudo espaço-temporal exploratório da dispersão de epidemias de dengue em Itaboraí e identificação de *clusters* de transmissão entre 2001 e 2016. A tese se alicerça no fortalecimento das equipes de Agentes de Combate às Endemias (ACE) do estado, através da capacitação e atualização em arboviroses e seus vetores e na elaboração de material didático. Foram coletados 13.462 mosquitos adultos distribuídos pelas seis áreas amostradas, pertencentes a 10 gêneros e 41 espécies. As espécies mais abundantes foram *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Verificou-se a segregação espacial das espécies coletadas ao longo da paisagem da área de estudo. Os métodos de coleta mais efetivos para *Ae. aegypti* foram a aspiração intradomiciliar e BG-Sentinel, enquanto para *Ae. albopictus* foi a BG-Sentinel e aspiração peridomiciliar. Não se detectaram arbovírus nas amostras de mosquitos do gênero *Aedes* coletados. Na cidade do Rio de Janeiro, detectou-se o vírus Zika circulando em *Ae. aegypti* coletados antes do registro do primeiro caso humano. Identificaram-se 4 epidemias de dengue com padrão de dispersão heterogêneo. Dezesseis bairros foram recorrentes na análise de *clusters* de transmissão em todas as epidemias. Ao longo de seis meses, uma série de encontros para ACE abordou temas relacionados à arboviroses e seus vetores, além de outros agravos. Duas apostilas para cursos de capacitação para ACE foram desenvolvidas. Uma cartilha de atividades lúdicas para o público infantil foi publicada. Essa tese objetivou contribuir para o conhecimento da diversidade de culicídeos do estado do Rio de Janeiro, fortalecendo a vigilância local e fornecendo subsídios para ampliar o conhecimento sobre as principais arboviroses circulantes no país.

## ABSTRACT

Among the arthropod vectors, culicids stand out as the most important transmitters of arboviruses to humans. Among these, dengue virus is responsible for an important number of registered cases and deaths. The introduction of chikungunya and Zika viruses in Brazil raises concerns to health authorities, since both have become endemic in the country and area responsible for thousands of cases in recent years. Given the complex scenario of arboviruses' endemicity in the country, studies on the biology and ecology of their mosquito vector are essential, as well as their relation with the landscape where they are inserted and the impact on arbovirus circulation. Strengthening the entomological and virological surveillance is primordial for coping with mosquito-borne arboviruses outbreaks and epidemics. This main objective of this thesis is to evaluate the diversity of resident culicids and to detect the circulation of arboviruses pathogenic to humans along urban-rural gradients in different municipalities of Rio de Janeiro, integrating actions of health promotion and education for the local teams of health agents. Entomological collections were done in two municipalities of the metropolitan region of Rio de Janeiro between 2015 and 2016: Itaboraí and Cachoeiras de Macacu. Fourteen collection sites were selected in six areas characterized as urban, periurban and rural. Different collection methods were employed for adult mosquitos. The main arboviruses in the country, dengue, chikungunya and Zika, were also investigated in mosquitos from both in the study area and other endemic areas. An exploratory space-time study of the dengue epidemics was done to analyze epidemics disersion and identify clusters of transmission between 2001 and 2016. This thesis is based on strengthening the teams of health agents of the state of Rio de Janeiro, through cycles of refresher and capacitation talks on arboviruses and vector-borne diseases, as well as the preparation of support didactic material. A total of 13,462 adult mosquitos were collected in the six surveyed areas, from 10 genera and 41 species. The most abundant species were *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Spatial segregation of all collected species along the landscape was analyzed. The most effective collection methods for *Ae. aegypti* were indoors aspiration and BG-Sentinel, while for *Ae. albopictus* were BG-Sentinel and outdoors aspiration. No arbovirus were detected on samples of collected *Aedes* mosquitos. In the city of Rio de Janeiro, Zika virus was detected circulating in *Ae. aegypti* mosquitos before the first human case was reported. We detected four dengue epidemics with a heterogeneous pattern of dispersion. Sixteen neighborhoods were recurrent in cluster analysis in all epidemics. For six months, a series of meetings for health agents were done addressing topics related to arboviruses and their vectos, as well as other diseases. Two booklets were developed for health agents. A booklet of play activities for children was published. This thesis aimed to contribute to the knowledge of the diversity of culicids in the state of Rio de Janeiro, strengthening local surveillance and providing subsidies to increase knowledge about the main arboviruses circulating in the country.

# Índice

<b>Capítulo 1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1 Principais arbovírus circulantes no Brasil.....	2
1.1.1 Vírus Dengue (DENV).....	2
1.1.2 Vírus Chikungunya (CHIKV) .....	6
1.1.3 Vírus Zika (ZIKV).....	9
1.1.4 Vírus da Febre Amarela (YFV).....	12
1.2 Aspectos da biologia e ecologia de mosquitos vetores e sua participação na transmissão de arbovírus .....	17
1.2.1 <i>Aedes aegypti</i> .....	24
1.2.2 <i>Aedes albopictus</i> .....	25
1.3 Determinantes da emergência dos principais arbovírus .....	27
1.4 Vigilância entomo-virológica das arboviroses.....	33
1.5 O papel do estado do Rio de Janeiro na introdução e dispersão de arbovírus no Brasil..	35
1.6 A inserção do estudo no Plano Brasil Sem Miséria .....	37
1.7 Justificativa .....	39
<b>Capítulo 2. Objetivos .....</b>	<b>42</b>
2.1 Objetivo Geral .....	42
2.2 Objetivos Específicos.....	42
<b>Capítulo 3. Resultados .....</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 3.1 - Segregação espacial de mosquitos vetores ao longo de paisagens heterogêneas em área endêmica para dengue, chikungunya e Zika .....</b>	<b>45</b>
3.1.1 Introduction .....	47
3.1.2 Methods .....	50
3.1.2.1 Study area and climate.....	50
3.1.2.2 Mosquito sampling and identification .....	52
3.1.2.3 Land use classification.....	53
3.1.2.4 Statistical analysis.....	53

3.1.3 Results .....	55
3.1.3.1 Species distribution, richness and diversity .....	55
3.1.3.2 Partial Canonical Correspondence Analysis .....	62
3.1.3.3 Generalized linear models.....	65
3.1.4 Discussion.....	68
<b>Capítulo 3.2 - Comparação da eficácia de diferentes métodos de coleta para <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> e circulação de arbovírus em área endêmica para dengue, chikungunya e Zika .....</b>	<b>76</b>
3.2.1 Introduction .....	78
3.2.2 Methods .....	80
3.2.2.1 Study area .....	80
3.2.2.2 Mosquito sampling.....	81
3.2.2.3 Viral detection.....	83
3.2.2.4 Data analysis.....	84
3.2.2.4.1 Relationship between positivity and density indexes.....	84
3.2.2.4.2 Generalized linear models.....	84
3.2.3 Results .....	85
3.2.3.1 General results and viral detection .....	85
3.2.3.2 Relationship between positivity and density indexes.....	86
3.2.3.3 GLM for <i>Aedes aegypti</i> abundance .....	88
3.2.3.4 GLM for <i>Aedes albopictus</i> abundance.....	89
3.2.4 Discussion.....	89
<b>Capítulo 3.3 – Evidência de circulação precoce do vírus Zika entre <i>Aedes aegypti</i> de área endêmica do Rio de Janeiro/RJ, Brasil .....</b>	<b>96</b>
3.3.1 Manuscrito .....	98
<b>Capítulo 3.4 - Análise espaço-temporal do padrão de dispersão e propagação de dengue em área endêmica do Rio de Janeiro, no período de 2001-2016.....</b>	<b>102</b>
3.4.1 Introdução.....	104
3.4.2 Material e métodos.....	107

3.4.2.1. Desenho de estudo .....	107
3.4.2.2. Área de estudo .....	107
3.4.2.3 Dados epidemiológicos e indicadores .....	109
3.4.2.4 Análise descritiva temporal e espacial do dengue .....	110
3.4.2.4 Detecção de clusters de transmissão de dengue .....	112
3.4.3 Resultados .....	113
3.4.3.1 Análise temporal descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ .....	113
3.4.3.2 Análise espacial descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ .....	116
3.4.3.3 Análise temporal e espacial descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ ..	118
3.4.3.4 Características demográficas do dengue no município de Itaboraí/RJ.....	126
3.4.3.5 Dinâmica espaço-temporal do dengue no município de Itaboraí/RJ.....	128
3.4.3.6 Detecção de <i>clusters</i> de transmissão de dengue em Itaboraí/RJ .....	135
3.4.4 Discussão.....	138
<b>Capítulo 3.5 – Atividades de capacitação de Agentes de Combate às Endemias na forma de cursos e produção de material didático .....</b>	<b>145</b>
3.5.1 Cursos de capacitação.....	147
3.5.2 Elaboração de material didático para Agentes de Combate às Endemias e Agentes Comunitários de Saúde e para público infantil .....	151
3.5.2.1. Fundamentos de Entomologia e Acarologia Médica .....	152
3.5.2.2 Fundamentos e Métodos para Vigilância dos Vetores de Importância Médica: Vetores de Arbovírus e Conceitos Básicos sobre Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela .....	154
3.5.2.3 As aventuras dos Pequenos Mosqueteiros contra dengue, zika e chikungunya ..	155
3.5.3. Discussão .....	156
<b>Capítulo 4. Discussão .....</b>	<b>161</b>
<b>Capítulo 5. Conclusões .....</b>	<b>171</b>
<b>Capítulo 6. Referências bibliográficas .....</b>	<b>173</b>
<b>Capítulo 7. Anexos.....</b>	<b>220</b>
7.1. Licenças de coleta em área rural e protegida .....	220



7.2. Termo de anuência municipal.....	228
7.3. Demais produção bibliográfica.....	229

## Índice de figuras

<b>Figura 1.1.</b> Distribuição mundial ao nível de país dos vírus da encefalite japonesa (JEV), dengue (DENV), febre amarela (YFV), Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV), febre do Vale do Rift (RVFV), Mayaro (MAYV) e Oropouche (OROV). Retirado de Weaver e colaboradores (2018). .....	<b>1</b>
<b>Figura 1.2.</b> Distribuição global dos sorotipos de DENV entre os anos de 1943 e 2013. Retirado de Messina e colaboradores (2014). .....	<b>3</b>
<b>Figura 1.3.</b> Países com relatos atuais ou passados de transmissão autóctone de CHIKV em algum local do território. Fonte: <a href="http://www.cdc.gov">www.cdc.gov</a> .....	<b>7</b>
<b>Figura 1.4.</b> Distribuição mundial das áreas com risco de transmissão de Zika. Fonte: <a href="http://www.cdc.gov">www.cdc.gov</a> .....	<b>11</b>
<b>Figura 1.5.</b> Distribuição por município do local provável de infecção dos casos humanos e epizootias em primatas não-humanos confirmados para febre amarela silvestre, no período de junho de 2017 até a semana epidemiológica 09 de 2018. Fonte: <a href="http://portalms.saude.gov.br">http://portalms.saude.gov.br</a> .....	<b>16</b>
<b>Figura 1.6.</b> Representação do ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i> , compreendendo os estágios de vida de ovo, larva, pupa e forma adulta. Fonte: <a href="http://www.cdc.gov">www.cdc.gov</a> .....	<b>17</b>
<b>Figura 1.7.</b> Distribuição potencial de habitats de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> em escala mundial. Retirado de Leta e colaboradores (2018). .....	<b>20</b>
<b>Figura 1.8.</b> Distribuição geográfica de <i>Aedes albopictus</i> e <i>Aedes aegypti</i> no território brasileiro. Adaptado de Couto-Lima e colaboradores (2017). .....	<b>23</b>
<b>Figura 1.9.</b> Representação hipotética da interação entre hospedeiro, vetor e patógeno em um ambiente permissivo. Da interseção entre essas populações, surge o foco de transmissão de um patógeno, como um arbovírus. Retirado de Reisen (2010). .....	<b>30</b>
<b>Foto 3.1.</b> Instalação de armadilha tipo CDC em um ponto de coleta na localidade rural de Japuiba, município de Cachoeiras de Macacu. Maio de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara. ....	<b>46</b>
<b>Figure 3.1.1.</b> Climate and dengue transmission in (a) Itaboraí (ITA) and (b) Cachoeiras de Macacu (CMA). Gray bars represent monthly accumulated rainfall. Solid and dashed black lines represent respectively mean, minimum and maximum temperatures (°C). Red lines represent mean monthly dengue incidence from 2001 to 2016 (cases per 10,000 inhabitants). .....	<b>51</b>
<b>Figure 3.1.2.</b> Map of the state of Rio de Janeiro and the two cities included in the study: Cachoeiras de Macacu (CMA) and Itaboraí (ITA). Collection areas are comprised of one or more neighborhoods and are divided into Urban (brown), Periurban (light green) and Rural (dark green). .....	<b>52</b>
<b>Figure 3.1.3.</b> Individual-based interpolation (solid lines) and extrapolation (dashed lines) from reference samples in the three different landscapes with 95% confidence intervals. Blue = Urban landscape, red = Periurban landscape, green = Rural landscape. ....	<b>58</b>

<b>Figure 3.1.4.</b> Boxplots of mean rarefied species richness in each landscape type (Urban, Periurban and Rural). .....	<b>59</b>
<b>Figure 3.1.5.</b> Partial canonical correspondence analysis showing a) all collection sites along the first two canonical axes, b) urban, c) periurban and d) rural collection sites. Colors and shapes denote landscape and areas, respectively: yellow for Urban, lightgreen for Periurban and darkgreen for Rural sites.....	<b>64</b>
<b>Figure 3.1.6.</b> Mosquito species distribution by genus with respect to measured environmental variables along the first two canonical axes. a) <i>Aedes</i> , b) <i>Haemagogus</i> and <i>Psorophora</i> , c) <i>Culex</i> , d) <i>Mansonia</i> and <i>Coquillettidia</i> , e) <i>Anopheles</i> and <i>Uranotaenia</i> , and f) <i>Limatus</i> and <i>Wyeomyia</i> . .....	<b>65</b>
<b>Figure 3.1.7.</b> Species predictions of presence/absence along the Urban-Forest Gradient measured by the partial canonical correspondence analysis. High values at the right side shows preference for urbanized habitats, high values at the left side shows preference for forested habitats. High values in the middle shows preference for intermediate or edge habitats.....	<b>67</b>
<b>Foto 3.2.</b> Caçamba de caminhonete contendo as armadilhas e outros equipamentos de coleta utilizados durante a execução desta tese. Setembro de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara. ....	<b>77</b>
<b>Figure 3.2.1.</b> Map showing the location of the study area: the cities of Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, RJ. ....	<b>80</b>
<b>Figure 3.2.2.</b> Rainfall, Temperature and dengue incidence in (a) Itaboraí (ITA) and (b) Cachoeiras de Macacu (CMA). Bars represent mean monthly accumulated rainfall. Dashed black lines represent mean, minimum and maximum temperatures (°C). Dashed red lines represent mean monthly dengue incidence from 2001 to 2016 (cases per 10,000 inhabitants). .....	<b>81</b>
<b>Figure 3.2.3.</b> Estimated smoothing curves for <i>Ae. aegypti</i> (top) and <i>Ae. albopictus</i> (bottom). The solid line represents the smoother, the dashed lines represent 95% confidence intervals. ADT = Adultrap, BGS = BG-Sentinel, CDC = CDC, ASP-I = Indoor aspiration, ASP-O = Outdoor aspiration. ....	<b>88</b>
<b>Foto 3.3.</b> Fêmea de <i>Ae. aegypti</i> fotografada em microscópio estereoscópio durante atividade de identificação taxonômica. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara. ....	<b>97</b>
<b>Foto 3.4.</b> Peridomicílio de um ponto de coleta na localidade periurbana de Areal, município de Itaboraí. Junho de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.....	<b>103</b>
<b>Figura 3.4.1.</b> Caracterização do clima em Itaboraí através da média mensal da precipitação, temperatura mínima, média e máxima. Barras cinzas representam precipitação média acumulada mensal (mm). Linhas pretas pontilhadas e sólida representam, respectivamente, temperatura média mensal mínima, máxima e média (°C).....	<b>108</b>
<b>Figura 3.4.2.</b> Localização do município de Itaboraí no estado do Rio de Janeiro e de seus oito distritos. ....	<b>109</b>

<b>Figura 3.4.3.</b> Série temporal da incidência de casos notificados de dengue por 10 mil habitantes (em azul), e a assinatura sazonal ajustada com seu respectivo intervalo de confiança de 95% (vermelho) para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ. ....	<b>115</b>
<b>Figura 3.4.4.</b> Média mensal da incidência de casos notificados de dengue por 10 mil habitantes para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ. ....	<b>116</b>
<b>Figura 3.4.5.</b> Percentual de casos de dengue (barras azuis) e percentual acumulado (linha vermelha) segundo bairros para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ. ....	<b>118</b>
<b>Figura 3.4.6.</b> Taxa bayesiana empírica global anual dos oito distritos de Itaboraí/RJ, para os anos de 2001 a 2016. ....	<b>119</b>
<b>Figura 3.4.7.</b> Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2001 a 2004. ....	<b>121</b>
<b>Figura 3.4.8.</b> Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2005 a 2008. ....	<b>122</b>
<b>Figura 3.4.9.</b> Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2009 a 2012. ....	<b>124</b>
<b>Figura 3.4.10.</b> Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2013 a 2016. ....	<b>125</b>
<b>Figura 3.4.11.</b> Ocorrência de epidemias nos bairros do município de Itaboraí/RJ para os anos de 2001 a 2016. ....	<b>129</b>
<b>Figura 3.4.12.</b> Distribuição espacial do número epidemias ocorridas em cada bairro do município de Itaboraí/RJ para os anos de 2001 a 2016.....	<b>131</b>
<b>Figura 3.4.13.</b> Comportamento espaço-temporal do dengue nos anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 para o município de Itaboraí: contabilização mensal dos picos epidêmicos nos bairros.....	<b>133</b>
<b>Figura 3.4.14.</b> Comportamento espaço-temporal do dengue nos anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 para o município de Itaboraí: possível caminho da dispersão epidêmica. ....	<b>134</b>
<b>Figura 3.4.15.</b> Resultado da análise de clusters mais prováveis para os anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 no município de Itaboraí/RJ.....	<b>137</b>
<b>Foto 3.5.</b> Participantes do primeiro encontro da iniciativa “Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica”. Agosto de 2014. Fonte: <a href="http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2156&amp;sid=32">http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2156&amp;sid=32</a> .....	<b>146</b>
<b>Figura 3.5.1.</b> Reportagem publicada no portal do Instituto Oswaldo Cruz: “Instituto promove capacitação de agentes de vigilância em saúde do Estado do Rio”. Disponível em: <a href="http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2156&amp;sid=32">http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2156&amp;sid=32</a> . ....	<b>148</b>

**Figura 3.5.2.** Encontro da iniciativa “Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica” com ACE e ACS de diferentes municípios do estado do Rio de Janeiro, no período entre 2014 e 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara..... **149**

## Índice de tabelas

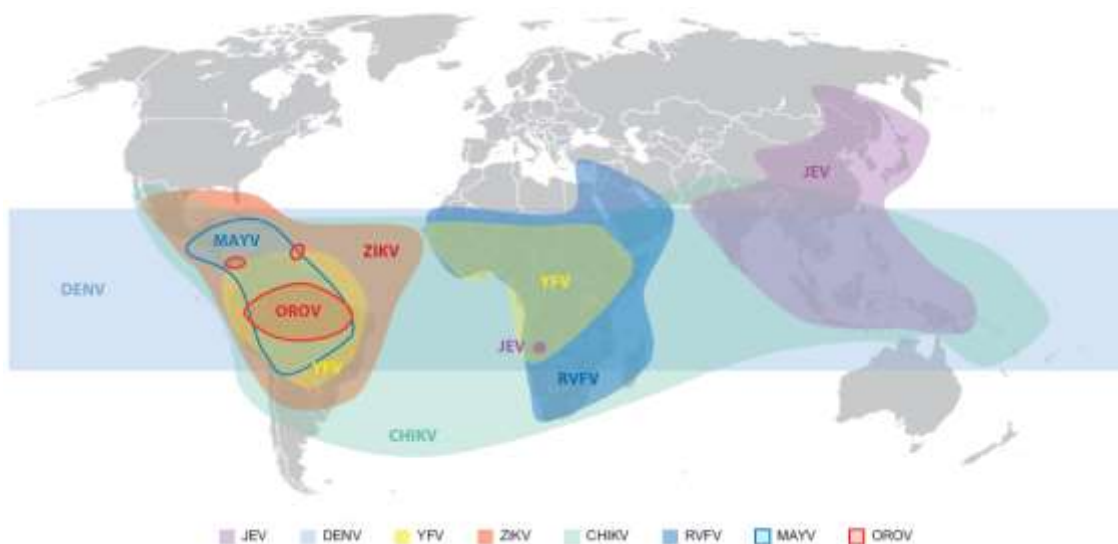
<b>Table 3.1.1.</b> Absolute (N) and relative abundance (%) of collected mosquitos by species, in the three landscapes (Urban, Periurban and rural) in the years of 2015 and 2016, in Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, RJ. ....	<b>56</b>
<b>Table 3.1.2.</b> Descriptive statistics of the different measured ecological indexes: species richness, Shannon-Weiner, Simpson, rarefaction, Chao1-bc and ACE-1.....	<b>58</b>
<b>Table 3.1.3.</b> Absolute numbers of mosquito species collected in each landscape (Urban, Periurban and Rural) in the years of 2015 and 2016 in Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, RJ. <sup>a</sup> indicates an abundant species (> 10 collected specimens) and <sup>b</sup> indicates an rare species (< 10 collected specimens). ....	<b>60</b>
<b>Table 3.1.4.</b> Odds-Ratio for the binomial generalized linear models for the presence/absence of eight mosquito species. Entries in bold indicate statistical significance. NA in the quadratic term indicates that this effect was dropped from the final model. ....	<b>66</b>
<b>Table 3.2.1.</b> Total number of collected specimens of <i>Ae. aegypti</i> and <i>Ae. albopictus</i> by each collection method in three different landscapes. Numbers are presented as total number of collected mosquitos (total number of females/engorged females). ....	<b>85</b>
<b>Table 3.2.2.</b> Relative risks and CI95% of the ZIP models for <i>Ae. aegypti</i> and <i>Ae. albopictus</i> . Bold entries indicate statistical significance. ....	<b>88</b>
<b>Tabela 3.4.1.</b> Total de casos de dengue notificados, total de casos localizados por bairro com sucesso e incidência por 10.000 habitantes durante o período de estudo, em Itaboraí/RJ. ...	<b>113</b>
<b>Tabela 3.4.2.</b> Total de casos notificados de dengue e incidência acumulada por 10.000 habitantes em todo o período de estudo, para o município de Itaboraí/RJ.....	<b>116</b>
<b>Tabela 3.4.3.</b> Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2001 a 2004.....	<b>120</b>
<b>Tabela 3.4.4.</b> Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2005 a 2008.....	<b>122</b>
<b>Tabela 3.4.5.</b> Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2009 a 2012.....	<b>123</b>
<b>Tabela 3.4.6.</b> Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2013 a 2016.....	<b>125</b>
<b>Tabela 3.4.7.</b> Características demográficas dos casos notificados de dengue no município de Itaboraí, em dois períodos: durante todo a série (2001 a 2016) e apenas nos anos considerados epidêmicos (2002, 2008, 2011, 2012 e 2013). ....	<b>126</b>
<b>Tabela 3.4.8.</b> Classificação final dos casos de dengue notificados no município de Itaboraí/RJ. ....	<b>127</b>

**Tabela 3.4.9.** Resultado da análise de clusters mais prováveis para os anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 no município de Itaboraí/RJ..... **137**

**Tabela 3.4.10.** Taxas de incidência por 10.000 habitantes, número de epidemias registradas e estatísticas descritivas dos 16 bairros recorrentes nos clusters primários registrados nas epidemias de 2002, 2008, 2011 e 2013, no município de Itaboraí/RJ. .... **137**

## Capítulo 1. Introdução

Arboviroses como dengue, chikungunya, Zika e febre amarela representam importantes doenças infecciosas emergentes e reemergentes do ponto de vista da saúde pública, tendo sido introduzidas em diversos países e ampliado sua distribuição original (Weaver & Reisen 2010, Lima-Camara 2016) (Figura 1.1). Surtos e epidemias causadas por arbovírus (da expressão inglesa *arthropod-borne virus*) se tornaram motivo de preocupação, sendo responsáveis por enorme morbidade e mortalidade em diversos países, incluindo o Brasil. Infecções por arbovírus possuem amplo espectro clínico, variando de infecções assintomáticas até síndromes hemorrágicas e sequelas advindas de encefalites, podendo evoluir a óbito (CDC 2010).



**Figura 1.1.** Distribuição mundial ao nível de país dos vírus da encefalite japonesa (JEV), dengue (DENV), febre amarela (YFV), Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV), febre do Vale do Rift (RVFV), Mayaro (MAYV) e Oropouche (OROV). Retirado de Weaver e colaboradores (2018).

Os arbovírus são considerados um grupo taxonomicamente diverso e filogeneticamente não exibem relação entre si. Porém, dadas as semelhanças ecológicas de seus ciclos de vida e biologia, convencionou-se a classificação como arbovírus (Weaver & Reisen 2010). Os arbovírus estão inseridos em



diversas famílias, sendo os de principal importância médica pertencentes a três famílias: *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae* (Gubler 2002). A principal forma de manutenção dos arbovírus na natureza se deve a transmissão biológica envolvendo hospedeiros vertebrados suscetíveis e vetores invertebrados hematófagos (Clements 2012). As últimas décadas têm presenciado a emergência e introdução de diversos arbovírus em novas áreas geográficas, expandindo-se para além de suas regiões de origem em processos facilitados, em grande parte, pela influência humana (Morens et al. 2004, Leta et al. 2018, Weaver et al. 2018).

## **1.1 Principais arbovírus circulantes no Brasil**

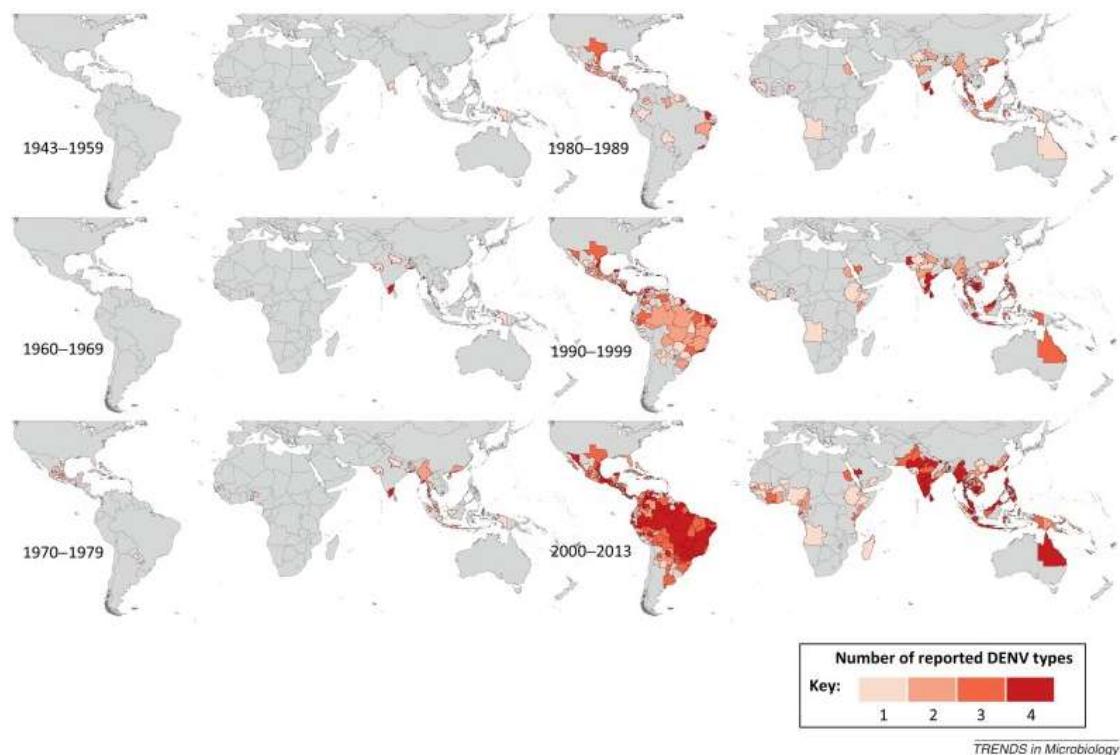
### **1.1.1 Vírus Dengue (DENV)**

A dengue é uma doença infecciosa aguda causada pelos vírus DENV, pertencentes à família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus*. São conhecidos quatro sorotipos antigenicamente distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Gubler 1998, Guzman et al. 2010). Até 2009, a classificação pela OMS distinguia os casos de dengue como Dengue Clássico (DC), ou os com manifestações clínicas mais graves e possivelmente fatais, como Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) e Síndrome do Choque da Dengue (SCD). No entanto, a partir de 2009, a OMS propôs uma nova classificação de casos, adotada pelo Brasil a partir de 2014. Na nova classificação, os casos são discriminados em casos, casos com sinais de alarme e casos de dengue grave (OMS 2009).

A infecção por qualquer um dos sorotipos promove imunidade de longo prazo para o mesmo sorotipo, e também imunidade temporária para os outros sorotipos. Existe associação entre a ocorrência de formas mais graves da doença quando há infecção de um indivíduo que já teve infecção prévia (Halstead 1988, Rothman 2011). A transmissão dos vírus dengue acontece predominantemente pela picada de fêmeas infectadas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). O *Aedes albopictus* (Skuse, 1895), ainda que vetor

competente para os quatro sorotipos de DENV, é considerado apenas vetor potencial no Brasil (Fares et al. 2015).

A dengue é endêmica em mais de cem países nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, com quase 100 milhões de casos notificados por ano (Gurugama et al. 2010), ainda que se estime cerca de 390 milhões infecções anuais, distribuídos entre apresentações sintomáticas e assintomáticas (Bhatt et al. 2013). Observa-se essa endemicidade em grande parte da América Latina desde os anos 1980, com os quatro sorotipos sendo introduzidos no Brasil ao longo das últimas décadas e causando diversas epidemias, tornando o país líder em número de casos no continente e um dos mais importantes no mundo (Nogueira et al. 2007, Teixeira et al. 2009) (Figura 1.2).



**Figura 1.2.** Distribuição global dos sorotipos de DENV entre os anos de 1943 e 2013. Retirado de Messina e colaboradores (2014).

Dick e colaboradores (2012) propuseram que a história da dengue fosse dividida em quatro fases distintas na América Latina. Na primeira, a introdução do vírus nas Américas ocorreu entre 1600 e 1947, com evidências de epidemias de uma doença similar a dengue em Martinica, Guadalupe e Panamá, durante o século XVII. Na segunda, é colocado em prática o Plano Continental para Erradicação do *Aedes aegypti* entre 1947 e 1970, com objetivo de eliminar a febre amarela na região. O Plano teve efeito em muitos países, porém, outros falharam no objetivo de erradicar o mosquito vetor ou não fizeram parte do acordo. Na terceira fase, observa-se a reintrodução e reinfestação de territórios previamente declarados livres do *Ae. aegypti* entre os anos 1971 e 1999, após o encerramento do Plano de Erradicação e a deterioração dos planos regionais de controle vetorial. Com isso, o vetor migrou pelo Caribe até atingir o norte da América do Sul e Venezuela, e eventualmente reinfestando o Brasil a partir dos anos 70. A quarta e última fase diz respeito a ampla dispersão do *Ae. aegypti* e da circulação dos sorotipos de dengue, ocorrida a partir dos anos 2000 até 2010. Com a gradual expansão do vetor, além da introdução, estabelecimento e circulação dos quatro sorotipos na maioria dos países da região, a doença atingiu níveis de hiperendemicidade, com a notificação anual de casos aumentando dramaticamente em diversos países. Destes, o Brasil contribui com o maior número de casos da região (Dick et al. 2012).

Com a reintrodução do *Ae. aegypti* no Brasil em 1976 e subsequente expansão do vetor pelo território brasileiro, o primeiro surto de dengue detectado ocorreu em 1981-1982 no estado de Roraima, com envolvimento dos sorotipos DENV-1 e DENV-4 (Osanai et al. 1983, Nogueira et al. 2007). Em 1986, uma grande epidemia de dengue teve início no estado do Rio de Janeiro, originando-se a partir de Nova Iguaçu e se disseminando rapidamente para cidades e estados ao redor. Nos anos de 1986 e 1987, foram registrados mais de 140 mil casos de dengue, a maioria no estado do Rio de Janeiro e causados pelo DENV-1 (Miagostovich et al. 1993). Em 1990, DENV-2 foi detectado em Niterói, também no estado do Rio de Janeiro, em uma epidemia ocorrida com a cocirculação de DENV-1 e DENV-2. Apesar da ocorrência predominantemente de casos de dengue clássica, registrou-se pela primeira vez um aumento no

número de casos graves e a ocorrência dos primeiros casos fatais, estes provavelmente devido a infecções prévias (Nogueira et al. 2007).

Em 1994, detectou-se a reintrodução do DENV-3 nas Américas após anos de ausência. O DENV-3 foi isolado em dezembro de 2000 no município de Nova Iguaçu/RJ, onde ocorreu a cocirculação dos sorotipos DENV-1, DENV-2 e DENV-3. Este sorotipo foi responsável por uma das mais graves epidemias de dengue registradas no território nos anos seguintes (Nogueira et al. 2005). A epidemia ocorrida em 2007 e 2008 figurou como a segunda mais importante da história em número de casos (totalizando mais de 1.055.000 casos) e a mais grave em termos de letalidade (com 783 óbitos registrados) (SINAN 2013). Houve uma importante mudança no cenário epidemiológico da doença, ao se observar maior incidência da doença em crianças até 15 anos, com predomínio de casos graves e óbitos nessa faixa etária (Medronho 2009), bastante similar ao padrão observado no sudeste asiático (Teixeira et al. 2008).

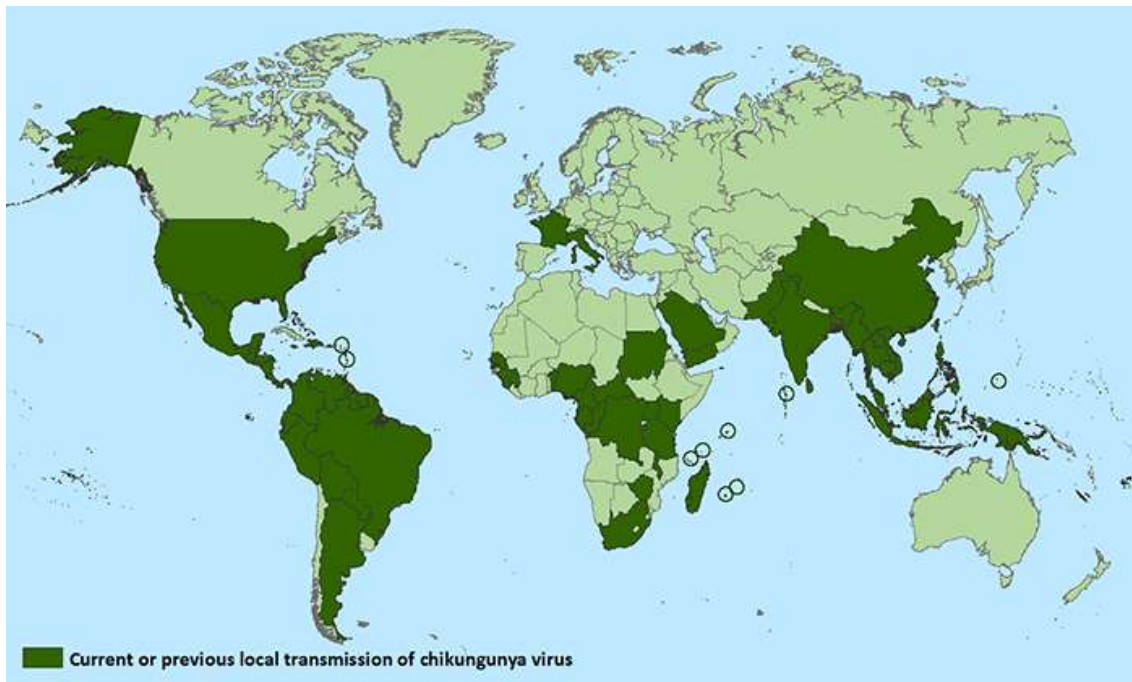
A reintrodução do DENV-4 no Brasil em 2010 se tornou motivo de preocupação. O sorotipo foi identificado no estado de Roraima (Temporão et al. 2011), de onde se disseminou para outras regiões. Em 2011, o DENV-4 foi isolado na cidade de Niterói (Nogueira & Eppinghaus 2011) e, naquele mesmo ano, uma epidemia de dengue se estabelecia no estado tendo como principal agente etiológico o DENV-1. A introdução do DENV-4 resultou, pela primeira vez, na circulação simultânea de todos os sorotipos, revelando a situação de hiperendemicidade da doença (Bastos et al. 2012). Os anos seguintes à introdução do DENV-4 têm demonstrado frequentemente a cocirculação de sorotipos diferentes, com alternância do sorotipo predominante e aumento do número de casos notificados anualmente, muitos dos quais ultrapassam 1 milhão de notificações. Os anos de 2013 a 2017 registraram mais de 5,3 milhões de notificações de casos de dengue no país, ainda que 2017 tenha apresentado uma importante queda no número de casos em relação aos anos anteriores (SVS 2014, 2015, 2016, 2017, 2018).

A circulação simultânea de diferentes sorotipos é objeto de preocupação para as autoridades de saúde, e se verificou que o diagnóstico laboratorial aliado à vigilância entomológica e epidemiológica, podem ser importantes para

detectar a introdução de novos sorotipos e identificar os principais sorotipos circulantes durante uma epidemia (Castro et al. 2012). A dengue é uma doença multifatorial, envolvendo numerosos determinantes de seus principais componentes: o agente etiológico, o vetor, o hospedeiro humano e o ambiente onde estes interagem (Halstead 2008, Teixeira et al. 2009). Cada um desses componentes merece atenção especial, e para a melhor abordagem deste grave problema de saúde pública mundial, é necessário que se atente para uma visão multidisciplinar e comprometida, tanto do serviço público quanto da ciência (Lourenço-de-Oliveira 2008).

### **1.1.2 Vírus Chikungunya (CHIKV)**

O CHIKV, da família *Togaviridae* e gênero *Alphavirus*, foi descoberto na África e possui genótipos relacionados a regiões distintas: África Ocidental (*West Africa*), mantido em complexos ciclos silvestres envolvendo diferentes espécies de vetores do gênero *Aedes* e primatas não-humanos na África; o genótipo Leste-Centro-Sul da África (ECSA, ou *East/Central/South Africa*), associado às epidemias no Oceano Índico; e o genótipo asiático, implicado em surtos na região do Pacífico. Ainda existe uma linhagem descendente do genótipo ECSA (Linhagem do Oceano Índico ou *Indian Ocean Lineage*), que emergiu no Quênia em 2004 e foi responsável por diversos surtos e epidemias em ilhas do Oceano Índico, na Índia e Ásia nos anos subsequentes (Weaver 2014, Honório et al. 2015) (Figura 1.3).



**Figura 1.3.** Países com relatos atuais ou passados de transmissão autóctone de CHIKV em algum local do território. Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

A infecção por CHIKV produz uma síndrome febril debilitante, caracterizada por uma artralgia em 80% dos pacientes que pode persistir por meses e mesmo anos. O espectro clínico da doença pode variar, e entre pacientes com comorbidades, os idosos e crianças são mais afetados por apresentações severas e podendo ocorrer óbito (Pialoux et al. 2007, Honório et al. 2015). O CHIKV circula em dois ciclos de transmissão; no ciclo silvestre, é transmitido principalmente por mosquitos do gênero *Aedes* entre primatas não humanos na África (Higgs & Vanlandingham 2015). No ciclo urbano, o principal vetor de CHIKV para o ser humano é o *Ae. aegypti*, enquanto o *Ae. albopictus* atua como vetor potencial no Brasil, ainda que em alguns locais do mundo seja o principal vetor (Tsetsarkin et al. 2011, Weaver 2014).

O CHIKV foi descrito pela primeira vez em 1955, a partir de um surto de doença viral ocorrido em 1952, nas proximidades da fronteira de Moçambique com a Tanzânia (Lumsden 1955). Nos anos seguintes, descobriu-se que a distribuição do CHIKV era mais ampla, circulando de maneira enzoótica na África e raramente causando surtos entre humanos (Weaver 2014). A primeira

emergência do CHIKV ocorreu sob a forma de surtos de diversas magnitudes e epidemias registradas no sudeste asiático e na Índia ao longo dos anos 60 e 70, com o estabelecimento da transmissão urbana nessas áreas. O primeiro surto urbano de chikungunya foi registrado em Bangkok, nos anos de 1962 a 1964, com mais de 40.000 casos estimados (Rudnick & Hammon 1962, Nimmannitya et al. 1969, Weaver et al. 2014). Entre os anos de 1963 e 1973, surtos foram relatados na Índia, com a taxa de ataque estimada em cerca de 40% e soroprevalência de até 38% (Weaver et al. 2014).

Após um período de quase 30 anos sem registros de grandes surtos, uma grande epidemia emergiu na costa do Quênia, a partir de onde se expandiu pelos anos seguintes por ilhas do Oceano Índico até atingir a Índia (Staples 2009). Durante esta emergência, nas ilhas La Réunion, descobriu-se uma mutação adaptativa do vírus que favoreceu a participação de *Ae. albopictus* como vetor principal, alertando para a possibilidade de outro vetor participar do ciclo de transmissão urbano (Tsetsarkin et al. 2007, Vazeille et al. 2007). Transmissão autóctone foi detectada na Itália e França, a partir de viajantes infectados que estiveram na Índia e onde o *Ae. albopictus* também atuou como vetor primário (Nasci et al. 2014).

Em outubro de 2013, o genótipo Asiático de CHIKV foi detectado nas Américas nas Ilhas de São Martinho, resultando em milhares de infecções. A partir dos primeiros casos autóctones, a doença se dispersou rapidamente pelo Caribe e América do Sul e Central. No Brasil, a transmissão autóctone foi detectada pela primeira vez em setembro de 2014, na cidade de Oiapoque/AP (Honório et al. 2015). Sete dias depois, detectou-se transmissão autóctone em Feira de Santana/BA (Nunes et al. 2015). Os casos no norte do Brasil foram associados ao genótipo Asiático, e os casos em Feira de Santana foram associados ao genótipo ECSA (Nunes et al. 2015, Teixeira et al. 2015).

Em 2014, foram notificados 3.195 casos autóctones de chikungunya no Brasil. Nos anos seguintes, com o aumento da atividade viral, surtos e epidemias foram reportados, com a notificação de 38.332 casos em 2015, 277.882 casos em 2016 e 185.737 casos em 2017. Nos mesmos anos,

observou-se um aumento importante no número de óbitos por chikungunya, sendo de 14, 216 e 173, respectivamente (SVS 2014, 2015, 2016, 2017, 2018).

### 1.1.3 Vírus Zika (ZIKV)

O ZIKV, da família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus*, foi isolado em 1947 pela primeira vez a partir de macacos sentinelas em Uganda, na floresta Zika (Dick et al. 1952). Os primeiros casos humanos foram registrados alguns anos depois, em 1954, durante um surto de icterícia na Nigéria (McNamara 1954). Fora da África, o ZIKV foi isolado a partir de casos humanos em Java, na Indonésia, em 1977 (Olson et al. 1981). Nas décadas subsequentes, inquéritos sorológicos realizados em diversas localidades do continente africano e asiático revelaram que o ZIKV provavelmente seria endêmico em diversos países dos dois continentes, ainda que apenas surtos esporádicos de transmissão tenham sido relatados no período (Hayes 2009, Grard et al. 2014, Musso & Gubler 2016).

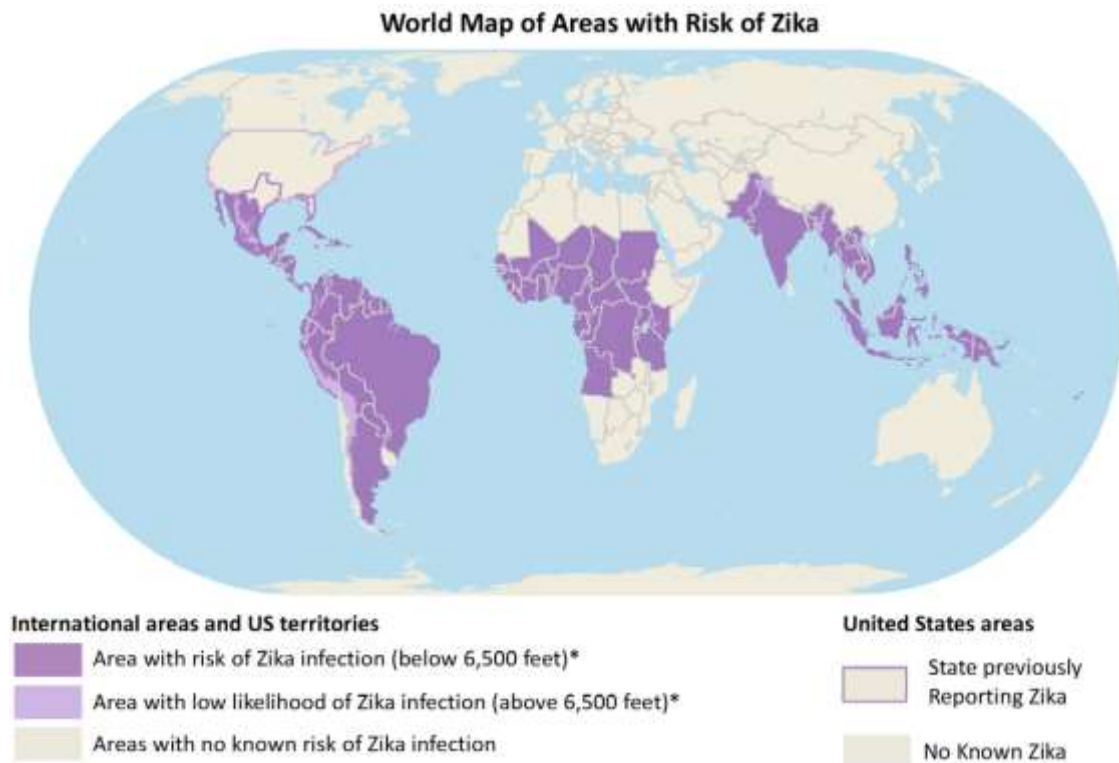
A infecção por ZIKV foi considerada por muito tempo como doença auto-limitada e de desfecho benigno, caracterizada por rash cutâneo, febre de baixa intensidade ou mesmo ausente, e leve artralgia (Duffy et al. 2009, Brasil et al. 2016). O ciclo de transmissão silvestre do ZIKV envolve mosquitos silvestres de diferentes gêneros, como *Aedes*, *Mansonia*, *Culex* e mesmo *Anopheles* e primatas não humanos (Diallo et al. 2014, Musso & Gubler 2016), enquanto o ciclo urbano envolve principalmente *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, ainda existem outras espécies implicadas na transmissão urbana, como *Ae. polynesiensis* (Marks 1951) e *Ae. hensilii* (Farner 1945) (Musso & Gubler 2016).

Em 2007, o vírus foi responsável por um importante surto na região do Pacífico, nas ilhas Yap, Micronésia. Em uma grande investigação epidemiológica realizada durante a epidemia (Duffy et al. 2009), um total de 185 casos humanos foram investigados, sendo 49 confirmados para Zika e 59 classificados como prováveis. Um inquérito sorológico realizado no mesmo estudo identificou que 74% dos pacientes examinados possuíam anticorpos IgM para ZIKV, e que deste total, 38% queixaram-se de sintomas compatíveis



com Zika. No entanto, 19% dos pacientes que não exibiram anticorpos para ZIKV também se queixaram de sintomas compatíveis com Zika. Estimou-se que 5.005 dos 6.892 (72,6%) habitantes acima de 3 anos da região foram infectados por ZIKV durante a epidemia, cujo mais provável vetor foi identificado como sendo *Ae. hensilli* (Duffy et al. 2009).

Entre 2013 e 2014, um importante surto de ZIKV atingiu a Polinésia Francesa, onde foram estimados 30.000 casos (cerca de 11,5% da população total) (Musso et al. 2014). Um inquérito sorológico realizado após o surto de ZIKV e com grupos de todas as faixas etárias sugeriu uma taxa de infecção variando entre 50% e 60% (Aubry et al. 2015, Musso & Gubler 2016). Neste surto se registrou pela primeira vez a associação entre a infecção por ZIKV e a ocorrência da síndrome de Guillain-Barré (Musso et al. 2014) e o isolamento do vírus do sêmen de um homem adulto, evidenciando a possibilidade de transmissão sexual (Musso et al. 2015). O ZIKV se disseminou rapidamente para diversas outras ilhas do Pacífico, atingindo Nova Caledônia em janeiro de 2014, Ilhas Cook em março de 2014 e Ilhas de Páscoa, continuando ao longo de 2015 por outras ilhas do Oceano Pacífico (Roth et al. 2014, Dupont-Rouzeyrol et al. 2015, Musso et al. 2016). Ao longo dos anos seguintes, o ZIKV foi introduzido em diversos outros países, inclusive nas Américas, onde tornou-se endêmico em diversas localidades (Figura 1.4).



**Figura 1.4.** Distribuição mundial das áreas com risco de transmissão de Zika.

Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

No Brasil, casos de doenças exantemáticas compatíveis com infecção por ZIKV foram reportados no final de 2014, e o primeiro caso de transmissão autóctone identificado foi publicado em junho de 2015, a partir de casos de doença similares a dengue provenientes de Natal, Rio Grande do Norte (Zanluca et al. 2015). O vírus se dispersou rapidamente pelo país, com confirmação de casos ocorrendo em múltiplos estados brasileiros nos meses seguintes, e ao final do ano de 2015, 19 Unidades Federativas confirmaram laboratorialmente casos autóctones (Campos et al. 2015, Cardoso et al. 2015, Zanluca et al. 2015, SVS 2016, Vasconcelos 2016). Estudos filogenéticos realizados a partir de amostras de pacientes humanos (Faria et al. 2016) e a partir de mosquitos infectados coletados no campo (Ayllón et al. 2017) sugerem que a introdução do ZIKV no Brasil possivelmente ocorreu entre março e dezembro de 2013.

Em setembro de 2015, identificou-se um aumento no número de recém-nascidos com microcefalia no nordeste brasileiro e sua potencial associação com infecção por ZIKV. Diante deste cenário, a Organização Mundial de Saúde declarou a doença como uma emergência em saúde pública (Oliveira et al. 2016, Schuler-Faccini et al. 2016). Eventualmente, evidências apontaram para a relação entre a infecção por ZIKV em mulheres grávidas e a ocorrência de um amplo espectro de alterações congênitas e má formações no feto, determinada como síndrome congênita do Zika (Brasil et al. 2016, Mlakar et al. 2016). Essas observações foram corroboradas por estudos retrospectivos que reportaram um aumento no número de casos de microcefalia coincidindo com o surto de Zika na Polinésia Francesa em 2013-2014 (Cauchemez et al. 2016).

Em 2016, a notificação de casos suspeitos de Zika se tornou compulsória, culminando em 216.207 notificações de casos naquele ano. Em 2017, foram notificados 17.452 casos suspeitos. Entre as semanas epidemiológicas 45/2015 e 52/2017 (08/11/2015 a 31/12/2017), foram notificados 15.298 casos suspeitos de alterações possivelmente relacionadas à infecção por ZIKV (SVS 2018). Deste total, 3.071 foram confirmados e 339 classificados como prováveis para a relação entre infecção durante a gestação (SVS 2018).

#### **1.1.4 Vírus da Febre Amarela (YFV)**

O YFV pertence à família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus*, e diversas evidências históricas e filogenéticas indicam sua introdução no Novo Mundo durante o período de tráfico de escravizados a partir do século XVII (Gubler 2004, Monath & Vasconcelos 2015). O primeiro relato de surto associável à febre amarela que se tem notícia nas Américas data de 1648 e foi registrado em Yucatan, México (Carter 1931), ainda que um surto ocorrido no Haiti e compatível com febre amarela tenha sido descrito em 1495 (Barret & Higgs 2007). Ao longo dos séculos seguintes, o vírus instalou-se nas Américas causando graves epidemias de transmissão urbana, tornando-se um dos mais importantes agravos transmitidos aos humanos e sendo uma das principais

alavancas para o desenvolvimento da entomologia médica (Monath & Vasconcelos 2015).

As epidemias amplamente distribuídas de febre amarela pelas Américas causaram milhares de mortes ao longo dos séculos (Barret & Higgs 2007). O primeiro registro de epidemia no Brasil ocorreu no ano de 1685, em Recife, propagando-se para a Bahia no ano seguinte e a doença, eventualmente, passou apenas a ser registrada em casos esporádicos e surtos localizados (Franco 1969). Em 1849, uma grave epidemia se iniciou na Bahia, a partir de onde se espalhou pelo país inteiro até atingir o Rio de Janeiro em 1850, onde mais de 4.000 pessoas foram a óbito (Prata 2000).

A febre amarela começou a ser melhor compreendida por meio dos esforços do médico cubano Carlos Finlay que, em 1880-81, propôs que a doença era transmitida por mosquitos, uma vez que conseguiu estabelecer relação entre a ocorrência de casos de febre amarela e a distribuição de mosquitos em Cuba. Após elencar dois mosquitos como prováveis transmissores, *Culex quinquefasciatus* e *Culex fasciatus*, este mais conhecido como *Ae. aegypti*, o médico demonstrou em um experimento que cobaias humanas desenvolveram a doença após serem picados por *Cx. fasciatus* alimentados com sangue de enfermos de febre amarela. As autoridades sanitárias na época, pesquisadores ou governantes, no entanto, só deram atenção às declarações de Finlay após a equipe de Walter Reed demonstrar experimentalmente a transmissão do vírus amarílico pelo *Cx. fasciatus* em 1900 (Franco 1969, Prata 2000). O posterior desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o vírus amarílico se provou como um importante fator para a redução e erradicação da transmissão urbana da doença nas Américas (Benchimol 2001).

A infecção por YFV é dividida classicamente em três estágios clínicos: 1) febre inespecífica e sintomas similares a gripe, 2) remissão temporária dos sintomas e, 3) um período de intoxicação que se desenvolve a partir de 3-6 dias após o início dos sintomas e que afeta cerca de 15% dos casos. Nesse último estágio, caracterizado como uma síndrome hemorrágica, há a ocorrência de sepse, disfunção hepática com icterícia, disfunção renal, miocardite e

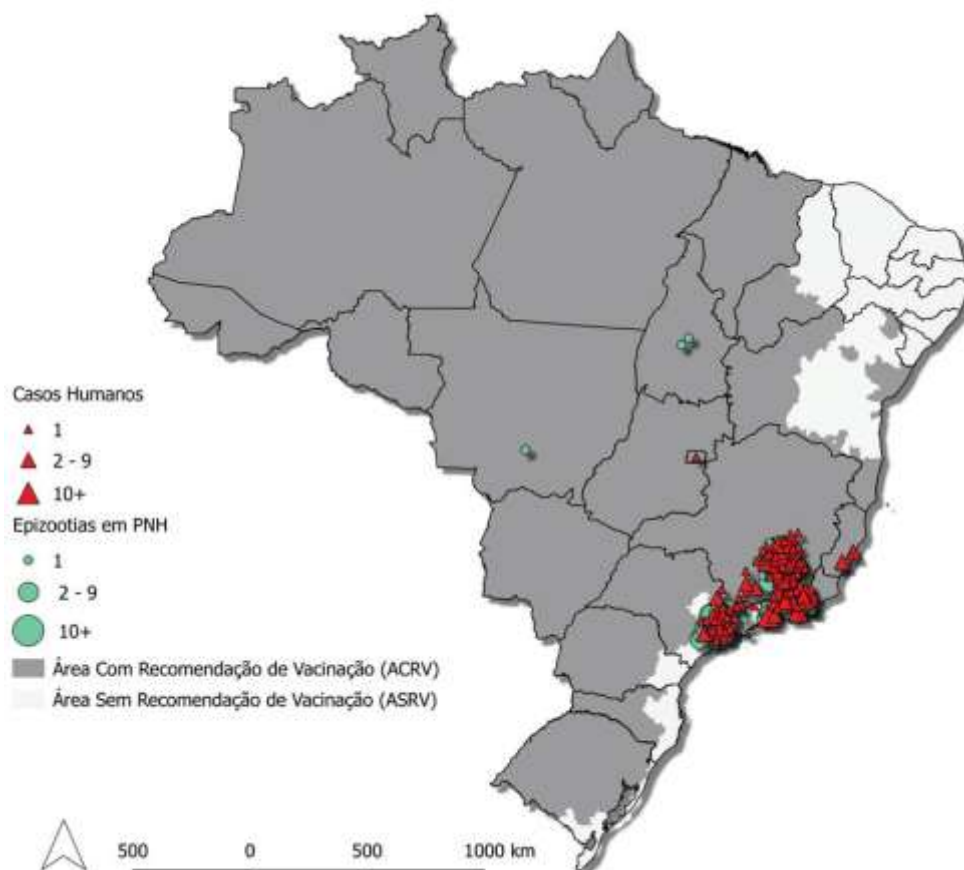
hemorragias (Monath & Vasconcelos 2015, Weaver et al. 2018). O YFV circula, principalmente, em dois ciclos de transmissão: um urbano, no qual o *Ae. aegypti* é o principal vetor do vírus entre humanos, e outro silvestre, com participação de diferentes espécies de *Aedes* (na África), *Haemagogus* e *Sabethes* (na América Neotropical) que transmitem o vírus entre primatas não-humanos e o ser humano é infectado acidentalmente (Monath & Vasconcelos 2015). A transmissão urbana foi oficialmente encerrada no Brasil, onde a última grande epidemia ocorreu em 1928-1929, no Rio de Janeiro, e os últimos casos registrados foram em 1942 no município de Sena Madureira, no Acre (Gubler 2004).

Até a década de 1930, considerava-se apenas o *Ae. aegypti* como vetor do YFV. No entanto, a primeira descrição de transmissão silvestre ocorreu por conta de um surto ocorrido em 1932 no Vale do Canaã, em São Paulo, onde não havia presença de *Ae. aegypti*. Subsequentemente, outros focos de transmissão sem a presença deste vetor começaram a ser registrados pelo país (Soper et al. 1932, Vasconcelos 2003). Em 1938, o YFV foi isolado de *Haemagogus leucocelaenus*, *Hg. capricornii* e uma espécie não identificada de sabetíneo (Shannon et al. 1938), e subsequentemente, determinou-se a importância dos mosquitos *Hg. leucocelaenus*, *Hg. capricornii* e *Sabethes chloropterus* como os mais importantes vetores silvestres na região Neotropical (Barret & Monath 2003).

Epizootias de febre amarela no Brasil são registradas desde os anos 1940, quando uma significativa mudança na ocorrência destas levou o vírus a se deslocar do Centro-Oeste para a costa do país, enquanto episódios nas áreas endêmicas, como a Amazônia, seguem um ciclo de cinco a sete anos (Vasconcelos 2003, 2010). A partir do final da década de 1990 e ao longo dos anos 2000, o Brasil tem vivenciado a reemergência do YFV fora da região amazônica, o que tem levado à expansão da área de cobertura vacinal (Cavalcante & Tauil 2016). Tal preocupação se deve ao fato de epizootias terem ocorrido próximas a áreas infestadas pelo *Ae. aegypti* e que não registravam transmissão do YFV há décadas, como Bahia (2000), São Paulo (2000), Minas Gerais (2001) e Rio Grande do Sul (2001) (Tauil 2010, Saad &

Barata 2016, Cavalcante & Tauil 2017). Com efeito, a emergência da febre amarela produziu, entre os anos de 2000 e 2012, um total de 326 casos confirmados de transmissão silvestres dos quais 156 vieram a óbito, indicando uma taxa de letalidade de 47,8%. No espaço de tempo compreendido entre estes anos, 15 estados brasileiros registraram casos, com Minas Gerais, Goiás e São Paulo liderando a lista com maior número de casos. Os estados com maior letalidade foram Rondônia, Roraima e o Distrito Federal (Cavalcante & Tauil 2016).

A partir de dezembro de 2016, o Brasil tem enfrentado um grande surto de febre amarela, com diversos estados notificando casos. Até março de 2018, foram notificados 3.234 casos suspeitos, dos quais 846 foram confirmados para infecção por YFV e 260 evoluíram para óbito. A região mais afetada foi a sudeste, onde Minas Gerais foi o estado mais afetado (384 casos e 115 óbitos), seguido por São Paulo (349 casos e 100 óbitos), Rio de Janeiro (106 casos e 44 óbitos) (SVS 2018) (Figura 1.5).



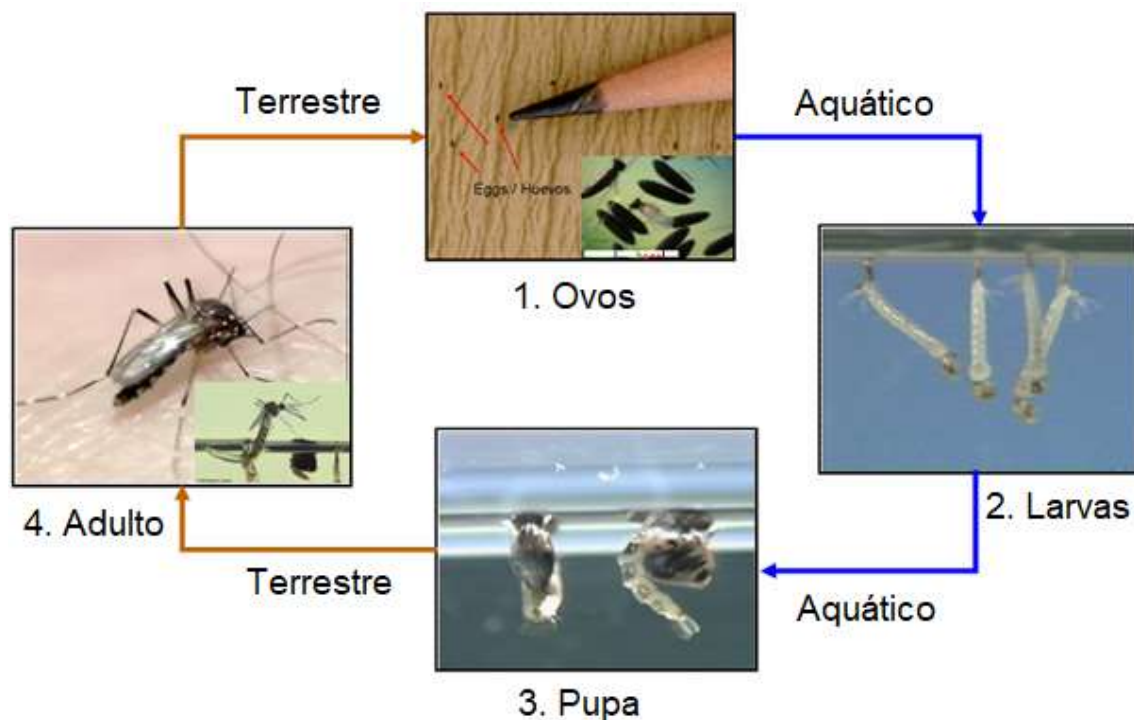
**Figura 1.5.** Distribuição por município do local provável de infecção dos casos humanos e epizootias em primatas não-humanos confirmados para febre amarela silvestre, no período de junho de 2017 até a semana epidemiológica 09 de 2018. Fonte: <http://portalms.saude.gov.br>

Discute-se o risco de reurbanização da febre amarela no Brasil, uma vez que os grandes e médios centros urbanos exibem alta infestação do *Ae. aegypti* ao longo do ano (Romano et al. 2011). Com efeito, o aumento súbito na ocorrência de casos de febre amarela silvestre aliado a alta infestação do vetor urbano, indica o risco de reurbanização da doença, uma vez que se verifica baixa cobertura vacinal em algumas das áreas mais afetadas pelo atual surto no país (Cavalcante & Tauil 2017).

O aumento da área de recomendação para vacinação contra febre amarela ainda é um assunto controverso, uma vez que é conhecida a ocorrência de efeitos adversos advindos da própria vacina (Vasconcelos et al. 2001). No surto de febre amarela ocorrido em 2008-2009, detectou-se seis mortes e 45 casos de doença aguda neurotrópica advinda da vacinação em massa nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (Romano et al. 2014). Aliados a isso, outros fatores que também se colocam como contrários a campanhas de vacinação em massa são a escassez de doses de vacina para a população das regiões metropolitanas do país e a existência de diferentes grupos populacionais com contraindicação para a vacinação. No entanto, uma medida discutida para a eventual imunização da população brasileira é a inclusão da vacina no calendário infantil, uma vez que este grupo populacional é considerado de fácil acesso e não há registros de eventos adversos graves (Cavalcante & Tauil 2017). A vacinação, aliada a uma vigilância ativa e sensível para casos humanos e epizootias, se colocam como importantes estratégias para evitar a reurbanização da febre amarela no país (Romano et al. 2014, Cavalcante & Tauil 2017).

## 1.2 Aspectos da biologia e ecologia de mosquitos vetores e sua participação na transmissão de arbovírus

Os mosquitos são insetos holometábolos, compreendendo as fases de ovo, quatro estádios larvais, pupa e adultos. As principais fontes alimentares durante a fase larval são matéria orgânica dissolvida ou sedimentada, microrganismos como bactérias e algas, além de detritos de origem animal ou vegetal. O desenvolvimento e muda nos quatro estádios larvais estão condicionados a diversos fatores, como disponibilidade de alimento, temperatura, incidência solar, volume de água do criadouro, dentre outros. Esses fatores impactam o tempo de desenvolvimento do mosquito, podendo acelerar essa transição sem prejuízos para sua vida adulta (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002) (Figura 1.6).



**Figura 1.6.** Representação do ciclo de vida do *Ae. aegypti*, compreendendo os estágios de vida de ovo, larva, pupa e forma adulta. Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)



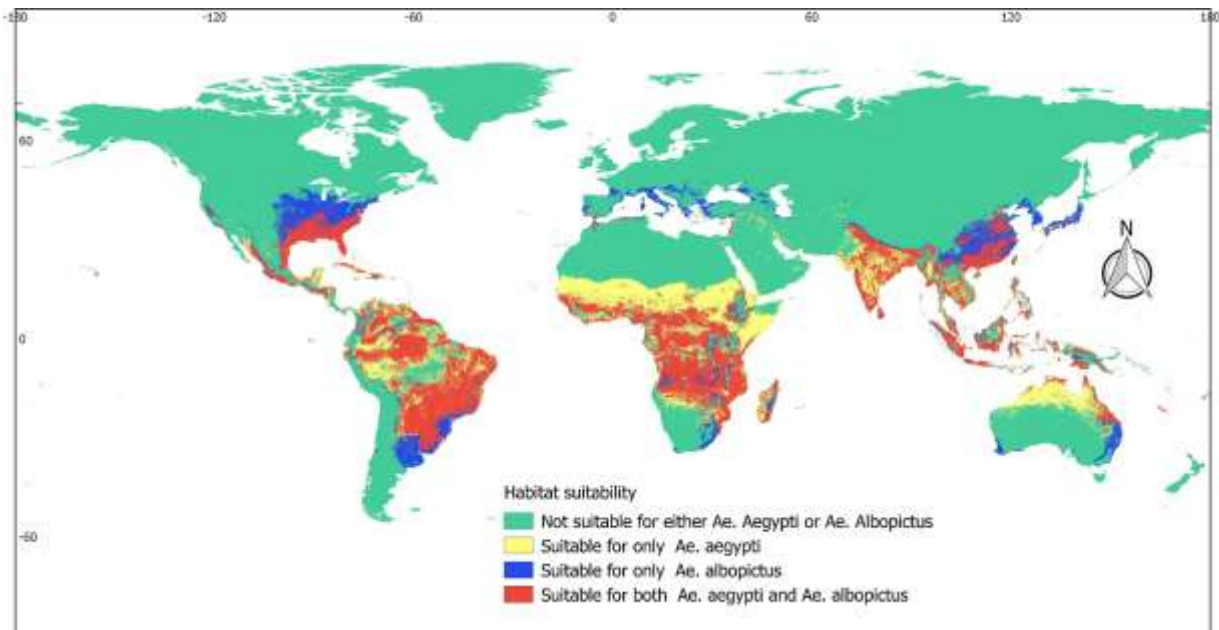
Na mudança do estágio L4 para o estágio de pupa, o indivíduo sofre metamorfose, mudando de aparência e comportamento. Diferentemente dos estádios de larva, a pupa não se alimenta, apesar de ser bastante ativa quando perturbada. É em seu interior que ocorre a metamorfose da L4 para o adulto. Geralmente, a duração do estágio de pupa é mais curto que o larval. Quando pronto, o adulto emerge da pupa e permanece em repouso nas proximidades do criadouro, esperando que o corpo fique suficientemente seco e que as asas sejam estendidas completamente e preenchidas com hemolinfa. Os machos precisam aguardar que suas genitálias estejam corretamente posicionadas (sofrendo uma rotação de 180°, para que possam copular com sucesso) (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002).

Machos e fêmeas, durante a fase adulta, voltam a ter a necessidade de se alimentar. Machos o fazem exclusivamente de alimentos ricos em açúcares e carboidratos, como seiva de plantas, polpa de frutos caídos ou em decomposição recente, como também de excretas metabólicas de afídeos, para garantir suas reservas energéticas para a fase adulta da vida. Em muitos casos, fêmeas também necessitam dessa alimentação, além de serem, nesse estágio, capazes de realizar hematofagia, necessária para realizar maturação de seus ovários após a cópula bem sucedida com um macho. Diante dessas características, as fêmeas são as responsáveis pela transmissão de arbovírus, como o DENV, CHIKV, ZIKV, YFV, dentre outros. Após a cópula, as fêmeas permanecem férteis por toda sua vida. Ao realizarem a alimentação sanguínea, estão aptas a realizar a oviposição dentro de três dias em média, caracterizando o que se chama de um ciclo gonotrófico (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002).

A escolha do local para oviposição varia entre espécies e gêneros de mosquitos, no entanto, observa-se que os ovos de algumas espécies são resistentes à dessecação, como no caso de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Após a postura do ovo, é necessário que este complete um período de desenvolvimento embrionário para que seja um ovo viável (Christophers 1960). Enquanto alguns gêneros e espécies de mosquitos necessitem que o ovo esteja em constante contato com a água, outras não têm a mesma

necessidade. Os ovos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* podem tolerar meses em quiescência, aguardando o contato com água para que o embrião desperte sua fisiologia e inicie o processo de eclosão (Forattini 2002). Essa característica resistência à dessecação tem grande importância epidemiológica, permitindo que ovos sejam disseminados passivamente em criadouros artificiais produzidos pelo ser humano (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

Apesar de sua distribuição global, parte significativa dos mosquitos e dos arbovírus por estes transmitidos se encontra na zona tropical, onde condições climáticas permitem a manutenção da transmissão ao longo do ano inteiro (Gubler 1996, Leta et al. 2018). Diferentes parâmetros ambientais, ecológicos e climáticos podem definir e limitar a distribuição geográfica de um arbovírus, como a temperatura, padrões de chuvas e umidade, regulando as populações de artrópodes vetores e também de hospedeiros vertebrados (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Gubler 2002, Reisen 2010). O comportamento, além de fatores de ordem genética do mosquito vetor, influencia a capacidade de transmissão de um arbovírus. A coevolução de uma espécie de mosquito vetor e seus respectivos hospedeiros leva a especialização do primeiro em adquirir recursos alimentares à custa do último, levando ao surgimento de diferentes estratégias para essa obtenção (Lyimo & Ferguson 2009) (Figura 1.7).



**Figura 1.7.** Distribuição potencial de habitats de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em escala mundial. Retirado de Leta e colaboradores (2018).

O *Ae. aegypti* é um dos mais comuns mosquitos em associação com o ser humano, vivendo boa parte de sua vida no domicílio e peridomicílio. Tanto a hematofagia como a digestão sanguínea são realizadas no interior da habitação humana. Com isso nota-se que essa associação aumenta as chances de que o *Ae. aegypti* encontre sua fonte sanguínea preferencial, o ser humano (Lourenço-de-Oliveira 2005). Por outro lado, a maior parte das espécies de mosquitos realiza a hematofagia e digestão sanguínea em ambiente peridomiciliar e extra-domiciliar. O *Ae. albopictus*, vetor secundário dos arbovírus citados em diversas regiões do mundo e no Brasil, assim como mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, vetores neotropicais do YFV, enquadram-se nestas características por habitarem o ambiente florestado e/ou silvestre (Forattini 2002).

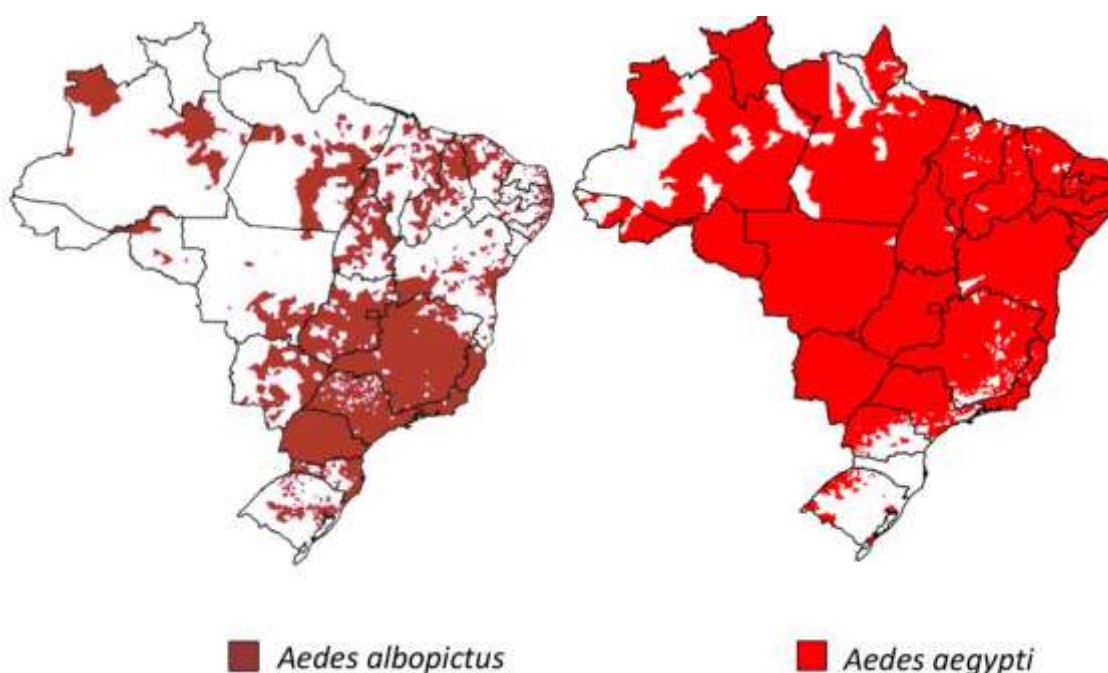
O desmatamento de florestas e o subsequente aumento da população humana acarreta mudanças nas condições ecológicas e ambientais de uma região. Do ponto de vista da saúde pública, esses processos possuem grande importância, uma vez que tais alterações podem acarretar na emergência ou reemergência de arboviroses (Morens 2004, Reisen 2010, Lima-Camara 2016).

Alterações no ambiente silvestre, como a derrubada de florestas para construção de empreendimentos humanos, exercem pressão seletiva sobre as populações de mosquitos residentes daquele local. Conseqüentemente, estas populações responderão diferentemente a tais estímulos, e espécies com potencial sinantrópico podem vir a proliferar no novo ambiente impactado, uma vez que houve a diminuição na competição por habitats e recursos. Com isso, possibilita-se um maior contato entre o ser humano e espécies envolvidas na transmissão de arbovírus em ciclos enzoóticos, podendo levar ao estabelecimento de ciclos de transmissão com potencial epidêmico (Gubler 2002). Um exemplo é o encontro cada vez mais comum de *Ae. scapularis* (Rondani, 1948) em proximidade com o ser humano, uma espécie essencialmente rural e silvestre, assinalada há algumas décadas em nosso país (Forattini et al. 1995). Na região do Vale do Ribeira, registrou-se um surto de encefalite causada pelo vírus Rocio (ROCV) entre os anos de 1973 e 1980, com a notificação de cerca de 1.000 casos e uma letalidade de cerca de 10% (Figueiredo 2007). Anos mais tarde, verificou-se experimentalmente a transmissão do ROCV por *Ae. scapularis*, uma das espécies mais abundantes na região do surto (Mitchell & Forattini 1984). Nunca se encontrou algum vetor infectado naturalmente com ROCV, mas discute-se a possível participação do *Ae. scapularis* na transmissão desse arbovírus na região (Forattini 2002).

A detecção de casos humanos de febre amarela em áreas de Mata Atlântica próximas a povoados e cidades humanas aponta para a possibilidade da reintrodução do ciclo de transmissão urbano (Vasconcelos 2010, Cavalcante & Tauil 2017). A proximidade destas áreas com aglomerados de habitações humanas pode ser particularmente problemática, uma vez que o *Ae. aegypti* se encontra amplamente disperso pelo país. Diferentes populações deste mosquito demonstraram competência vetorial para a transmissão de YFV (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004, Couto-Lima et al. 2017). Outro mosquito com evidenciada competência vetorial para transmitir de YFV é o *Ae. albopictus* (Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Couto-Lima et al. 2017), também amplamente distribuído pelo país (Carvalho et al. 2014, Pancetti et al. 2015). O *Ae. albopictus* demonstra ser um generalista com valência ecológica superior ao *Ae. aegypti*, sendo capaz de transitar com facilidade entre ambientes

silvestres e urbanizados, o que o torna capaz de atuar como ponte entre ciclos enzoóticos e o ambiente urbano, podendo causar *spillover* de patógenos restritos a essas áreas (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004b, Maciel-de-Freitas et al. 2006). A recente introdução dos CHIKV e ZIKV no Brasil se coloca como um grande desafio, dado a ampla distribuição *Ae. albopictus* (Carvalho et al. 2014, Pancetti et al 2015), sua comprovada competência vetorial para estes vírus (Vega-Rua et al. 2014, Chouin-Carneiro et al. 2016), e pelo recente achado de ovos desta espécie infectados por CHIKV (Smartt et al. 2017).

*Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* pertencem ao subgênero *Stegomyia*, e são, respectivamente, originários das regiões zoogeográficas Etiópica e Oriental. O desenvolvimento e a expansão do comércio marítimo, aéreo e terrestre modificaram a distribuição original de ambas as espécies, que, atualmente, invadiram diversos países e, encontram-se amplamente distribuídas fora de suas regiões zoogeográficas originais (Lounibos 2002). No Brasil, ambas as espécies estão presentes em grande parte do território nacional, especialmente *Ae. aegypti* (Figura 1.8, no entanto, *Ae. albopictus* já foi encontrado no estado de Roraima em 2008, de acordo com a publicação de Aguiar e colaboradores).



**Figura 1.8.** Distribuição geográfica de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* no território brasileiro. Adaptado de Couto-Lima e colaboradores (2017).

Originalmente mosquitos de comportamento rural e silvestre, a alta disponibilidade de criadouros e condições favoráveis tornou esses mosquitos altamente associados ao homem (Powell & Tabachnick 2013). De fato, o transporte passivo de ovos resistentes à dessecação, facilitado pelo transporte humano e de mercadorias, favoreceram a expansão e consequente invasão em escala mundial dessas espécies (Benedict et al. 2007, Brown et al. 2013). Desta forma, além das semelhanças biológicas, as invasões biológicas sucessivas destes mosquitos os tornaram ocupantes dos mesmos nichos e simpátricas em muitos locais (O'Meara et al. 1995, Lounibos 2002).

*Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* possuem hábitos predominantemente diurnos, com a atividade hematofágica aumentando próxima e durante os crepúsculos matutino e vespertino (Gomes et al. 2005). O *Ae. aegypti* é considerado o mosquito mais comumente encontrado no domicílio, dividindo o local com o *Cx. quinquefasciatus* (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). O elevado grau de antropofilia, endofilia e adaptação ao convívio com o homem exibidos pelo *Ae. aegypti* também o torna capaz de interromper o repasto sanguíneo ao ser perturbado, retomando a hematofagia quando o perigo cessa ou procurando novo hospedeiro (Christophers 1960). Devido a esse comportamento arisco, verifica-se que considerável proporção de fêmeas capturadas em campo exhibe múltiplos repastos sanguíneos a cada ciclo gonotrófico (Scott et al. 1993, Xue et al. 1995, Barata et al. 2001). Do ponto de vista epidemiológico, esse hábito e aspecto biológico podem ter implicações importantes, pois ao aumentar o contato hospedeiro-vetor, aumenta-se a chance da fêmea se infectar e transmitir um arbovírus posteriormente (Halstead 2008).

### 1.2.1 *Aedes aegypti*

Originalmente proveniente da África, o *Ae. aegypti* encontra-se amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais, entre os paralelos de latitude norte 45° e latitude sul 40° (Forattini 2002). Apesar da ampla dispersão nessas regiões, esse mosquito apresenta distribuição descontinuada ou pontilhada, uma vez que sua dispersão foi realizada de forma passiva pelo homem (Brown et al. 2014). A teoria mais aceita aponta que o *Ae. aegypti* foi introduzido no Novo Mundo durante o período das grandes navegações, viajando a bordo de navios colonizadores (Powell & Tabachnick 2013). No Brasil, considera-se que sua primeira introdução ocorreu durante o período colonial, provavelmente por meio de navios de escravos (Lounibos 2002).

Devido a sua importância como vetor do ciclo urbano do YFV, o *Ae. aegypti* foi amplamente combatido durante a primeira metade do século XX nas Américas, até ser erradicado do Brasil em 1955 (Dick et al. 2012). No entanto, sucessivas reintroduções ao longo das décadas seguintes resultaram na ampla dispersão deste mosquito (Gubler 1997, Kotsakiozi et al. 2017), ao ponto que hoje encontra-se presente em todos os estados da Federação. No Brasil, o *Ae. aegypti* se apresenta em elevada densidade populacional em áreas urbanas e suburbanas, justamente onde se encontram elevada densidade humana, aglomeração de domicílios e baixa cobertura vegetal (Braks et al. 2003, Honório et al. 2009). Com efeito, o *Ae. aegypti* tende a se concentrar no interior e proximidade das habitações humanas, e muito eventualmente em áreas de transição entre o urbano e bosques (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004a, Lima-Camara et al. 2006), apresentando baixa ou nenhuma tendência em se dispersar através de florestas urbanas (Maciel-de-Freitas et al. 2006), características que relacionam esta espécie com a urbanização do ambiente onde se encontra (Christophers 1960).

A capacidade do *Ae. aegypti* em se reproduzir no ambiente doméstico e peridoméstico, utilizando uma grande miríade de criadouros artificiais comumente encontrados em lixo das grandes cidades, mostra o grau de adaptação dessa espécie ao convívio com o ser humano (Tauil 2001). Sua proliferação ocorre, preferencialmente, em água armazenada pobre de matéria

orgânica em decomposição e com baixa salinidade, com presença de desovas coespecíficas, em recipientes protegidos da incidência solar direta, de interior escuro e sombrio (Corbet & Chadee 1993, Scott et al. 2000, Harrington et al. 2008, Wong et al. 2011). Além de sua habilidade em explorar os pequenos criadouros encontrados no lixo humano, criadouros de grande porte, como reservatórios de água, são responsáveis por manter a densidade de *Ae. aegypti* em níveis altos ao longo do ano, independente da estação (Souza-Santos 1999, Pinheiro & Tadei 2002).

As fêmeas de *Ae. aegypti* distribuem seus ovos em diversos criadouros, evitando esgotar toda a sua desova em um único (Christophers 1960). Essa estratégia, conhecida como *skip oviposition* ou oviposição em saltos, aumenta a probabilidade de que alguns ovos eclodam e possam resultar em novos adultos, além de ter relação com a capacidade de dispersão de fêmeas (Colton et al. 2003, Reiter 2007). A realização de voos exploratórios se relaciona com a procura por locais de desova, a qual, indiretamente, afeta a dispersão de fêmeas e frequência de sua hematofagia (Reiter et al. 1995, Honório et al. 2003).

### **1.2.2 *Aedes albopictus***

O *Ae. albopictus*, também conhecido como tigre asiático, tornou-se alvo da atenção da comunidade científica ao longo das últimas décadas. A introdução de *Ae. albopictus* nos EUA em 1985 (Sprenger & Wuithiranyagool 1986) e no Brasil em 1986 (Forattini 1986) despertou interesse de pesquisadores e profissionais de saúde pública, principalmente por sua importante valência ecológica e competência vetorial para DENV no sudeste asiático, além de sua capacidade de competir com e deslocar espécies nativas de mosquitos (Hawley 1988, O'Meara et al. 1995, Juliano 1998, Braks et al. 2004, Juliano et al. 2004).

A introdução do *Ae. albopictus* no Novo Mundo ocorreu provavelmente através de navios carregados de pneus oriundos do Japão, nos quais ovos resistentes à dessecação aguardavam condições ideais para eclodir (Birungi &



Munstermann 2002). Neste processo de dispersão mundial, similar ao *Ae. aegypti* séculos antes, *Ae. albopictus* conseguiu se estabelecer em regiões biogeográficas novas através de sucessivas introduções (Kotsakiozi et al. 2017). O *Ae. albopictus* tolera temperaturas menores que *Ae. aegypti*, característica que lhe permitiu se estabelecer em países de clima temperado e frio (Enserink 2008). No Brasil, após a detecção inicial em Seropédica e Minas Gerais, *Ae. albopictus* se dispersou lentamente pelo país, sendo encontrado nos estados vizinhos pouco tempo depois, como Espírito Santo e São Paulo (Gomes & Marques 1988, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Em 2002, *Ae. albopictus* já estava presente em 20 estados brasileiros (Santos 2003). Em 2008, apenas 5 das 27 unidades da federação não haviam reportado a presença deste mosquito (Martins et al. 2006, Aguiar et al. 2008). Já em 2014, a distribuição de *Ae. albopictus* no país se estendeu para 24 dos 27 estados da Federação (Pancetti et al. 2015).

O *Ae. albopictus* demonstra capacidade de se dispersar por ambientes silvestres e rurais, com preferência por locais com maior cobertura vegetal e menor concentração humana (Hawley 1988, Braks et al. 2003, Lima-Camara et al. 2006). A facilidade que essa espécie tem para frequentar áreas de transição urbana-silvestre desperta preocupação para as autoridades de saúde pública. Florestas urbanas, por exemplo, podem servir como refúgio para o *Ae. albopictus* (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004a) e, somado a sua capacidade de transitar com facilidade entre as galerias de florestas e locais urbanizados nas suas cercanias (Maciel-de-Freitas et al. 2006), reforça a necessidade de uma vigilância atenta para esta espécie. A isso, soma-se o fato de ser considerado vetor de DENV (Xu et al. 2007), CHIKV (Leroy et al. 2009) e ZIKV (Grard et al. 2014) em outros locais, especialmente onde não há presença de *Ae. aegypti*.

Apesar de ser considerado apenas vetor potencial em alguns países, como o Brasil (Fares et al. 2015), *Ae. albopictus* já foi encontrado participando ativamente da transmissão do DENV no México (Ibanez-Bernal et al. 1997). Em Minas Gerais, já foram encontradas larvas infectadas na natureza, sugerindo a transmissão vertical do DENV no país (Serufo et al. 1993). A detecção de partículas virais de ZIKV em ovos desta espécie coletados em campo na

cidade de Camaçari/BA atenta para o potencial desta espécie como transmissora secundária deste arbovírus no país (Smartt et al. 2017). Com efeito, a competência vetorial de populações brasileiras de *Ae. albopictus* para o DENV foi demonstrada sob condições experimentais (Mitchell & Miller 1990, Castro et al. 2004), além de CHIKV (Vega-Rúa et al. 2014), ZIKV (Chouin-Carneiro et al. 2016) e YFV (Lourenço-de-Oliveira et al. 2003). O *Ae. albopictus* é um vetor competente para pelo menos 22 outros arbovírus, como vírus da Encefalite Equina do Leste (EEV), LaCrosse (LACV), WNV, dentre outros (Gratz 2004).

Esta espécie é protagonista de algumas das mais bem-sucedidas invasões ecológicas registradas (Lounibos 2002) e, considerando sua competência vetorial para os principais arbovírus circulantes no país (Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Gratz 2004, Vega-Rúa et al. 2014, Chouin-Carneiro et al. 2016), é de grande relevância a realização de uma vigilância ativa sobre o *Ae. albopictus*, além da já realizada para o *Ae. aegypti*.

### **1.3 Determinantes da emergência dos principais arbovírus**

Para que ocorra a transmissão biológica de um arbovírus, o artrópode vetor precisa ingerir partículas virais durante o repasto sanguíneo em hospedeiro vertebrado em período virêmico. Após um período de incubação variável, chamado de período de incubação extrínseco, o vetor se torna capaz de transmitir o arbovírus para um hospedeiro suscetível (Clements 2012). Durante o período de incubação extrínseco, as partículas virais ingeridas precisam chegar ao intestino médio do vetor e invadir as células do epitélio, para iniciar a replicação viral. As novas partículas virais, então, são liberadas na hemocele do artrópode vetore são carreadas pela hemolinfa, para aderirem diversos tecidos, órgãos e sistemas do inseto (Clements 2012).

Diz-se que eficiência de disseminação de um arbovírus ocorre quando este consegue ser detectado em partes ou sessões do corpo do vetor (como pernas, asas, cabeça). A eficiência de transmissão ocorre quando o vírus é encontrado na saliva do vetor (Clements 2012, Vega-Rúa et al. 2014). Outras

formas de transmissão também são responsáveis pela manutenção dos arbovírus na natureza, ainda que menor importância: transmissão vertical (por via transovariana ou transovo) e horizontal (via sêmen infectado do macho, ou de fêmea para macho) (Clements 2002). Na transmissão vertical, durante o período de incubação extrínseca, o arbovírus multiplica-se e invade diversos tecidos do inseto fêmea, podendo atingir seus ovários e, conseqüentemente, infectar os ovos. Uma das modalidades deste tipo de transmissão é a transovariana, a qual ocorre quando os oócitos dentro do ovário da fêmea são infectados por partículas virais, a partir da qual parte da prole já nascerá infectada (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Clements 2002).

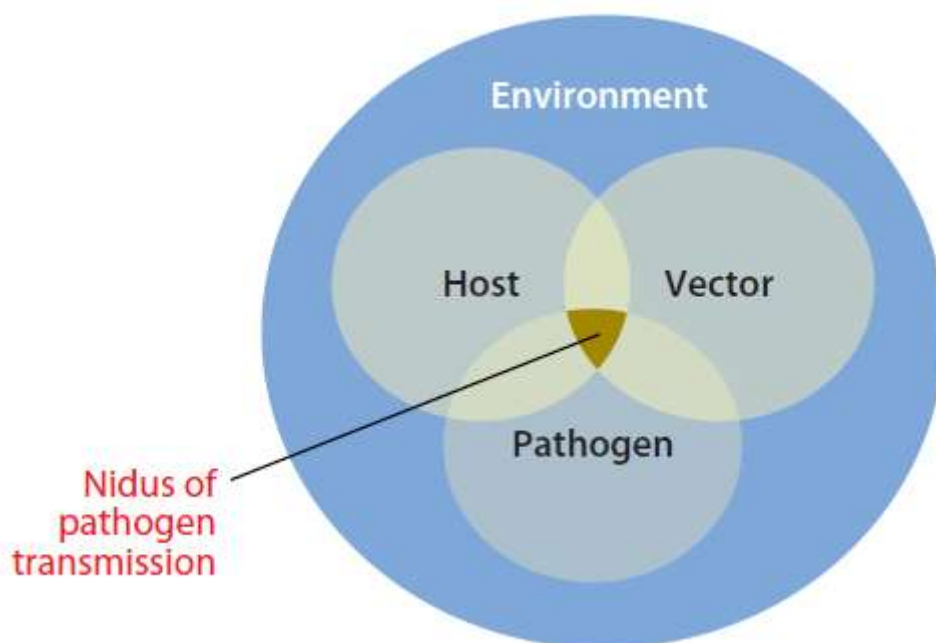
No caso dos DENV, por exemplo, parece haver certa heterogeneidade na taxa de transmissão transovariana de acordo com o sorotipo de DENV utilizado e da espécie testada. Estudo prévio demonstrou que a transmissão transovariana apenas de DENV-1 em fêmeas de *Ae. aegypti* infectadas com os quatro sorotipos, enquanto detectou-se a transmissão de todos os sorotipos em fêmeas infectadas de *Ae. albopictus*, observando-se que o sorotipo DENV-1 teve a maior taxa de transmissão transovariana e DENV-3 a menor (Rosen et al. 1983). De maneira análoga, experimentos laboratoriais demonstraram uma maior suscetibilidade de *Ae. albopictus* para o CHIKV e maior capacidade para transmiti-lo a sua prole em comparação com o *Ae. aegypti*, considerado o clássico vetor desta doença (Chomposri et al. 2016). Experimentos laboratoriais também demonstraram que o YFV conseguiu sobreviver mais de 4 meses em ovos, sendo detectado na prole descendente de fêmeas infectadas experimentalmente (Beaty et al. 1980). Com efeito, a taxa de transmissão transovariana de YFV é mais alta em comparação com a taxa observada para DENV, favorecendo a manutenção do vírus na natureza durante ciclos interepidêmicos (Sall et al. 2010).

Quando um mosquito macho nasce infectado a partir da transmissão vertical, pode haver a transmissão horizontal venérea, caracterizada quando, durante a cópula, há a transferência de sêmen infectado com arbovírus para a fêmea, que pode vir a se infectar (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Clements 2002). A primeira demonstração de transmissão venérea foi realizada

laboratorialmente para o vírus da encefalite de La Crosse (LACV), quando se verificou a transmissão entre machos infectados verticalmente de *Aedes triseriatus* (Say 1823) para fêmeas virgens e não infectadas (Thompson & Beaty 1978). Experimentos laboratoriais mostraram a capacidade de transmissão de DENV de machos de *Ae. albopictus* infectados para fêmeas (Rosen 1987). Mais recentemente, verificou-se que o CHIKV pode ser transmitido por via venérea a partir de machos infectados de *Ae. aegypti* para fêmeas. O mesmo experimento mostrou que o CHIKV transmitido horizontalmente foi capaz de causar doença em cobaia (Mavale et al. 2010).

A maioria dos arbovírus são zoonóticos, mantidos em ciclos enzoóticos com a participação de hospedeiros vertebrados como aves, roedores, primatas não-humanos, dentre outros (Weaver 2013). Enquanto alguns destes arbovírus são eminentemente silvestres ou rurais, como o vírus Mayaro (MAYV) (Figueiredo 2007), outros podem manter seu ciclo enzoótico mesmo em ambientes urbanos, como o vírus do oeste do Nilo (WNV) (Marra et al. 2003). A transmissão para humanos ocorre em algumas situações especiais como: 1) na ocorrência de *spillover* destes ciclos silvestres, em que a amplificação da transmissão resulta em transmissão tangencial para humanos, como no caso de WNV (Weaver & Barret 2004); 2) quando há a entrada de seres humanos em ambientes silvestres onde o ciclo enzoótico ocorre, como no caso do vírus da encefalite de Saint Louis vírus (SLEV) (Figueiredo 2000); 3) a participação de vetores silvestres e/ou periurbanos como pontes de transmissão, como no caso de WNV e do vírus da Encefalite Equina do Leste (EEV) (Medlock et al. 2005, Armstrong & Andreadis 2010); 4) a capacidade de que certos arbovírus têm de amplificar a transmissão ao explorar animais peridomésticos, como suínos e equinos, aumentando o *spillover* e causando surtos ou epidemias em ambientes rurais, como no caso do vírus da Encefalite Japonesa (JEV) (Scherer 1959, Chen et al. 1990), 5) ou até mesmo a divergência evolutiva de vírus permitindo que este passe de um ciclo silvestre para explorar uma nova gama de hospedeiros em ciclos urbanos, como no caso dos DENV (Wang et al. 2000, Weaver et al. 2018).

Para que haja aumento no nível de transmissão de um arbovírus, é necessário que populações de artrópodes vetores competentes e de hospedeiros suscetíveis interajam repetidamente em um ambiente permissivo (Reisen 2010, Weaver & Reisen 2010). Quando há a presença do patógeno, a interseção entre esses três componentes gera um foco ou nicho de transmissão, o qual pode ou não se restringir temporal e/ou espacialmente de acordo com a biologia e ecologia dos vetores e/ou hospedeiros, ou mesmo a epidemiologia do arbovírus em questão (Reisen 2010) (Figura 1.9).



**Figura 1.9.** Representação hipotética da interação entre hospedeiro, vetor e patógeno em um ambiente permissivo. Da interseção entre essas populações, surge o foco de transmissão de um patógeno, como um arbovírus. Retirado de Reisen (2010).

Arboviroses de circulação silvestre, como a febre amarela, têm como nicho de transmissão ambientes escassos de presença humana, praticamente restritos a estratos superiores de florestas tropicais onde o vírus amarílico circula entre mosquitos de comportamento acrodendrófilo e primatas não humanos (Vasconcelos 2003). Por outro lado, em arboviroses eminentemente

urbanas, como a dengue, o nicho de transmissão fica restrito ao domicílio e peridomicílio humano, onde os vírus circulam entre humanos por meio de um vetor altamente antropofílico e endófilo, como é o caso do *Ae. aegypti* (Gubler 1998).

Arboviroses emergentes podem sofrer amplificação e atingir níveis epidêmicos por diversos fatores, estes dependentes do contexto no qual se encontram e em uma complexa rede de interação (Morens et al. 2004). A introdução de novas cepas ou alterações na genética viral podem modificar diretamente a suscetibilidade humana a infecção (Musso & Gubler 2016). Dentro de suas regiões originárias, os vírus DENV, CHIKV e ZIKV são transmitidos por mosquitos silvestres e de comportamento muitas vezes acrodendrúfilo. No entanto, adaptações subsequentes os levaram a ser transmitidos com competência por *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Gubler 1998). Ainda que o dengue seja uma arbovirose eminentemente mantida em ciclos que envolvem o ser humano como hospedeiro, cepas primitivas de DENV ainda circulam na África Ocidental (Diallo et al. 2003) e no Sudeste Asiático (Rudnick et al. 1965), onde primatas não-humanos preenchem o papel de hospedeiros vertebrados (Wang et al. 2000). Mutações adaptativas no genoma do CHIKV, por outro lado, foram detectadas na epidemia ocorrida nas ilhas La Reunion, favorecendo a participação de *Ae. albopictus* como vetor principal em locais onde não há presença do *Ae. aegypti* ou esta é baixa (Tsetsarkin et al. 2007, Vazeille et al. 2007).

Mudanças na estrutura ambiental e/ou de paisagem, frequentemente de origem antropogênica, também contribuem para a emergência de arboviroses (Lima-Camara 2016). Questiona-se o papel das alterações climáticas de origem antrópica como importantes determinantes para a expansão da área de influência de vetores e de arbovírus (Reeves et al. 1994, Gould & Higgs 2009, Reisen 2010, Tabachnick 2016). Com efeito, o papel do clima é decisivo para a determinação de micro e macro fatores na transmissão de arbovírus, desde modulação da biologia e do ciclo de vida de vetores artrópodes (Kuno & Chan 2005), a distribuição geográfica e temporal destes (Kraemer et al. 2015), até a

consequente dispersão de arbovírus (Gould & Higgs 2008) e alteração na competência vetorial para sua transmissão (Brady et al. 2014).

O crescimento da população humana e a urbanização descontrolada são fatores que constituem um grande desafio, principalmente em países em desenvolvimento onde diversos arbovírus circulam de forma endêmica (Weaver & Reisen 2010, Lima-Camara 2016). O deslocamento de populações em busca de oportunidade para a periferia das cidades leva a criação e perpetuação de condições de vulnerabilidade socioeconômica, ideais para a proliferação e manutenção de populações de *Ae. aegypti* (Tauil 2001, 2002). O processo de urbanização desordenado e desigual promove a formação de ilhas de calor intraurbanas, onde condições ambientais também tendem a favorecer a manutenção de mosquitos vetores urbanos (Reisen 2010). Com efeito, a persistência de iniquidades em saúde sobre populações mais vulneráveis tem relação direta com a ocorrência de apresentações clínicas graves de dengue (Gibson et al. 2014), afetando de maneira desproporcional a população mais pobre por meio de serviços de saúde deficientes e maior risco ambiental (Chang et al. 2014). A mobilidade humana impacta diretamente na introdução e reintrodução de arbovírus em novos territórios e em áreas consideradas indenes. Na Amazônia peruana, identificou-se, por exemplo, que alguns dos principais meios de transporte locais foram responsáveis pela dispersão do *Ae. aegypti* por toda a região, contribuindo para a manutenção de populações do mosquito e da transmissão de dengue (Guagliardo et al. 2015).

O desmatamento e alterações no uso do solo também se colocam como importantes fatores para a emergência de doenças infecciosas, nas quais se incluem os arbovírus (Ostfeld & Keesing 2000, Weiss & McMichael 2004, Murray & Daszak 2013). Com efeito, alterações no uso do solo e na paisagem têm sido implicadas como importantes fatores que impactam a comunidade de mosquitos vetores, potencializando a provável transmissão de arbovírus (Patz et al. 2004), como a seleção de vetores competentes em áreas periurbanas e rurais (Conn et al. 2002), a seleção de espécies antropofílicas em ambientes urbanizados (Cox et al. 2007, Johnson et al. 2008, Honório et al. 2009). O estado brasileiro do Acre foi a última Unidade Federativa a registrar casos de

dengue, o qual tornou-se endêmico no estado após 15 anos desde a primeira notificação de caso humano. Um dos fatores prováveis para isso pode ser implementação de grandes projetos de infraestrutura no estado, os quais podem ter sido responsáveis pela criação de situações de vulnerabilidade e receptividade para o DENV (Lana et al. 2017).

Mecanismos que atuam sobre a expansão geográfica de arbovírus, amplamente associados ao impacto das atividades humanas no meio ambiente, bem como deslocamento e mobilidade humana cada vez mais fácil, têm sido repetidamente observados ao longo das últimas décadas. Em um mundo onde alterações ambientais caminham em direção à irreversibilidade, a dinâmica multifatorial da emergência de arboviroses tem se colocado como um enorme desafio para as autoridades de saúde (Weaver 2010, Lima-Camara 2016).

#### **1.4 Vigilância entomo-viológica das arboviroses**

A demonstração da competência vetorial de um mosquito para um determinado arbovírus é fundamental para a identificação de potenciais vetores. No entanto, a detecção de infecção natural em mosquitos capturados em campo é essencial para descobrir a prevalência e circulação de sorotipos e vírus na comunidade, além de servir como uma ferramenta de vigilância para detecção e antecipação de epidemias (Victor 2009).

Durante uma epidemia de DENV em Recife, foi possível detectar a persistência de sorotipos não notificados em casos humanos através do monitoramento virológico realizado em *Ae. aegypti* coletados em domicílios com casos suspeitos (Guedes et al. 2010). Resultados semelhantes foram obtidos em Nova Iguaçu, onde detectou-se DENV-3 em mosquitos coletados em campo, ainda que houvesse apenas registros de cocirculação de DENV-1 e DENV-2 (Lourenço-de-Oliveira et al. 2003). No Rio de Janeiro, detectou-se a infecção por DENV-4 tanto em humanos quanto em mosquitos durante uma epidemia explosiva de DENV-1 durante o ano de 2011 (Castro et al. 2012). Em Gabão, na África, foi detectada a cocirculação de DENV-2 e chikungunya em



*Ae. albopictus*, demonstrando a importância epidemiológica desta espécie na transmissão desses dois arbovírus na região (Leroy et al. 2009). Estes achados mostram a importância da detecção de vírus em mosquitos capturados em campo para direcionar as ações de vigilância entomo-epidemiológica, e também indicam os prováveis vetores envolvidos na transmissão de arbovírus em áreas endêmicas (Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Leroy et al. 2009, Guedes et al. 2010).

Neste sentido, fica evidente a importância da integração entre vigilância entomológica e virológica. A detecção de sorotipos de DENV em espécimes de mosquitos coletados em áreas endêmicas já é realizada com sucesso no Brasil (Nogueira et al. 1988, Degallier et al. 1996, Pinheiro et al. 2005) e em outros lugares do mundo (Chow et al. 1998, Kow et al. 2001, Chen et al. 2010). Os achados destes estudos demonstram que a integração entre a vigilância virológica e a entomológica pode ter papel fundamental para prever a introdução de novos sorotipos ou vírus, qual o sorotipo ou vírus circulante predominante e os mosquitos envolvidos na transmissão de arboviroses (Chow et al. 1998, Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Guedes et al. 2010). Recentemente, um extensivo trabalho de monitoramento entomológico e virológico conseguiu evidenciar não apenas a circulação de ZIKV em *Ae. aegypti* em uma localidade do Rio de Janeiro, mas também evidenciou a introdução do vírus na cidade no período entre maio-novembro de 2013 (Ayllon et al. 2017).

Além disso, a rápida dispersão do ZIKV pelo continente americano levantou a hipótese de outras espécies de mosquitos participarem na transmissão (Ayres 2016), assim como transmissão pessoa a pessoa (Musso & Gubler 2016). Estudos questionam a importância de outros mosquitos urbanos na transmissão de ZIKV, particularmente *Culex quinquefasciatus* (Say) (Ayres 2016). Ainda não há consenso na comunidade científica quanto a participação deste mosquito na transmissão de ZIKV. Experimentos laboratoriais demonstraram taxas de infecção muito baixas e inexistentes em *Cx. quinquefasciatus* provenientes do Rio de Janeiro (Fernandes et al. 2017). Por outro lado, experimentos laboratoriais determinaram a competência desta

espécie como vetora de ZIKV e tiveram corroboração por meio de coleta de espécimes naturalmente infectados em campo (Guedes et al. 2017). Mais recentemente, um estudo realizado no México detectou a presença de ZIKV nas glândulas salivares de diversas espécies coletadas em situação de campo, dentre elas *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, e também em *Aedes vexans* (Meigen 1830), *Culex coronator* Dyar & Knab, 1906 e *Culex tarsalis* Coquillett, 1896 (Elizondo-Quiroga et al. 2018). Isso torna clara a necessidade premente de se estudar populações de mosquitos urbanos e periurbanos para melhor identificar a participação destes na dinâmica de transmissão de arboviroses.

## **1.5 O papel do estado do Rio de Janeiro na introdução e dispersão de arbovírus no Brasil**

O estado do Rio de Janeiro (22°55' S, 43°11' O) se encontra na região sudeste do país, e possui uma população recenseada de cerca de 15.989.929 habitantes em 2010, dos quais 96,7% residem em área urbana. O estado possui a segunda maior densidade demográfica do país, com 365,23 hab/km<sup>2</sup>. Cerca de 73% da população do estado se concentra na região metropolitana, a qual também é a que concentra a maior parte da renda do estado. O Rio de Janeiro caracteriza-se por duas grandes áreas geomorfologicamente distintas, separadas pelas escarpas da Serra do Mar: aquelas ao norte da Serra do Mar e de maior amplitude altimétrica, caracterizadas por morros e serras, e aquelas ao sul e de menor amplitude altimétrica, caracterizadas por planícies e colinas (IBGE 2017, INEA 2010).

O Rio de Janeiro é o estado brasileiro com maior porcentagem de remanescente de Mata Atlântica original (cerca de 20%) (INEA 2010), um bioma com área original de cerca de 150 milhões de hectares (Ribeiro et al. 2009). A Mata Atlântica é caracteristicamente heterogênea, resultando em diversos tipos de ecossistemas com alto endemismo e riqueza de espécies (Morellato & Haddad 2000). Atualmente, sua extensão original foi reduzida a apenas cerca de 11,4% a 16%, sendo representada por remanescentes vegetais com diferentes graus de antropização, tamanhos e graus de

isolamento. Tal redução ocorreu ao longo de séculos de ocupação do homem, modificando o ambiente natural para diversas atividades dependentes do uso e ocupação do solo (Ribeiro et al. 2009). Em geral, as áreas remanescentes da Mata Atlântica são de pequeno tamanho e estão inseridas em paisagens altamente fragmentadas e com baixa conectividade (Ribeiro et al. 2009), geralmente caracterizadas como florestas secundárias em estágios iniciais e intermediários de regeneração (Metzger et al. 2009). O clima no estado varia do tropical nas baixadas a tropical de altitude nos planaltos. Na região metropolitana, o clima predominante é tropical semiúmido, caracterizado por verões quentes e de chuva abundante, e invernos secos de temperaturas mais amenas (INEA 2010).

A região metropolitana do Rio de Janeiro demonstra uma fundamental importância no que diz respeito à transmissão e disseminação de sorotipos de dengue. Condições socioeconômicas parecem ser importantes determinantes para a ocorrência de surtos e epidemias na região (Teixeira & Medronho 2008, Teixeira & Cruz 2011, Almeida et al. 2009), além do clima propício para a ocorrência de epidemias (Câmara et al. 2009, Gomes et al. 2012), e para a proliferação e manutenção de densidade vetorial em altos níveis (Honório et al. 2009).

Ainda que o primeiro surto de dengue confirmado laboratorialmente no país tenha ocorrido em Roraima nos anos de 1981-1982, onde os sorotipos DENV-1 e DENV-4 tenham produzido cerca de 7.000 casos (Osanai et al 1983), uma grande epidemia ocorreu apenas quando o sorotipo DENV-1 chegou ao estado do Rio de Janeiro. A epidemia de 1986-1987 se iniciou em Nova Iguaçu, disseminando-se para diversos municípios vizinhos, registrando cerca de 140 mil casos de dengue, a maioria localizados na região metropolitana do estado. A partir de Nova Iguaçu, a doença atingiu os municípios do Rio de Janeiro, Niterói, Duque de Caxias, São João de Meriti, São Gonçalo, Volta Redonda, Nilópolis, Sapucaia, Petrópolis, Campos, Saquarema, Vassouras, Angra dos Reis, Friburgo, Xerém e Teresópolis (Miagostovich et al. 1993).

A introdução do DENV-2 ocorreu no município de Niterói, causando uma grande epidemia que levou ao incremento na notificação de casos graves, incluindo a primeira notificação de Febre Hemorrágica de Dengue no país (Nogueira & Miagostovich 1993). Em 2000, o sorotipo DENV-3 foi isolado no município de Nova Iguaçu, e foi responsável por uma grave epidemia nos dois anos seguintes (Nogueira et al. 2005). Entre os anos de 2001 e 2008, os maiores picos de epidemias a nível nacional se deveram principalmente a epidemias na região metropolitana do Rio de Janeiro. Isso fica evidente ao analisar as epidemias de 2002 e 2008, onde os municípios que mais notificaram casos de dengue se encontravam nessa região (Catão 2012). A reemergência do DENV-4 no território brasileiro se deu em Roraima no ano de 2010, e ano seguinte foi isolado na cidade de Niterói (Temporão et al. 2011, Nogueira & Eppinghaus 2011). Após a introdução deste sorotipo no estado, o DENV-4 foi o sorotipo mais isolado no país nos dois anos seguintes, levando a uma mudança no perfil epidemiológico do dengue para um estado de hiperendemicidade no território (Villabona-Arenas et al. 2014, Heringer et al. 2015).

Tendo em vista a importância do estado do Rio de Janeiro e sua região metropolitana para a dispersão de sorotipos e epidemias de dengue no Brasil, tornam-se necessários estudos que levem em consideração a importância da região para o CHIKV e ZIKV. Uma vez que a introdução destes arbovírus ocorreu há relativamente pouco tempo, sua distribuição no território brasileiro ainda está sendo moldada, assim como o papel do Rio de Janeiro nesse processo ainda necessita de elucidação.

## **1.6 A inserção do estudo no Plano Brasil Sem Miséria**

O Plano Brasil Sem Miséria (BSM), lançado em junho de 2011, foi um programa do governo federal com o objetivo dar suporte a estratégias de combate e superação a pobreza extrema, tendo em vista que a pobreza perpassa questões relacionadas apenas à renda. O público alvo do programa foi composto por famílias com renda familiar per capita inferior a R\$ 70 mensais, a mesma linha de corte do programa anterior de combate à pobreza,

o Bolsa Família. O Plano BSM teve três pilares de atuação: 1) “garantia de renda, para alívio imediato da situação de extrema pobreza”; 2) “acesso aos serviços públicos, visando melhorar as condições de educação, saúde e cidadania das famílias”; e 3) a “inclusão produtiva, com o objetivo de aumentar as capacidades e as oportunidades de trabalho e geração de renda entre as famílias mais pobres do campo e das cidades” (Brasil 2015a).

A Nota Técnica Nº1/2011, emitida pelo Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, recomendou que “o tema das “doenças da pobreza” fosse contemplado (...) e que a educação popular fosse inserida nas ações do Programa, objetivando contribuir para prevenir e controlar estas doenças e promover a saúde da população a quem se dirigem tais ações” dentro do Plano BSM (Fiocruz 2011). O documento ainda recomenda educação profissional principalmente dos profissionais da atenção básica como meio de promoção a saúde, com base em “ampla disseminação de estratégias e materiais de educação, informação e comunicação sobre as doenças da pobreza”, além da “expansão e consolidação da estratégia de saúde da família” (Fiocruz 2011).

A Atenção Básica é o primeiro nível de atenção em saúde no Sistema Único de Saúde (SUS). Caracteriza-se pelo conjunto de ações de saúde individual e coletivo, que abrange a promoção e a proteção da saúde, a prevenção de agravos, o diagnóstico, o tratamento, a reabilitação, a redução de danos e a manutenção da saúde (PNAB 2012). A Atenção Básica compreende a Estratégia Saúde da Família (ESF) e o Programa de Agentes Comunitários de Saúde (PACS) (Brasil 2011). Em maio de 2010, foi aprovada a Portaria 1007 que trata da incorporação dos Agentes de Combate a Endemias (ACE) às equipes de Saúde da Família, incluindo as ações de vigilância em saúde nas atividades da atenção básica. A integração teve por objetivo fortalecer o desenvolvimento de ações para o enfrentamento de agravos que acometem a população, com enfoque nas doenças transmitidas por vetores (Brasil 2010).

Diversos desafios se apresentam dentro do controle das arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*. Dentre esses, dois considerados importantes envolvem a educação em saúde e a capacitação e integração do trabalho dos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e ACE com a população (Chiaravalloti-

Neto et al. 1998, Tauil 2001, 2002, Baglini et al. 2005). A educação em saúde é um instrumento essencial para fomentar o diálogo entre os saberes científicos e populares, principalmente por meio da educação popular, em que os espaços para discussão e troca de conhecimentos são estimulados (Forattini 2004). Tal prática vem sendo usada como instrumento de transformação social, possibilitando a reformulação de antigos hábitos e aceitação de novos valores e transformando uma situação de saúde em uma nova mais favorável (Forattini 2004, Brasil 2007). A educação em saúde abrange a participação da população no contexto de sua vida cotidiana e não apenas das pessoas sob o risco de adoecer, tem bases fundamentadas na ideia de promoção da saúde, em que considera o processo de capacitação da comunidade para atuar na melhora da sua qualidade de vida e saúde, incluindo maior participação (OMS 1986, Schall & Struchiner 1999).

Tais iniciativas demonstram o quanto a educação em saúde quando voltada para o conhecimento de atitudes em relação aos agravos são fatores cruciais para a prevenção e controle de doenças infecciosas e parasitárias, além da necessidade de atualização e capacitação de ACS e ACE (Coura & Junqueira 2015, Wang et al. 2016). A necessidade de melhor preparo dos ACE e ACS, sob a forma de cursos de atualização e capacitação continuados tem se colocado como importante demanda pelos profissionais em diferentes ocasiões, evidenciando, com isso, a importância de iniciativas nessa direção (Chiaravalloti-Neto et al. 1998, Baglini et al. 2005, Chiaravalloti-Neto et al. 2007). Em áreas de populações vulneráveis, onde em geral há pouco conhecimento acerca de tais doenças, iniciativas de educação em saúde, com o objetivo de melhorar o conhecimento e a consciência, são um meio eficaz de prevenção e controle (Brasil 2007, PNAB 2012, Wang et al. 2016).

## **1.7 Justificativa**

As interações entre diferentes espécies, necessárias para a manutenção da transmissão de arbovírus, estão condicionadas a diversos determinantes. O ambiente permissivo onde vetores, hospedeiros e patógenos interagem surge como componente crítico, favorecendo a interação destes atores. Modificações

e alterações induzidas pelo homem na estrutura e heterogeneidade da paisagem podem, eventualmente, causar condições ecológicas e climáticas que possibilitem a emergência de arbovírus e outros patógenos transmitidos por insetos.

Os processos de ocupação humana são complexos, causando alterações e impactos na geografia e saúde da região, e seu estudo revela padrões específicos e dinâmicos na transmissão de doenças. De fato, o estudo da territorialidade na saúde é um importante componente que deve ser levado em consideração na vigilância epidemiológica. O monitoramento de arboviroses em áreas com diferentes padrões de ocupação humana e cobertura vegetal, compondo paisagens de interação hospedeiro-vetor complexas, é de grande relevância para auxiliar na compreensão da sua dinâmica de transmissão. Neste sentido, torna-se premente a avaliação da distribuição espacial e temporal de culicídeos vetores, bem como sua relação com variáveis ambientais, importantes fatores moduladores na emergência de arboviroses, como visto na região metropolitana do Rio de Janeiro.

Dessa maneira, discutiu-se o risco para a emergência de arbovírus nesses locais considerados vulneráveis e receptivos para esses agravos. Ainda que ambos os termos sejam conceitos utilizados nos estudos de malária, nos quais a vulnerabilidade é definida como “proximidade a áreas endêmicas ou o fluxo frequente de indivíduos infectados e/ou vetores competentes”, e a receptividade como “presença abundante de vetores e existência de fatores ecológicos e climáticos que favoreçam a transmissão”, ambos têm ganhado destaque no estudo de padrões de transmissão de arboviroses. A região metropolitana do Rio de Janeiro se mostra como um local propício para o desenvolvimento de estudos relacionados a circulação de arbovírus, dado seu papel central na dispersão de epidemias de dengue após a introdução de novos sorotipos nas últimas décadas. Como um projeto de pesquisa desenvolvido no âmbito do Plano Brasil Sem Miséria, este projeto atuou na atualização e capacitação de ACE e ACS de diferentes municípios do estado e das áreas de estudo, além do desenvolvimento de materiais educativos formais para este público e informais para a população.





## Capítulo 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a diversidade e distribuição de culicídeos residentes e detectar a circulação de arbovírus patogênicos ao homem em gradientes urbano-rurais no Rio de Janeiro, integrando ações de promoção e educação em saúde para equipes de agentes de saúde locais.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a diversidade e distribuição de culicídeos residentes ao longo de um gradiente urbano-rural, e sua associação com variáveis ambientais e de paisagem nos municípios de Itaboraí e Cachoeiras de Macacu;
- Avaliar a efetividade de diferentes métodos de coleta para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e sua distribuição ao longo de um gradiente urbano-rural nos municípios de Itaboraí e Cachoeiras de Macacu;
- Investigar a circulação de arbovírus em *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* provenientes de áreas endêmicas do estado do Rio de Janeiro;
- Descrever o padrão de dispersão de epidemias de dengue e identificar áreas com maior risco de transmissão no município de Itaboraí no período de 2001 a 2016;
- Qualificar profissionais de saúde locais em temas relacionados a arboviroses e seus respectivos vetores, através da produção de material didático, cursos de atualização e/ou de capacitação.

## Capítulo 3. Resultados

Os resultados obtidos nesta tese estão organizados sob a forma de artigos científicos publicados, manuscritos científicos em fase de preparação e de material didático produzido sob o âmbito do plano Brasil Sem Miséria. Cada capítulo é iniciado com uma página de rosto contendo informações relevantes sobre a publicação.

### Artigos e manuscritos científicos:

- **Câmara DCP**, Codeço CT, Pinel CS, Rocha GP, Honório NA 2018. Spatial Segregation of Mosquito Vectors in an Endemic Area for Dengue, Chikungunya and Zika. (*Em preparação*).
- **Câmara DCP**, Codeço CT, Pinel CS, Ayllón T, Campos RM, Rocha GP, Honório NA 2018. Comparison of different collection methods for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and arbovirus detection in an endemic area in Brazil. (*Em preparação*).
- Ayllón T, Campos RM, Brasil P, Morone FC, **Câmara DCP**, Meira GLS, Tannich E, Yamamoto KA, Carvalho MS, Pedro RS, Schmidt-Chanasit J, Cadar D, Ferreira DF, Honório NA. Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23:1411–1412. (*publicado*).
- **Câmara DCP**, Codeço CT, Honório NA, et al. 2018. Análise espaço-temporal do padrão de dispersão e propagação de dengue em área endêmica do Rio de Janeiro, no período de 2001-2013. (*Em preparação*).

### Produção de material didático no âmbito do Plano Brasil Sem Miséria:

- Siqueira ASP, Silva AR, Pinheiro C, Pinel CS, **Câmara DCP**, Rodrigues FCM, G Gibson, Pereira GR, Reis IC, Carvajal JJ, Layter LX, Pinheiro L, Honório NA, Fernandes RCA. As aventuras dos Pequenos Mosqueteiros

contra dengue, Zika e chikungunya. Rio de Janeiro, NOSMOVE, 2016. (*publicado*).

- Barbosa AF, Lopes CM, **Câmara DCP**, Mello RP. Fundamentos de Entomologia e Acarologia Médica. (*Em preparação*).
- Dias CMG, **Câmara DCP**, Gibson G, dos Reis IC, Ribeiro MS, Honório NA. Fundamentos e Métodos para Vigilância dos Vetores de Importância Médica: Vetores de Arbovírus e Conceitos Básicos sobre Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela. (*Em preparação*).

## **Capítulo 3.1 - Segregação espacial de mosquitos vetores ao longo de paisagens heterogêneas em área endêmica para dengue, chikungunya e Zika**

**Referência bibliográfica:** Câmara DCP, Codeço CT, Pinel CS, Rocha GP, Honório NA 2018. Spatial Segregation of Mosquito Vectors in an Endemic Area for Dengue, Chikungunya and Zika. Spatial Segregation of Mosquito Vectors in an Endemic Area for Dengue, Chikungunya and Zika

**Situação do manuscrito:** Em fase de preparação.

**Este artigo atende ao objetivo específico 1 deste trabalho.**

### **Apresentação**

Esse trabalho objetivou estudar a distribuição da comunidade de mosquitos presentes ao longo de um gradiente urbano-rural de paisagem complexa e de variável antropização. Através do uso de dados primários, gerados em uma extensiva coleta entomológica ao longo de dois anos, e dados secundários, obtidos através de sensoriamento remoto, relacionou-se a riqueza e abundância de espécies de mosquitos com componentes da paisagem para determinar seus prováveis habitats e proximidade com o ser humano. Também se avaliou a distribuição e frequência das espécies mais abundantes em áreas de interface entre o urbano-florestal, possivelmente apontando para espécies com maior capacidade de trânsito por essas áreas e que podem, eventualmente, ter alguma importância na emergência de arboviroses.



**Foto 3.1.** Instalação de armadilha tipo CDC em um ponto de coleta na localidade rural de Japuíba, município de Cachoeiras de Macacu. Maio de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.

### 3.1.1 Introduction

The conceptual nidus of infection of a vector-borne disease refers to a permissive landscape where competent vectors, susceptible hosts and a pathogen coexist both spatially and temporally (Pavlovsky 1966, Reisen 2010). The rate at which a pathogen is transmitted is influenced by a range of factors, such as abundance, susceptibility, rate of contact and several others, which interact in a landscape (Reisen 2010). Changes in vector and host abundance, diversity and distribution contribute to induce a spatially heterogeneous pattern of disease transmission, which might lead to the establishment of endemic or epidemic transmission. In a context of anthropogenically altered biomes (Ellis and Ramankutty 2008), these nidi of transmission now range from remote and sparsely inhabited landscapes to urban and residential settings, where even the human residence might be a nidus of transmission (Reisen 2010).

This is particularly seen in the cases of epidemic arboviruses that now ravage most tropical and subtropical areas of the world and the Americas. Since the deterioration of the continental plan for the eradication of the *Aedes aegypti* in the Americas in the 1970s, dengue incidence escalated quickly in the next decades. Following the reintroduction and expanding geographic distribution of this mosquito, there was the introduction, establishment and circulation of the four dengue virus (DENV) serotypes (Braga and Valle 2007, Dick et al. 2012) causing large epidemics. More recently, chikungunya and Zika viruses (CHIKV and ZIKV, respectively) were introduced in the Americas, following an unprecedented and rapid expansion throughout several countries in different continents (Weaver 2014, Musso and Gubler 2016). Both diseases, once restricted to sylvatic environments with occasional spillover to periurban and urban areas in Africa and southeast Asia, were recently introduced in novel areas. In several countries, diseases caused by these arboviruses acquired endemic or epidemic transmission profiles, where the main vectors are mainly *Ae. aegypti*, and to a lesser degree *Aedes albopictus* (Higgs and Vanlandingham 2015, Zorou 2016).

Contrasting with the large body of research on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, studies on other mosquito species which are potential vectors of

these arboviruses are scarce. In their native range, DENV, CHIKV and ZIKV are transmitted in sylvatic and rural cycles by different mosquito species. All four DENV serotypes have been detected in sylvatic cycles in Southeast Asia, probably maintained mainly by *Ae. niveus* (Vasilakis et al. 2011). In Africa, DENV-2 has been continuously detected in sylvatic cycles, probably maintained by *Aedes luteocephalus* and *Aedes furcifer* (Diallo et al. 2005, Vasilakis et al. 2011). In sub-Saharan Africa, CHIKV circulates enzootically between arboreal and canopy-dwelling mosquitoes, with non-human primates being the main hosts. Several *Aedes* species have been identified as sylvatic vectors of CHIKV, with *Aedes furcifer* being the most important vector that might be responsible for spillover in these areas (Jupp and McIntosh 1990, Diallo et al. 1990, Diallo et al. 2012). However, other genera might be involved in these complex enzootic cycles of transmission, such as *Anopheles*, *Culex* and *Mansonia* (Diallo et al. 2012). There is also a highly complex and yet-to-be clarified sylvatic profile of ZIKV transmission in sub-Saharan Africa, where several *Aedes* species have been found infected, such as *Aedes furcifer*, *Aedes luteocephalus* and *Aedes africanus*, and species from other genus such as *Anopheles*, *Culex* and *Mansonia* (Diallo et al. 2014).

In the Americas, transmission of these arboviruses is maintained in urban environments mainly by *Ae. aegypti*. Analysis of several American populations of this species and *Ae. albopictus* shows a highly heterogeneous vector competence for CHIKV (Vega-Rúa et al. 2014, 2015), and unexpectedly low for ZIKV (Chouin-Carneiro et al. 2016, Azar et al. 2017). So far, there is no report of neotropical sylvatic mosquitos infected with CHIKV or ZIKV, but scarce evidence indicates that DENV might be circulating in some species, such as *Haemagogus leucocelaenus* (Figueiredo et al. 2011). These observations suggest a risk for spillback of introduced arboviruses to sylvatic environments in the neotropical region. The yellow fever virus (YFV), introduced in the New World during the 17<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup> centuries has been a major public health problem until the early 20<sup>th</sup> century. Its urban cycle, maintained by *Ae. aegypti*, had its last documented epidemic in South America recorded in 1942 (Gubler 2004). However, the discovery of a sylvatic cycle involving species of the genus *Haemagogus* and *Sabethes* in the 1930s showed the receptivity of both

neotropical vectors, non-human primates and the jungle environments to the YFV. Since then, yellow fever has become a zoonosis, with outbreaks becoming more prominent especially since the 1990s, with hundreds of human cases and deaths reported (Vasconcelos 2003, Monath and Vasconcelos 2015).

The influence of biodiversity on vector-borne diseases has been well studied, with contrasting effects of community diversity on disease transmission (Keesing et al. 2006). Indeed, community diversity might influence on disease risk either through a dilution effect or an amplification effect (Keesing et al. 2006, Ostfeld & Keesing 2012). Dilution effect refers to a phenomenon where increased species diversity reduces disease risk, through mechanisms such as encounter reduction, susceptible host regulation, vector regulation, recovery augmentation or transmission reduction. Amplification effect, on the other hand, occurs when increased species diversity lead to increased transmission risk (Keesing et al. 2006, Ostfeld & Keesing 2012). This leads to the importance of studies on mosquito ecology and distribution especially at finer spatial scales, since the relationship of mosquito communities to their habitats might have important consequences for risk for disease transmission and control efforts (Reisen 2010). In Brazil, where three different major arbovirus are cocirculating in endemic and epidemic cycles and there is a growing fear of reurbanization of YFV (Cavalcante e Tauil 2017, Rosseto et al. 2017), there is a need to understand better how different mosquito species relate to humans in different environments.

In Brazil, several studies have determined mosquito species distributions in different environments, such as urban (Forattini et al. 1973, Honorio et al. 2003, 2009), periurban (Maciel-de-Freitas et al. 2006, Medeiros-Souza et al. 2013, Carvalho et al. 2014), rural (Lourenço-de-Oliveira 1984, Lourenço-de-Oliveira & Silva 1985, Lourenço-de-Oliveira & Heyden 1986, Forattini et al. 1993) and sylvatic areas (Guimarães & Arlé 1984, Guedes & Navarro-Silva 2014, Alencar et al. 2015, 2016). In this study, we present the results of a two-year entomological survey in two cities with heterogeneous landscapes, ranging from urbanized to remote rural areas. While we sampled a large amount of

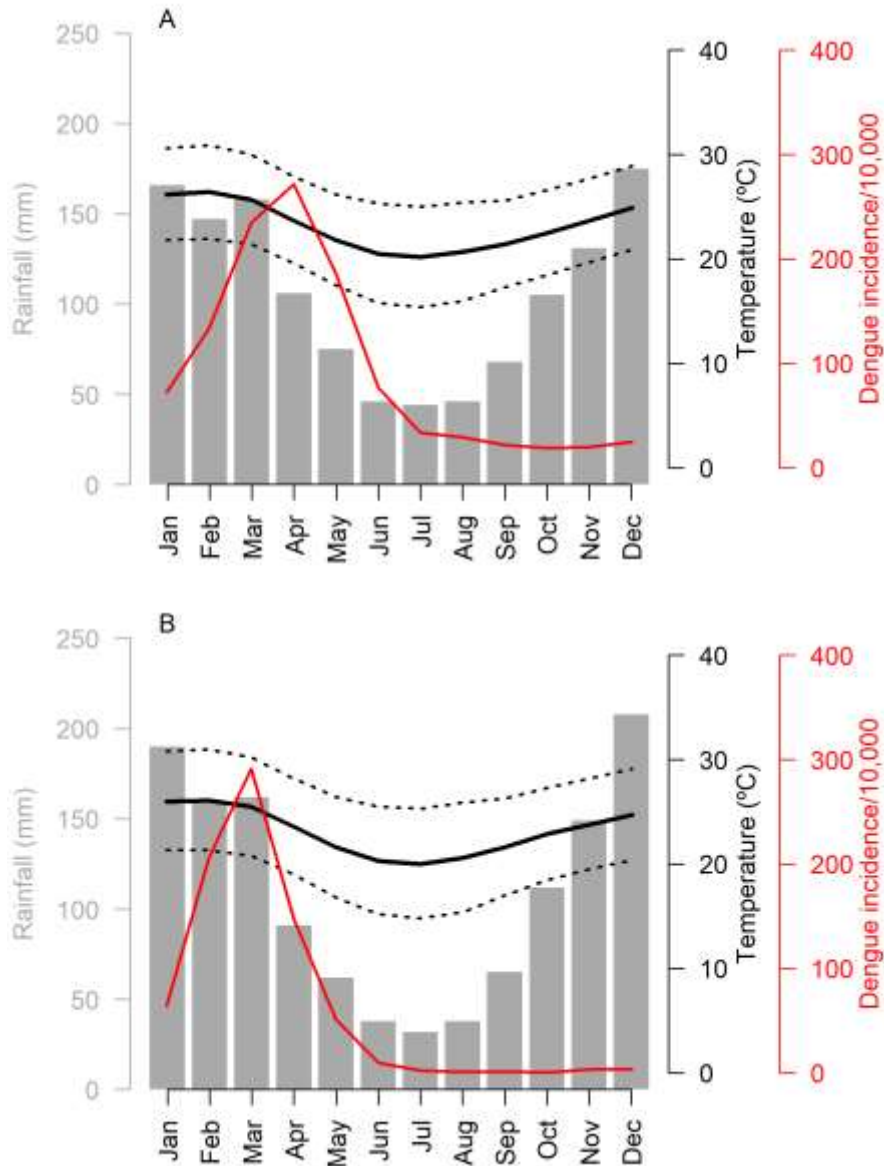


mosquito species, our main focus was on potential vectors of arboviruses to humans. The aim of our study was to quantify the mosquito species of the study area and relate their occurrence to landscape features, as measured by land cover classification using GIS software, in order to better understand species distribution and potential disease risk to human populations in these heterogeneous landscapes.

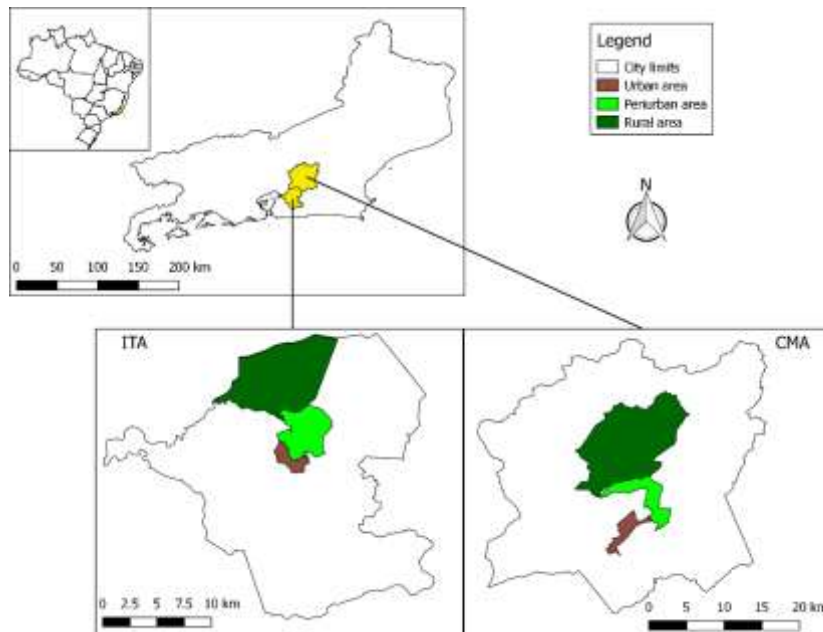
### **3.1.2 Methods**

#### **3.1.2.1 Study area and climate**

Mosquito collections were done in two mid-sized adjacent cities in the state of Rio de Janeiro, focusing primarily on collections near human dwellings. Itaboraí (ITA, 22°44'40" S, 42°51'34" W, 17m elevation) has 229,007 inhabitants in 430,374 km<sup>2</sup> and is 45km distant from the capital. Cachoeiras de Macacu (CMA, 22°27'45" S, 42°39'11" W, 54m elevation) has 56.290 inhabitants in 953,801 km<sup>2</sup> and is 97km distant from the capital. Both cities have tropical climate (Köppen-Geiger type Aw) and are situated in the Atlantic Rainforest Central Fluminense Mosaic ecological corridor. Heavy precipitation occurs from December to March, with occasional floods. Temperature follows the same regimen, with higher ones in the same period. Dengue incidence is higher during the wet season, with transmission rising in January and peaking in March-April (Figure 3.1.1). In both cities, three distinct areas were chosen based on sociodemographic and landscape profiles and distinguished as Urban, Periurban or Rural areas (Figure 3.1.2). In each area, 14 city blocks were randomly chosen and in each block one collection point was selected by convenience. Descriptive statistics of the distances in meters between collection points are: in the Urban area (min=116.4, max=2697.0, median=705.2), in the Periurban area (min=224.6, max=5621.8, median=1271.0), and the Rural area (min=92.7, max=8068.9, median=907.9).



**Figure 3.1.1.** Climate and dengue transmission in (a) Itaboraí (ITA) and (b) Cachoeiras de Macacu (CMA). Gray bars represent monthly accumulated rainfall. Solid and dashed black lines represent respectively mean, minimum and maximum temperatures (°C). Red lines represent mean monthly dengue incidence from 2001 to 2016 (cases per 10,000 inhabitants).



**Figure 3.1.2.** Map of the state of Rio de Janeiro and the two cities included in the study: Cachoeiras de Macacu (CMA) and Itaboraí (ITA). Collection areas are comprised of one or more neighborhoods and are divided into Urban (brown), Periurban (light green) and Rural (dark green).

### 3.1.2.2 Mosquito sampling and identification

In each collection point, a random pair of mosquito traps were installed chosen from Adultrap (ADT), BG-Sentinel (BGS) and CDC (CDC), resulting in a combination of ADT+BGS, ADT+CDC or BGS+CDC. Adultraps were filled with water and hay infusion and left in the field for 7 days. BGS were installed with BG-Lure and a canister containing dry ice and left in the field for 24 hours. CDC were installed with light and UV light and a canister containing dry ice and left in the field for 24 hours. After the BGS and CDC traps were collected the following day, we used backpack aspiration in each collection point for 20 minutes both indoors and outdoors. All adult mosquitoes were transferred to plastic cages with the aid of an oral suction tube and placed on dry ice (-70°C). Collections took place during the wet and dry seasons of 2015 and 2016. Each area was sampled once per period totaling 4 collections per area per season. All samples were transported to the Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – IOC/DIRAC/VPAAPS/FIOCRUZ and Laboratório de Mosquitos Transmissores

de Hematozoários – IOC/FIOCRUZ. Species determination was performed by direct observation of morphological characters of female specimens using a stereomicroscope, using the taxonomic keys proposed by Lane (1953), Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) and Forattini (2002). For species of the Aedini tribe, we considered *Ochlerotatus* to be a subgenus of *Aedes*.

### **3.1.2.3 Land use classification**

In order to analyze the patterns of mosquito habitat segregation and environmental characteristics, we quantified land use types by using buffers of different radius sizes around each collection point. Circles with radii of 100m, 200m, 300m and 400m were drawn. Eight categories were identified: agriculture, pasture, lowland, water body, exposed soil, medium density urbanization, dense ombrophilous forest and secondary growth vegetation. We used the remotely sensed land cover database created by the Environmental State Agency of Rio de Janeiro (Instituto Estadual do Ambiente – INEA, freely available from [www.inea.rj.gov.br](http://www.inea.rj.gov.br)).

### **3.1.2.4 Statistical analysis**

Total catches per mosquito species were pooled for each 14 collection sites in the six areas, yielding a Site x Species abundance matrix. As we focused in a purely spatial segregation hypothesis, we decided to forego the temporal aspect for our study. We generated a species accumulation curve using individual-based interpolation (rarefaction) and extrapolation (up to double the number of observed individuals in each landscape type) using the iNEXT R package (Hsieh et al. 2016). We choose to test a well-known diversity index across three different landscapes: rarefied species richness, a measure which estimates species richness using rarefaction (Heck et al. 1975) using the Vegan R package (Oksanen et al. 2017). A One-Way ANOVA was used to test for differences of the ecological indexes across landscape types. In those cases where the assumptions of heterocedasticity and normality were not met under visual inspection of residuals, we employed a Box-Cox transformation on the

response variable. Considering that richness estimators may vary among data and cases (Hortal et al. 2006) and in order to estimate the number of undetected species in our study, we used two additional species richness estimators: Chao1-bc (a bias-corrected form of the Chao1 estimator, which uses only the numbers of singletons and doubletons to estimate the number of undetected species) and ACE-1 (a abundance-based coverage estimator for the number of undetected species in highly heterogeneous communities) (Chao & Chiu 2016), using the SpadeR R package (Chao et al. 2016). We defined as cut-off for rare species those with fewer than 10 individuals observed. The choice for using ACE-1 instead of ACE was due to the high heterogeneity in the dataset (squared coefficient of variation of species abundance (CV) for the whole dataset = 5.72). We calculated the coverage estimate in each landscape, for both the whole species group and for the rare species group. The coverage estimate represents the estimated fraction of the entire population of individuals in the community that belong to the species represented in the sample (Chao & Lee 1992, Chao et al. 2000).

We explored the segregation of mosquito species along the land use variables with a partial canonical correspondence analysis (pCCA). The pCCA is a multivariate multiple linear model, where the Site x Species abundance matrix is the response and an environmental data matrix is the predictor. It results in gradient axes constrained as linear combinations of the environmental variables, with species ordered along the canonical axes allowing for easy ecological interpretation of their assemblages (ter Braak 1987, Borcard et al. 2011). pCCA also allows that some of the environmental covariables be partialled out to assess the effect of the predictor variables in the model (Borcard et al. 2011). We used a pCCA using the Site x Species abundance matrix as the response, an environmental matrix consisting of the following predictor variables: dense ombrophilous forest, secondary growth vegetation, medium density urbanization, lowland and water body, and an environmental matrix with agriculture and pasture as covariables. Preliminary analysis showed that each environmental variable was highly correlated ( $> 0.75$ ) to each other across buffer sizes.

We used generalized linear models (GLM) with a Bernoulli distribution to model the probability of occurrence of the most abundant species using two types of models. The first model was composed by a binary outcome of presence/absence of the species in each collection point, and as explanatory variables landscape (a categorical variable with three levels: Urban, Periurban and Rural), city (categorical with two levels: Cachoeiras de Macacu and Itaboraí), and one continuous variable representing a Gradient as measured by the first canonical axis of the pCCA (Urban-Forest Gradient). A second model was constructed with the same formula, but with an additional quadratic term for the Urban-Forest Gradient to allow for an edge effect for those species whose abundance are higher at intermediary areas between highly urbanized and highly forested habitats (Honorio et al. 2009, Reiskind et al. 2017). We also tested interactions between the explanatory variables, but none were maintained in the final models. All models were constructed using INLA (Rue et al. 2009).

### 3.1.3 Results

#### 3.1.3.1 Species distribution, richness and diversity

A total of 13,462 adult mosquitoes were collected during both study years and along the six surveyed areas. These are distributed along 2 subfamilies, 10 genera and 41 species (Table 1). A total of 46 individuals could not be identified to species level due to damage to relevant morphological characteristics. The following genus were collected and presented in order of abundance: *Culex* (89.84%), *Aedes* (9.06%), *Limatus* (0.51%), *Uranotaenia* (0.28%), *Mansonia* (0.08%), *Coquillettia* (0.07%), *Psorophora* (0.06%), *Wyeomyia* (0.06%), *Anopheles* (0.04%), *Haemagogus* (0.01%). Of the 41 collected species, 13 were considered abundant (> 10 collected individuals during the whole study) and 28 were considered rare (< 10 collected individuals). Of the 28 identified rare species, 12 had only one collected individual. The most abundant species were, in order: *Culex quinquefasciatus* (88.38%), *Aedes aegypti* (3.27%), *Aedes albopictus* (2.93%), *Aedes scapularis* (1.92%), *Culex bidens/interfor* (0.60%), *Aedes fluviatilis* (0.55%), *Culex* (Coronator Group) (0.4%), *Limatus durhamii*

(0.35%), *Aedes serratus* and *aenigmaticus* (0.31%), *Uranotaenia lowii* (0.2%), *Culex declarator* (0.16%), *Culex chidesteri* (0.16%) and *Limatus paraensis* (0.11%) (Table 3.1.1).

**Table 3.1.1.** Absolute (N) and relative abundance (%) of collected mosquitos by species, in the three landscapes (Urban, Periurban and rural) in the years of 2015 and 2016, in Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, RJ.

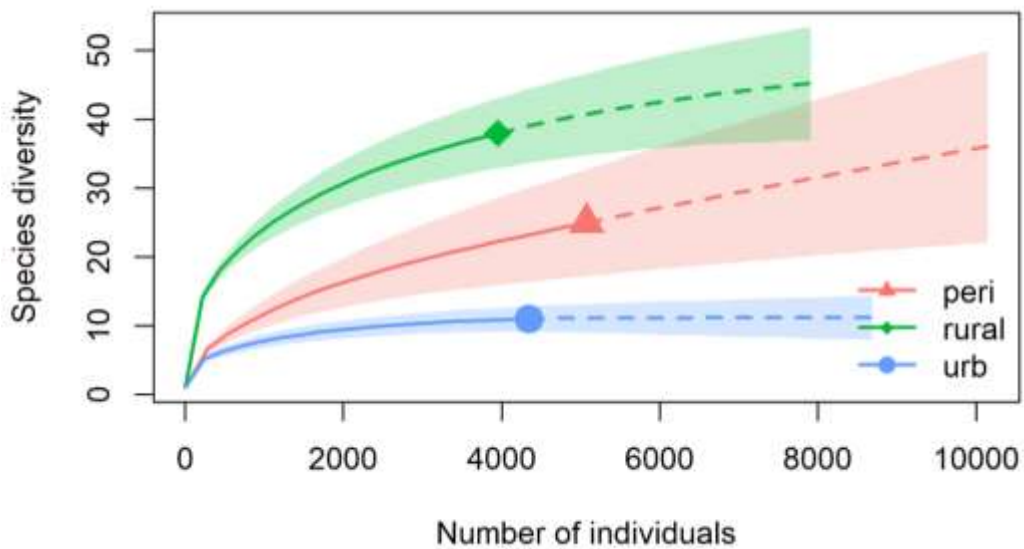
Genus	Species	N	%
<i>Aedes</i>	( <i>Stg.</i> ) <i>aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	439	3.27
	( <i>Stg.</i> ) <i>albopictus</i> (Skuse, 1895)	393	2.93
	( <i>Och.</i> ) <i>scapularis</i> (Rondani, 1948)	258	1.92
	( <i>Och.</i> ) <i>fluviatilis</i> (Lutz, 1904)	74	0.55
	( <i>Och.</i> ) <i>serratus</i> (Theobald, 1901) and <i>aenigmaticus</i> Cerqueira & Costa, 1946	42	0.31
	( <i>Och.</i> ) <i>hastatus</i> Dyar, 1922 and <i>serratus</i> (Theobald, 1901) and <i>oligopistus</i> Dyar, 1918	6	0.04
	( <i>Och.</i> ) <i>taeniorhynchus</i> (Wiedemann, 1821)	3	0.02
<i>Anopheles</i>	( <i>Nys.</i> ) <i>albitarsis</i> Lynch Arribálzaga, 1878	2	0.01
	( <i>Nys.</i> ) <i>rangeli</i> Gabaldon, Cova-Garcia & Lopez, 1940	2	0.01
	( <i>Ano.</i> ) <i>intermedius</i> (Chagas, 1908)	1	< 0.01
	sp.	1	< 0.01
<i>Coquillettidia</i>	( <i>Rhy.</i> ) <i>venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	4	0.03
	( <i>Rhy.</i> ) <i>shannoni</i> (Lane & Antunes, 1937)	4	0.03
	( <i>Rhy.</i> ) <i>hermanoi</i> (Lane & Coutinho, 1940)	1	< 0.01
<i>Culex</i>	( <i>Cux.</i> ) <i>quinquefasciatus</i> Say, 1823	11857	88.38
	( <i>Cux.</i> ) <i>bidens/interfor</i> Dyar, 1922/Dyar, 1928	81	0.6
	( <i>Cux.</i> ) Coronator Group Dyar & Knab, 1906	54	0.4
	( <i>Cux.</i> ) <i>declarator</i> Dyar & Knab, 1906	22	0.16
	( <i>Cux.</i> ) <i>chidesteri</i> Dyar, 1921	21	0.16

	<i>(Cux.) nigripalpus</i> Theobald, 1901	9	0.07
	<i>(Phc.) corniger</i> Theobald, 1903	1	< 0.01
	<i>sp.</i>	8	0.06
<i>Haemagogus</i>	<i>(Con.) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	1	< 0.01
<i>Limatus</i>	<i>durhamii</i> Theobald, 1901	47	0.35
	<i>paraensis</i> (Theobald, 1903)	15	0.11
	<i>pseudomethisticus</i> (Bonne-Wepster & Bonne, 1920)	6	0.04
<i>Mansonia</i>	<i>(Man.) titillans</i> (Walker, 1848)	5	0.04
	<i>(Man.) wilsoni</i> (Barreto & Coutinho, 1944)	4	0.03
	<i>(Man.) indubitans</i> Dyar & Shannon, 1925	2	0.01
<i>Psorophora</i>	<i>(Jan.) ferox</i> (Von Humboldt, 1819)	4	0.03
	<i>(Gra.) cingulata</i> (Fabricius, 1805)	1	< 0.01
	<i>(Jan.) circumflava</i> Cerqueira, 1943	1	< 0.01
	<i>(Jan.) discruciens</i> (Walker, 1856)	1	< 0.01
	<i>(Jan.) forceps</i> Cerqueira, 1939	1	< 0.01
<i>Uranotaenia</i>	<i>(Ura.) lowii</i> Theobald, 1901	27	0.2
	<i>(Ura.) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	6	0.04
	<i>(Ura.) geometrica</i> Theobald, 1901	3	0.02
	<i>(Ura.) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	1	< 0.01
<i>Wyeomyia</i>	<i>(Pho.) fuscipes</i> Edwards, 1922	3	0.02
	<i>(Wyo.) pertinans</i> (Williston, 1896)	2	0.01
	<i>(Den.) luteoventralis</i> Theobald, 1901	1	< 0.01
	<i>(Wyo.) medioalbipes</i> Lutz, 1904	1	< 0.01
	<i>(Pho.) theobaldi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	1	< 0.01
<b>TOTAL</b>		<b>13416</b>	<b>100</b>

Species richness in each landscape was estimated using the total number of mosquitoes collected as samples (Figure 3.1.3). Mean rarefied species richness showed an increase when moving into the Rural landscape.



For this index, Periurban landscapes had slightly lower medians than Urban landscapes. Variability was higher in Periurban and Rural landscapes when compared to the Urban (Table 3.1.2). There was a significant association between rarefied species richness and landscape ( $F_{2,81}=4.107$ ,  $p<0.05$ ), with post-hoc analysis showing significant difference only when comparing the Urban and Rural landscapes ( $p < 0.05$ ) (Figure 3.1.4).

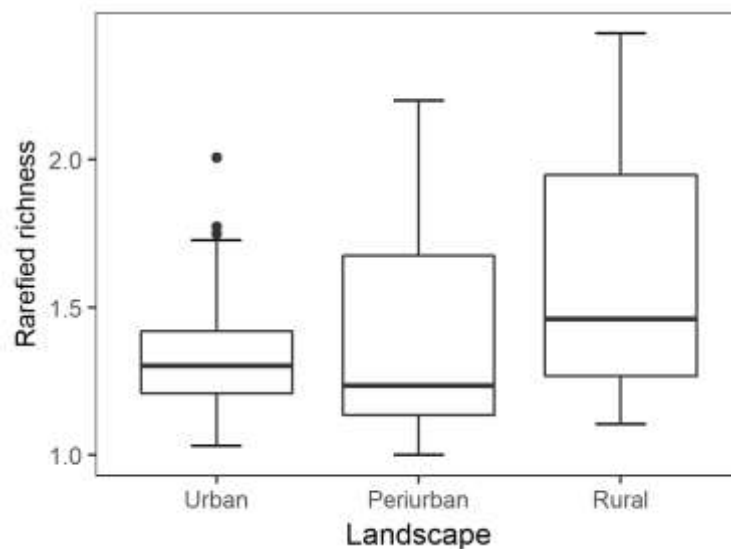


**Figure 3.1.3.** Individual-based interpolation (solid lines) and extrapolation (dashed lines) from reference samples in the three different landscapes with 95% confidence intervals. Blue = Urban landscape, red = Periurban landscape, green = Rural landscape.

**Table 3.1.2.** Descriptive statistics of the different measured ecological indexes: species richness, Shannon-Weiner, Simpson, rarefaction, Chao1-bc and ACE-1.

Indexes	Rarefied species richness	
	Mean (SD)	Median
Urbana	1.34 (0.24)	1.30
Periurbana	1.42 (0.37)	1.23

Indexes	Chao1-bc		ACE-1	
Landscape	Mean (SE)	CI95	Mean (SE)	CI95
Urbana	11.00 (0.77)	11.00-13.48	11.78 (1.44)	11.07-19.50
Periurbana	64.99 (30.44)	36.09-176.73	62.17 (28.93)	35.12-169.50
Rural	47.16 (7.38)	40.29-74.65	49.12 (8.37)	40.99-79.35



**Figure 3.1.4.** Boxplots of mean rarefied species richness in each landscape type (Urban, Periurban and Rural).

In the Urban landscape, 11 species were observed, matching the expected species richness based on Chao1-bc and ACE-1 estimates (respectively 11 and 12 species, Table 3.1.2). A total of 4 species were considered abundant (summing 4,322 individuals) and 7 species were considered rare (totaling 27 individuals) (Table 3.1.3). In the Periurban landscape, 26 species were observed, a number lower than the Chao1-bc (65 species, CI95: 36-177) and ACE-1 estimates (62 species, CI95: 35-170) (Table 3.1.2). There were 5 abundant species and 21 rare species (respectively totaling 5,067 and 45 individuals) (Table 3.1.3). In the Rural landscape, we observed 38 species, slightly lower than the estimated by the Chao1-bc (47

species, CI95: 40-75) and ACE-1 estimators (49 species, CI95: 41-79) (Table 3.1.2). A total of 13 species were abundant and 25 were rare in this landscape (respectively 3,897 and 58 individuals) (Table 3.1.3). CV values for each landscape were high, reflecting high heterogeneity in species abundances (Table 3.1.3). Sampling coverage efficiency was estimated to be 1.0, 0.997 and 0.997 for the Urban, Periurban and Rural landscapes respectively. When taking into account only the rare species, sampling efficiency was lower: 0.963, 0.711 and 0.81, representing the estimated fraction of the entire population of mosquitos in the community that belong to the species represented in the sample.

**Table 3.1.3.** Absolute numbers of mosquito species collected in each landscape (Urban, Periurban and Rural) in the years of 2015 and 2016 in Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, RJ. <sup>a</sup> indicates an abundant species (> 10 collected specimens) and <sup>b</sup> indicates an rare species (< 10 collected specimens).

Species	Urban	Periurban	Rural
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i>	221 <sup>a</sup>	145 <sup>a</sup>	73 <sup>a</sup>
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i>	75 <sup>a</sup>	108 <sup>a</sup>	210 <sup>a</sup>
<i>Ae. (Och.) fluviatilis</i>	10 <sup>b</sup>	12 <sup>a</sup>	52 <sup>a</sup>
<i>Ae. (Och.) hastatus</i> and <i>serratus</i> and <i>oligopistus</i>	0	1 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	60 <sup>a</sup>	45 <sup>a</sup>	153 <sup>a</sup>
<i>Ae. (Och.) serratus</i> and <i>aenigmaticus</i>	0	2 <sup>b</sup>	40 <sup>a</sup>
<i>Ae. (Och.) taeniorhynchus</i>	2 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	0
<i>An. (Nys.) albitarsis</i>	0	0	2 <sup>b</sup>
<i>An. intermedius</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>An. rangeli</i>	0	1 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
<i>An. sp. 1</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i>	0	1 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>
<i>Cq. hermanoi</i>	0	1 <sup>b</sup>	0

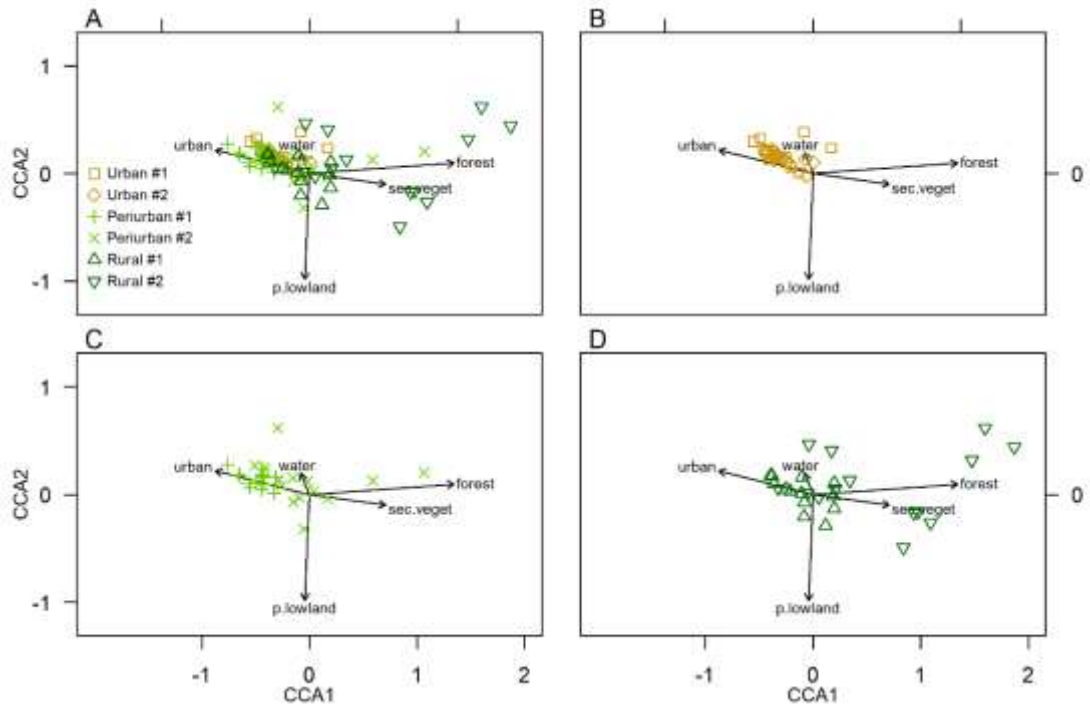
<i>Cq. shannoni</i>	0	3 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
<i>Cx. (Phenacomyia) corniger</i>	0	1 <sup>b</sup>	0
<i>Cx. bidens/interfor</i>	5 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	69 <sup>a</sup>
<i>Cx. chidesteri</i>	0	1 <sup>b</sup>	20 <sup>a</sup>
<i>Cx. Coronator Group</i>	0	1 <sup>b</sup>	53 <sup>a</sup>
<i>Cx. declarator</i>	5 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	13 <sup>a</sup>
<i>Cx. nigripalpus</i>	1 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	3966 <sup>a</sup>	4757 <sup>a</sup>	3134 <sup>a</sup>
<i>Cx. sp. 1</i>	0	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>
<i>Hg. leucocelaenus</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Li. durhamii</i>	2 <sup>b</sup>	6 <sup>b</sup>	39 <sup>a</sup>
<i>Li. paraensis</i>	0	0	15 <sup>a</sup>
<i>Li. pseudomethisticus</i>	2 <sup>b</sup>	0	4 <sup>b</sup>
<i>Ma. indubitans</i>	0	0	2 <sup>b</sup>
<i>Ma. titillans</i>	0	3 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
<i>Ma. wilsoni</i>	0	1 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>
<i>Ps. cingulata</i>	0	1 <sup>b</sup>	0
<i>Ps. circumflava</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Ps. discrucians</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Ps. ferox</i>	0	0	4 <sup>b</sup>
<i>Ps. forceps</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Ur. calosomata</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Ur. geometrica</i>	0	1 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
<i>Ur. lowi</i>	0	1 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>
<i>Ur. pulcherrima</i>	0	0	6 <sup>b</sup>
<i>Wy. (Phoniomyia) fuscipes</i>	0	0	3 <sup>b</sup>
<i>Wy. luteoventralis</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Wy. medioalbipes</i>	0	0	1 <sup>b</sup>
<i>Wy. pertinans</i>	0	0	2 <sup>b</sup>

<i>Wy. theobaldi</i>	0	1 <sup>b</sup>	0
Total number of collected mosquitos	4349	5112	3955
Total number of collected species	11	26	38
Coefficient of Variance (CV)	2.861	4.648	4.81
Sampling coverage (all species)	1	0.997	0.997
Sampling coverage (rare species)	0.963	0.711	0.81

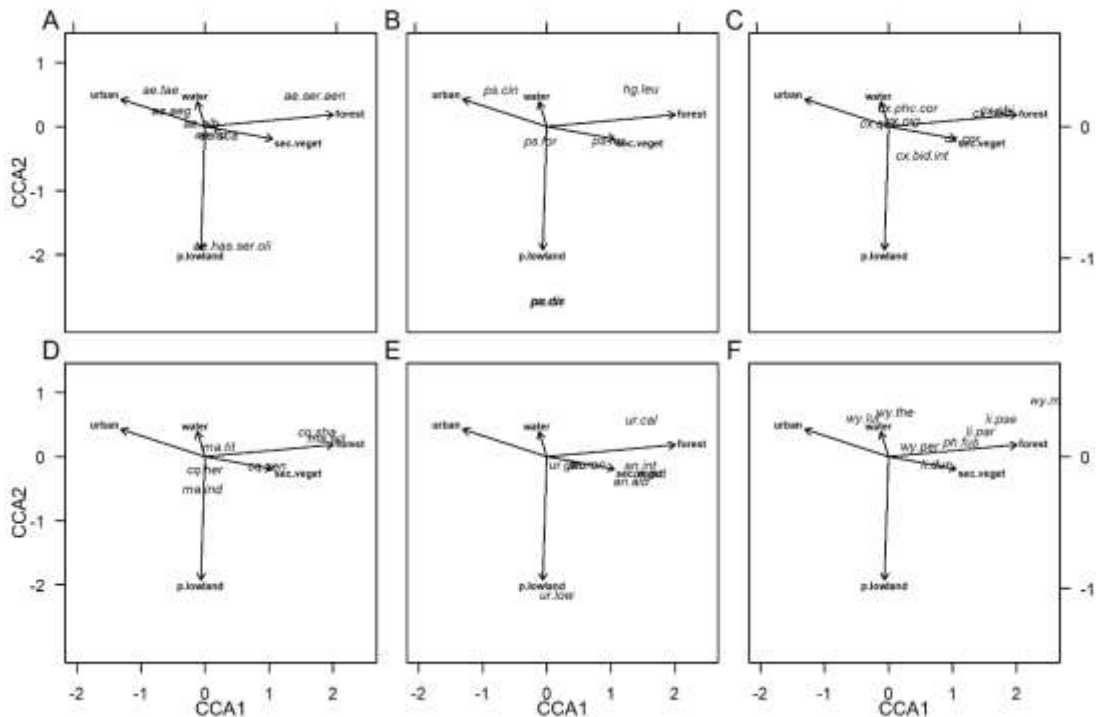
### 3.1.3.2 Partial Canonical Correspondence Analysis

pCCA results showed that the five environmental predictor variables explained a significant amount of variation in the data after controlling by the two covariables (ANOVA test with 999 permutations;  $F_{5,76}=3.8523$ ,  $p < 0.001$ ). The environmental set of variables explained 19.35% of variation in the abundance data. The first canonical axis accounted for 44.49% of the total explained variation (eigenvalue: 0.25219,  $p$ -value  $< 0.001$ ), while the second canonical axis accounted an additional 25.95% of the explained variance (eigenvalue: 0.14710,  $p$ -value  $< 0.05$ ). Together, the first two canonical axes accounted for 70.44% of the explained variance. Both canonical axes represent two distinct environmental gradients. The first axis represents a gradient of increasingly higher tree density and lower urbanized areas, going from urbanized (left) to forested (right) sites. The second axis represents a gradient of potential waterbodies, going from lowlands (right) to water bodies (right) like rivers, lakes, etc (Figure 3.1.5). Mosquito species were segregated along both canonical axes, with more pronounced segregation along the Urban-Forest gradient (Figure 3.1.6). The great majority of mosquitos showed higher association with forested habitats. Among *Aedes*, *Ae. aegypti* was clearly associated with urban habitats; *Ae. fluviatilis* and *Ae. scapularis* with some degree of association with mixed habitats with secondary growth vegetation and lowlands. The species from the Serratus Group showed differing habitat segregation: *Ae. serratus* and *aenigmaticus* were strongly related to forest habitats, while *Ae. hastatus* and *serratus* and *oligopistus* were strongly related to lowlands. *Aedes taeniorhynchus* showed association with urban habitats and

water bodies, while *Ae. albopictus* was not associated with any kind of habitat. From the other aedine species, *Ps. ferox* was clearly associated with secondary growth habitats, while *Hg. leucocelaenus* was associated with forested habitats with some degree of proximity to water bodies. *Psorophora circumflava*, *Ps. discrucians* and *Ps. forceps* were more frequent in lowlands, while *Ps. cingulata* was associated with urban habitats and water bodies. Regarding the *Culex* genus, *Cx. chidesteri* and *Cx. Coronator* Group were more frequent in secondary growth vegetation, *Culex bidens/interfor* was associated to mixed habitats between lowlands and secondary growth vegetation. *Culex corniger* had mild association with mixed habitats of forest and water bodies, while *Cx nigripalpus* and *Cx. quinquefasciatus* did not have any habitat association. Of the Mansonini tribe, *Ma. indubitans* and *Cq. hermanoi* were more frequent to lowlands, *Cq. venezuelensis* in secondary growth vegetation, while *Cq. shannoni* and *Ma. wilsoni* were associated to forested habitats. *Mansonia titillans* had mild association with forested habitats. All three anofeline species observed, *An. albitarsis*, *An. intermedius* and *An. rangeli*, were associated to secondary growth vegetation. Of the *Uranotaenia* species, *Ur. lowi* was more frequent in lowland habitats, *Ur. geometrica* e *Ur. pulcherrima* in secondary growth vegetation and *Ur. calosomata* to forested habitats with some degree of association also to water bodies. Regarding the Sabethini, *Li. durhamii* was more frequent in secondary growth vegetation, while *Li. paraensis*, *Li. pseudomethisticus*, *Wy. fuscipes*, *Wy. medioalbipes* and *Wy. pertinans* were associated to forested habitats. *Wyeomyia luteoventralis* and *Wy. theobaldi* were associated to water bodies (Figure 3.1.6).



**Figure 3.1.5.** Partial canonical correspondence analysis showing a) all collection sites along the first two canonical axes, b) urban, c) periurban and d) rural collection sites. Colors and shapes denote landscape and areas, respectively: yellow for Urban, lightgreen for Periurban and darkgreen for Rural sites.



**Figure 3.1.6.** Mosquito species distribution by genus with respect to measured environmental variables along the first two canonical axes. a) *Aedes*, b) *Haemagogus* and *Psorophora*, c) *Culex*, d) *Mansonia* and *Coquillettidia*, e) *Anopheles* and *Uranotaenia*, and f) *Limatus* and *Wyeomyia*.

### 3.1.3.3 Generalized linear models

Of all 41 collected species, it was possible to fit binomial models for eight species, whose presence in the 84 collection sites ranged from 84 (*Cx. quinquefasciatus*) to 10 (*Cx. declarator*). It was possible to fit models for four *Aedes* species (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. fluviatilis* and *Ae. scapularis*), three *Culex* species (*Cx. bidens/interfor*, *Cx. declarator* and *Cx. quinquefasciatus*) and one *Limatus* (*Li. durhamii*). Linear models were chosen for *Ae. aegypti*, *Ae. fluviatilis*, *Cx. declarator* and *Cx. quinquefasciatus*. Quadratic models were chosen for *Ae. scapularis*, *Cx. bidens/interfor* and *Li. durhamii* (Table 3.4). *Aedes aegypti* was the only species highly associated with Urban landscape, with Odds Ratio (OR) significantly lower for Periurban and Rural landscapes. It was also highly associated with the city of Itaboraí and had an inverse relationship with the Urban-Forest Gradient. Predictions along the

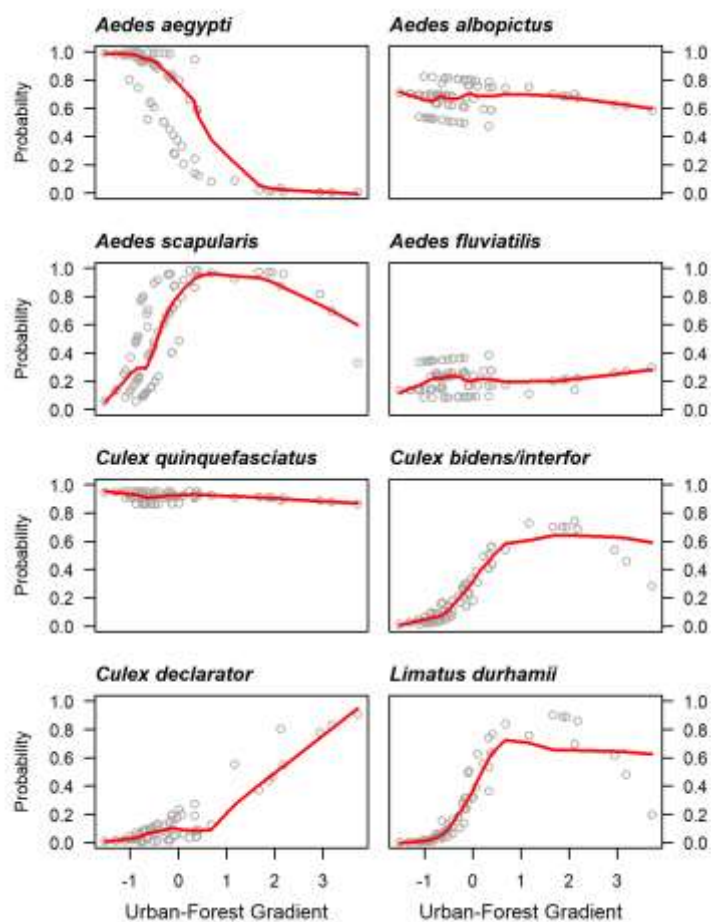


Gradient shows high probability in urbanized sites, which rapidly decreases when urbanization lowers, reaching near zero probability in forested sites. *Aedes albopictus* was not associated with any of the measured variables, with predictions showing a relatively constant presence of this species across the Urban-Forest Gradient. The same pattern was observed for *Aedes fluviatilis*, which was not associated to any variables and had a constant prediction along the Gradient. *Aedes scapularis*, was more associated in the Periurban and Rural landscapes when compared to the Urban and was highly associated with the city of Itaboraí. The pattern of distribution for this species shows a clear preference for intermediate sites between highly urbanized and highly forested. *Culex bidens/interfor* and *Culex declarator* were only associated with the Urban-Forest Gradient, with the first species showing an edge effect more towards forested sites, and the second one being more present in intermediate and highly forested sites. *Culex quinquefasciatus* was the more abundant and present species of the study, which might explain why none of the measured variables were significant. Its prediction along the Gradient shows a high probability of presence at all values. Finally, *Li. durhamii* was only associated with the Gradient, showing an edge effect at intermediate sites (Table 3.4 and Figure 3.1.7).

**Table 3.1.4.** Odds-Ratio for the binomial generalized linear models for the presence/absence of eight mosquito species. Entries in bold indicate statistical significance. NA in the quadratic term indicates that this effect was dropped from the final model.

	Landscape			City	Urban-Forest Gradient	
	Intercept	Periurban	Rural	Itaboraí	Linear	Quadratic
<i>Aedes aegypti</i>	5.412 (0.831, 60.331)	<b>0.088</b> ( <b>0.007, 0.692</b> )	<b>0.041</b> ( <b>0.002, 0.449</b> )	<b>13.892</b> ( <b>2.403, 111.246</b> )	<b>0.119</b> ( <b>0.017, 0.586</b> )	NA
<i>Aedes albopictus</i>	2.103 (0.858, 5.493)	2.033 (0.653, 6.631)	1.636 (0.445, 6.331)	0.448 (0.147, 1.299)	0.803 (0.436, 1.511)	NA
<i>Aedes fluviatilis</i>	<b>0.299</b> ( <b>0.100, 0.798</b> )	0.283 (0.060, 1.113)	0.607 (0.133, 2.552)	1.894 (0.561, 6.923)	1.180 (0.557, 2.345)	NA

<i>Aedes</i>	0.928	<b>4.150</b>	<b>12.972</b>	<b>4.596</b>	<b>12.289</b>	<b>0.390</b>
<i>scapularis</i>	(0.270, 3.082)	<b>(1.194, 15.892)</b>	<b>(2.317, 97.793)</b>	<b>(1.210, 19.967)</b>	<b>(3.489, 53.478)</b>	<b>(0.232, 0.609)</b>
<i>Culex</i>	<b>0.174</b>	3.029	1.909	1.824	<b>10.720</b>	<b>0.517</b>
<i>bidens/interfor</i>	<b>(0.027, 0.822)</b>	(0.498, 23.384)	(0.310, 14.288)	(0.403, 9.127)	<b>(2.952, 46.839)</b>	<b>(0.313, 0.797)</b>
<i>Culex</i>	0.253	0.777	0.148	0.365	<b>5.555</b>	NA
<i>declarator</i>	(0.042, 1.102)	(0.089, 6.549)	(0.006, 2.234)	(0.027, 3.088)	<b>(2.121, 18.169)</b>	
<i>Culex</i>	<b>7.052</b>	1.99 (0.498,	2.145	1.689	0.932	NA
<i>quinquefasciatus</i>	<b>(2.825, 18.934)</b>	9.06)	(0.448, 11.735)	(0.465, 6.464)	(0.449, 2.133)	
<i>Limatus</i>	0.399	1.307	3.551	0.514	<b>19.037</b>	<b>0.378</b>
<i>durhamii</i>	(0.064, 1.879)	(0.169, 11.186)	(0.563, 28.112)	(0.094, 2.591)	<b>(4.426, 105.926)</b>	<b>(0.204, 0.634)</b>



**Figure 3.1.7.** Species predictions of presence/absence along the Urban-Forest Gradient measured by the partial canonical correspondence analysis.

High values at the right side shows preference for urbanized habitats, high values at the left side shows preference for forested habitats. High values in the middle shows preference for intermediate or edge habitats.

### 3.1.4 Discussion

In this study, our aim was to quantify the mosquito species along a complex urban-rural gradient and relate their occurrence to landscape features, to better understand species distribution and potential disease risk to human populations in these heterogeneous landscapes. We performed a two-year entomological survey in two cities in Rio de Janeiro State, surveying three different landscapes classified according to human occupation: Urban, Periurban and Rural areas. We collected 13,462 adult mosquitos distributed along 10 genera and 41 species in two years of entomological survey. Using the rarefied species richness index, we found a significant relationship between species richness and landscape, although comparison showed that only Urban and Rural landscapes were significantly different. Changes in mosquito diversity are related to human presence, with anthropogenic environmental disturbance, such as deforestation, urban development, and agriculture being suggested as important factors driving changes in disease vector distribution (Patz et al. 2004). In fact, these changes in land use are responsible for a cascade of events that modulates infectious disease emergence, such as forest fragmentation, disease introduction and human migration (Morens et al. 2004). For example, Conn et al. (2002) showed that alterations in land use were a probable explanation for the emergence and increase in abundance of another malaria vector in the Amazonian region, the *Anopheles marajoara*, which showed a significantly higher proportion of infected individuals than *Anopheles darlingi*, the main vector in the region.

In our study, the number of species increased across landscapes: 11 species were observed in the Urban landscape, 26 species were collected in the Periurban, and 38 species were collected in the Rural landscape. This was followed by the number of rare species (those with fewer than 10 individuals in total): 7, 21 and 25 rare species respectively for the Urban, Periurban and Rural

landscapes. Changes in vegetation structure and water sources might be modulating this increase in number of species across gradients, probably by affecting the presence and stability of habitats (Fischer and Schweigmann 2004, Muturi et al. 2006). Aquatic habitats where immature mosquitos develop can be roughly divided into two groups: transient and permanent (Juliano 2009). The former group, where both natural or artificial containers are found, can be defined as transient and unstable and will typically favor species with faster growth and development for the transient ones, where interspecific competition will usually control community structure. In the latter group are found habitats usually more stable and progressively increasing in size. In these habitats, a larger number of species can persist, where predation will usually be the main driving force for community structure control (Wellborn 1996, Juliano 2009).

Anthropogenically altered landscapes are more likely to limit mosquito habitats to transient ones, usually in artificial containers or stagnant pools of water, where fewer species will be able to colonize and maintain populations (Fischer and Schweigmann 2004, Norris 2004). In fact, studies show the negative impact of human alteration in landscapes and mosquito community composition. Johnson et al. (2008) conducted an entomological survey for two months in the peruvian amazon region, where they collected more than 15,000 mosquitoes belonging to 10 genera and 48 species, with *Culex* being the most diverse genus in general, which was a similar finding in our study. They also found a significant effect of landscape on mosquito diversity, with an increasing number of species from urban to rural areas (Johnson et al. 2008). Cox et al. (2007) also found an increased number of native species in less disturbed habitats, as forests, relating *Ae. aegypti* to areas of high-density housing inside urban areas and *Cx. quinquefasciatus* to low-density housing areas in periurban areas. In our study, there was a clear preference of *Ae. aegypti* to urban areas, as evidenced by the pCCA analysis, but we found no habitat relationship for *Cx. quinquefasciatus*, probably because it was the most present and abundant throughout the whole study area, even though it was more abundant in the Periurban landscape. These results are also supported by the GLM analysis. *Aedes aegypti* was negatively associated with Periurban and Rural landscape but was also negatively associated with the Urban-Forest gradient, with

probability of presence decreasing rapidly when moving away from the most urbanized collection sites (left) to forested ones (right). *Culex quinquefasciatus* was not associated with any variable used in the GLM, probably because it was the most abundant species and uniformly distributed all over the study area.

The segregation of mosquito species along an environmental gradient was well illustrated by the results of the pCCA. The first axis represented an Urban-Forest gradient, measuring highly urbanized areas to the left all the way to the right, where forested and secondary growth areas are depicted. There is a clear relationship of *Ae. aegypti* with urban areas, and both *Ae. taeniorhynchus* and *Ps. cingulata* showed preference for urbanized areas near waterbodies. This pattern of association for *Ae. aegypti* is not new, a highly endophilic mosquito found in close association with humans (Christophers 1960). Other studies have shown *Ae. aegypti* associated with areas of high human density and high housing density, with low to none vegetation cover (Braks et al. 2003, Cox. et al. 2007, Honório et al. 2009). *Psorophora cingulata* are found colonizing a variety of breeding sites on the ground, usually in open or shaded areas inside forests and pastures (Belkin et al. 1965, Heinemann & Belkin 1978, Méndez et al. 2001). It has been found in open areas elsewhere in Brazil (Forattini et al. 1986) and was found coexisting with *Ae. aegypti* in artificial containers during an entomological survey in an urban area in southern Brazil (Lopes et al. 1993). All these findings show a remarkable capacity of *Ps. cingulata* to be found in a wide variety of habitats. However, any conclusions that could be made by our results should be taken with caution, since we found a low number of specimens of this species. The saltmarsh mosquito *Ae. taeniorhynchus* has been associated with saline groundwater breeding sites usually near the coastal line, which is the case of our study area (Nielsen & Nielsen 1953). It is also a known vector of Eastern Equine Encephalitis Virus (Figueiredo 2007) and Venezuelan Equine Encephalitis Virus (Weaver et al. 2004). Despite being known for its flight range exceeding several kilometers, the low number of specimens collected in our study are not sufficient to make any assumptions of its habitat preferences that are not yet discussed elsewhere (Nielsen & Nielsen 1953, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

The majority of the other species segregated along forest and secondary growth areas, especially *Anopheles* and *Uranotaenia*, most Sabethini and some *Culex* and Mansoniini, which might be an indicative of these species preference for habitats with less to none human interference. Of the species associated with secondary growth areas, *Ae. fluviatilis* and *Ae. scapularis* have been found in higher number at the Rural landscape, with the later species showing a high number of individuals in the Urban landscape. *Aedes fluviatilis* is a highly anthropophilic mosquito found frequently in periurban and rural areas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994) and has shown the capacity to adapt to human changes in the environment, being the most common species found in dam areas (Gomes et al. 2009) and in urban forests (Medeiros-Sousa et al. 2013, Ceretti-Junior et al. 2015). It has been found coexisting with *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in the same artificial containers in urban areas (Lopes et al. 1993) and vegetated border areas and urban forests (Ceretti-Junior et al. 2015, Camara et al. 2016). Knowledge of its epidemiological importance for arbovirus transmission is limited, although it might be considered a potential Yellow Fever Virus vector (Davis & Shannon 1931). *Aedes scapularis* is classically a sylvatic mosquito that breeds in transient and semi-permanent breeding sites, mostly ground pools, animal holes and rocks (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Dorvillé 1996). However, it is a common mosquito in urban and periurban areas, showing great capacity to adapt to human altered environments (Forattini et al. 1997), where they frequently enter human dwellings to feed (Klein et al. 1992). It is found in artificial containers in urban areas (Silva & Menezes 1996), even coexisting with *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in such occasions (Forattini et al. 1997, Camara et al. 2016). It is a mosquito with great epidemiological importance. It was a suspected vector of Rocio Virus in southeast Brazil, when a outbreak occurred in the 1970s in which more than 1,000 human cases were reported, with hundreds of deaths and sequelae cases (Iverson 1980). It is also a potential vector of several arboviruses, such as Venezuelan Equine Encephalitis (Mitchell et al. 1985), Ilhéus (Pauvolid-Correa et al. 2013) and Melao (Spence et al. 1962). GLM results for *Ae. fluviatilis* did not show any significant variables, which might be related to the low number of specimens found throughout the study area. *Aedes scapularis*, however, had a positive

relationship with the Periurban and Rural landscapes. Its relationship with the quadratic term in the GLM was reflected in the low probability of presence in both highly urbanized and forested sites, but a higher probability of presence in intermediate sites.

Other mosquitoes with habitat preference to secondary growth areas were *Li. durhamii*, *Cx. coronator* and *Cq. venezuelensis*. *Limatus durhamii* is a Sabethini typical of rural and sylvatic areas, where it colonizes different natural breeding sites, such as fruit peels, leaves, palm spadices and hollow trees (Lane & Cerqueira 1942). It is also commonly found colonizing artificial containers in many periurban and rural areas, typically inside urban forests and in forest fringe areas, where it can coexist with *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* (Lourenço-de-Oliveira et al. 1986, Lopes 1997, Camara et al. 2016), but also in urban areas (Lopes et al. 1993, Honorio et al. 2001). Immatures of these species were also found in highly eutrophic landfill tank in Brazil (Alencar et al. 2013). While *Li. durhamii* was not associated with the landscape variable, GLM results shows a relationship with the Urban-Forest gradient variable. This quadratic relationship was evidenced by the higher probability of presence for this species in intermediate sites between highly urbanized and highly forested. The Coronator Group comprises six morphologically similar species, of which *Cx. coronator* has the widest distribution and is of significant epidemiological importance (Forattini 2002). Specimens were found naturally infected with Saint Louis virus, Venezuelan Equine Encephalitis virus, and West Nile virus (Unlu et al. 2010). It is found in from urban to sylvatic areas, occurring in different larval habitats that vary from natural to artificial (Pecor et al. 2002), and also in anthropic environments (Ribeiro et al. 2012). Some species with epidemiological importance were found in low numbers and were considered rare in our study (> 10 individuals collected). *Anopheles rangeli*, *An. intermedius* and *An. albitarsis* have varying epidemiological importance in plasmodium transmission, with the former being an important secondary vector in the amazon region (Rosa-Freitas et al. 1998, Quiñones et al. 2006, Dufour et al. 2012), and were collected mainly in the Rural landscape, despite one specimen of *An. rangeli* being collected in the Periurban landscape. *Psorophora ferox* is a widely distributed mosquito, usually associated with forested habitats, and was

only collected in the Rural landscape in our study (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

With the exception of *Ae. serratus* and *aenigmaticus*, *Cx. chidesteri*, *Cx. declarator* and *Li. paraensis*, most of the species with habitat association for the forest were considered rare species. This was particularly true for specimens of the Sabethini tribe. Species of this tribe are known for their sylvatic behaviour, with the majority of the species developing in phytotelmata and other natural containers, such as leaves, fruit peels, tree holes, and others (Lance & Cerqueira 1953). While some species of Sabethes are implied as vectors of Yellow Fever Virus, the role of other Sabethini species in arboviruses transmission remains to be understood (Tauil 2010). *Haemagogus leucocelaenus* was also a rare species associated with forest habitats, probably reflecting its sylvatic behavior. It is one of the main vectors of Yellow Fever Virus in the Americas, and is an anthropophilic species known for its capacity to adapt to human altered environments (Marcondes & Alencar 2010). Several studies report its presence in forests with various degrees of degradation and near human dwellings (Roberts et al. 1984, Vasconcelos et al. 2003), being the most abundant species found in several localities during an outbreak of yellow fever in Brazil (Camargo-Neves et al. 2005). *Culex chidesteri* and *Cx. declarator* were related to forested habitats. The first has been found in urban forests and forest fragments near urbanized areas (Forattini et al. 1973, Dibo et al. 2011, Carvalho et al. 2017), and also in breeding sites in urban areas, such as flood containment reservoirs (Silvério & Urbinatti 2011). *Culex declarator* is a widely distributed ornithophilic mosquito which has been found naturally infected Saint-Louis Encephalitis Virus (Vasconcelos et al. 1991). In our study, we found significant relationship only with the Urban-Forest gradient variable in the GLM, showing an almost linear relationship between probability of presence and forested habitats. *Aedes serratus* and *aenigmaticus* was one of two species of the Serratus Group that were collected in our study, the other being *Aedes hastatus* and *serratus* and *oligopistus*. *Aedes serratus* was already found naturally infected with Yellow Fever Virus (Cardoso et al. 2010) and Saint-Louis Encephalitis Virus (Vasconcelos et al. 1991). This species is abundant in sylvatic and forested environments where their breeding sites are characterized



as temporary pools, but can also be found in secondary growth forests (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Additionally, this species does seem to be affected by modifications in the natural environment (Forattini et al. 1995). *Aedes hastatus and serratus and oligopistus*, the other species from the Serratus Group found in our study, was associated with lowland floodplains. Other species were more associated with this habitat, like *Cq. hermanoi*, *Ps. forceps*, *Ps. circumflava*, *Ps. discrucians* and *Ma. indubitans*, for which information on their biology and roles as potential vectors are limited other than they can be found inside forest fragments and near human altered environments in rural areas (Cardoso et al. 2010, Muller et al. 2012, Guedes & Navarro-Silva 2014).

Our study provides information on spatial distribution and segregation for 41 mosquito species, of which several are considered vectors of arbovirus to humans. Also of note is that our study provides information on habitat preferences for several rare mosquito species, many of which are lacking in information on biology and ecology in the scientific literature. The distribution of these species in a heterogeneous landscape is dynamic and complex, and further studies at this scale level should be taken into account in order to examine the possible role of each species in disease transmission. However, our study has some limitations. As our data was pooled for the whole period, it was not possible to study any temporal segregation of the collected species, which could further enhance the knowledge of their biology, ecology and role as potential vectors (Reiskind & Lounibos 2013). Also, we only made one collection in each season in each year for all surveyed areas. The low numbers found for some species that are known to occur in the area could be enhanced if more collections were made. This would probably impact on pCCA results and allow us to model other species or to have more concise information on some, which is the case of *Ae. albopictus*. Another point is that we used no climate information since the data was pooled. GLM and pCCA results could be greatly enhanced by climate data in a longitudinal study. Human impacts on the environment are important drivers for mosquito segregation along the landscape, potentially selecting species more prone to adapt to these impacts and increasing host-vector contact. This is an important problem in public health

since some of these species could be potentially transmitting arboviruses to human populations. In conclusion, the results reported here may provide valuable information for public health authorities by allowing the identification of priority areas for arbovirus surveillance and vector control actions.

## **Capítulo 3.2 - Comparação da eficácia de diferentes métodos de coleta para *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* e circulação de arbovírus em área endêmica para dengue, chikungunya e Zika**

**Referência bibliográfica:** Câmara DCP, Codeço CT, Pinel CS, Ayllón T, Campos RM, Rocha GP, Honorio NA 2018. Spatial Segregation of Mosquito Vectors in an Endemic Area for Dengue, Chikungunya and Zika. Comparison of different collection methods for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and arbovirus detection in an endemic area in Brazil.

**Situação do manuscrito:** Em fase de preparação.

**Este artigo atende ao objetivo específico 2 e 3 deste trabalho.**

### **Apresentação**

Este trabalho objetivou estudar a efetividade de diferentes métodos de coleta entomológica para captura de duas das mais importantes espécies de mosquitos vetores presentes no Brasil: *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, e a detecção de arbovírus em exemplares provenientes do campo destas espécies. Uma extensiva coleta entomológica foi realizada ao longo de um gradiente urbano-rural de paisagem complexa, utilizando diferentes métodos de coleta: armadilhas (Adultrap, BioGent-Sentinel e CDC-like) e aspiração (intra e peridomiciliar). Detecção molecular para os principais arbovírus circulantes no Brasil (os quatro sorotipos de DENV, além dos vírus DENV e ZIKV) foi realizada através de RT-qPCR.



**Foto 3.2.** Caçamba de caminhonete contendo as armadilhas e outros equipamentos de coleta utilizados durante a execução desta tese. Setembro de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.

### 3.2.1 Introduction

Epidemics of dengue, chikungunya, Zika and yellow fever are important public health problems in several countries, especially Brazil. The viruses that cause these diseases circulate in urban and peri-urban environments where *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) is considered the main vector and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) is a potential vector. All four viruses have originated elsewhere in the world and have been successfully introduced in the Americas (Gubler 1998, Weaver 2014, Honório et al. 2015, Musso & Gubler 2016), as both mosquito vectors have also been. *Aedes aegypti* is hypothesized to have been introduced in the Americas throughout the XV to XVII centuries aboard slave ships (Lounibos 2002, Powell & Tabachnick 2013). After a massive eradication program during the 1940s and 1950s, *Ae. aegypti* was considered eradicated in Brazil, only to reinfest it again in 1976 (Soper 1965, Löwy 1999, Braga & Valle 2007). *Aedes albopictus* was introduced in the Americas during the 1980s, being detected in the US in 1985 and in Brazil in 1986 (Forattini 1986, Sprenger & Wuithiranyagool 1986). Both species are now widespread throughout the countries and the Americas.

Traditional surveillance of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* is based on periodic household inspections (Braga & Valle 2007, Codeço et al. 2015). Health agents search for the presence of containers bearing *Stegomyia* immatures, which provide three widely used infestation indexes: House (HI), Container (CI) and Breteau (BI). Traditionally, since it has become a convention that  $HI < 1\%$  or  $BI < 5$  were enough to prevent yellow fever transmission, these thresholds have been applied to dengue, with enormous criticism (Kuno 1995, Tun-Lin et al. 1996, Nathan et al. 2006, Morrison et al. 2008, Sivagnaname & Gunasekaran 2012, Codeço et al. 2015). The use of traps as surveillance tools have long been proposed, providing not only qualitative indexes (such as positivity per trap) but also quantitative (such as density, or the number of collected individuals per trap) (Sivagnaname & Gunasekaran 2012). The use of any given trap is subject to limitations in their sensitivity to collect preferentially mosquitoes of certain life stages or nutritional status, or even mosquitos of certain genus or subgenus (Silver 2008, Sivagnaname & Gunasekaran 2012).

The use of battery-powered aspirators for the surveillance of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* has been very effective in collections inside and outside premises (Lima-Camara et al. 2006). One advantage of this method is that it allows the active collection of both males and females from their resting sites, which allows more precise data on the mosquito population in an area, such as richness, abundance, age structure, parity and ovarian development, and others (Lima-Camara et al. 2007, Silver 2008).

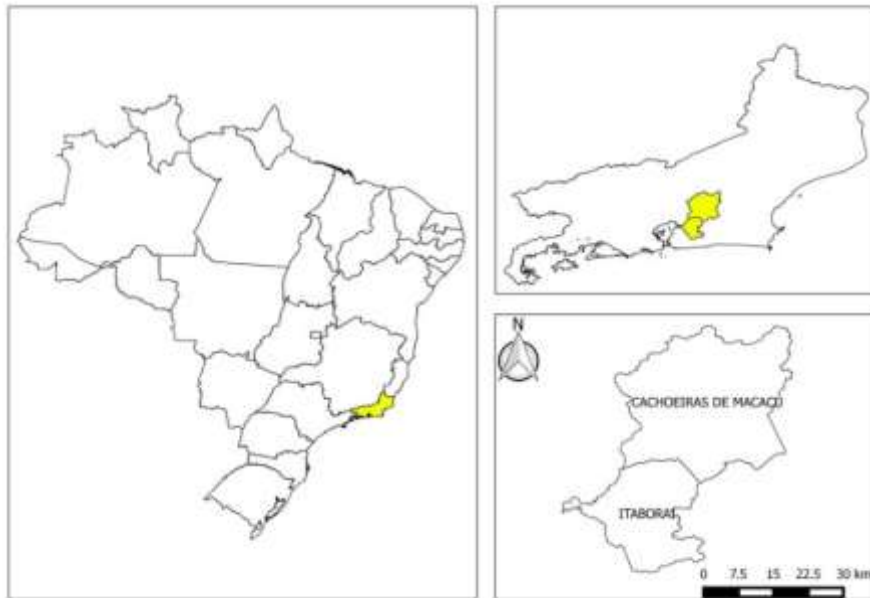
Another advantage to the use of traps or automatic aspiration is the possibility of incorporating arbovirus surveillance in the entomological surveillance routine. The detection of infected mosquitoes collected in the field is an useful early warning tool for arbovirus outbreaks or serotype introduction in endemic areas, which has been shown for dengue (Chow et al. 1998, Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Guedes et al. 2010). Recently, ZIKV was detected in field-collected *Ae. aegypti* mosquitos before the first case of autochthonous Zika virus disease was reported in Rio de Janeiro (Ayllón et al. 2017). Another important role of arbovirus surveillance is to determine the prevalence of arbovirus and different serotypes infection in the community, as changes in the epidemiological profile are highly dynamic in endemic areas (Andrade et al. 2016).

Here, we present the results of a two-year entomological and arbovirus surveillance in two endemic cities in Brazil for dengue, chikungunya and Zika. We analyzed five different methods aimed to capture adult *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*: Adultraps, BioGent-Sentinel, CDC-like traps (light and CO<sub>2</sub>), Indoor and Outdoor automatic aspiration. The aim of our study was to compare the five different collection methods and their effectiveness in capturing *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in a heterogeneous landscape, and to detect the most important arboviruses that circulate in the areas as found in field caught females.

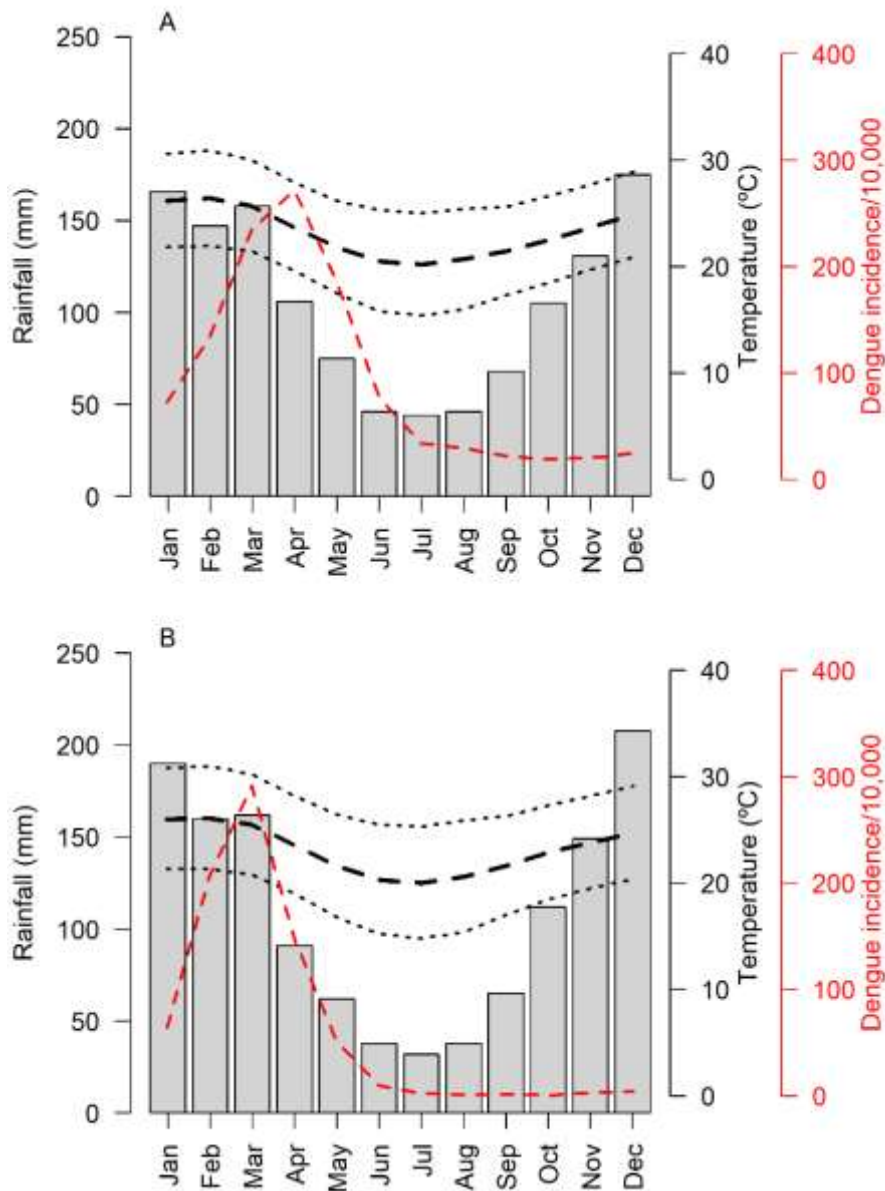
## 3.2.2 Methods

### 3.2.2.1 Study area

Entomological collections were done inside and near human dwellings in two adjacent cities in the state of Rio de Janeiro: Itaboraí (ITA, 22°44'40" S, 42°51'34" W, 17m elevation) and Cachoeiras de Macacu (CMA, 22°27'45" S, 42°39'11" W, 54m elevation) (Figure 3.2.1). Rain season in the region occurs from December to March and dry season extends from April to November. Temperature follows the same pattern as rain, with higher values during the wet season. Dengue incidence accompanies the wet season, with transmission rising in January and reaching a peak in March-April (Figure 3.2.2).



**Figure 3.2.1.** Map showing the location of the study area: the cities of Itaboraí and Cachoeiras de Macacu, RJ.



**Figure 3.2.2.** Rainfall, Temperature and dengue incidence in (a) Itaboraí (ITA) and (b) Cachoeiras de Macacu (CMA). Bars represent mean monthly accumulated rainfall. Dashed black lines represent mean, minimum and maximum temperatures (°C). Dashed red lines represent mean monthly dengue incidence from 2001 to 2016 (cases per 10,000 inhabitants).

### 3.2.2.2 Mosquito sampling

In each city, three areas were chosen based on sociodemographic and landscape profiles and classified as Urban, Periurban or Rural according to their



land use and vegetation cover. In each area, 14 city blocks were randomly chosen and in each block one collection point was selected by convenience (e.g., those with presence of inhabitants during activities). In each collection point, a pair of mosquito traps out of three was installed, being chosen from: Adultrap, BG-Sentinel and CDC-like (CDC). Trap pairing was random, and each collection point had a combination of either ADT+BGS, ADT+CDC or BGS+CDC. Additionally, backpack aspiration was performed in each collection point, in the day after collecting BGS and CDC traps. Aspiration was performed for 20 minutes both indoors (ASP-I) and outdoors (ASP-O).

**Adultrap (ADT).** ADT is a trap designed to collect gravid *Ae. aegypti* females in search of a oviposition site, using water or water + hay infusion as attractants. The ADT does not require battery or electricity to function. Attracted females enter the trap through a hole in the top and become trapped in the interior chamber. Water and hay infusion remains confined inside a closed compartment inside the trap, which does not allow females to reach it and to oviposit (Donatti & Gomes 2007). In our study, we installed ADT using water + hay infusion (Reiter et al. 1991). ADTs were left in the field for seven days.

**BG-Sentinel (BGS):** BGS is a portable trap which consists of a collapsible bucket with an opening at the top. It requires battery or electricity to power a fan, which captures host-seeking females that fly near the opening and traps them inside a catch bag. BGS uses an attractant (BG-Lure) which releases a synthetic human skin odor to attract host-seeking females, mainly those with anthropophilic behavior (Maciel-de-Freitas et al. 2006). In our study, we installed BGS using BG-Lure attractants and a canister with dry ice. BGS were left in the field for 24 hours

**CDC-like (CDC):** CDC is one of the most widely-used type of trap, and consists of a portable trap with a battery powered fan, which captures host-seeking females that fly near the opening at the top of the trap, sucking them to a catch bag at the bottom (Sudia et al. 1962). In our study, we installed CDC using common light, UV light and a canister with dry ice. CDC were left in the field for 24 hours

Collections were done in the rainy and dry seasons of 2015 and 2016, with each area being sampled once in each season. Adult mosquitoes were transferred to plastic cages and placed on dry ice (-70°C) for transportation. All samples were transported to the Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – Nosmove/Fiocruz. Species determination was performed by direct observation of morphological characters using a stereomicroscope, according to the taxonomic keys proposed by Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994).

### **3.2.2.3 Viral detection**

Pools of up to 10 engorged female mosquitoes were prepared, separated by species, date of collection, collection method and collecting site. RNA was extracted from 140 µL of mosquito homogenized in 1000 µL of Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 3% of fetal calf serum, 2.5 µg/ml amphotericin B, 500 U/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin, using a kit specific for viral RNA extraction (QiaAmp Viral RNA Mini Kit; Qiagen, Valencia, CA, USA) and according to the manufacturer's protocol. Sample screening was performed by reverse transcription real-time PCR (RT-qPCR) by using the QuantiTect Probe RT-PCR Kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA), according to the manufacturer's instructions. The following primers were used for ZIKV, CHIKV and DENV RNA amplification: ZIKAF-5'-CCGCTGCCCAACACAAG-3' and ZIKAR-5'-CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT-3'; CHIKS-5'-TGA TCC CGA CTC AAC CAT CCT-3' AND CHIKAS-5'-GGC AAA CGC AGT GGT ACT TCC T-3'; DENVF-5'-AGG ACY AGA GGT TAG AGG AGA-3' and DENVR-5'-CGY TCT GTG CCT GGA WTG AT-3'. RT-qPCR was performed in the Thermo LightCycler® 480 II (BIOTECON Diagnostics, Postdam, Germany). PCR conditions for ZIKV detection were as follows: 55°C for 30min, 95°C for 10 min, followed by 45 cycles of 95°C for 10 seconds and 60°C for 45 seconds. For DENV and CHIKV detection, the following conditions were applied: 50°C for 15min, 95°C for 10min, followed by 45 cycles of 95°C for 10 seconds and 60°C for 40 seconds. According to Lanciotti et al. (2008), samples with cycle quantification (Cq) values under 38.5 were considered positive.

### **3.2.2.4 Data analysis**

#### **3.2.2.4.1 Relationship between positivity and density indexes**

We created two indexes to measure the effectiveness of each collection method for both species: a positivity index (measured as the number of positive collections divided by the total number of collections in each collection site) and a density index (measured as the number of captured mosquitos divided by the total number of collections in each collection site). Exploratory analysis was done using Locally Weighted Scatterplot Smoothing models (LOESS) to help visually identify non-linear relationships between both indexes. After assessing the non-linearity of the relationships, we used generalized additive models (GAM) (Wood 2006) to verify possible saturation between positivity and density indexes. We constructed a model for each species (*Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*) using as response variable the positivity index for each collection method (ADT, BGS, CDC, ASP-I or ASP-O) and as explanatory variable a smooth term for the corresponding density index. Models were constructed using a gaussian distribution. We compared each nonlinear model with a linear model, selecting the best model using Akaike Information Criterion values (Wood 2006).

#### **3.2.2.4.2 Generalized linear models**

We used generalized linear models (GLM) to quantify the abundance of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* collected by each collection method used in each landscape and city. The outcome variable was calculated by pooling the total number of adults collected per mosquito species (*Ae. aegypti* or *Ae. albopictus*). Multiple observations (up to 4) were pooled to yield one data point for each collection site in the six study areas. The explanatory variables used in the models were: landscape (a categorical variable with three levels: Urban, Periurban and Rural), city (a categorical variable with two levels: CMA and ITA) and collection method (categorical with five levels: Adultrap, BG-Sentinel, CDC, Indoor Aspiration and Outdoor Aspiration). In order to compare which collection

method performed better in the GLMs, we choose as baseline level the method which had the higher positivity index evidenced in the GAM models. The logarithm of the number of successfully retrieved traps or successful aspirations done at each collection point was included as the model's offset. We also tested interactions between the explanatory variables, but none were maintained in the final models. Models were constructed using INLA in R software (Rue et al. 2009). Goodness of fit was assessed via Conditional Predictive Ordinate (CPO) and Probability Integral Transform (PIT) plots, while model selection was done by comparing Watanabe-Akaike Information Criterion values (wAIC) (Blangiardo & Cameletti 2015). Final models were constructed using Zero-Inflated Poisson distribution, due to numeric problems in CPO and failure to reach uniform distribution in PIT plots while using other distributions.

### 3.2.3 Results

#### 3.2.3.1 General results and viral detection

A total of 434 *Ae. aegypti* (191 males and 243 females) and 393 *Ae. albopictus* (79 males and 314 females) adult specimens were collected during the whole study period (Table 3.2.1). We found a significant difference in the number of engorged *Ae. aegypti* per landscape and collection method (Fisher's Exact Test p-value = 0.0039), but not for *Ae. albopictus* (Fisher's Exact Test = 0.2414). A total of 64 pools of *Ae. aegypti* and 16 pools of *Ae. albopictus* engorged females were tested for the presence of DENV, CHIKV or ZIKV RNA using real-time RT-PCR, but none of the tested pools was positive.

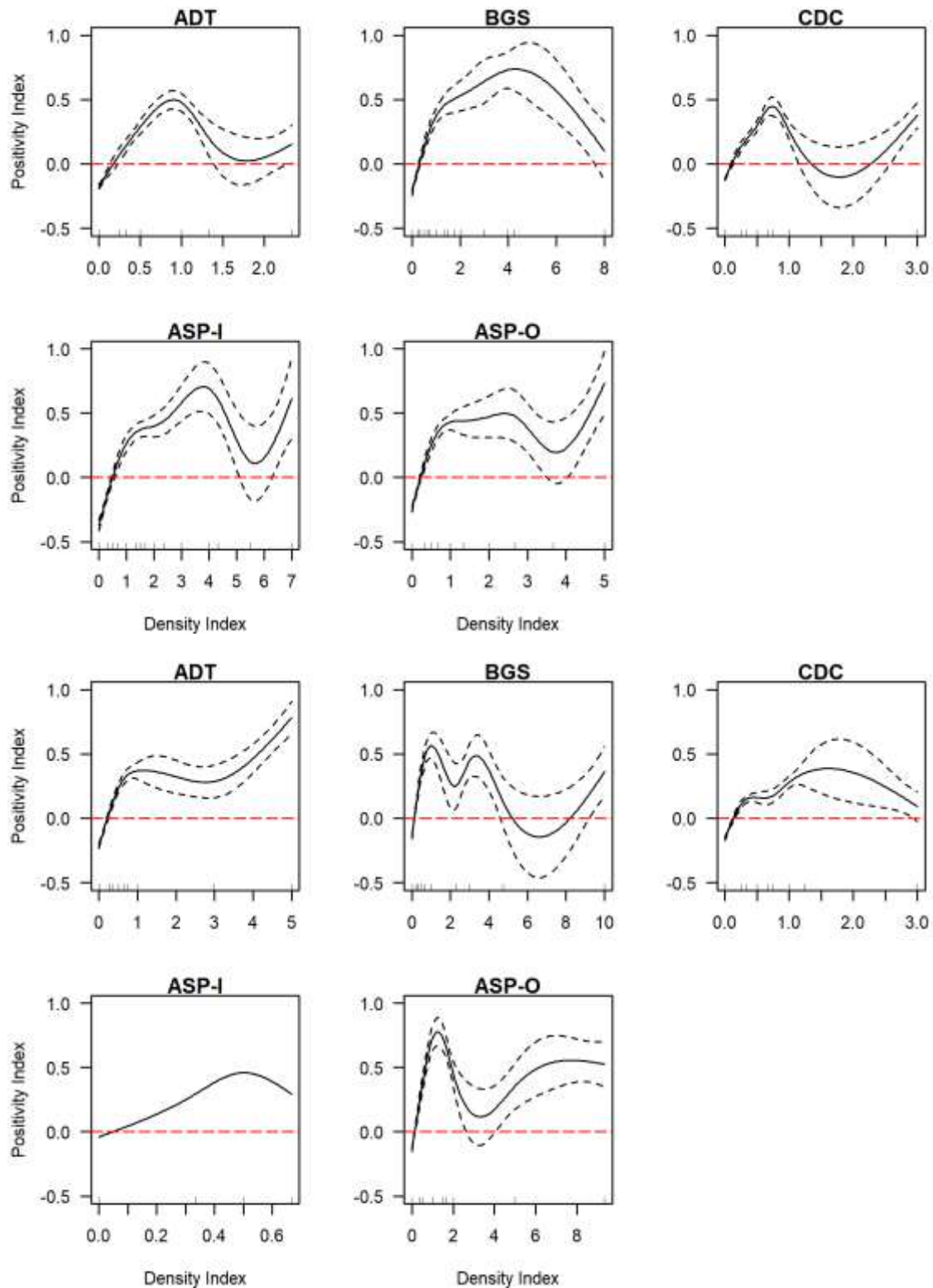
**Table 3.2.1.** Total number of collected specimens of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* by each collection method in three different landscapes. Numbers are presented as total number of collected mosquitos (total number of females/engorged females).

Methods	<i>Aedes aegypti</i>			<i>Aedes albopictus</i>		
	Urban	Periurban	Rural	Urban	Periurban	Rural

ADT	19 (19/2)	11 (10/1)	5 (5/0)	8 (7/0)	25 (25/0)	10 (10/2)
BGS	78 (36/3)	10 (6/3)	18 (11/4)	22 (21/0)	46 (43/2)	109 (84/0)
CDC	15 (11/0)	5 (3/0)	22 (17/0)	27 (26/0)	19 (19/0)	43 (42/0)
ASP-I	81 (42/42)	85 (44/34)	12 (7/6)	4 (2/2)	3 (3/3)	2 (2/2)
ASP-O	28 (9/6)	34 (23/17)	11 (0/0)	14 (5/1)	15 (9/4)	46 (16/0)
<b>Total</b>	<b>221 (117/53)</b>	<b>145 (86/55)</b>	<b>68 (40/10)</b>	<b>75 (61/3)</b>	<b>108 (99/9)</b>	<b>210 (156/4)</b>

### 3.2.3.2 Relationship between positivity and density indexes

Figure 3.2.3 shows the smoothing curves of the GAM models of positivity versus density indexes for the five collection methods for both *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. For both species, the relationship between both indexes was significant and non-linear, with positivity index peaking and plateauing at intermediate values of the density index. For *Ae. aegypti*, there is an overall linear relationship between both indexes when density is lower or near 1 adult/collection method. Nonlinearity is evidenced when the number of adults/collection method increases. ADT positivity index peaked at ca. 50% when density index was ca. 1 and decreases after this value. BGS positivity peaked at ca. 75% with a density of 4 mosquitos/trap. CDC positivity also peaks at 50% with a density lower than 1 mosquito/trap. ASP-I positivity peaks at ca. 70% when density is at ca. 4 mosquitos/indoors. Finally, ASP-O positivity peaks at ca. 50% with a density of ca. 2.5 mosquitos/outdoors, but plateaus when density is between 1-3 mosquitos/outdoors (Figure 3.2.3). For *Ae. albopictus*, ADT positivity index peaked at ca. 35% when density index was at ca. 1 plateauing afterwards. BGS peaks at ca. 55% with a density of ca. 1 mosquito/trap and also plateaus at this positivity index, which decreases when the number of mosquitos/trap reaches 4 individuals. CDC positivity peaks at ca. 40% when density is ca. 2.5 mosquitos/trap. ASP-I does not provide clear information because of the low number of observations, and ASP-O had a positivity of ca. 80% when density was of 1 mosquito/outdoors, decreasing afterwards (Figure 3.2.3).



**Figure 3.2.3.** Estimated smoothing curves for *Ae. aegypti* (top) and *Ae. albopictus* (bottom). The solid line represents the smoother, the dashed lines represent 95% confidence intervals. ADT = Adultrap, BGS = BG-Sentinel, CDC = CDC, ASP-I = Indoor aspiration, ASP-O = Outdoor aspiration.

### 3.2.3.3 GLM for *Aedes aegypti* abundance

Because BGS was the collection method with the highest positivity, we used it as the baseline level for this variable in the GLM. Model results shows that all variables were significantly associated with the presence of this species: the average number of collected *Ae. aegypti* decreased in the Periurban and Rural landscapes when compared to the Urban (respectively 25.19% and 57.78%). The number of collected *Ae. aegypti* in Itaboraí was 179.67% greater in average than Cachoeiras de Macacu. Collections with ADT, CDC and ASP-O resulted in a significant less average number of *Ae. aegypti* when comparing with BGS (respectively 57.81%, 65.67% and 34.15% lower). However, ASP-I showed no significant difference when comparing with the BGS (Table 3.2.2).

**Table 3.2.2.** Relative risks and CI95% of the ZIP models for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*.  
Bold entries indicate statistical significance.

<i>Aedes aegypti</i>							
	Landscape: Periurban	Landscape: Rural	City: Itaboraí	ADT	CDC	ASP-I	ASP-O
Mean	<b>0.748</b>	<b>0.422</b>	<b>2.797</b>	<b>0.422</b>	<b>0.343</b>	1.276	<b>0.658</b>
IC95	<b>(0.594, 0.94)</b>	<b>(0.306, 0.577)</b>	<b>(2.097, 3.746)</b>	<b>(0.274, 0.637)</b>	<b>(0.231, 0.504)</b>	(0.99, 1.652)	<b>(0.473, 0.911)</b>
<i>Aedes albopictus</i>							
	Landscape: Periurban	Landscape: Rural	City: Itaboraí	ADT	BGS	CDC	ASP-I
Mean	1.185	<b>2.363</b>	<b>2.058</b>	<b>0.339</b>	<b>1.738</b>	<b>0.497</b>	<b>0.075</b>
IC95	(0.862, 1.638)	<b>(1.787, 3.164)</b>	<b>(1.663, 2.549)</b>	<b>(0.225, 0.505)</b>	<b>(1.312, 2.331)</b>	<b>(0.358, 0.692)</b>	<b>(0.033, 0.161)</b>

#### **3.2.3.4 GLM for *Aedes albopictus* abundance**

For *Ae. albopictus*, we used ASP-O as the baseline level for the collection method variable after the GAM analysis. Model results shows, while controlling for all other variables, shows that mosquito abundance in the Periurban landscape was similar to the Urban landscape, but significantly higher (136.3%) in the Rural landscape. Collections in Itaboraí were significantly greater than in Cachoeiras de Macacu. ADT, CDC and ASP-I collected significantly less than ASP-O (respectively resulting in a decrease of 66.12%, 50,29% and 92.5% in the average number of mosquitoes), but BGS collected significantly more than ASP-O, resulting in 73.84% more mosquitoes (Table 3.2.2).

#### **3.2.4 Discussion**

In this study, our aim was to compare the five different collection methods and their effectiveness in capturing *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in a heterogeneous landscape, and to detect the most important arboviruses that circulate in the areas as found in field caught females. We evaluated three commonly used traps and automatic aspiration for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* surveillance in two endemic cities for dengue, chikungunya and Zika. In each city, three different landscape were classified according to human occupation: urbanized, periurban and rural areas. By measuring the relationship between positivity and density indexes of each collection method used, we could estimate each method's peak of positivity for capturing two of the most important mosquito vectors: *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. In a multicentric study done in Brazil, the researchers measured four different traps and compared their effectiveness with larval surveys (Codeço et al. 2015). In the mentioned study, Adultraps, BG-Sentinels, Mosquitrap and Ovitrap were significantly more sensitive than the House Index to detect and measure *Ae. aegypti* infestation levels.

A point raised by the researchers was that trap positivity indexes could be used as a proxy to the density index, because the first consistently plateaued



when densities were high (Codeço et al. 2015). In our study, we verified the relationship between positivity and density of three different traps and of automatic aspiration both indoors and outdoors. Not surprisingly, this relationship was non-linear. For *Ae. aegypti*, the BGS had the highest positivity (ca. 75%) when infestation levels were ca. 1 adult/trap. For *Ae. albopictus*, BGS positivity index peak was not as expressive (ca. 55% with a density also of ca. 1 adult/trap). Despite the better relationship between positivity and density indexes measured for *Ae. aegypti* for BGS, GLM results showed no significant difference when comparing ASP-I to BGS, which could be interpreted that both collection methods wield similar results. These results show that BGS could be used by health agents when a premise is closed or otherwise unable to be entered or if there are no automatic aspirators. We believe that these results could be achieved because most productive containers for *Ae. aegypti* are located outdoors near houses and a trained team could find resting adults nearby (Tun-Lin et al. 2000, Pinheiro & Tadei 2002, Morrison et al. 2004). The use of backpack aspirator is a reliable tool in *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* surveillance, providing valuable information on biological traits like parity, survival and physiological stages in endemic areas, (Clark et al. 1994, Lima-Camara et al. 2007, Silver 2008, Vazquez-Prokopec et al. 2009), while also being very sensitive to detect preferred resting places of females (Barata et al. 2001, Schoeler et al. 2004). Other studies using backpack aspirators have been successful to describe the distribution of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in endemic areas, with the former species being highly associated with urbanized areas and the former to rural areas, as shown in our study (Lima-Camara et al. 2006). GLM results showed a clear association of *Ae. aegypti* to the Urban landscape in our study, and an association of *Ae. albopictus* to the Rural landscape.

Outdoor aspiration had best positivity index for *Ae. albopictus*, peaking at ca. 80% with a density of ca. 1 adults per premise. This might be related to this vector preference for the peridomicile, as seen under field conditions (Hawley 1988, Lima-Camara et al. 2006, Delatte et al. 2010). Because of this, ASP-O was selected as the baseline level for the GLM model, with other collection methods being significantly less predictive and BGS significantly more

predictive, while controlling for city and landscape. The results show that collections with BGS increased the average number of captured *Ae. albopictus* in 73.84% when compared with ASP-O. This indicates that monitoring of this species would yield the best results when integrating the use of BGS and outdoor aspiration, although the later could be used when BGS is not available, although with less predictive power. BG-Sentinel traps have been used with great success for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* surveillance, successfully catching females in different physiological stages and also males (Ball & Ritchie 2010, Maciel-de-Freitas et al. 2006). A mass trapping study using BGS was very promising for *Ae. aegypti* control, with a reduction of dengue cases in premises monitored by the trap, although this difference was not significant (Degener et al. 2014). For *Ae. albopictus*, our results agree with other studies that shows BGS as an effective tool for *Ae. albopictus* surveillance in North America (Meeraus et al. 2008, Farajollahi et al. 2009), Italy (Drago et al. 2012, Englbrecht et al. 2015) and in Australia (Ritchie et al. 2006), where it showed a good sensitivity to detect new introductions of this species. However, of ~675,000 mosquitoes caught in a mass trapping study using solely BGS elsewhere in Brazil, less than 0.1% were *Ae. albopictus* (Degener et al. 2014). Our results might be an indicative that BGS could be used in areas with known *Ae. albopictus* infestation, and further investigations should be done to evaluate the potential role of this species in arbovirus transmission to humans (Smartt et al. 2017).

ADT had a positivity index peak at ~50% with ca. 1 mosquito per trap for *Ae. aegypti*. GLM results indicates a decrease of 57.81% in the average number of captured mosquitoes when comparing to BGS, while controlling for all variables. Results regarding the effectiveness of ADT to monitor *Ae. aegypti* under field conditions are contrasting. In the original study in which the ADT was presented, a field trial was undertaken to test the trap in 120 houses in an area with an HI of 1.5%. The authors concluded that the trap was able to capture *Ae. aegypti* but no information was given on the number of positive traps or adult density per trap, with results reporting only 24 females captured after 24h of monitoring (Donatti & Gomes 2007). A subsequent study reports the results of a trial comparing indoor and outdoor placement of ADT and

backpack aspiration, concluding that ADT was better than aspiration when placed outdoors but not indoors (Gomes et al. 2007), as opposed by the results in our study. Also, a study in Rio de Janeiro showed that Adultrap was as efficient as indoor and outdoor backpack aspiration for *Ae. aegypti* (Maciel-de-Freitas et al. 2008). The results of a multicentric study showed that ADT never exceeded a positivity index of 20%, despite being able to detect sazonal fluctuations in population abundance (Codeço et al. 2015), while positivity in our study exceeded 60% for *Ae. aegypti*. In this same study, ADT sensitivity increased when the protocol for trap examination changed from 24h to 96h. In our study, we used a seven-day protocol, which might explain a higher positivity index. For *Ae. albopictus*, ADT positivity was low, peaking at 35%% with a density index of ca. 1 adult/trap in the GAM analysis. GLM complemented these results, showing a decrease of 66.12% in the average number of mosquitoes collected by this method when comparing to the ASP-O, while controlling for all variables. More studies are needed to evaluate the effectiveness of ADT in *Ae. albopictus* surveillance in heterogeneous endemic areas.

CDC-like traps used in our study were the least effective collection method, as indicated by the low positivity in the GAM results for *Ae. aegypti* (ca. 50%) and *Ae. albopictus* (ca. 40%) and the GLM results. For the former species, we found a decrease of 65.67% in the average number of collected mosquitoes when comparing to BGS, while for the later, the decrease was of 50.29% when comparing to ASP-O, while controlling for all variables. These results agree with other works in the literature, where CDC tends to be the one of the least effective method for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* surveillance when compared to other traps (Jensen et al. 1994, Denet et al. 2004, Hoel et al. 2009).

In Brazil, the current national *Aedes* control programs do not focus on adults to measure infestation levels of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, with efforts in this direction being targeted to larval assays (Larval Index Rapid Assay for *Aedes aegypti*, LIRAA) (Brazil 2009). Despite the initial use of traditional larval indexes such as House, Container and Breteau to prevent yellow fever transmission, these indexes and others have been routinely applied

to dengue surveillance (Morrison et al. 2008). Criticism arises from a number of factors, mainly related to shortcomings in respect to the object of measurement of the indexes: CI gives information about the proportion of positive containers in an area, without taking into account the number of immatures or houses; HI informs about the proportion of infested houses with at least one *Ae. aegypti* immature, which does not inform the number of positive containers per positive house (Connor & Monroe 1923); and the BI, which combines the number of positive containers per 100 houses (Breteau 1954). Moreover, these commonly used three indexes fail to inform the adult mosquito productivity on inspected containers or houses, focusing only on the highly density-fluctuating larval stage (Tun-Lin et al. 1995, 1996).

Because female adult mosquitoes are responsible for pathogen transmission to humans, any entomological surveillance procedure should produce estimates that reflect the female adult population in any given area (Sivagnaname & Gunasekaran 2012). The traditional *Stegomyia* indexes are poor proxies for this, because correlation between larvae with pupae or adults is low to non-existent primarily because of mortality in these early stages (Christopher 1960, Southwood et al. 1972, Focks et al. 1981, Focks 2003). Larval mortality can be driven by a number of abiotic factors, like water quality and climate (Tun-Lin et al. 2000, Alto & Juliano 2001, Akram & Lee 2004, Yee & Juliano 2006), or biotic factors, such as intra or interspecific competition and predation (Juliano 1998, Braks et al. 2003, Juliano et al. 2010, Camara et al. 2016), all of which impacts the number of adults produced by a container. Several studies have found no statistically significant relationships between commonly used entomological indices and dengue occurrence in several areas of the world (Foo et al. 1985, Sulaiman et al. 1996, Romero-Vivas & Falconar 2005, Honório et al. 2009), which shows the need to develop better entomological indexes, preferentially aimed to female adults (Sivagnaname & Gunasekaran 2012). Pupal surveys have been proposed as tools for producing more precise entomological indexes for dengue control (Focks 2003). Pupal mortality is well-known and relatively low, so indexes based on pupae estimates give a more precise proxy of the adult population in a given area (Focks & Chadee 1997, Focks & Alexander 2006, Barrera 2011), and studies propose

thresholds for dengue transmission based on these indexes (Focks et al. 2000). However, pupal surveys have several limitations that larval surveys also face: both are time consuming, require a large, well trained and motivated personnel, and it is not clear what is the frequency of surveys needed to capture seasonal variations in population dynamics and key containers (Focks & Alexander 2006), which are extremely heterogeneous in both time and space (Morrison et al. 2004, Koenraadt et al. 2008, Honório et al. 2009, Pilger et al. 2011).

One advantage of adult oriented surveillance of mosquitoes is the possibility of monitoring arbovirus introductions or changes in dengue serotypes circulation. Regarding serotype detection in field collected adult mosquitoes, several studies shows its potential as a surveillance tool to aid health services in Brazil (Nogueira et al. 1988, Degallier et al. 2000, Pinheiro et al. 2005) and elsewhere (Chow et al. 1998, Kow et al. 2001, Chen et al. 2010). In Brazil, a patient-based dengue virus surveillance in *Ae. aegypti* study was able to detect DENV-1 and DENV-2 during an epidemic of DENV-3 in Recife (Guedes et al. 2010). Another study found the circulation of DENV-4 among mosquitoes and humans during an epidemic of DENV-1 in Rio de Janeiro, one year after the introduction of DENV-4 in the country (Castro et al. 2012). Another patient-base arbovirus surveillance in mosquito vectors detected ZIKV circulation among *Ae. aegypti* that were collected in an endemic area for dengue months before the official detection of ZIKV in human patients (Ayllón et al. 2017). More recently, a study done in Mexico was able to show the presence of ZIKV in the salivary glands of the wild-caught female mosquitoes from five different species: *Ae. aegypti*, *Aedes vexans*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex coronator*, and *Culex tarsalis*, with implications that might change the paradigm of ZIKV control to the need of surveillance of other species (Elizondo-Quiroga et al. 2018). This study follows the first evidence of field collected *Cx. quinquefasciatus* with ZIKV particles in salivary glands in Brazil (Guedes et al. 2017), although the role of other mosquito species than *Ae. aegypti* in ZIKV transmission requires more field investigations and laboratory experiments (Roundy et al. 2017, Ayres et al. 2017). In our study, we tested 80 pools of female adult *Aedes* mosquitoes (64 pools of *Ae. aegypti* and 16 of *Ae. albopictus*), but we were not able to detect none of the main arbovirus circulating in the study area: the four DENV

serotypes, CHIKV and ZIKV. We believe that this might be attributed to the relatively low number of collected mosquitoes in our study in comparison with estimates from literature; for example, a minimum of ~700 mosquitoes are required for an arbovirus detection probability of 0.5, whereas ~1,600 and ~2,300 are needed for detection probabilities of 0.8 and 0.9 respectively (Gu and Novak 2004, Gu et al. 2008).

In our study, indoor aspiration and BGS were the most effective methods for *Ae. aegypt* collection, while BGS was for *Ae. albopictus*. Our study was done in two cities, reflecting different heterogeneous landscapes where both vectors are present and dengue is already endemic, with chikungunya and Zika fever being responsible for recent outbreaks. Thus, we recommend that further studies should be done to better determine the potential of each collection method under field conditions. The choice of a better collection method should also have other variables considered that our study didn't measure, like financial cost to health services, population adherence, accessibility and flexibility to health agents, among others. Arbovirus detection in field caught mosquitoes is an important tool that should be integrated in the surveillance routine. Longitudinal studies should be undertaken, so that the arbovirus detection probability becomes more feasible. We believe that a routine of arbovirus surveillance based on field collections of female mosquitoes, done at specific moments as pointed out by the local epidemiological context of each city, could greatly enhance the health authorities capability of responding to outbreaks and epidemics.

## **Capítulo 3.3 – Evidência de circulação precoce do vírus Zika entre *Aedes aegypti* de área endêmica do Rio de Janeiro/RJ, Brasil**

**Referência bibliográfica:** Ayllón T, Campos RM, Brasil P, Morone FC, Câmara DCP, Meira GLS, Tannich E, Yamamoto KA, Carvalho MS, Pedro RS, Schmidt-Chanasit J, Cadar D, Ferreira DF, Honório NA. Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23:1411-12.

**Situação do manuscrito:** Publicado.

**Este artigo atende ao objetivo específico 3 deste trabalho.**

### **Apresentação**

Este trabalho objetivou integrar a vigilância virológica dos principais arbovírus em circulação no Brasil (DENV, CHIKV e ZIKV) em atividades de monitoramento entomológico rotineiros realizados em área endêmica na cidade do Rio de Janeiro. O monitoramento entomológico, realizado ao longo de dois anos ininterruptos, foi realizado em domicílios humanos, creches e pontos estratégicos, através de aspiração automática de vetores nos ambientes intra e peridomiciliares. A detecção de arbovírus foi realizada através e RT-qPCR em *pools* de fêmeas ingurgitadas capturadas durante o período de estudo.



**Foto 3.3.** Fêmea de *Ae. aegypti* fotografada em microscópio estereoscópio durante atividade de identificação taxonômica. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.



### 3.3.1 Manuscrito

#### Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil

Tania Ayllón, Renata de Mendonça Campos, Patrícia Brasil, Fernanda Cristina Morone, Daniel Cardoso Portela Câmara, Guilherme Louzada Silva Meira, Egbert Tannich, Kristie Aimi Yamamoto, Marília Sâ Carvalho, Renata Saraiva Pedro, Jonas Schmidt-Chanasit, Daniel Cadar, Davis Fernandes Ferreira, Nildimar Alves Honório

Author affiliations: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas–Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil (T. Ayllón, P. Brasil, R.S. Pedro); Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores–Nosmove–Fiocruz, Rio de Janeiro (T. Ayllón, F.C. Morone, D.C.P. Câmara, N.A. Honório); Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (R.M. Campos, G.L.S. Meira, K.A. Yamamoto, D.F. Ferreira); Instituto Oswaldo Cruz–Fiocruz, Rio de Janeiro (D.C.P. Câmara, N.A. Honório); Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Germany (E. Tannich, J. Schmidt-Chanasit, D. Cadar); Programa de Computação Científica–Fiocruz, Rio de Janeiro (M.S. Carvalho); German Centre for Infection Research Hamburg–Luebeck–Borstel, Hamburg (J. Schmidt-Chanasit)

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2308.162007>

During 2014–2016, we conducted mosquito-based Zika virus surveillance in Rio de Janeiro, Brazil. Results suggest that Zika virus was probably introduced into the area during May–November 2013 via multiple in-country sources. Furthermore, our results strengthen the hypothesis that Zika virus in the Americas originated in Brazil during October 2012–May 2013.

Zika virus is an emerging arthropod-borne virus that was first isolated from sentinel rhesus macaques in 1947 in Africa. Zika virus caused outbreaks of disease in the Pacific region and emerged in northeastern Brazil in March 2015, followed by Rio de Janeiro in May 2015 (1–3). The *Aedes aegypti* mosquito is considered the main vector of Zika virus in urban and suburban areas throughout the world, including Brazil, where the mosquito has been confirmed, together with *Ae. albopictus* mosquitoes, as a vector for the virus (4). Entomologic surveillance for arboviruses in field-trapped mosquitoes is a critical tool for identifying local natural vectors and key sites for increased transmission risks as well as for predicting arbovirus epidemics (5,6). Therefore, virus surveillance

based on field-trapped mosquitoes is a vital tool for public health authorities.

We conducted a surveillance program for mosquito-borne viruses during February 2014–June 2016 in Mangueiros neighborhood in Rio de Janeiro, Brazil. We collected mosquitoes on a weekly basis by using portable backpack aspirators and transported them on dry ice to the Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores–Nosmove/Fiocruz in Rio de Janeiro, where they were counted and their sex and species level were determined.

The collected mosquitoes included a total of 417 engorged female mosquitoes (406 *Ae. aegypti* and 11 *Ae. albopictus* mosquitoes), which we pooled ( $n = 178$ ) and subjected to Zika virus detection using real-time RT-PCR (7). Two of the pools (C20 and P52) were confirmed positive for Zika virus by conventional PCR (8). Pool C20 comprised 2 *Ae. aegypti* mosquitoes obtained in April 2015 from a household located in the João Goulart Park in Mangueiros; sample P52 comprised 1 *Ae. aegypti* mosquito obtained in January 2016 during a mosquito-collecting activity in a junkyard located in the São Pedro slum in Mangueiros. Sanger sequencing of the amplified fragments (8) confirmed the presence of Zika virus in pools C20 and P52, and we subjected both pools to deep sequencing to obtain larger fragments of the genome.

We performed phylogenetic and phylogeographic analyses based on the near-complete envelope gene sequences of Zika virus from the 2 positive mosquito pools and on all available sequences for Asian genotype Zika virus strains responsible for outbreaks in the Americas. The analyses revealed that strains from pools C20 and P52 (GenBank accession nos. KY354186 and KY354187, respectively) clustered within the same strongly supported lineage, which included strains detected in Rio de Janeiro and other parts of Brazil in late 2015 and in 2016 (online Technical Appendix Figure, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/23/8/16-2007-Techapp1.pdf>). The mosquito-derived Zika virus detected in January 2016, strain P52, subsequently formed a subclade with human-derived Zika virus strains from Rio de Janeiro detected during March–April 2016. Furthermore, some previously reported human-derived Zika virus strains from Rio de Janeiro clustered in different lineages (online Technical Appendix Figure). The time-resolved phylogeny including the 2 mosquito strains from this study suggests that Zika virus was probably introduced in Rio de Janeiro during May–November 2013. The time to most recent common ancestor of Zika virus from the Americas is estimated to be October 2012–May 2013. These results further strengthen the hypothesis that Zika virus in the Americas originated in Brazil (9). The different clustering pattern of sequences of the human-derived Zika virus from Rio de Janeiro suggests that multiple Zika virus lineages may be circulating in Rio de Janeiro State.

In this study, we detected Zika virus RNA in 2 pools of engorged *Ae. aegypti* mosquitoes that were collected during a mosquito-borne virus surveillance program in Rio de Janeiro. Information regarding Zika virus infection rates is lacking for female and male mosquitoes trapped in the field. However, experiments performed in the laboratory demonstrated transovarial transmission of Zika virus among *Ae. aegypti* mosquitoes and revealed a minimal filial infection rate of 1/290 (10). Mosquito-borne virus surveillance provides an early warning for arbovirus circulation, points out high-risk areas for virus transmission, and provides data for directing control measures. Furthermore, future surveillance-based studies should further illuminate Zika virus ecology and patterns of spatial dynamics.

In conclusion, we showed the presence of Zika virus in engorged *Ae. aegypti* mosquitoes trapped in Rio de Janeiro before the first case of autochthonous Zika virus disease was diagnosed in the city (3). This finding emphasizes the importance and benefit of routine entomologic surveillance programs to public health in terms of ensuring timely implementation of disease prevention and control measures. Furthermore, considering that the analyzed Zika virus from Rio de Janeiro clustered in different lineages, our phylogenetic analysis suggests multiple introductions of Zika virus from other regions of Brazil, rather than from outside the country, and an early presence (2013) of Zika virus in Rio de Janeiro State.

#### Acknowledgments

We acknowledge the Sequencing Platform Network, Technological Development Program in Materials for Health-PDTIS (Fiocruz, Brazil), for viral genomic sequencing. We thank Alexandra Bialonski for excellent technical assistance in next-generation sequencing.

This work was supported by grants from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ (grant nos. 401542/2015-7, E-26/102.241/2013, and E-26/010.001610/2016) and Fundação Oswaldo Cruz.

Dr. Ayllón is a postdoctoral researcher in the Instituto Nacional de Infetologia Evandro Chagas-Fiocruz. Her research interests include entomology, virology, and immunology, with special focus on mosquito-borne viruses.

#### References

- Zummarchi L, Tappe D, Fortuna C, Remoli ME, Günther S, Venturi G, et al. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. *Euro Surveill*. 2015;20:21153. <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.23.21153>
- Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110:569–72. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>
- Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC, Sequeira PC, Sequeira AM, Veloso VG, et al. First detection of autochthonous Zika virus transmission in a HIV-infected patient in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Virol*. 2016;74:1–3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2015.11.014>
- Chouin-Carneiro T, Vega-Run A, Vazeille M, Yebakima A, Girod R, Gouindin D, et al. Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004543. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004543>
- Jost H, Bialonski A, Maus D, Samhri V, Eiden M, Groschup MH, et al. Isolation of usutu virus in Germany. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;85:551–3. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0248>
- dos Reis JC, Honório NA, Codeço CT, Magalhães MA, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C. Relevance of differentiating between residential and non-residential premises for surveillance and control of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop*. 2010;114:37–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.01.001>
- Lancioni RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velaz JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1232–9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.080287>
- Wachre T, Maagard A, Tappe D, Cadar D, Schmidt-Chamist J. Zika virus infection after travel to Tahiti, December 2013. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:1412–4. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2008.140302>
- Naccache SN, Thérèse J, Sardi SL, Somasekar S, Greninger AL, Bandeira AC, et al. Distinct Zika virus lineage in Salvador, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:1788–92. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2210.160663>
- Thangamseti S, Huang J, Hart CE, Guzman H, Tesh RB. Vertical transmission of Zika virus in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;95:1169–73. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.16-0448>

Address for correspondence: Jonas Schmidt-Chamist, Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, WHO Collaborating Centre for Arbovirus and Haemorrhagic Fever Reference and Research, Bernhard-Nocht-Strasse 74, 20359 Hamburg, Germany; email: jonassi@gmx.de

## Scrub Typhus Outbreak in a Remote Primary School, Bhutan, 2014

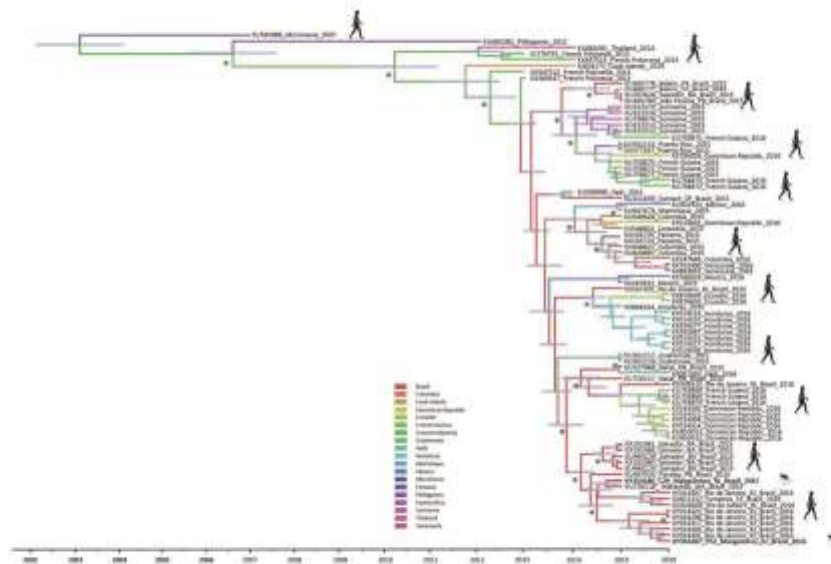
Tshokey Tshokey, Stephen Graves, Dorji Tshering, Kelzang Phuntsho, Karchung Tshering, John Stenos

Author affiliations: Jigme Dorji Wangchuck National Referral Hospital, Thimphu, Bhutan (T. Tshokey); University Hospital Geelong, Geelong, Victoria, Australia (T. Tshokey, S. Graves, J. Stenos); Bajo Hospital, Wangduephodrang, Bhutan (D. Tshering); Royal Centre for Disease Control, Ministry of Health, Thimphu (K. Phuntsho, K. Tshering)

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2308.162021>

## Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil

### Technical Appendix



**Technical Appendix Figure.** Bayesian maximum clade credibility (MCC) tree representing the time-scale phylogeny of the Zika virus outbreaks in the Americas. The time-scaled phylogeny was performed by using the Bayesian Markov chain Monte Carlo tree-sampling method with BEAST version 1.8.3 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/>) and in parallel the maximum-likelihood method (not shown) using PhyML 3.0 (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/versions.php>) with 1,000 pseudoreplicates based on near-complete envelope coding region sequences. The Akaike information criterion was chosen as the model selection

framework, and the general time-reversible plus gamma distribution plus invariable site model was chosen as the best model. The Bayesian molecular clock phylogeny was estimated by using a strict molecular clock and Bayesian skyline coalescent prior. The posterior probability distributions were visualized by using Tracer version 1.6 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>). The colored branches of MCC trees represent the most probable geographic location of their descendant nodes (see figure key). Zika virus sequences generated from viruses derived from mosquitoes in this study are in red and bold. Blue horizontal bars represent 95% Bayesian credible intervals for divergence dates. Asterisks at the nodes represent posterior probability values (clade credibility>90%) and percentage bootstrap support values (>70%) based on 1,000 replicates. GenBank accession numbers, country of origin, and year of detection for sequences used to construct the tree are indicated on the branches. For Zika virus strains from Brazil, the location and the states of origin have been included. Brazil states: BA, Bahia; CE, Ceará; MA, Maranhão; PA, Pará; PB, Paraíba; RJ, Rio de Janeiro; RN, Rio Grande do Norte; SP, São Paulo.

## **Capítulo 3.4 - Análise espaço-temporal do padrão de dispersão e propagação de dengue em área endêmica do Rio de Janeiro, no período de 2001-2016**

**Referência bibliográfica:** Câmara DCP, Codeço CT, Honório NA, et al. 2018. Análise espaço-temporal do padrão de dispersão e propagação de dengue em área endêmica do Rio de Janeiro, período de 2000-2013.

**Situação do manuscrito:** Em redação.

**Este artigo atende ao objetivo específico 4 deste trabalho.**

### **Apresentação**

Este trabalho objetivou realizar um estudo descritivo epidemiológico da circulação de DENV no município de Itaboraí/RJ, utilizando dados secundários provenientes do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Uma série temporal de 16 anos (2001-2016) foi obtida e os casos foram georreferenciados a nível de bairro. A partir destes dados, procedeu-se a uma análise do perfil da população afetada, a dinâmica espacial e temporal da circulação dos vírus, e a dispersão de epidemias no município.



**Foto 3.4.** Peridomicílio de um ponto de coleta na localidade periurbana de Areal, município de Itaboraí. Junho de 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.

### 3.4.1 Introdução

A crescente incidência e a expansão geográfica do dengue, bem como a emergência de chikungunya e Zika, sugerem limitações para as atuais estratégias de controle, principalmente do seu vetor primário, o *Aedes aegypti*. Em muitos países, os programas de controle do *Ae. aegypti* apresentam limitações para obterem cobertura nacional, principalmente por conta da deficiência na estrutura e a falta de recursos humanos e financeiros (Braga & Valle 2007). Com efeito, para que medidas de controle de vetores sejam bem sucedidas, é necessário que as atividades sejam intensivas, padronizadas, tenham ampla cobertura e sejam sustentáveis no longo prazo (OMS 2012). No entanto, a rápida expansão do chikungunya e Zika desafiam os métodos de monitoramento e controle de vetores utilizados nas Américas, particularmente o Brasil.

No Brasil, o monitoramento da infestação do *Ae. aegypti* é realizado através da realização do Levantamento de Índice Rápido para o *Aedes aegypti* – LIRAA, cujo principal objetivo é obter os principais indicadores entomológicos de *Stegomyia* de maneira rápida (Índice de Infestação Predial e Índice de Breteau). Em estudo realizado sobre o LIRAA em 61 cidades brasileiras, verificou-se que, apesar da metodologia não ser boa preditora da incidência de dengue, o LIRAA pode indicar uma previsão da velocidade do crescimento de epidemias, o que pode servir para nortear estratégias de intervenção precoces (Coelho et al. 2008). Entretanto, poucos estudos conseguiram encontrar correlação entre os índices de infestação e ocorrência de transmissão de dengue (Focks & Chadee 1997, Focks 2003). Além disso, seus resultados são discordantes e pouco se avançou na determinação da correlação entre os índices levantados pelo LIRAA e risco de epidemias e na construção de indicadores de risco de transmissão de dengue (Tun-Lin et al. 1995). Por um outro lado, ferramentas e metodologias estatísticas utilizadas em outras áreas de conhecimento, como a análise multivariada e análise espacial, têm enorme potencial de utilização na saúde pública, permitindo uma abordagem mais ampla, detalhada e discriminada dos agravos em saúde (Carvalho et al. 1996, 1997, Carvalho & Souza-Santos 2005). Além disso, sua utilização permite

compreender melhor diferentes determinantes da manutenção da transmissão desses agravos, além de identificar e delinear áreas de risco (Barcellos et al. 2005; Lagrotta et al. 2008; Reis et al. 2010, Teixeira & Cruz 2011).

Com efeito, a dinâmica de transmissão de doenças infecciosas, particularmente as transmitidas por artrópodes vetores, demonstra alta heterogeneidade espacial e temporal. Sua dinâmica de transmissão é dependente não apenas do vetor invertebrado, do hospedeiro vertebrado e do patógeno, mas de sua interação em um ambiente permissivo (Reisen 2010). Nesse contexto, encontram-se as arboviroses, particularmente a dengue, cuja dinâmica de transmissão é altamente heterogênea, tanto espacial quanto temporalmente. Com isso, de forma a aumentar a efetividade e eficácia de ações de controle, tem-se visto a necessidade de identificar potenciais áreas de maior risco de transmissão de dengue. Sabe-se que a maioria das propostas de estratificação de áreas de risco para dengue seguem duas vertentes: a utilização de dados epidemiológicos, rotineiramente produzidos pelos serviços de saúde, ou a utilização de indicadores de vulnerabilidade ambiental (Vanlerberghe et al. 2017).

A heterogeneidade espacial da dengue tem sido observada em diversos locais. Em Maracay, uma cidade hiperendêmica na Venezuela, identificou-se que cerca de 70% dos casos de dengue notificados ocorrem em apenas 35% dos bairros, onde concentra-se cerca de 55% da população total da área de estudos, tornando possível estratificar a cidade em regiões de ação prioritária para ações de controle (Barrera et al. 2000). Em Iquitos, Peru, identificou-se um padrão geográfico altamente heterogêneo da transmissão do dengue durante cinco anos de estudo, onde identificaram-se os picos epidêmicos ocorrendo em diferentes épocas em 8 diferentes áreas da cidade (Morrison et al. 2010). No Rio de Janeiro, apesar da grande heterogeneidade da transmissão de dengue, foi possível identificar bairros chaves para o início e manutenção de epidemias, sugerindo que ações direcionadas para estes locais poderiam mitigar o efeito das epidemias (Xavier et al. 2017).

Em Ho-Chi-Minh, no sul do Vietnã, também se verificou grande heterogeneidade espacial na transmissão de dengue; enquanto a maioria das



províncias estudadas possui um ciclo anual de transmissão, algumas províncias chave exibem múltiplos picos epidêmicos ocorrendo num mesmo ano, levando a crer que fatores intrínsecos e extrínsecos dessas áreas podem ser responsáveis pela produção e sustentação de epidemias (Cuong et al. 2013). Em Cairns, uma cidade não-endêmica para dengue na Austrália, um estudo identificou que as áreas mais antigas e costeiras da cidade foram as principais responsáveis por introdução dos vírus DENV e epidemias, e que 65% dos casos ocorridos foram provenientes de 18 aglomerados espaço-temporais (Vasquez-Prokopec et al. 2010).

Outros estudos reforçam a importância das condições socioambientais dos domicílios na produção e manutenção de criadouros de *Ae. aegypti*. Na cidade de Songkhla, Tailândia, foi evidenciada a existência de agrupamentos de casos de dengue e sua associação com alta densidade intra-domiciliar e presença de lixo no exterior das casas (Thammapalo et al. 2008). De forma semelhante, um estudo caso-controle realizado no Rio de Janeiro demonstrou forte associação de casos graves de dengue com características socioambientais do domicílio e seu entorno (Gibson 2012). Com efeito, urbanização e condições socioeconômicas precárias são historicamente associadas ao dengue no Brasil (Tauil 2001).

Num contexto de surtos e epidemias recorrentes e simultâneos de dengue, Zika e chikungunya, se faz necessário repensar e melhor direcionar as estratégias de vigilância e controle rotineiramente utilizadas pelos serviços de saúde. A grande disponibilidade de dados ambientais, socioeconômicos e epidemiológicos pode ser utilizada para a criação de modelos para estratificação de áreas de risco para transmissão de arboviroses urbanas, otimizando as ações de controle realizadas sem haver o incremento de custo para a gestão de saúde local. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar áreas de maior risco de transmissão de dengue, além de caracterizar o padrão de dispersão e propagação de dengue numa cidade endêmica para a doença no estado do Rio de Janeiro.

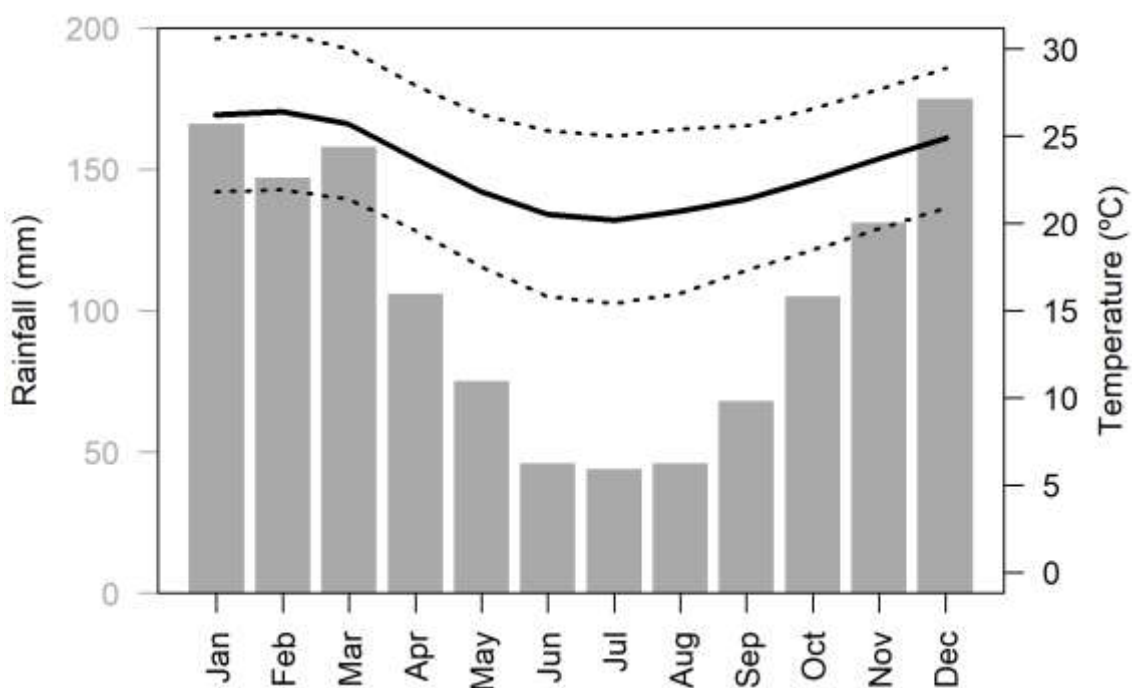
## **3.4.2 Material e métodos**

### **3.4.2.1. Desenho de estudo**

Trata-se de um estudo ecológico observacional da distribuição espacial e temporal da incidência de dengue, cujas unidades de análises foram os 78 bairros do município de Itaboraí, localizado no estado do Rio de Janeiro. Utilizaram-se os casos de dengue notificados no município para os anos de 2001 a 2016, fornecidos pela Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro (SES/RJ).

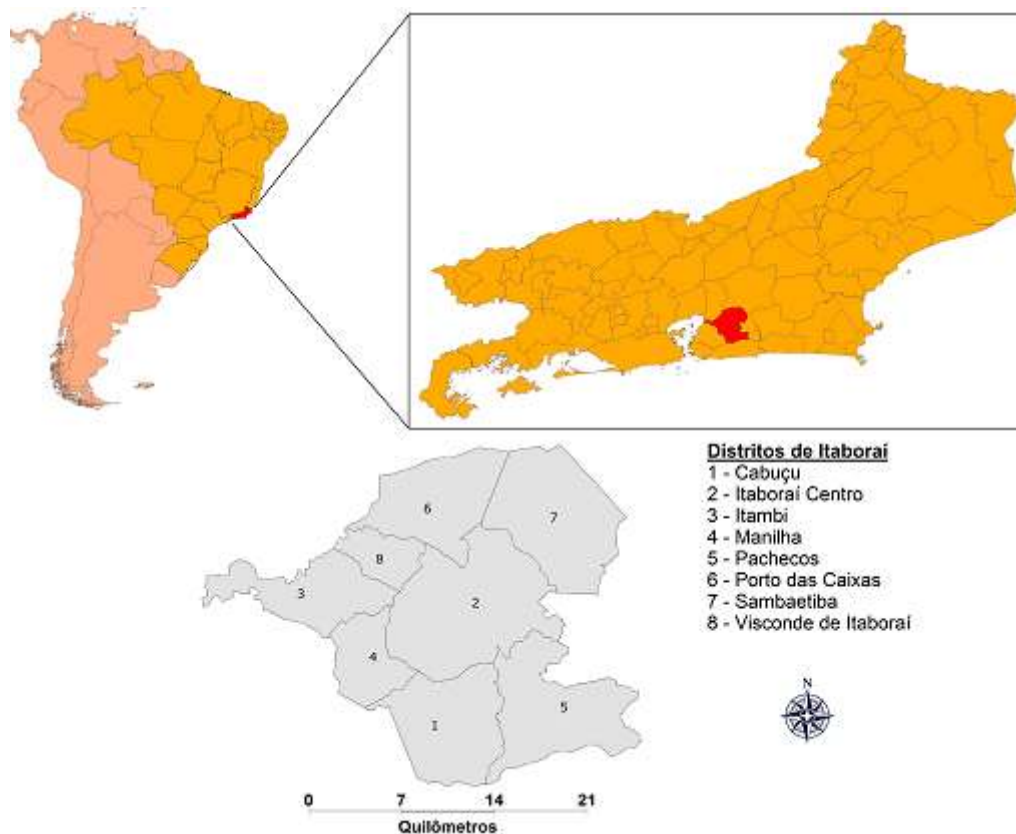
### **3.4.2.2. Área de estudo**

O município de Itaboraí (latitude: 22° 44' 51" Sul, longitude: 42° 51' 21" Oeste) faz parte da Região Metropolitana do estado do Rio de Janeiro. Possui cerca de 430,374 km<sup>2</sup>, com uma população estimada de 232.394 habitantes e densidade demográfica 506,56 hab/km<sup>2</sup> (IBGE 2017). Faz limite com Guapimirim e Cachoeiras de Macacu ao norte, com Maricá ao sul, com São Gonçalo a oeste e com Tanguá a leste, além de ter acesso à Baía de Guanabara. O clima no município é tropical úmido, caracterizado por verões chuvosos e inverno seco, onde a temperatura média varia entre 15.4°C e 30.9°C e a precipitação acumulada mensal varia de 44 a 175mm (Figura 3.4.1).



**Figura 3.4.1.** Caracterização do clima em Itaboraí através da média mensal da precipitação, temperatura mínima, média e máxima. Barras cinzas representam precipitação média acumulada mensal (mm). Linhas pretas pontilhadas e sólida representam, respectivamente, temperatura média mensal mínima, máxima e média (°C).

O município de Itaboraí é dividido em oito distritos: Cabuçu, Centro, Itambi, Manilha, Pachecos, Porto das Caixas, Sambaetiba e Visconde de Itaboraí (Figura 3.4.2). Estes, por sua vez, dividem-se em 78 bairros de acordo com a administração municipal. Cerca de 1,23% da população total do município reside em área rural, e o restante em área urbana. A maior parte da população reside no distrito Centro (49,12%), enquanto a minoria reside em Porto das Caixas (1,73%). A maior parte da população pode ser dividida em duas categorias: uma que recebe até 1 salário mínimo e outra que recebe entre 1 e 5 salários mínimos.



**Figura 3.4.2.** Localização do município de Itaboraí no estado do Rio de Janeiro e de seus oito distritos.

### 3.4.2.3 Dados epidemiológicos e indicadores

Os dados de notificações de casos de dengue utilizados neste estudo compreendem o período de 2001 a 2016, e foram obtidos através de parceria com a Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio de Janeiro (SES – RJ). Utilizou-se a base de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação. A base foi conferida para duplicidade sendo reduzida a alguns campos necessários para análise dos registros repetidos de entradas, utilizando-se os seguintes campos: “nome do paciente”; “nome da mãe do paciente”; “data de nascimento” e “sexo”. Entradas repetidas num período de 12 meses foram removidas. Após a análise do banco, os casos notificados de dengue foram georreferenciados ao nível de bairro, seguindo a listagem disponível no Censo 2010 do IBGE.

Para este estudo, foram utilizados o número total de casos de dengue notificados no período para descrever o padrão temporal. Para o estudo espacial e espaço-temporal, utilizou-se o número de casos de dengue georreferenciados com sucesso ao nível de bairro.

#### **3.4.2.4 Análise descritiva temporal e espacial do dengue**

A análise de séries temporais foi realizada para todo o período de estudo (2001 a 2016), tendo como unidade de tempo o mês e como unidade espacial os distritos e bairros que compõe o município de Itaboraí. Utilizaram-se taxas de incidência brutas por 10.000 habitantes e taxas bayesianas empíricas globais por 10.000 habitantes nesse estudo.

Para estimar o risco do dengue nos bairros, utilizaram-se taxas bayesianas empíricas globais anuais, de forma a corrigir variações bruscas nas taxas de incidência bruta em função das flutuações observadas no numerador e denominador das taxas na região de estudo (Marshall 1991). Essas variações bruscas podem não ter relação com o fenômeno e sim com uma variabilidade associada às observações (Marshall 1991, Carvalho et al. 2012). Assim, o estimador bayesiano empírico global calcula uma média ponderada entre a taxa bruta da localidade, como um bairro, e a taxa global da região, como o município onde se localiza o bairro (razão entre o número total de casos e a população total). Logo, o fator de ponderação é inversamente proporcional à população em risco (Marshall 1991). Caso a localidade apresente uma população de tamanho consideravelmente grande, a taxa calculada para a localidade terá pouca variabilidade e será pouco alterada. Por outro lado, caso a localidade apresente uma população pequena, a estimativa de sua taxa possuirá maior variância e pouco peso será atribuído a essa taxa instável, tornando a taxa bayesiana mais próxima do valor esperado de uma área escolhida ao acaso naquela região (Carvalho et al. 2012).

A análise da série temporal de dengue foi realizada em diferentes níveis: 1) municipal, utilizando a incidência total de casos notificados no período de estudo, de forma a identificar os anos de epidemia; e 2) intramunicipal,

utilizando a incidência de casos notificados georreferenciados no período de estudo, de forma a identificar o padrão epidêmico e os anos epidêmicos em cada bairro do município (Xavier et al. 2017). As séries produzidas foram decompostas em três componentes: tendência, sazonalidade e anomalias. A tendência foi extraída através de um modelo polinomial cúbico, enquanto a sazonalidade foi extraída através de uma análise parcial de Fourier (Alonso & McCormick 2012). O uso de uma parcial de Fourier tem como efeito particionar a variabilidade da série temporal em componentes ou harmônicos ortogonais, e, desta forma, não correlacionados, mas mantendo a sazonalidade dos dados, algo de fundamental importância em epidemiologia (Rogers et al. 1996, Rogers 2000). Com isso, produziu-se uma função periódica anual de sazonalidade, composta pelos ciclos correspondentes a 12, 6 e 3 meses, e assim, estimando o momento de ocorrência (fase) e magnitude dos picos de transmissão anuais tanto ao nível municipal quanto o intramunicipal (Rogers et al. 1996). A ocorrência do pico primário representa o momento no qual há maior intensidade de transmissão de dengue no ano em questão, enquanto a amplitude do pico representa a intensidade da sazonalidade no ano em questão (Alonso & McCormick 2012). Com isso, a soma dos três harmônicos obtidos pela parcial de Fourier e o modelo polinomial cúbico resultam em um modelo de ajuste médio da assinatura sazonal da série, no qual as variações entre anos são removidas, mas variações sazonais dentro dos anos são mantidas (Alonso et al. 2007, 2011, Alonso & McCormick 2012).

Os anos epidêmicos foram determinados como aqueles nos quais a série original de casos ultrapassou o limite superior do intervalo de confiança de 95% do ajuste da assinatura sazonal. A estimativa de ocorrência do pico primário anual permitiu identificar o mês de ocorrência da intensidade epidêmica máxima, tanto ao nível municipal quanto intramunicipal, e a amplitude a força relativa do pico epidêmico (Alonso & McCormick 2012). A partir desses resultados, foi possível identificar o mês de maior transmissão de dengue para cada bairro, permitindo identificar a difusão espacial e temporal do agravo durante os anos epidêmicos (Xavier et al. 2017). Para isso, o valor do pico primário de transmissão foi atribuído ao centroide de cada bairro e interpolado pela superfície do município utilizando inverso da distância ao

quadrado (IDW). Com isso, os valores da superfície refletem o momento aproximado em que a onda epidêmica se difunde pela região (Xavier et al. 2017). O software utilizado para a análise de séries temporais e de ocorrência de epidemias foi o Epipei (Alonso & McCormick 2012).

#### **3.4.2.4 Detecção de clusters de transmissão de dengue**

A distribuição espaço-temporal dos casos notificados de dengue em Itaboraí, nos anos de 2001 a 2016, foram modelados de acordo com a metodologia proposta por Kulldorff (1997). Utilizou-se a abordagem de escaneamento espaço-temporal, o qual realiza uma varredura utilizando diferentes janelas temporais e espaciais até encontrar os clusters mais prováveis de transmissão de dengue na área e período de estudo. Clusters potenciais são identificados a partir das janelas de varreduras, as quais baseiam-se na proporção de casos observados e esperados em cada localidade. O raio da janela de varredura é determinado pelo tamanho da população em risco; para isso, utilizaram-se diferentes valores: 10%, 20% e 50%, de modo a encontrar um tamanho mais apropriado para a varredura (Han et al. 2016). Por fim, foi selecionado um tamanho de varredura correspondente a 50% da população em risco. Analisamos separadamente os anos epidêmicos (2002, 2008, 2011 e 2013), para verificar a ocorrência de deslocamento dos clusters mais prováveis de transmissão durante as epidemias de dengue, utilizando uma janela temporal de até 50%. O risco relativo (RR) foi estimado através da razão entre o risco estimado no interior do cluster potencial com o risco estimado no exterior do cluster potencial. O cluster potencial mais provável é, então, definido através de um teste de razão de verossimilhança (Likelihood ratio, LLR), cuja significância estatística foi definida através de 999 simulações de Monte Carlo. O software de análise utilizado foi o SatScan (Kulldorf 2009). Para as análises, os dados foram agregados ao nível de bairro e mês em um modelo nulo sem covariáveis utilizando a distribuição Poisson, testando a hipótese nula de que a incidência de dengue em Itaboraí foi homoganeamente distribuída em Itaboraí no período de 2001 a 2016. A

projeção populacional para cada bairro em cada ano da série temporal foi utilizada como offset do modelo.

### 3.4.3 Resultados

#### 3.4.3.1 Análise temporal descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ

No período de 2001 a 2016, foram notificados 32.358 casos de dengue no município de Itaboraí. Os anos com maior número de casos notificados foram 2002, 2008, 2011, 2012 e 2013, que, juntos, somam 24.198 casos, ou 74,78% do total notificado no período. O ano com menor número de notificações foi 2004, com nove casos (0,03% do total), enquanto o ano com maior número de notificações foi 2013, com 6.092 casos (18,83% do total). A taxa de incidência variou de 0,04 a 25,99 casos a cada 10.000 habitantes. Dos 32.358 casos notificados, 22.474 (69,45%) conseguiram ser localizados ao nível de bairro. Os anos de 2002, 2003 e 2006 foram os anos com as menores taxas de casos localizados de todo o período de estudo, respectivamente 37,17%, 26,35% e 48,33%. Todos os outros anos do período tiveram uma taxa de localização maior de 50%. Três anos apresentaram taxas de localização superior a 80%: 2007 (83,86%), 2010 (86,13%) e 2012 (87,51%). Ao todo, foram registradas 32.358 notificações, das quais 22.474 foram localizadas ao nível de bairro (69,67%) (Tabela 3.4.1).

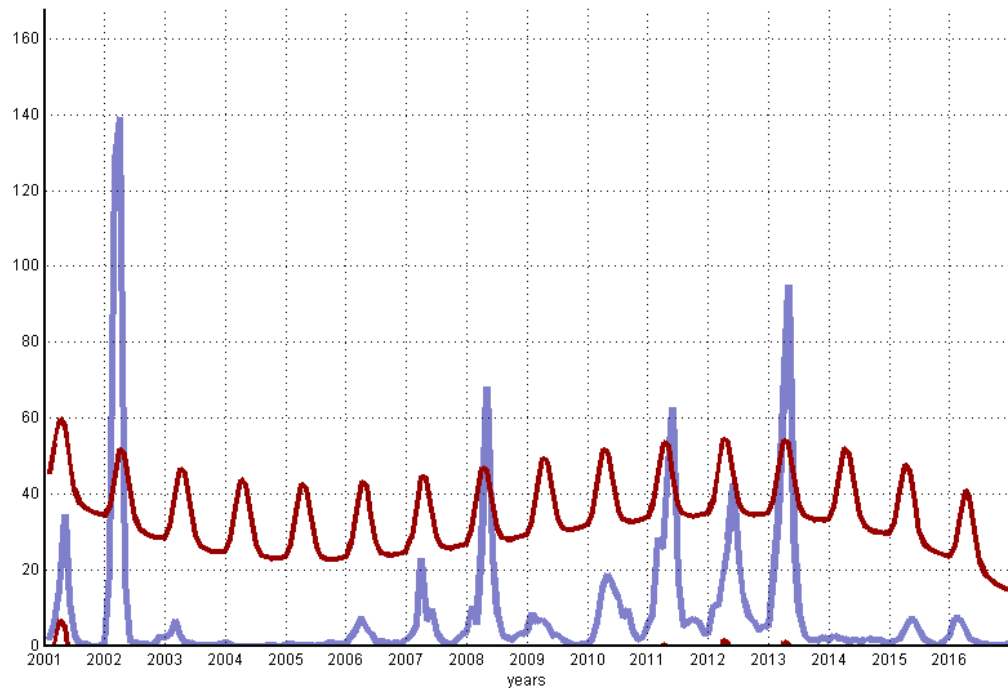
**Tabela 3.4.1.** Total de casos de dengue notificados, total de casos localizados por bairro com sucesso e incidência por 10.000 habitantes durante o período de estudo, em Itaboraí/RJ.

Ano	Casos totais	Casos localizados	Incidência	Ano	Casos totais	Casos localizados	Incidência
2001	1.353	837	5.98	2009	756	594	2.95
2002	5.935	2.206	25.99	2010	2.177	1.875	8.32
2003	277	73	1.2	2011	4.902	3.902	18.32
2004	9	5	0.04	2012	3.954	3.460	14.44



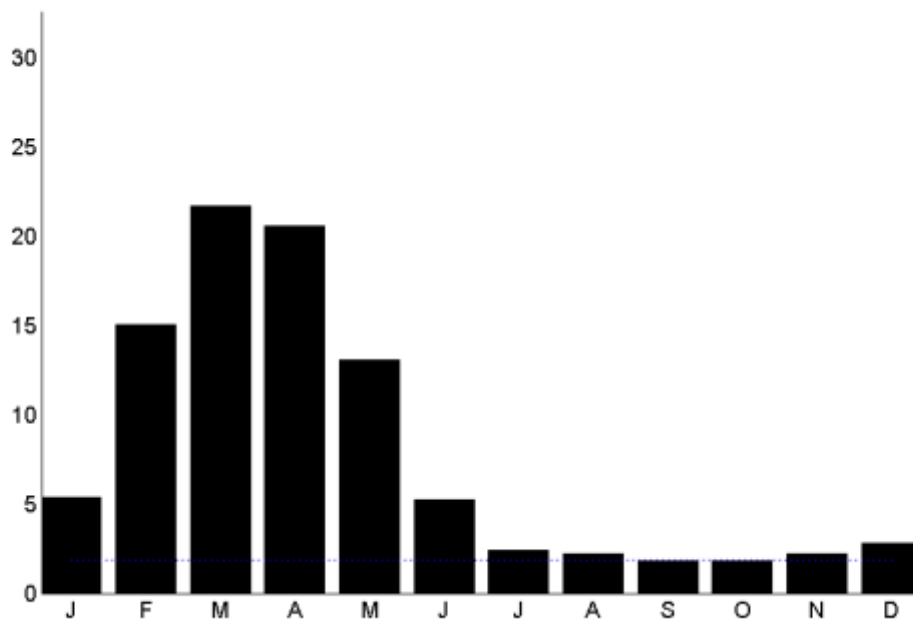
2005	65	37	0.27	2013	6.092	4.340	21.71
2006	540	261	2.23	2014	406	296	1.41
2007	1.239	1.039	5.03	2015	756	578	2.56
2008	3.315	2.635	13.21	2016	582	336	1.92
				TOTAL	32.358	22.474	

A Figura 3.4.3 mostra o ajuste do modelo sazonal sobre a série temporal de incidência de casos de dengue por 10 mil habitantes. Utilizou-se o total de casos de dengue notificados (isto é, as 32.358 notificações que compõe a base de dados após as análises de qualidade). Nota-se que os anos de 2002, 2008, 2011 e 2013 tiveram taxas de incidência superiores aos limites do intervalo de confiança do modelo (IC95), configurando-se como anos epidêmicos. Neste período, foram contabilizados 20.244 casos, ou 62,56% do total de notificações no período. Observa-se que os anos anteriores aos epidêmicos (2001, 2007, 2010 e 2012) apresentaram um incremento na taxa de incidência, particularmente o ano de 2012. Os anos pré-epidêmicos foram responsáveis pela notificação de 8.723 casos, ou 26,96% do total do período de estudo. Os demais anos (2003, 2004, 2005, 2006, 2009, 2014, 2015 e 2016) apresentaram taxas baixas e inferiores a 5 casos/10.000 habitantes, sendo responsáveis por 3.391 notificações, ou 10,48% do período. A epidemia de 2002 ocorreu antes do ajuste sazonal do modelo, com leve deslocamento para a esquerda. O pico epidêmico de 2013 foi capturado pelo modelo, coincidindo com o ajuste sazonal. Já as epidemias de 2008 e 2011 demonstraram leve deslocamento para a direita, após o ajuste sazonal do modelo (Tabela 3.4.1, Figura 3.4.3).



**Figura 3.4.3.** Série temporal da incidência de casos notificados de dengue por 10 mil habitantes (em azul), e a assinatura sazonal ajustada com seu respectivo intervalo de confiança de 95% (vermelho) para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ.

A Figura 3.4.4 exibe a média mensal da incidência do total de casos de dengue notificados durante o período de estudo no município de Itaboraí/RJ. O resultado mostra que a concentração de casos de dengue ocorre majoritariamente no primeiro semestre do ano; o pico ocorre em março (taxa de 21,7/10.000 habitantes), com abril também exibindo alto valor (20,6/10.000 habitantes). A partir de maio, há uma queda na taxa de incidência, até esta atingir o menor valor em outubro (1,78/10.000 habitantes) (Figura 3.4.4).



**Figura 3.4.4.** Média mensal da incidência de casos notificados de dengue por 10 mil habitantes para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ.

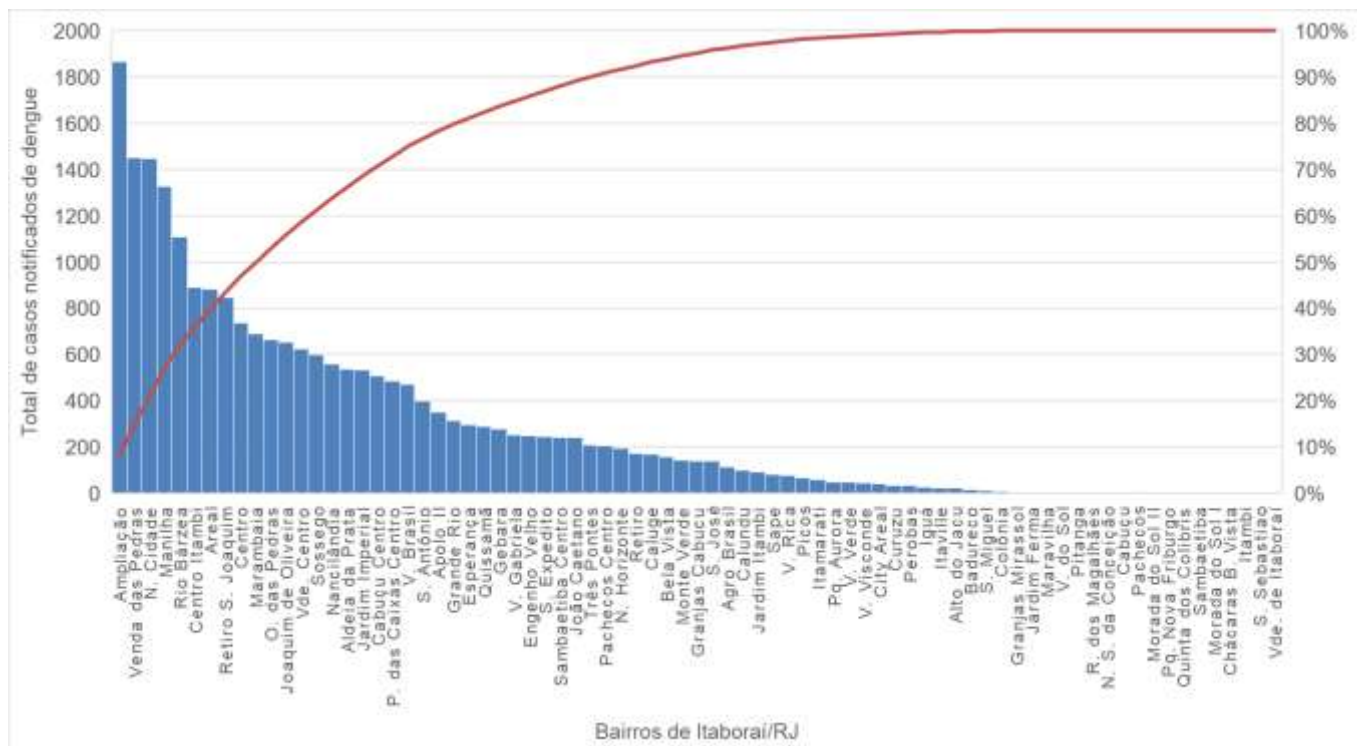
### 3.4.3.2 Análise espacial descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ

Considerando apenas os casos localizados (um total de 22.474 notificações), o distrito do Centro foi responsável pelo maior número de casos notificados no período de estudo (60,37%), seguido pelo distrito de Manilha (20,02%) e Itambi (8,27%). No entanto, os distritos com maior incidência de casos por 10.000 habitantes foram Porto das Caixas (80,4), Centro (79,67) e Cabuçu (54,16). Os distritos de Pachecos e Sambaetiba foram os com menor número de casos notificados (respectivamente, 1,06% e 1,66%) e menores incidências para o período (respectivamente, 36,94 e 47,24 casos por 10.000 habitantes) (Tabela 3.4.2).

**Tabela 3.4.2.** Total de casos notificados de dengue e incidência acumulada por 10.000 habitantes em todo o período de estudo, para o município de Itaboraí/RJ.

<b>Distrito</b>	<b>Casos</b>	<b>%</b>	<b>Incidência</b>
Cabuçu	723	3,22	54,16
Centro	13.567	60,37	79,67
Itambi	1.859	8,27	51,22
Manilha	4.500	20,02	50,04
Pachecos	238	1,06	36,94
P. das Caixas	484	2,15	80,46
Sambaetiba	374	1,66	47,24
Vde. de Itaboraí	729	3,24	55,15
Total	22.474	100	65,44

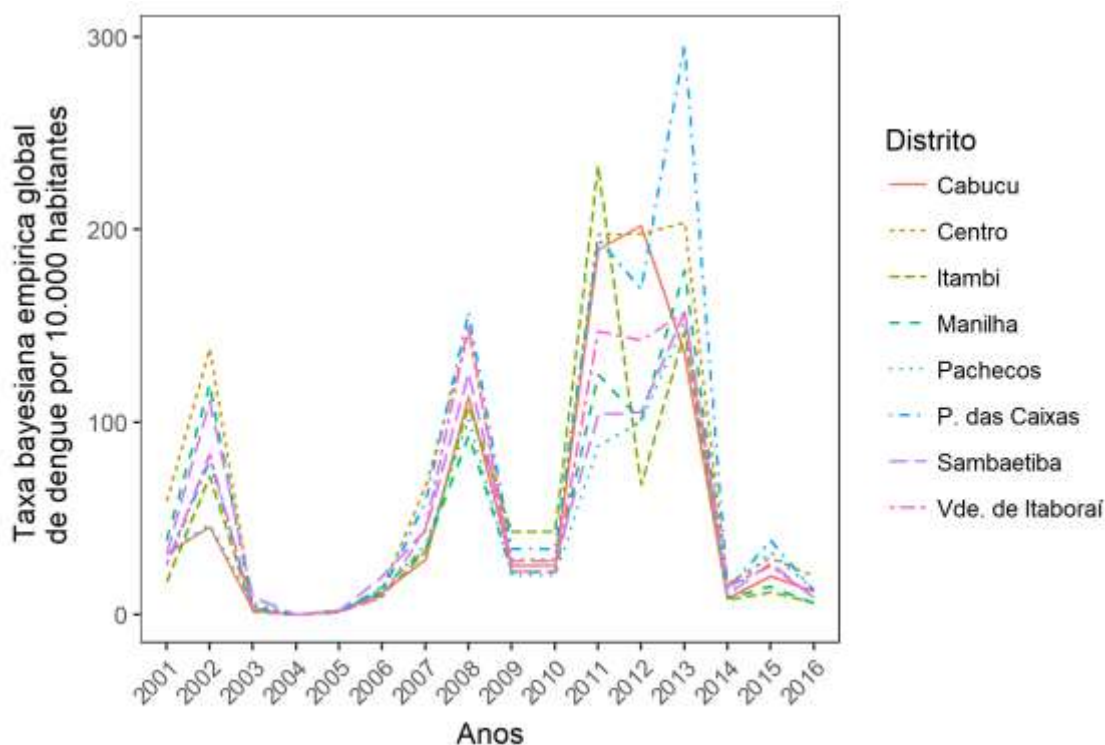
O Bairro Ampliação (distrito Centro) foi o que notificou o maior número de casos de dengue durante todo o período: 1.867, ou 8,31% dos 22.474 casos que foram localizados a nível de bairro. Ao todo, 10 dos 78 bairros de Itaboraí concentraram mais de 50% dos casos em todo o período. Destes, sete bairros são do distrito Centro (Ampliação, Venda das Pedras, N. Cidade, Rio Várzea, Areal, Retiro S. Joaquim e Centro, responsáveis por 37,09% do total de casos notificados) e três do distrito Manilha (Centro Itambi, Manilha e Marambaia, os quais notificaram 12,93% do total de casos). Um total de 14 bairros não registraram notificação. Cabe ressaltar que 30,3% dos casos notificados não foram conseguidos ser localizados ao nível de bairro, correspondendo a 9.783 casos (Figura 3.4.5).



**Figura 3.4.5.** Percentual de casos de dengue (barras azuis) e percentual acumulado (linha vermelha) segundo bairros para o período de 2001 a 2016 em Itaboraí/RJ.

### 3.4.3.3 Análise temporal e espacial descritiva do dengue no município de Itaboraí/RJ

Ao analisar o comportamento da taxa bayesiana empírica global anual, verifica-se picos de transmissão ocorrendo simultaneamente em quase todos os distritos. Em 2002, o distrito com maior taxa bayesiana foi o Centro (138,19 casos/10.000 hab.), seguido por Manilha (119,77 casos/10.000 habitantes) e Sambaetiba (110,73 casos/10.000 habitantes). Já em 2008, os distritos com maiores taxas bayesianas globais foram Porto das Caixas (157,07/10.000 habitantes), Visconde de Itaboraí (150,2/10.000 habitantes), e Centro (146,33/10.000 habitantes). Na epidemia de 2011, os distritos com as maiores taxas foram Itambi (232,96/10.000 habitantes), Centro (197,3/10.000 habitantes), e Porto das Caixas (194,95/10.000 habitantes). Por fim, a epidemia de 2013 teve como distritos mais importantes Porto das Caixas (com uma taxa de 296,24 casos/10.000 habitantes), Centro (203,87/10.000 habitantes), e Manilha (178,91/10.000 habitantes) (Figura 3.4.6).



**Figura 3.4.6.** Taxa bayesiana empírica global anual dos oito distritos de Itaboraí/RJ, para os anos de 2001 a 2016.

Em 2001, primeiro ano da série, 14 bairros apresentaram taxas no primeiro intervalo de classe (entre 0 e 10 casos/10.000 habitantes), enquanto 41 se enquadraram no segundo intervalo (entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes). Os bairros com maiores taxas foram Venda das Pedras, Sossego, Centro de Itambi, Nancilândia e Outeiro das Pedras (respectivamente, com taxas de 226,58, 187,87, 161,36, 129,15 e 126,79 casos/10.000 habitantes). Destes, quatro são integrantes do distrito Centro e um do distrito Itambi (Tabela 3.4.3 e Figura 3.4.7).

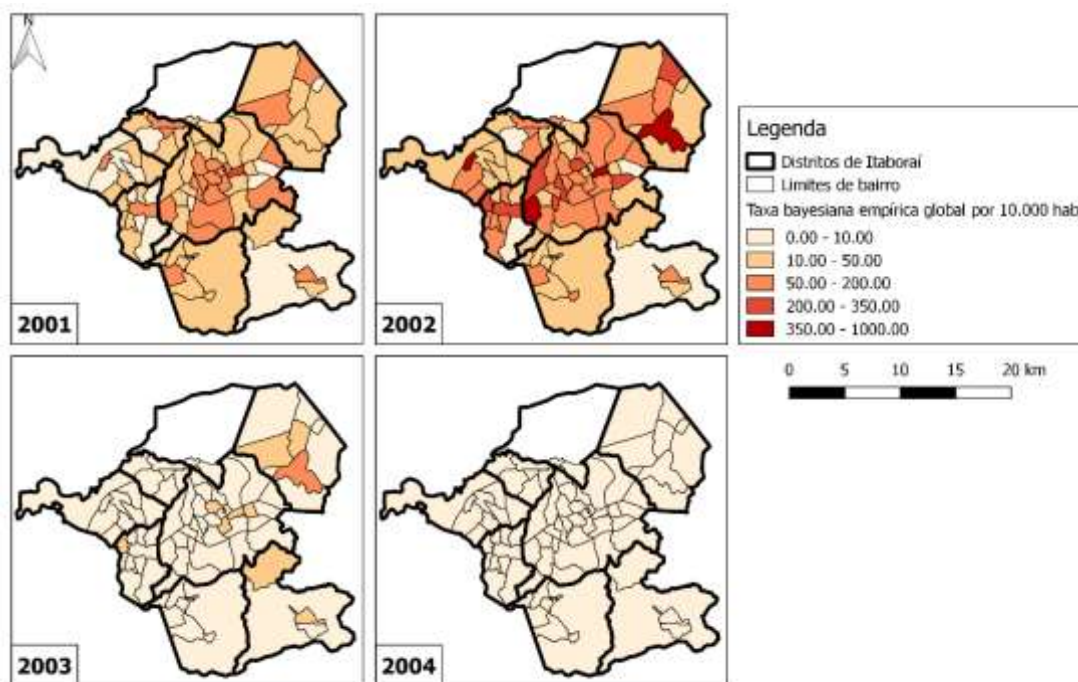
No ano epidêmico de 2002, apenas 4 bairros apresentaram taxas bayesianas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes. A maioria dos bairros se distribuiu no segundo intervalo (10 e 50 casos/10.000 habitantes, totalizando 32 bairros) e terceiro (entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes, totalizando 31 bairros). Onze bairros exibiram taxas acima de 250 casos/10.000 habitantes,

com quatro inseridos no último intervalo: Chácaras Bela Vista, Itambi (Centro), Venda das Pedras e Três Pontes (com taxas, respectivamente, de 597,39; 562,22; 525,12 e 376,37 casos/10.000 habitantes) (Tabela 3.4.3 e Figura 3.4.7).

O ano de 2003 apresentou diminuição expressiva na taxa bayesiana empírica em todo o município, onde 68 bairros apresentaram taxas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes, nove no segundo intervalo (entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes), e apenas um bairro com taxa acima de 50 casos/10.000 habitantes. Este foi o bairro de Chácaras Bela Vista, no distrito Centro, com uma taxa de 57,28 casos/10.000 habitantes. A tendência de queda nas taxas se estendeu ao ano de 2004, onde todos os bairros do município apresentaram taxas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes (Tabela 3.4.3 e Figura 3.4.7).

**Tabela 3.4.3.** Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2001 a 2004.

<b>Indicador</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>Mínimo</b>	4,39	5,37	0,26	0,2
<b>Máximo</b>	226,58	597,39	57,28	0,59
<b>Mediana</b>	24,9	62,44	1,8	0,25



**Figura 3.4.7.** Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2001 a 2004.

Em 2005, seguindo a tendência dos anos anteriores, todos os bairros do município apresentaram taxas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes. Já em 2006, as taxas são maiores: apesar de 51 bairros permanecerem dentro do primeiro intervalo, 22 bairros apresentam taxas entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes. Cinco bairros superam esse limite: Agro Brasil, Chácaras Bela Vista, Nancilândia, Venda das Pedras e Itambi (Centro), com taxas, respectivamente, de 102,84, 69,1, 55,99, 52,61 e 50,79 casos/10.000 habitantes (Tabela 3.4.4 e Figura 3.4.8).

Em 2007, o número de bairros com taxas no primeiro intervalo diminuiu para 16, e 40 bairros exibiram taxas entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes. Ao todo, 21 bairros exibiram taxas entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes, e o bairro Venda das Pedras teve a maior taxa do município no ano (277,61 casos/10.000 habitantes) (Tabela 3.4.4 e Figura 3.4.8).

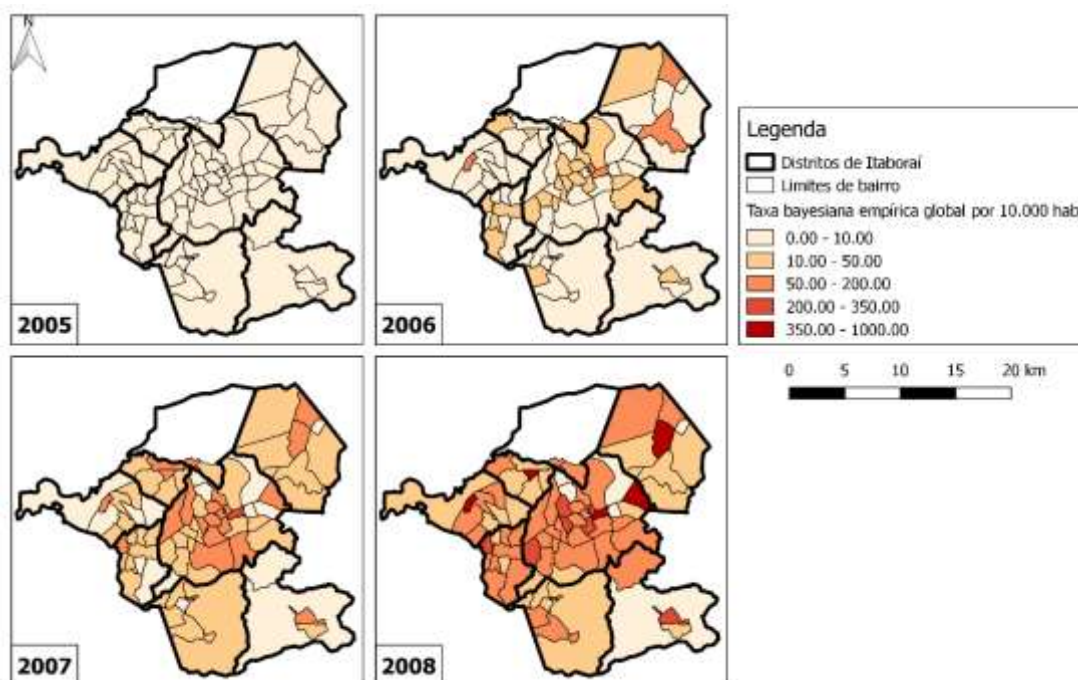
Na epidemia de 2008, apenas 6 bairros apresentaram taxas bayesianas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes. A maioria dos bairros se distribuiu no



segundo intervalo (10 e 50 casos/10.000 habitantes, totalizando 23 bairros) e terceiro (entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes, totalizando 37 bairros). Doze bairros apresentaram taxas acima de 200 casos/10.000 habitantes, sendo que cinco se enquadraram no último intervalo: Venda das Pedras, Engenho Velho, Visconde (Centro), Itambi (Centro) e Sambaetiba (Centro) (com taxas, respectivamente, de 704,86, 587,98, 546,11, 498,2 e 398,34 casos/10.000 habitantes) (Tabela 3.4.4 e Figura 3.4.8).

**Tabela 3.4.4.** Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2005 a 2008.

Indicador	2005	2006	2007	2008
Mínimo	0,6	2,36	1,46	4,47
Máximo	4,96	102,84	277,61	704,86
Mediana	1,65	7,06	26,86	80,8



**Figura 3.4.8.** Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2005 a 2008.

Em 2009, a maior parte dos bairros se distribuiu no primeiro (até 10 casos/10.000 habitantes, totalizando 14 bairros) e segundo intervalos (entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes, totalizando 55 bairros). Nove bairros apresentaram taxas entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes, sendo Itambi (Centro) o bairro com maior taxa (153,02 casos/10.000 habitantes). Em 2010, a maioria dos bairros se distribuiu o segundo e terceiro intervalos de taxas (com, respectivamente, 32 e 31 bairros). Cinco bairros apresentaram taxas acima de 200 casos/10.000 habitantes, com Venda das Pedras apresentando a maior taxa (463,84 casos) (Tabela 3.4.5 e Figura 3.4.9).

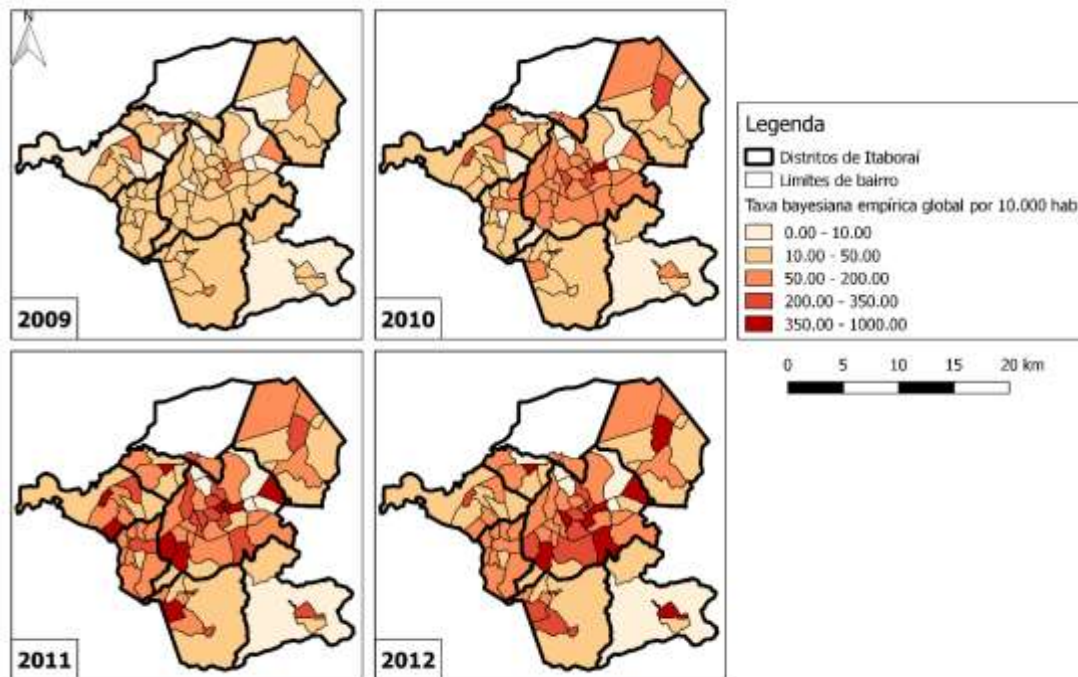
Na epidemia de 2011, seis bairros apresentaram taxas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes, e 18 bairros estiveram no segundo intervalo. A maioria dos bairros foi incluída no terceiro e quarto intervalo (respectivamente 30 e 14 bairros). Nove bairros apresentaram taxas no último intervalo, sendo cinco acima de 500 casos/10.000 habitantes: Itambi (Centro), Venda das Pedras, Três Pontes, Nancilândia e Visconde (Centro) (com taxas, respectivamente, de 994,42, 598,51, 571,44, 546,65 e 503,78) (Tabela 3.4.5 e Figura 3.4.9).

O ano de 2012 também exibiu um padrão de alta incidência por quase todo o município: a maioria dos bairros foi incluída no segundo e terceiro intervalo (19 bairros com taxas entre 10 e 50 casos/10.000 habitantes e 33 bairros com taxas entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes). Onze bairros foram incluídos no quarto intervalo, e, como no ano epidêmico de 2011, nove apresentaram taxas acima de 350 casos/10.000 habitantes. Os bairros Venda das Pedras, Visconde (Centro) e Engenho Velho apresentaram as maiores taxas do município (respectivamente, 600,66, 515,47 e 508, 3 casos/10.000 habitantes (Tabela 3.4.5 e Figura 3.4.9).

**Tabela 3.4.5.** Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2009 a 2012.

Indicador	2009	2010	2011	2012
-----------	------	------	------	------

<b>Mínimo</b>	0,9	0,71	1,57	3,04
<b>Máximo</b>	153,02	463,84	994,42	600,66
<b>Mediana</b>	21,24	43,8	108,03	98,72



**Figura 3.4.9.** Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2009 a 2012.

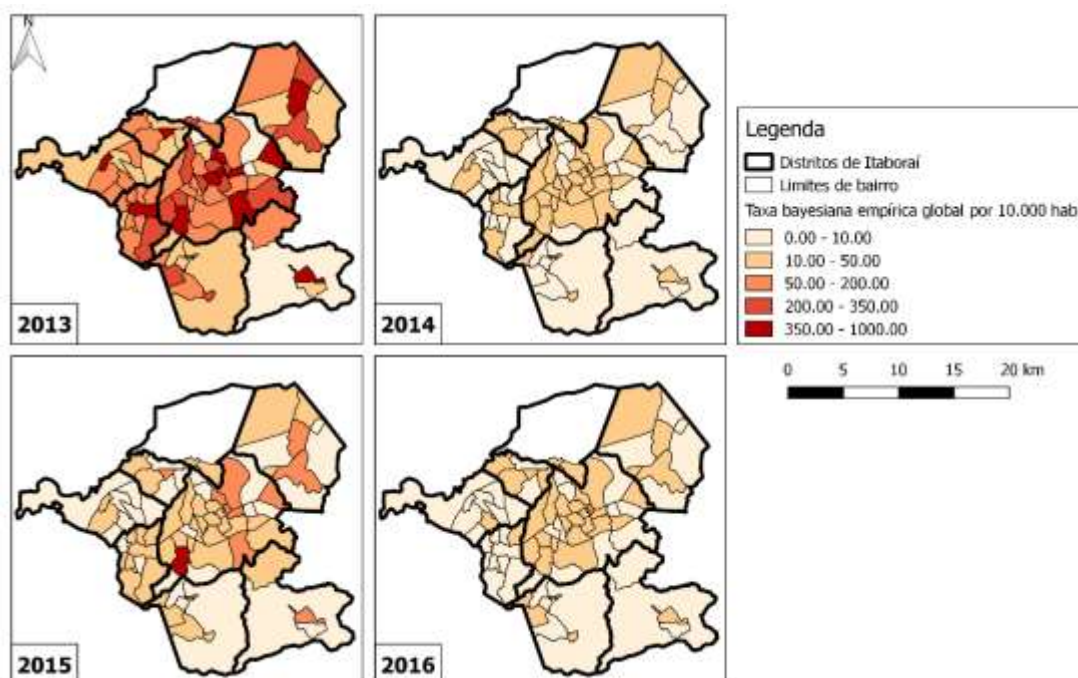
No ano epidêmico de 2013, apenas quatro bairros exibiram taxas abaixo de 10 casos/10.000 habitantes. A maior parte dos bairros se encaixou no segundo e terceiro intervalo (respectivamente, 18 e 30 bairros). Quatorze bairros apresentaram taxas entre 200 e 350 casos/10.000 habitantes, e 12 se encaixaram no último intervalo. Destes, seis bairros apresentaram taxas acima de 500: Venda das Pedras, Itambi (Centro), Sapê, Engenho Velho, Visconde (Centro) e Pachecos (Centro) (respectivamente, 849,11, 763,43, 755,46, 567,89, 544,17 e 538,08 casos/10.000 habitantes) (Tabela 3.4.6 e Figura 3.4.10).

Em 2014, houve redução nas taxas de maneira geral no município, com a maioria dos bairros se enquadrando no primeiro intervalo (um total de 33), e

os 41 bairros restante no segundo intervalo. Em 2015, houve uma tendência de aumento nas taxas, com 28 bairros estiveram no primeiro intervalo, e 39 no segundo intervalo. Dez bairros apresentaram taxas entre 50 e 200 casos/10.000 habitantes, e o bairro Sapê se apresentou no último intervalo, com uma taxa bayesiana global de 407,22 casos/10.000 habitantes. Por fim, em 2016, 41 bairros estiveram no primeiro intervalo, 36 no segundo, e apenas o bairro Nancilândia apresentou taxa no terceiro intervalo, com 53,71 casos/10.000 habitantes (Tabela 3.4.6 e Figura 3.4.10).

**Tabela 3.4.6.** Estatísticas descritivas das taxas bayesianas empíricas globais dos bairros do município de Itaboraí, no período de 2013 a 2016.

Indicador	2013	2014	2015	2016
<b>Mínimo</b>	5,21	1,57	1,43	0,75
<b>Máximo</b>	849,11	45,67	407,22	53,71
<b>Mediana</b>	146,23	10,4	17,18	8,9



**Figura 3.4.10.** Distribuição espacial da taxa bayesiana empírica global de

dengue segundo bairros e distritos de Itaboraí, no período de 2013 a 2016.

#### 3.4.3.4 Características demográficas do dengue no município de Itaboraí/RJ

Considerando o total de casos notificados no período (somando 32.358 notificações), com relação às características demográficas, 52,77% dos casos notificados durante todo o período eram do sexo feminino. Ao analisarmos apenas os anos epidêmicos (2002, 2008, 2011 e 2013), o percentual de pessoas do sexo feminino é de para 53,52% do total de casos notificados. Ao analisar a composição étnica, a maioria dos casos notificados foi de indivíduos autodeclarados pardos (42,82%), seguidos por brancos (34,06%) e amarelos (11,68%). Se os indivíduos autodeclarados pardos e negros forem somados, o total de casos notificados sobe para 53,76%. Quanto a escolaridade, os grupos com maior número de caso foram indivíduos com ensino médio completo (56,79%), seguidos por fundamental incompleto (18,55%) e médio incompleto (10,04%). Quanto a faixa etária, cerca de 20% dos casos notificados foi de indivíduos nos extremos de idade (abaixo de 15 e acima de 60 anos; mínimo = 0, máximo = 106 anos) e o restante compreendido entre essa faixa (de 14 a 59 anos). Cerca de 1% dos casos foram de crianças de até 1 ano de idade (Tabela 3.4.7).

**Tabela 3.4.7.** Características demográficas dos casos notificados de dengue no município de Itaboraí, em dois períodos: durante todo a série (2001 a 2016) e apenas nos anos considerados epidêmicos (2002, 2008, 2011, 2012 e 2013).

Variáveis	Casos de dengue			
	Todo o período		Anos epidêmicos	
	n	%	n	%
<b>Sexo</b>				
Feminino	17.049	52,77	12.938	53,52

<b>Masculino</b>	15.260	47,23	11.234	46,48
<hr/>				
<b>Etnia</b>				
<b>Branca</b>	1.718	34,06	1.439	32,73
<b>Preta</b>	552	10,94	468	10,65
<b>Amarela</b>	589	11,68	582	13,24
<b>Parda</b>	2.160	42,82	1.892	43,04
<b>Indígena</b>	25	0,5	15	0,34
<hr/>				
<b>Escolaridade</b>				
<b>Analfabeto</b>	13	0,71	13	0,93
<b>Fund. incompleto</b>	340	18,55	223	15,99
<b>Fund. completo</b>	162	8,84	95	6,81
<b>Médio incompleto</b>	184	10,04	125	8,96
<b>Médio completo</b>	1.041	56,79	858	61,51
<b>Superior incompleto</b>	35	1,91	31	2,22
<b>Superior completo</b>	58	3,16	50	3,58
<hr/>				
<b>Faixa etária</b>				
<b>0 a 5 anos</b>	760	1,07	515	0,99
<b>6 a 15 anos</b>	6.840	9,63	4.850	9,35
<b>16 a 59 anos</b>	56.649	79,76	41.697	80,35
<b>60+ anos</b>	6.776	9,54	4.832	9,31
<hr/>				

Quanto à classificação final, do total de casos com preenchimento desta variável, 80,89% correspondeu a dengue clássico ou sem sinais de alarme. Em seguida, a classificação com maior número de registros foi de dengue com complicações (1,88%). Febre hemorrágica e síndrome do choque de dengue tiveram 13 e 6 notificações no período. Por fim, houve sete notificações de dengue com sinais de alarme (Tabela 3.4.8)

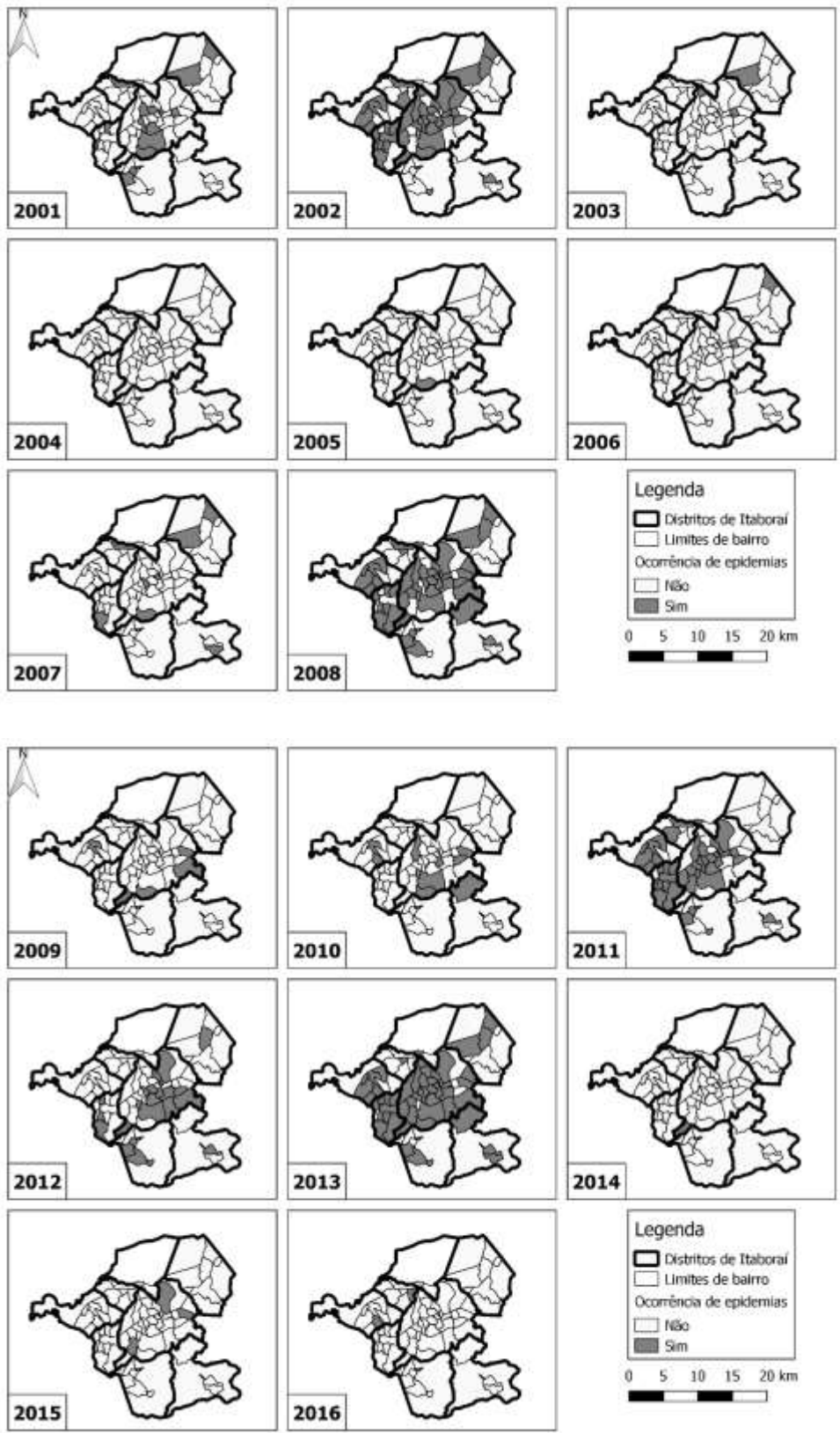
**Tabela 3.4.8.** Classificação final dos casos de dengue notificados no

município de Itaboraí/RJ.

<b>Classificação</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Dengue clássico	8.250	81.19
Dengue complicações	192	1.89
FHD	13	0.13
SCD	6	0.06
Dengue com sinais de alarme	7	0.07

#### **4.3.5 Dinâmica espaço-temporal do dengue no município de Itaboraí/RJ**

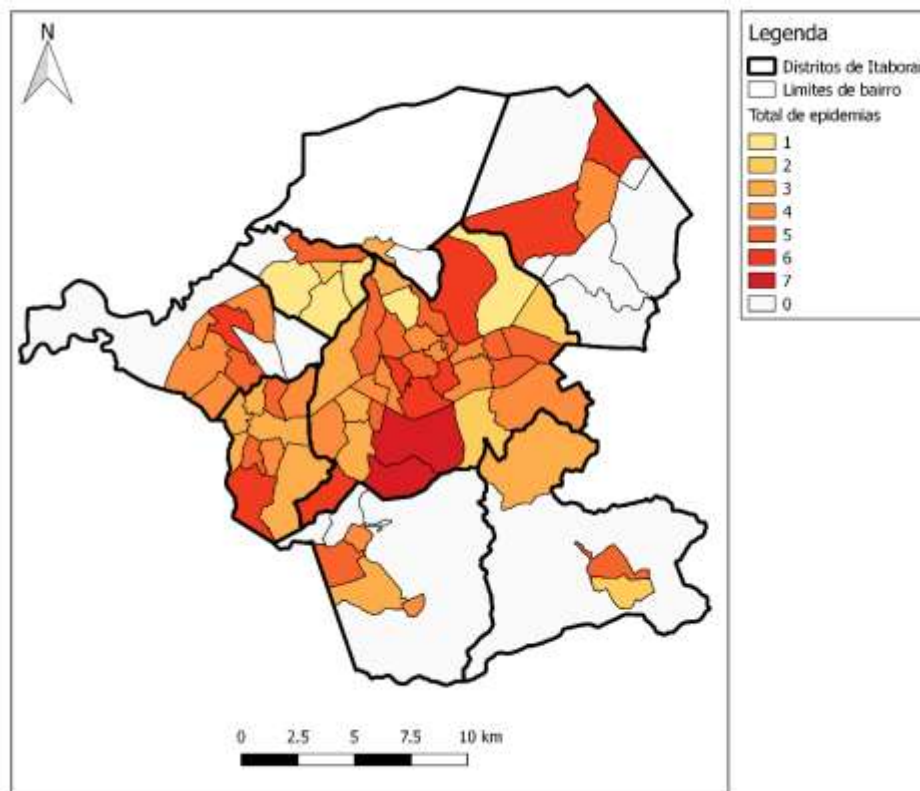
A Figura 3.4.11 mostra a distribuição espacial da ocorrência de epidemias nos bairros do município de Itaboraí ao longo dos 16 anos do período de estudo. Nota-se que durante os anos epidêmicos, a maioria dos bairros do município registra epidemias (42 bairros em 2002, 47 bairros em 2008, 41 bairros em 2011 e 54 bairros em 2013, de um total de 78 bairros). Nos anos anteriores aos epidêmicos, notam-se menos bairros em situação epidêmica. Em 2001, 15 bairros apresentaram epidemia, enquanto em 2007 o número de bairros em situação epidêmica foi de oito. Em 2010, o número de bairros foi 10, aumentando para 22 em 2012.



**Figura 3.4.11.** Ocorrência de epidemias nos bairros do município de Itaboraí/RJ para os anos de 2001 a 2016.



A Figura 3.4.12 mostra o número de epidemias que cada bairro do município de Itaboraí/RJ registrou ao longo de todo o período de estudo. Em média, cada bairro registrou 3,269 epidemias ao longo dos 16 anos de estudo (desvio padrão de 2,099, mínimo = 0, máximo = 7, mediana = 4). Do total de 78 bairros, dois tiveram a ocorrência de sete epidemias (2,56%), o maior número registrado. Ambos os bairros são pertencentes ao distrito Centro. Nove bairros apresentaram a ocorrência de seis epidemias (11,54%), dos quais cinco são pertencentes ao distrito Centro e dois ao distrito Sambaetiba. Catorze bairros registraram cinco epidemias (17,95%), dos quais oito fazem parte do distrito Centro e dois do distrito Manilha. Dezesete bairros registraram a ocorrência de quatro epidemias (21,79%), onde oito pertencem ao distrito Centro e quatro a Itambi. Do restante, 12 bairros apresentaram a ocorrência de três epidemias (15,38%), quatro tiveram a ocorrência de duas epidemias (5,13%), cinco apresentaram a ocorrência de uma epidemia (6,41%), e 15 bairros (19,23%) não registraram a ocorrência de epidemias durante todo o período de estudo. Dos dez bairros responsáveis por cerca de 50% dos casos notificados no período (Ampliação, Marambaia, Nova Cidade, Rio Várzea, Areal, Centro, Itambi Centro, Venda das Pedras, Manilha, Retiro São Joaquim), quatro apresentaram 6 epidemias, dois registraram cinco epidemias, dois apresentaram quatro epidemias e dois registraram três epidemias (Figura 3.4.12).



**Figura 3.4.12.** Distribuição espacial do número epidemias ocorridas em cada bairro do município de Itaboraí/RJ para os anos de 2001 a 2016.

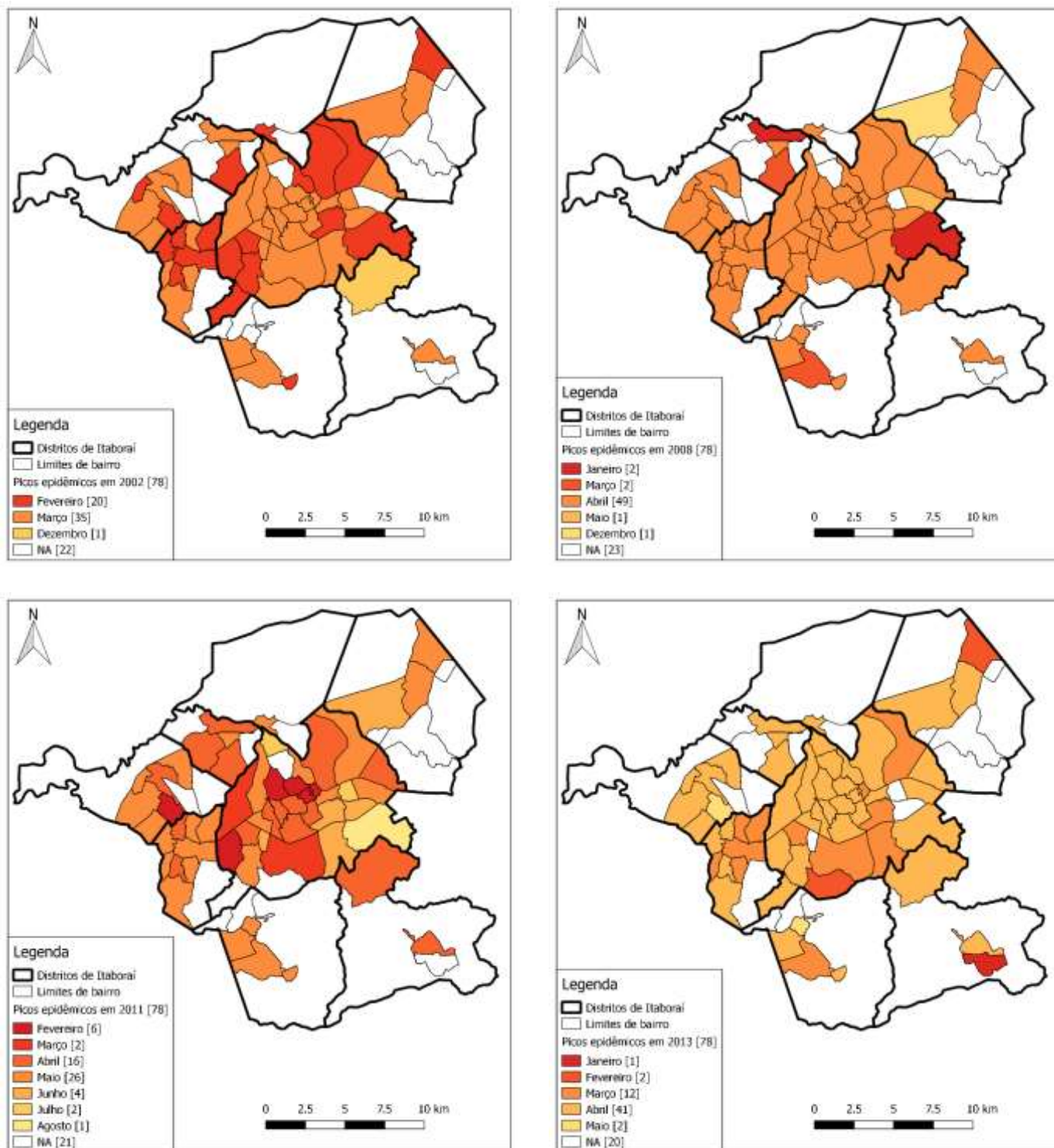
Na epidemia de 2002, 20 bairros apresentaram picos epidêmicos primários no mês de fevereiro, com 35 bairros apresentando picos em março. Um bairro apresentou pico epidêmico apenas em dezembro (Perobas, no distrito Pachecos), e 22 bairros não apresentaram epidemia. Os primeiros bairros a apresentarem epidemia em 2002 foram Parque Aurora e Picos, respectivamente nos distritos de Itambi e Centro e com taxas de incidência de 7,88 e 13,00 casos/10.000 habitantes no mês de fevereiro. A partir desses dois bairros, a epidemia avançou pelo restante da cidade em cerca de 1 mês (com todos os bairros apresentando picos epidêmicos entre a metade de fevereiro e a metade de março). Os bairros com maiores incidências registradas foram Venda das Pedras, Itambi (Centro) e Três Pontes (respectivamente, 273,97, 236,84 e 220,51 casos/10.000 habitantes) (Figura 3.4.13 e 3.4.14).

Em 2008, os primeiros bairros a apresentarem epidemias no município foram Picos e Vila Visconde, respectivamente no distrito Centro e Visconde de

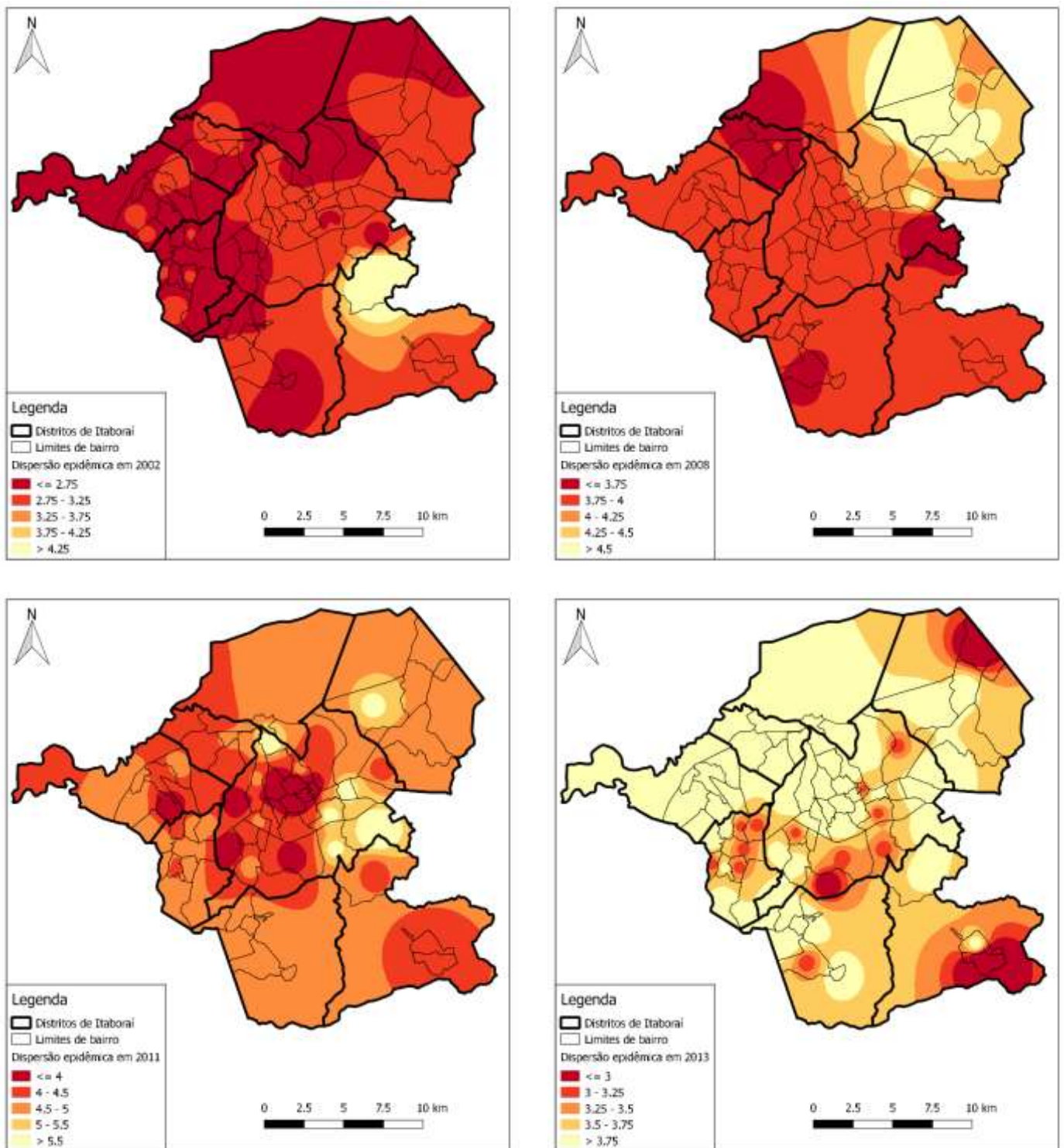
Itaboraí, com taxas de incidência de 64,68 e 39,48 casos/10.000 habitantes. Picos entrou em epidemia no início de janeiro, e Vila Visconde na metade de janeiro. Após esse início, os próximos bairros a entrarem em epidemia foram São José e Itamarati (com taxas de incidência de 62,40 e 3,20 casos/10.000 habitantes), porém, apenas no final de março. Em abril, a epidemia explodiu e atingiu 49 bairros do município, com um bairro sendo atingido em maio. Os bairros com maiores incidências registradas foram Engenho Velho, Visconde (Centro) e Venda das Pedras (respectivamente, 345,27, 316,23 e 292,84 casos/10.000 habitantes) (Figura 3.4.13 e 3.4.14).

Em 2011, os primeiros bairros a apresentarem epidemias, no mês de fevereiro, foram Três Pontes, Jardim Imperial e Parque Aurora, com taxas de incidência de 216,94, 91,11 e 30,47 casos/10.000 habitantes. Mais três bairros apresentaram epidemia em fevereiro, e apenas dois em março. Em seguida, a epidemia atingiu 16 bairros em abril e 26 em maio. Os bairros com maiores incidências registradas foram Itambi (Centro), Curuzu e Três Pontes (respectivamente, 363,94, 241,55 e 216,94 casos/10.000 habitantes) (Figura 3.4.13 e 3.4.14).

Em 2013, o primeiro bairro a apresentar epidemia foi Granjas Mirassol, ainda em janeiro, com uma incidência de 15,58 casos/10.000 habitantes. No mês seguinte, foi a vez dos bairros Baudureco e Agro Brasil (com incidências, respectivamente, de 22 e 62,31 casos/10.000 habitantes), e em março, 12 outros bairros entraram em epidemia. O mês de abril foi quando a epidemia atingiu a maior parte dos bairros do município, num total de 41 bairros. Os bairros com maiores incidências registradas foram Sapê, Itambi (Centro) e Venda das Pedras (respectivamente, 373,83, 325,52 e 307,99 casos/10.000 habitantes) (Figura 3.4.13 e 3.4.14).



**Figura 3.4.13.** Comportamento espaço-temporal do dengue nos anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 para o município de Itaboraí: contabilização mensal dos picos epidêmicos nos bairros.



**Figura 3.4.14.** Comportamento espaço-temporal do dengue nos anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 para o município de Itaboraí: possível caminho da dispersão epidêmica.

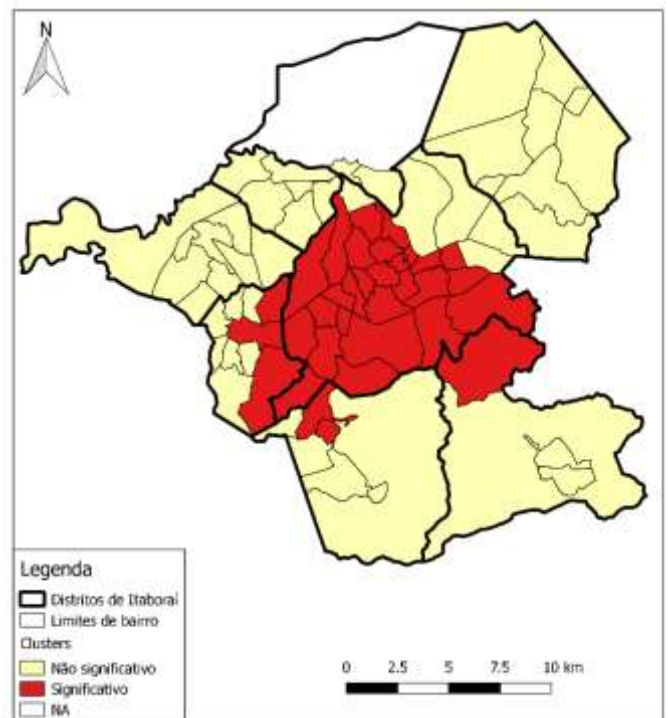
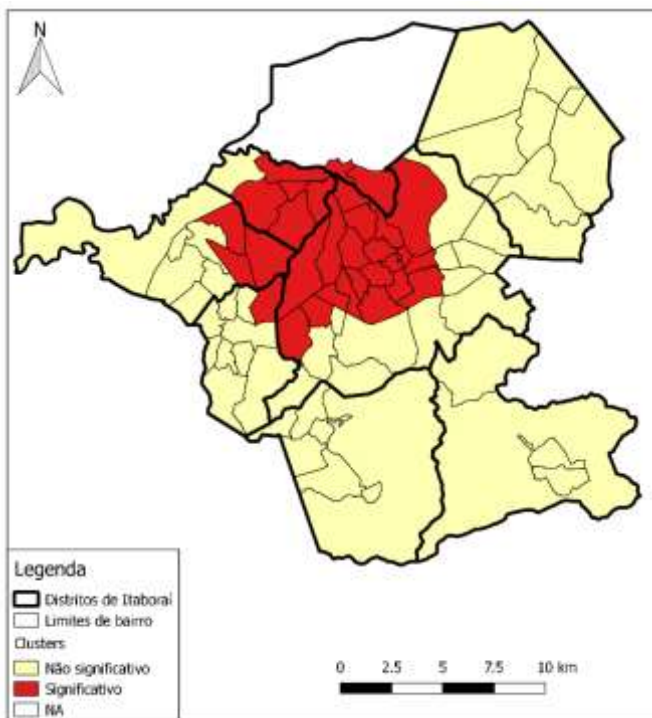
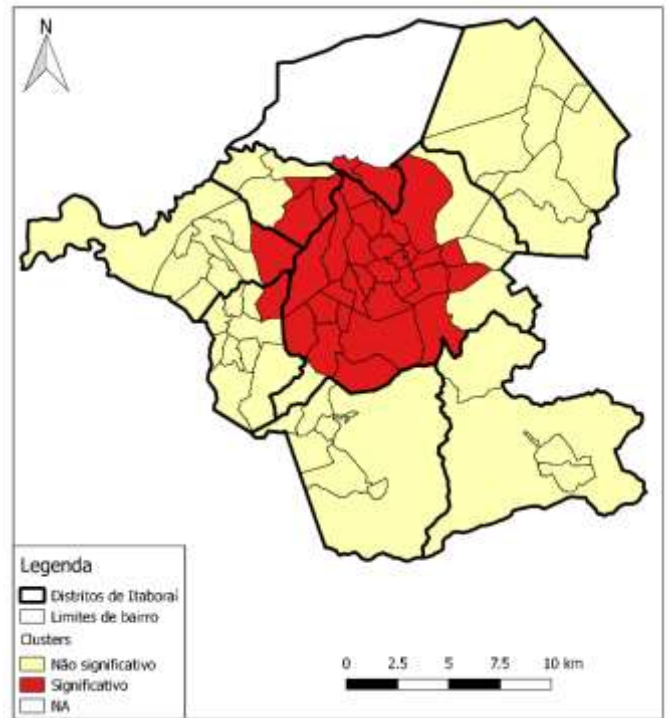
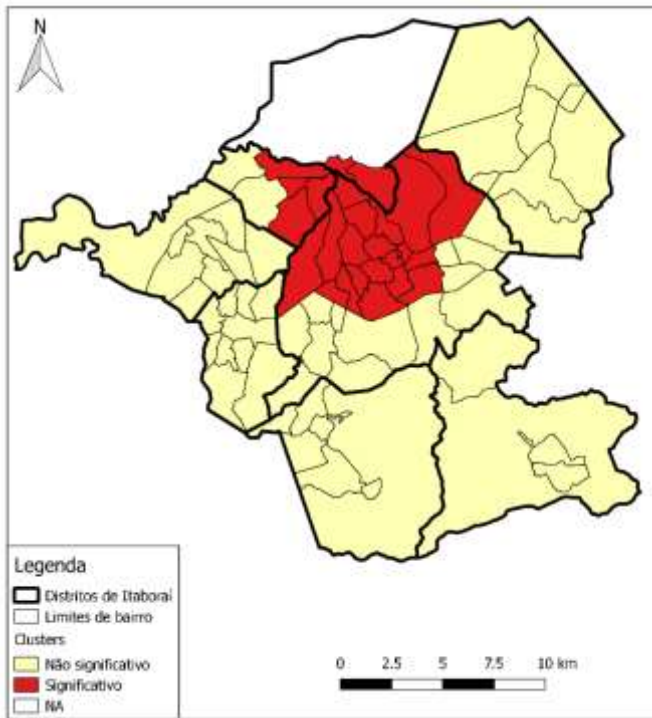
### 3.4.3.6 Detecção de *clusters* de transmissão de dengue em Itaboraí/RJ

A análise espaço-temporal para detecção de *clusters* de transmissão de dengue em Itaboraí foi realizada para cada ano de epidemia no município. Em geral, os *clusters* primários foram compostos majoritariamente por bairros localizados no distrito Centro. Na epidemia de 2002, o cluster mais provável ocorreu entre os meses de fevereiro e março e foi composto por 25 bairros, dos quais 19 encontravam-se no distrito Centro, quatro no distrito Visconde de Itaboraí e 2 em Porto das Caixas. A população em risco no *cluster* primário foi de 92.531, ou cerca de 48,62% do total do município, apresentando uma incidência 778,08 casos/10.000 habitantes. Observou-se uma razão de 6,71 vezes mais casos observados do que esperados, e um risco relativo de 13,07 (Figura 3.4.15 e Tabela 3.4.9).

Na epidemia de 2008, 33 bairros compuseram o *cluster* mais provável, o qual teve duração entre os meses de março, abril e maio. Neste ano, o cluster deslocou-se para o sul, abrangendo uma maior quantidade de bairros do distrito Centro: observou-se 26 bairros neste distrito, três de Visconde de Itaboraí, 2 de Porto das Caixas e um bairro tanto de Itambi quanto de Manilha. Cerca de 47,76% do total da população se encontrou no cluster primário, que registrou uma taxa de incidência de 489,33 casos/10.000 habitantes. A razão entre o total de casos observados e esperados foi de 3,89, e um risco relativo de 6,43. Já em 2011, notou-se um sutil deslocamento do cluster para o norte, onde foram observados 31 bairros no cluster primário, totalizando uma população de 108.186 pessoas ou 48,53% do total do município. Deste total de bairros, 20 pertenceram ao distrito Centro, cinco a Visconde de Itaboraí, três a Itambi, dois a Porto das Caixas e um a Manilha. A incidência observada no cluster foi de 504,16 casos/10.000 habitantes, com uma diferença de 2,88 vezes no número de casos observados para o de esperados e um risco relativo de 4,47. Por fim, a epidemia de 2013 teve 33 bairros englobados no cluster primário, cuja duração foi de fevereiro a maio e contou com 115.616 pessoas, ou 49,44% da população total do município. O cluster deslocou-se novamente de forma sutil para o sul, abrangendo 26 bairros do distrito Centro, três bairros dos distritos Cabuçu e Manilha, e um bairro no distrito Pachecos. Foi registrada



uma incidência de 611,81 casos/10.000 habitantes na área do cluster primário, e uma diferença de 3,29 vezes no número de casos observados para o número de esperados, com um risco relativo de 5,94 (Figura 3.4.15 e Tabela 3.4.9).



**Figura 3.4.15.** Resultado da análise de clusters mais prováveis para os anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 no município de Itaboraí/RJ.

**Tabela 3.4.9.** Resultado da análise de clusters mais prováveis para os anos epidêmicos de 2002, 2008, 2011 e 2013 no município de Itaboraí/RJ.

Ano	# bairros	Raio	Janela temporal	População em risco	Incidência	Observado / Esperado	RR	LLR	p-valor
2002	25	4.34	Fev-Mar	92.531	778,08	6,71	13,07	1517,703	< 0.0001
2008	33	5.55	Mar-Mai	99.874	489,33	3,89	6,43	968,391	< 0.0001
2011	31	5.06	Fev-Mai	108.186	504,16	2,88	4,47	964,232	< 0.0001
2013	33	6.08	Fev-Mai	115.616	611,81	3,29	5,94	1582,749	< 0.0001

Ao todo, observaram-se 16 bairros sendo recorrentes nos clusters primários em todas as quatro epidemias registradas, sendo todos pertencentes ao distrito Centro. Em todas as quatro epidemias, o bairro Venda das Pedras contribuiu com as maiores taxas de incidência registradas (461,69, 538,68, 433,32 e 730,44 casos/10.000 habitantes). Por outro lado, o bairro Jardim Ferma registrou as menores taxas: nenhuma em 2002, 2008 e 2011, e 6,69 casos/10.000 habitantes em 2013. Removendo-se esses dois bairros, na epidemia de 2002, as taxas de incidência por 10.000 habitantes variaram de 18,42 a 262,49; em 2008, de 55,54 a 239,79; em 2011, de 8,29 a 401,59; e em 2013, de 105,47 a 347,04 (Tabela 3.4.10 e Figura 3.4.15).

**Tabela 3.4.10.** Taxas de incidência por 10.000 habitantes, número de epidemias registradas e estatísticas descritivas dos 16 bairros recorrentes nos clusters primários registrados nas epidemias de 2002, 2008, 2011 e 2013, no município de Itaboraí/RJ.

Bairros	2002	2008	2011	2013	# epidemias
Ampliação	86,14	108,21	160,91	117,66	6



Areal	85,44	115,07	223,12	294,45	5
Centro	168,79	124,41	227,06	347,04	5
Jardim Ferma	0	0	0	6,69	1
Jardim Imperial	21,45	90,34	273,33	271,72	4
Joaquim de Oliveira	82,94	130,28	188,01	171,1	5
Nancilândia	18,42	199,89	401,59	283,73	5
Nova Cidade	85,88	140,72	232,99	194,13	6
Outeiro das Pedras	190,26	94,54	168,64	169,61	4
Quissamã	42,59	58,48	8,29	140,85	4
Retiro	91,61	239,79	99,44	169,18	5
Retiro São Joaquim	242,64	106,74	77,81	143,59	3
Rio Várzea	156,19	178,64	230,71	254,37	6
Santo expedito	122,48	55,54	84,54	105,47	4
Sossego	262,49	128,4	152,27	157	4
Venda das Pedras	461,69	538,68	433,32	730,44	4
Mínimo	0	0	0	6,69	6
Máximo	461,69	538,68	433,32	730,44	4.4375
Média	132,44	144,36	185,13	222,31	4.5
Mediana	88,875	119,74	178,325	170,355	1

### 3.4.4 Discussão

O presente estudo apresenta uma série de resultados visando compreender a dinâmica espaço-temporal do dengue em uma cidade de tamanho médio do estado do Rio de Janeiro. Um total de 32.358 casos de dengue foram notificados entre os anos de 2001 e 2016, dos quais 22.474 (69,45%) foram georreferenciados ao nível de bairro. Os anos pré-epidêmicos apresentaram 8.723 casos notificados, ou 26,96% do total do período de estudo. Dos 78 bairros do município, 10 foram responsáveis por mais de 50% do total de notificações no período. Os casos concentraram-se majoritariamente no distrito Centro, onde sete bairros (Ampliação, Venda das

Pedras, Nova Cidade, Rio Várzea, Areal, Retiro São Joaquim e Centro) foram responsáveis por 37,09% do total de casos notificados em todo o período de estudo. Além disso, foram identificadas quatro grandes epidemias no período através do modelo ajustado com assinatura sazonal, as quais ocorreram nos anos de 2002, 2008, 2011 e 2013 e foram responsáveis pela notificação de 62,56% do total de casos do período.

O uso de técnicas de geoprocessamento e análises espaço-temporais para detecção de clusters de transmissão de doenças tem se mostrado uma ferramenta importante, e cada vez mais utilizada para o estudo da dinâmica de doenças transmitidas por vetores, como dengue (Li et al. 2012, Canal et al. 2017). A detecção de clusters de transmissão a partir de dados epidemiológicos tem se mostrado uma importante forma de direcionar esforços de controle vetorial e vigilância epidemiológica em locais com baixa disponibilidade de recursos (Sun et al. 2017). Em estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, foi possível identificar diferentes padrões de produção de epidemias e dispersão epidêmica no município, inclusive identificando locais de persistência epidêmica e prioritários para o direcionamento de esforços das autoridades de saúde (Xavier et al. 2017).

No nosso estudo, foram observados 42 bairros em situação epidêmica no ano de 2002 no município. O verão de 2001-2002 registrou a ocorrência de uma grande e severa epidemia de dengue a nível nacional, causada pelo DENV-3. O sorotipo estava ausente do continente americano há 15 anos quando da data de epidemia, tendo sido introduzido no Brasil no ano de 2000, detectado a partir de casos humanos e vetores infectados coletados em campo no município de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro (Nogueira et al. 2001, Lourenço-de-Oliveira et al. 2002). A epidemia na região metropolitana do estado eventualmente se dispersou pelo restante do território brasileiro, mostrando a importância da região como ponto de introdução e dispersão de sorotipos de DENV no país (Nogueira et al. 2005). Em Itaboraí, a epidemia se dispersou rapidamente pela cidade, com dois bairros de distritos distintos (Parque Aurora e Picos, respectivamente dos distritos Itambi e Centro) sendo os primeiros a entrarem em situação epidêmica no ano.

Em 2008, o número de bairros a apresentarem situação de epidemia subiu para 47, majoritariamente localizados no distrito Centro, Manilha e Itambi. A epidemia neste ano foi provocada pelo sorotipo DENV-2, quando se observou uma mudança no padrão epidemiológico, com menores de 15 anos sendo mais afetados pela doença (Medronho 2009). Ainda que se tenha notado um aumento de apresentações graves de dengue na epidemia de 2002, em 2008 se registrou maiores taxas de internações, casos graves e óbitos nesta faixa etária (Giraldo et al. 2011). Neste ano, nota-se o início da epidemia em locais distintos do município: os primeiros bairros a apresentarem situação de epidemia foram Picos e Vila Visconde, ainda no mês de janeiro, respectivamente nos distritos Centro e Visconde e Itaboraí. Até março, a epidemia parece ficar contida no distrito de visconde de Itaboraí e no bairro Picos, quando o bairro São José, no distrito Cabuçu, apresenta epidemia. Em seguida, a onda epidêmica se dispersa por quase todo o município no mês de abril, com os bairros do distrito Sambaetiba sendo os últimos a serem atingidos.

Em 2011, o número de bairros a apresentarem situação epidêmica caiu para 41 dos 78 a comporem o município. Entre fevereiro e março, sete dos oito bairros a entrarem em situação de epidemia foram do distrito Centro (Três Pontes, Jardim Imperial, Sossego, Retiro, Nancilândia, Caluge, Retiro São Joaquim). A partir destes bairros, a epidemia avança majoritariamente por outros bairros do distrito Centro, Visconde de Itaboraí e Itambi na primeira metade de abril, e o restante da cidade até maio. Em 2013, também foi observado o início da epidemia em locais distintos, com o bairro Granjas Mirassol (distrito Pachecos) apresentando comportamento epidêmico em janeiro. Em fevereiro deste ano, os bairros Baudureco e Agro Brasil, respectivamente dos distritos Centro e Sambaetiba, apresentaram epidemias. A partir de março, a epidemia se dispersou pelo restante do município. Em 2010, detectou-se a introdução do sorotipo DENV-4 em Roraima, após uma ausência de 28 anos do vírus no território brasileiro, e no ano seguinte, o vírus foi isolado a partir de casos humanos no estado do Rio de Janeiro, no município de Niterói (Temporão et al. 2011, Nogueira & Eppinghaus 2011). Com efeito, o ano de 2011 foi marcado por um maior número de casos de

dengue causados por DENV-1 no estado do Rio de Janeiro, com DENV-4 passando a ser o mais importante nos anos de 2012 e 2013 (SVS dados não publicados). No estado do Rio de Janeiro, os quatro sorotipos de DENV foram isolados de pacientes humanos, exibindo diferentes padrões epidemiológicos (Heringer et al. 2017). A hiperendemicidade e cocirculação de simultânea todos os sorotipos de DENV tem se mostrado um grande desafio para a vigilância (Bastos et al. 2012), inclusive com óbitos atribuídos aos quatro sorotipos durante esse período no estado do Rio de Janeiro (Heringer et al. 2015).

Os clusters primários detectados em cada epidemia apresentaram o Centro como principal distrito afetado, a partir do qual 16 bairros foram recorrentemente incluídos nos clusters primários em todas as quatro epidemias registradas no estudo. Além do Centro, os bairros que integraram os clusters primários também foram detectados em todos os outros distritos de Itaboraí: Cabuçu, Itambi, Manilha, Pachecos, Porto das Caixas, Sambaetiba e Visconde de Itaboraí. Em geral, os clusters pouco se deslocaram para fora do distrito Centro. Dos 16 bairros recorrentes nos clusters epidêmicos, sete foram responsáveis por 37,09% do total de casos notificados em todo o período de estudo. Estes sete bairros apresentaram uma média e mediana de 5 epidemias durante o período de estudo, com um mínimo de 3 e máximo de 6. Tais achados apontam para a importância destes locais, os quais parecem possuir uma dinâmica endêmica importante, e possivelmente, podendo atuar como pontos importantes para a dispersão da doença. Um padrão semelhante foi identificado na cidade de Rio de Janeiro, com alguns bairros apresentando comportamento de persistência de epidemias, mesmo durante períodos interepidêmicos (Xavier et al. 2017).

A delimitação de áreas de maior risco, com vistas a dar maior subsídio a ações de controle, tem sido discutida e colocada como um paradigma a ser trabalhado pelas autoridades de saúde (Vanlerberghe et al. 2017). Diferentes estudos têm apontado para a efetividade de metodologias para delineamento de clusters mais prováveis de transmissão de dengue em diversos locais. Em São José do Rio Preto, um estudo demonstrou alta heterogeneidade na delimitação de clusters de transmissão de dengue, algo vinculado ao total de

domicílios/população em risco máximo definido a priori pelos pesquisadores como offset do modelo (Canal et al. 2017). Neste estudo, ao definir a população máxima em cada cluster como 50% do total, os pesquisadores encontraram oito clusters significativos no município. Ao definir a população máxima em 10%, foram identificados 11 clusters significativos, potencialmente revelando mais áreas de risco no município, e que poderiam ser alvo de ações de controle (Canal et al. 2017). Já foi demonstrado que a performance da ferramenta de detecção de clusters tem sua performance intimamente ligada ao tamanho máximo da população em risco em cada cluster (Ribeiro et al. 2012). No entanto, isso é esperado, uma vez que, ao definir clusters com maior população em risco, a ferramenta poderá avaliar um maior conjunto de clusters potenciais, inclusive podendo criar um cluster maior a partir de um grupo de menores que estejam próximos (Han et al. 2016).

Com efeito, no estudo realizado em São José do Rio Preto, não houve nenhuma diferença no cluster primário ao se comparar os dois valores de domicílios utilizados como offset do modelo, nem em quatro dos clusters secundários (Canal et al. 2017). Um estudo realizado em Queensland, Austrália, com mais de vinte anos de dados epidemiológicos de dengue, também revelou pouca ou nenhuma alteração nos clusters primários e secundários ao trabalhar com tamanhos de população em risco de 10% ou 50% (Naish & Tong 2014). Porém, os autores discutem que o uso de diferentes tamanhos de clusters podem indicar ações distintas de controle a serem realizadas pelas autoridades locais; clusters com tamanhos de 50% podem indicar a necessidade de ações de maior alcance geográfico, e possivelmente, mais custosas e de médio-longo prazo, enquanto clusters com tamanhos de 10% podem auxiliar a identificar áreas para controle em menor escala para evitar ou mitigar a ocorrência de surtos.

Um estudo realizado no Nepal, poucos anos após a emergência do dengue no país, revelou que, apesar da rápida expansão do vírus pelo país, um único distrito foi considerado como o cluster primário em todas as análises, indicando sua importância na manutenção da transmissão do dengue na região (Acharya et al. 2016). Em um estudo realizado em Bangladesh, revelou-se que

um único distrito foi o mais importante cluster de maneira recorrente ao longo de 10 anos de estudo, ainda que clusters secundários tenham variado espacial e temporalmente (Banu et al. 2012). Além disso, os autores verificaram a diminuição do alcance geográfico do cluster ao longo da década de estudo, um achado relacionado, provavelmente, a melhoria no tratamento e manejo de pacientes com dengue na região.

No nosso estudo, o alcance geográfico do cluster primário encontrado aumentou ao longo das epidemias, o que pode ter relação com o aporte de pessoas por causa da construção do Complexo Petroquímico do Rio de Janeiro – COMPERJ. O empreendimento foi responsável por um grande fluxo de pessoas na cidade, levando ao aumento da população residente e possivelmente, impactando na infraestrutura urbana. Em diversos locais no Brasil e no mundo, o fluxo de pessoas, se não acompanhado por obras de infraestrutura, pode criar condições para proliferação do *Ae. aegypti*, como adensamento populacional, condições não adequadas de saneamento e moradia, produção de resíduos sólidos potencialmente utilizáveis como criadouros, dentre outros (Tauil 2001, Morens et al. 2004). Não há dados precisos sobre a circulação de sorotipos na população estudada, impossibilitando ver o real impacto da entrada do DENV-4 na cidade, mas que pode explicar o aumento súbito do tamanho do cluster primário da epidemia de 2013. Dado que o sorotipo reemergiu no Brasil em 2010, e chegou ao estado do Rio de Janeiro em 2011, é possível que a epidemia de 2013 tenha ocorrido em uma população majoritariamente suscetível e sem imunidade prévia. Sabe-se que a prevalência de anticorpos de dengue em uma população afetada por surtos ou epidemias pode chegar a 80%, levando ao surgimento de imunidade de grupo na população e modulando a ocorrência de novas epidemias (Siqueira-Junior et al. 2008).

Uma limitação no estudo é a perda de dados de casos durante o georreferenciamento por bairros, visto que o preenchimento do endereço do paciente nem sempre possibilita o encontro do domicílio, ou mesmo a declaração errônea do endereço de domicílio pelo próprio paciente (Xavier et al. 2017). Tal perda pode impactar o resultado da delimitação de áreas de

surgimento de epidemias e de clusters de transmissão, visto que, no presente estudo, cerca de 30% dos casos não foram localizados. O uso de variáveis explicativas pode auxiliar a determinar com mais precisão clusters de transmissão, como variáveis climáticas (Sun et al. 2017) e socioeconômicas (Anno et al. 2015).

Por fim, outra recomendação é a de utilizar os dados agregados em outras dimensões temporais e espaciais. No presente estudo, trabalhamos com dados agregados mensais e ao nível de bairro. A utilização de dados ao nível de setor censitário, por exemplo, permitiria a identificação muito mais precisa não apenas de áreas que iniciam epidemias, como também o processo de difusão epidêmica no município e clusters de transmissão. Essa seria uma forma de lidar com a grande heterogeneidade socioeconômica e de paisagens que pode ocorrer num mesmo bairro. Além disso, a disponibilidade de dados nos serviços de saúde por semana epidemiológica também permitiria verificar o processo de difusão epidêmica pelo território municipal.

O presente estudo revela a grande heterogeneidade espacial e temporal da dinâmica de ocorrência das epidemias de dengue em Itaboraí. As ferramentas e análises discutidas aqui podem ser utilizadas no âmbito municipal por gestores e equipes de saúde pública, de forma a fortalecer a vigilância da dengue. Com a recente introdução do ZIKV e CHIKV, torna-se imprescindível que a vigilância atue rapidamente para identificar processos epidêmicos e áreas de maior risco de transmissão de arboviroses. Dessa forma, ações de intervenção e controle podem ser desempenhadas com maior rapidez com vistas a impedir ou mitigar surtos e epidemias destes agravos.

## Capítulo 3.5 – Atividades de capacitação de Agentes de Combate às Endemias na forma de cursos e produção de material didático

### Referências bibliográficas:

1. Siqueira ASP, Silva AR, Pinheiro C, Pinel CS, Câmara DCP, Rodrigues FCM, Gibson G, Pereira GR, Reis IC, Carvajal JJ, Layter LX, Pinheiro L, Honório NA, Fernandes RCA. As aventuras dos Pequenos Mosqueteiros contra dengue, Zika e chikungunya. Rio de Janeiro, NOSMOVE, 2016.
2. Dias CMG, Câmara DCP, Gibson G, dos Reis IC, Ribeiro MS, Honório NA. Fundamentos e Métodos para Vigilância dos Vetores de Importância Médica: Vetores de Arbovírus e Conceitos Básicos sobre Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela.
3. Barbosa AF, Lopes CM, Câmara DCP, Mello RP. Fundamentos de Entomologia e Acarologia Médica.

**Situação dos produtos:** cursos já ministrados, cartilha infantil publicada e apostilas didáticas em fase final de elaboração.

**Este capítulo atende ao objetivo específico 5 deste trabalho.**

### Apresentação

Este capítulo reúne a produção de material no âmbito do Plano Brasil Sem Miséria. Como principal eixo de atuação, investiu-se em capacitação de Agentes de Combate às Endemias de diferentes municípios do estado do Rio de Janeiro em assuntos ligados a doenças transmitidas por vetores, com maior foco em arboviroses, além de treinamento de identificação dos principais mosquitos vetores: *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Para isso, uma série de aulas foram ministradas em parceria com profissionais de diferentes instituições de ensino e pesquisa (Instituto Oswaldo Cruz, Universidade Federal do Rio de Janeiro e Secretaria de Estado de Saúde). Uma cartilha com atividades infantis



foi produzida para distribuição em creches e escolas. Em parceria com o Laboratório de Doenças Parasitárias/IOC, material didático de apoio para Agentes de Saúde foi produzido e está em fase final de revisão e diagramação, para impressão e distribuição.



**Foto 3.5.** Participantes do primeiro encontro da iniciativa “Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica”. Agosto de 2014.

Fonte:

<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2156&sid=32>

### **3.5.1 Cursos de capacitação**

Entre agosto de 2014 e janeiro de 2015, foi colocada em prática a iniciativa intitulada “Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica” (Figura 3.7.1), realizada através de uma parceria entre o Instituto Oswaldo Cruz (IOC), a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), e a Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro (SES/RJ). A partir de uma demanda da SES/RJ, esta iniciativa visou atualizar os agentes integrantes do setor estadual, bem como de alguns municípios que disponibilizaram agentes para as atividades. A iniciativa envolveu a realização de encontros presenciais entre diferentes equipes de profissionais de secretarias municipais de saúde do estado com funcionários, pesquisadores e professores das instituições organizadoras. A ação foi coordenada pela Dra. Nildimar Honório e MSc. Daniel Câmara (IOC), Dr. Davis Fernandes (UFRJ) e MSc. Mário Ribeiro (SES/RJ).

Durante os encontros, foram ministradas aulas teóricas e práticas para a atualização e capacitação de profissionais de diferentes secretarias de saúde em arboviroses e seus vetores. Ao longo dos encontros, verificou-se a necessidade de abordar outros agravos e vetores, os quais também foram incluídos na iniciativa. Os encontros foram realizados mensalmente, dependendo da disponibilidade dos funcionários das secretarias municipais. Além da participação de funcionários da SES/RJ, houve a participação de profissionais da Secretaria Municipal de Saúde/RJ (SMS/RJ), SMS de Nova Iguaçu, SMS de Caxias, SMS de Itaboraí e SMS de Guapimirim.

O número de participantes variou de 22 a 36 durante o período, com uma composição mista entre Agentes de Combate as Endemias e Agentes Comunitários de Saúde.



**Figura 3.5.1.** Reportagem publicada no portal do Instituto Oswaldo Cruz: “Instituto promove capacitação de agentes de vigilância em saúde do Estado do Rio”. Disponível em:

<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=2156&sid=32>.

Os temas abordados foram ministrados sob a forma de aulas teóricas expositivas e atividades práticas, levando em conta a experiência dos funcionários das secretarias, dos coordenadores da iniciativa e professores convidados. A maior parte dos alunos relatou ter mais de 5 anos na função, com um caso de aluno tendo pouco mais de 1 ano no cargo, e quatro relatando mais de 30 anos. De maneira geral, a aceitação foi boa, e a frequência de participantes variou bastante, uma vez que muitos não puderam comparecer a todas as sessões, por falta de liberação da chefia.

Os participantes relataram que, em sua maioria, o conteúdo ministrado atendeu à expectativa e que acrescentou no conhecimento profissional de cada um. Apesar da atuação como ACE, alguns indivíduos relataram que não tiveram aulas, cursos e/ou atualização desde a época em que assumiram os respectivos cargos. Foi reportado também o fato de que existem poucas oportunidades para ampliar a formação dentro dos setores de trabalho, e que

os que querem se aprofundar precisam buscar o ensino superior, comumente escolhendo o curso de ciências biológicas. Além disso, alguns profissionais relataram nunca terem visto formas imaturas e adultas do principal vetor de DENV no país, o *Ae. aegypti*, até a realização do ciclo de encontros (Figura 3.7.2).



**Figura 3.5.2.** Encontro da iniciativa “Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica” com ACE e ACS de diferentes municípios do estado do Rio de Janeiro, no período entre 2014 e 2015. Foto de Daniel Cardoso Portela Câmara.

Os temas que guiaram o primeiro encontro versaram sobre a importância dos insetos como vetores de doenças nas atividades de campo, com ênfase nos mosquitos vetores de arboviroses e sobre práticas de campo voltadas para a vigilância de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, ambos com 3 horas de duração. Discutiu-se a importância dos mosquitos na transmissão de doenças para o ser humano e animais, conceituação sobre emergência e

reemergência de doenças transmissíveis, os ciclos das doenças transmitidas por vetores sob a ótica da epidemiologia da paisagem e conceituação sobre nichos de transmissão de patógenos, além de boas práticas de biossegurança em atividades de campo e principais armadilhas utilizadas no monitoramento entomológico voltado a mosquitos vetores.

O encontro seguinte abordou temas relativos à introdução à taxonomia de mosquitos, com ênfase nos vetores de dengue, com 4 horas de duração, e práticas de campo voltadas para a vigilância de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, com 2 horas de duração. Discutiu-se sobre noções de nomenclatura zoológica e taxonomia, principais grupos de insetos vetores e sua posição taxonômica na classe Insecta, família Culicidae: diferenças biológicas e taxonômicas das subfamílias Anophelinae e Culicinae, biologia, ecologia e identificação dos principais gêneros de mosquitos vetores de agravos, identificação dos vetores *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Também foi ampliada a discussão sobre utilização de diferentes métodos de coleta para coleta de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

No terceiro encontro, apresentaram-se conceitos básicos de virologia e principais arbovírus em circulação no Brasil, com 4 horas de duração, e interações ecológicas entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, com 2 horas de duração. Discutiram-se noções de virologia, vírus dengue, chikungunya e outros arbovírus circulantes no Brasil e outros vírus de importância médica. Também foram abordados temas relativos a expansão do *Ae. aegypti* para além do continente africano, introdução do *Ae. albopictus* no continente americano, expansão do *Ae. albopictus* e deslocamento do *Ae. aegypti* no sudeste dos EUA, interações ecológicas e competição interespecífica por recursos entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* nos EUA e Brasil.

Outros três encontros foram realizados, por demanda dos próprios participantes: a transmissão vetorial da doença de Chagas e os estudos de campo a partir de um caso agudo e tópicos de biologia, ecologia e identificação de triatomíneos vetores, com duração de 6 horas, a situação epidemiológica da Febre Maculosa no Estado do Rio de Janeiro e tópicos sobre biologia, ecologia e identificação dos principais carrapatos vetores, com duração de 6 horas, e, finalmente, um encontro sobre a situação epidemiológica da Leishmaniose Tegumentar e Visceral no Estado do Rio de Janeiro e tópicos sobre biologia,

ecologia e identificação dos principais flebotomíneos vetores, com duração de 6 horas.

Um prolongamento dessa iniciativa envolveu o treinamento de uma equipe de três ACEs do município de Itaboraí em taxonomia e identificação de mosquitos vetores urbanos, intermediado pela equipe do NOSMOVE, com o apoio da Secretaria Municipal de Saúde de Guapimirim durante uma semana no ano de 2015. Durante o curso prático, a equipe foi treinada na identificação de formas imaturas e adultas dos principais mosquitos vetores de arboviroses e malária. A demanda pelo curso partiu dos próprios agentes de Itaboraí, sendo apoiada pela chefia imediata. A principal referência bibliográfica utilizada nesse curso foi o livro de Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994). O curso foi ministrado na SMS/Guapimirim, com apoio de técnicos do Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores/Nosmove.

### **3.5.2 Elaboração de material didático para Agentes de Combate às Endemias e Agentes Comunitários de Saúde e para público infantil**

A partir da experiência das aulas e encontros ministrados na iniciativa "Conceitos, Práticas e Parâmetros Transversais para a Vigilância Entomológica", foi debatido entre os coordenadores e professores a necessidade da criação de algum material didático por escrito que contivesse as principais informações relativas a biologia, ecologia e epidemiologia das principais arboviroses circulantes no território brasileiro e seus vetores.

Um material preliminar contendo noções básicas de entomologia médica e de vetores culicídeos foi rascunhado e discutido ao longo do ano de 2015. A partir do segundo semestre do mesmo ano, começou a se discutir mais concretamente a proposta da criação de um curso de atualização e capacitação de agentes de saúde (ACE e ACS), com produção de material didático autoral envolvendo tanto arboviroses e seus vetores quanto outros agravos, como leishmanioses e flebotomíneos, febre maculosa e carrapatos, e doença de chagas e triatomíneos.

Essa proposta foi coordenada pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Veríssimo Junqueira, do Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, e foi submetida como um subprojeto intitulado “Treinamento de Agentes (ACE e ACS) para Controle e Vigilância de Dengue, Chikungunya e Zika”, vinculado ao projeto “Rede: Dengue, Zika e Chikungunya: Uma Abordagem Multidisciplinar em Apoio à Investigação Destas Arboviroses no Rio de Janeiro e Brasil”. A coordenação do projeto é da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flavia Barreto dos Santos, do Laboratório de Imunologia Viral do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, o qual foi submetido e aprovado com sucesso no Edital nº18/2015 da FAPERJ.

O autor da tese foi convidado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Veríssimo Junqueira para participar na elaboração de duas apostilas. Cabe ressaltar que todo o material produzido, bem como sua aplicação e avaliação de aceitação, são partes da tese de doutorado intitulada “Avaliação da formação e da atuação dos profissionais municipais que realizam ações de vigilância entomológica visando a melhoria do serviço no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS)”, da aluna Cristina Maria Giordano Dias, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz.

A inserção da temática referente a elaboração do material didático pelo autor foi incluída na presente tese com a concordância da aluna e sua orientadora, inclusive já tendo sido apresentada em uma reunião científica realizada em 2017, na Fiocruz, como parte do acompanhamento das teses de doutorado no âmbito do plano Brasil Sem Miséria (Câmara et al. 2017). O autor participou da elaboração, escrita e revisão de duas apostilas:

#### **3.5.2.1. Fundamentos de Entomologia e Acarologia Médica**

**Coordenadores:** André de Figueredo Barbosa (LABDP-IOC/Fiocruz), Catarina Macedo Lopes (LIVEDIH-IOC/Fiocruz), Daniel Cardoso Portela Câmara (LATHEMA-IOC e Nosmove/Fiocruz), Rubens Pinto de Mello (LABDIP-IOC/Fiocruz).

**Colaboradores/Revisores:** Angela C. V. Junqueira (LDP-IOC/Fiocruz), Carlos José de Carvalho Moreira (LDP-IOC/Fiocruz).



A apostila “Fundamentos de Entomologia e Acarologia Médica” está dividida em 2 partes: a primeira, e mais extensa, sobre noções de entomologia e a segunda sobre noções de acarologia. A apostila é iniciada por uma introdução, na qual se define a ciência da entomologia como afiliada da zoologia, além da apresentação de diferentes campos de atuação da entomologia: agrícola ou econômica, médica e veterinária, e forense. Em seguida, discutem-se temas relativos aos aspectos gerais dos insetos, abordando sua morfologia externa e como esta se apresenta nas diferentes ordens que compõe a classe Insecta. Os aspectos da biologia dos insetos são abordados em tópicos que envolvem noções sobre comportamento, atividade e influência do clima e sazonalidade nos insetos, bem como uma apresentação da hematofagia realizada por alguns membros da classe. Posteriormente, introduzem-se noções sobre o papel dos insetos hematófagos na transmissão de doenças para o ser humano e animais, como organismos que integram um ambiente e estão em constante interação com hospedeiros e patógenos.

Grande parte da apostila é dedicada, a seguir, para a apresentação das principais ordens de insetos vetores de doenças: Ordem Diptera, Ordem Hemiptera, Ordem Phthiraptera e Ordem Siphonaptera. Em seguida, apresentam-se conceitos básicos para a identificação de insetos de importância médica, bem como métodos de coleta, acondicionamento e transporte de material entomológico para laboratório. Discute-se, por fim, a importância e motivação para realização de inquéritos entomológicos como atividades rotineiras de vigilância. Uma estrutura similar é utilizada para a abordagem da acarologia médica, com uma breve introdução aos ácaros e carrapatos e Ordem Acari em geral, bem como aspectos de sua biologia e principais espécies que ocorrem no Brasil, especialmente das Famílias Ixodidae e Argasidae.



### **3.5.2.2 Fundamentos e Métodos para Vigilância dos Vetores de Importância Médica: Vetores de Arbovírus e Conceitos Básicos sobre Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela**

**Autores:** Cristina Maria Giordano Dias (SVS/SES/RJ), Daniel Cardoso Portela Câmara (LATHEMA-IOC e Nosmove/Fiocruz), Gerusa Belo Gibson dos Santos (IESC/UFRJ), Izabel Cristina dos Reis (LATHEMA-IOC e Nosmove/Fiocruz).

**Coordenadores:** Mário Sérgio Ribeiro (SVS/SES/RJ), Nildimar Alves Honório (LATHEMA-IOC e Nosmove/Fiocruz).

**Colaboradores / Revisores:** Angela C. V. Junqueira (LDP-IOC/Fiocruz), Carlos José de Carvalho Moreira (LDP-IOC/Fiocruz).

A apostila “Fundamentos e Métodos para Vigilância dos Vetores de Importância Médica: Vetores de Arbovírus e Conceitos Básicos sobre Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela” divide-se em cinco partes principais: a primeira referente a introdução sobre arboviroses e arbovírus; a segunda referente a mosquitos vetores de arbovírus; a terceira referente a vigilância entomológica; a quarta referente a métodos de controle vetorial; e, por fim, a quinta e última parte sobre roteiro e preenchimento de boletins de campo.

A introdução da apostila discorre sobre os aspectos gerais da dengue, chikungunya, Zika e febre amarela, abordando ciclos de transmissão, sintomatologia, epidemiologia do agravo no Brasil e no Estado do Rio de Janeiro. Também são abordados os conceitos básicos referentes a vigilância epidemiológica das arboviroses, o sistema de notificação de casos suspeitos e fluxo de amostras para diagnóstico. A segunda parte, referente aos mosquitos vetores de arbovírus, discorre sobre a morfologia externa e estágios de vida desses organismos, bem como características da biologia, ecologia e identificação taxonômica das principais espécies vetoras: *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Hg. janthinomys*, *Hg. leucocelaenus*, *Cx. quinquefasciatus* e *As. chloropterus*. Ainda na segunda parte, discute-se o ciclo de vida dos arbovírus nos mosquitos.

A terceira parte aborda a vigilância entomológica, descrevendo inquéritos entomológicos baseados em pesquisas domiciliares e a produção dos principais índices de infestação de *Stagomyia*, e também inquéritos entomológicos baseados em armadilhas. Neste tópico, são apresentadas as diferentes armadilhas e métodos de coleta utilizados atualmente para o monitoramento entomológico de mosquitos em suas fases imaturas e adultas. A quarta parte, referente a métodos de controle vetorial, apresenta as ações de prevenção e controle preconizadas atualmente, bem como os métodos de controle em fase de testes, conforme apoiado pelo Ministério da Saúde e Secretaria de Vigilância em Saúde no “Relatório da Reunião Internacional para Implementação de Alternativas para o Controle do *Aedes aegypti* no Brasil” (SVS 2016). Por fim, a quinta e última parte versa sobre o roteiro e preenchimento de boletins de campo, apresentando os formulários de registros das atividades de controle de vetores de arboviroses utilizados na rotina e em emergência.

### **3.5.2.3 As aventuras dos Pequenos Mosqueteiros contra dengue, zika e chikungunya**

Sob coordenação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório Rocha, começou-se a desenvolver ao longo do ano de 2014 e 2015 uma parceria entre diferentes profissionais, incluindo o autor deste trabalho, para a elaboração de material didático voltado para crianças, especialmente as do primeiro ciclo do ensino fundamental. Foi elaborada uma história em quadrinhos envolvendo três personagens infantis – Ana, Chico e João e, ao longo de diversas atividades, são abordados temas relacionados ao modo de transmissão das principais arboviroses em circulação no país (dengue, chikungunya e Zika), alguns dos seus sintomas, além de informações sobre a biologia do principal mosquito vetor, o *Ae. aegypti*. A organização desse material foi de responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Alves Honório, da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gersa Belo Gibson dos Santos e do famoso cartunista Manoel Caetano Mayrink. A realização da cartilha envolveu também a parceria com diferentes órgãos, como a Creche Fiocruz, o Instituto Oswaldo Cruz, a Fiocruz, o Ministério da Saúde, a

Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, contando com apoio financeiro da FAPERJ e CNPq para sua execução.

As atividades recreativas envolvem jogos sobre os métodos de prevenção e controle das arboviroses, como remoção de criadouros potenciais e reconhecimento do mosquito vetor. Outras atividades envolvem desenhar o ciclo de vida do *Ae. aegypti*, relacionar ilustrações com os principais sintomas causados pelas arboviroses, um jogo de identificação visual dos criadouros do mosquito em uma localidade fictícia, palavra cruzada e caça palavras envolvendo temas chaves discutidos no material, um jogo dos sete erros para que a criança identifique criadouros do *Ae. aegypti* no peridomicílio de uma residência, atividade de ligar os pontos e formar o desenho de uma pupa, uma brincadeira de labirinto, quebra cabeças e jogo da memória. A cartilha finalizada e impressa está anexada ao final desta tese.

A cartilha foi lançada em dezembro de 2016, e teve repercussão através do site do Instituto Oswaldo Cruz, na página oficial do Ministério da Saúde, além de outros jornais de circulação diária no país (Jornal do Brasil, Extra e O Dia), e redes sociais. A primeira tiragem da cartilha foi de 1.000 exemplares, distribuídos para diferentes profissionais de saúde da Fiocruz, Secretaria de Estado de Saúde e de Secretarias Municipais de Educação, e em eventos de divulgação científica, como o Fiocruz Para Voce, a Semana Nacional de Ciência e Tecnologia, e atividades de divulgação realizados pela equipe do Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – Nosmove, com coordenação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Alves Honório. Uma nova tiragem de 5.000 exemplares foi impressa e entregue no momento de redação desta tese.

### **3.5.3. Discussão**

No nosso trabalho, propomos um ciclo de encontros para ACE e ACS envolvendo aulas expositivas acerca do conhecimento sobre arboviroses e outras doenças transmitidas por vetores, além de aulas práticas sobre identificação dos principais mosquitos vetores e uso de armadilhas para seu monitoramento. Após a ampla aceitação positiva dos primeiros encontros, verificou-se a necessidade de aprofundar mais a discussão sobre outros temas,

como noções sobre virologia e outras doenças causadas por vírus, doença de Chagas e seus vetores, leishmanioses, dentre outros. Os encontros em geral contaram com participação ativa do público-alvo, que foi motivado a contribuir sempre a partir de suas experiências. Muitos dos exemplos compartilhados pelos profissionais foram utilizados como ponto de partida para as discussões envolvendo os temas de aula e para o planejamento de encontros subsequentes. Os encontros motivaram a elaboração de material educativo por parte da equipe envolvida na iniciativa, e as ideias discutidas e rascunhadas foram aproveitadas para a construção das apostilas mencionadas neste trabalho, sob convite da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Veríssimo Junqueira, e pertencentes a tese de doutorado da aluna Cristina Maria Giordano Dias, do curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical/IOC. Concorrente a isso, sob coordenação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório Rocha, foi desenvolvido material didático para atividades lúdicas, cujo público alvo envolve preferencialmente alunos do primeiro segmento do ensino fundamental.

Dentro do âmbito do controle do dengue e outras arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*, diversos desafios importantes têm se apresentado, dos quais é possível elencar dois: a educação em saúde e a capacitação de ACE e ACS (Tauil 2001, 2002). De particular importância é a integração harmônica entre os agentes de saúde e a população civil (Baglini et al. 2005). Com relação ao primeiro, a educação em saúde abrange a participação da população no contexto de sua vida cotidiana, tendo como base a ideia de promoção da saúde (Forattini 2004, FUNASA 2007). Com relação ao segundo, uma das atribuições dos ACE e ACS visa justamente a transmissão de informação para a mudança de hábitos da população e prevenção de agravos. A participação popular no enfrentamento de agravos, como o dengue, fundamenta-se na promoção da saúde, na qual a comunidade em si torna-se agente ativo atuando na melhoria da sua própria qualidade de vida e saúde (OMS 1986, Schall & Struchiner 1999). Dessa forma, nota-se que a qualificação profissional dos ACE e ACS é fundamental para que haja o estabelecimento de um vínculo entre esses profissionais e a comunidade onde atuam, e também a conscientização através de informação atualizada e consolidada (Oliveira 2002).

Indícios na literatura apontam para a precarização nas ações de capacitação e atualização de ACE. Na cidade de Goiânia, identificou-se como uma das principais reivindicações dos profissionais a necessidade de cursos de capacitação sobre dengue, além do incentivo aos profissionais à participação nas campanhas (Pessoa et al. 2013). Em São José do Rio Preto, verificou-se que além da falta de atualização dos profissionais, diversos outros problemas impediam sua atuação na comunidade (Baglini et al. 2005). Ainda em São José do Rio Preto, observou-se que a capacitação profissional permitiria que os ACE pudessem desempenhar melhor seu trabalho de informação à população local (Chiaravalloti-Neto et al 2007). Com efeito, uma estratégia fundamentada na capacitação de profissionais da saúde, dentre eles ACE e ACS, aliadas a estratégias de promoção da saúde e participação popular tiveram como resultado a redução da transmissão do dengue no município (Santos et al. 2016).

A educação em saúde, quando voltada para o conhecimento e reflexão sobre atitudes em relação aos agravos enfrentados na comunidade, é crucial para a prevenção e controle de doenças infecciosas e parasitárias, assim como se verifica a necessidade premente de capacitação, atualização e valorização do trabalho de ACE e ACS (Coura & Junqueira 2015, Wang et al. 2016). Em locais com populações vulneráveis, onde geralmente o conhecimento sobre doenças e agravos é menor ou escasso, iniciativas de educação em saúde, com o objetivo de melhorar o conhecimento e a consciência, são um meio eficaz de prevenção e controle (FUNASA 2007, MS 2012, Wang et al. 2016), algo já observado para o dengue (Santos et al. 2016).

Após a descentralização das ações de vigilância em saúde, tornou-se responsabilidade da Funasa capacitar e ceder seus agentes para os municípios. A formação desses agentes foi realizada basicamente a partir de guias ou cartilhas a qual, sem o aporte de conhecimento e conteúdo mais amplo, basicamente resumiu-se a um conjunto de saberes técnicos para atuação no controle de endemias e/ou zoonoses (Torres 2009). Ainda que tenha se instituído a obrigatoriedade de um curso de formação introdutório para os ACE após a aprovação em concursos público, evidências apontam para a falta e planejamento e formação continuada (Oliveira 2002, Torres 2009, Fraga

& Monteiro 2014). Inclusive, discute-se que tal modelo acaba por reforçar a ideia de que ações de educação, incluindo a educação em saúde, são simples e que não necessitam de qualificação específica dos formadores (Fraga & Monteiro 2014).

Conforme evidenciado anteriormente (Oliveira 2002), tais processos acabam por desconsiderar o papel do ACE como sujeito construtor da realidade em que atua. No referido trabalho, ficou evidente a visão depreciativa e negativa dos ACE sobre a comunidade em que atuam, concebendo a população residente como ignorantes, acomodados e os principais responsáveis pela manutenção dos agravos transmitidos na região, como o dengue (Oliveira 2002). Uma vez que a educação em saúde funciona como um instrumento para fomentar o diálogo entre os saberes científicos e populares, majoritariamente realizada por meio da educação popular (Forattini 2004), tal concepção e visão negativas de uma comunidade acaba por dificultar ou mesmo invalidar a prática de ações educativas participativas (Oliveira 2002, Fraga & Monteiro 2014), evidenciando a necessidade de valorização do papel do ACE no enfrentamento de arboviroses e outros agravos.

A educação não-formal direcionada para crianças tem sido apontada como um importante ponto para que ações de educação em saúde surtam efeito nas comunidades em que são realizadas. A experiência lúdica e não-formal é particularmente importantes no trabalho com crianças, aumentando sua atenção e motivação para os temas a serem tratados (Castro et al. 1998). Com efeito, crianças são excelentes multiplicadores de conhecimento, sendo necessárias para o sucesso em ações de educação em saúde (Garcia et al. 2009). A escola pode ser considerada um importante ponto de atuação para a educação em saúde voltada para a saúde pública utilizando materiais educativos direcionados para crianças (Andrade 1997). Uma ação educativa que envolveu a capacitação de professores sobre dengue e seus vetores e posterior trabalho envolvendo material educativo para alunos, evidenciou o aumento significativo no conhecimento sobre dengue nas amostras pesquisadas, inclusive com a maioria dos alunos participantes atuando no manejo de criadouros em suas residências mesmo 1 ano após o fim do estudo (Brassolatti & Andrade 2002). O uso de material educativo para crianças,

inclusive, é um ponto valorizado por diversos ACE entrevistados, os quais ainda relataram a facilidade em se trabalhar com crianças devido a motivação destas e seu empenho em conscientizar suas famílias (Oliveira 2012).

Nosso estudo mostra o desenvolvimento de diferentes metodologias para fortalecimento do trabalho do ACE e ACS no âmbito do plano Brasil Sem Miséria, uma vez que a Nota Técnica Nº1/2011/IOC recomenda que “o tema das “doenças da pobreza” seja contemplado (...) e que a educação popular seja inserida nas ações do Programa, objetivando contribuir para prevenir e controlar estas doenças e promover a saúde da população a quem se dirigem tais ações” dentro do Plano BSM (Fiocruz 2011). Um importante ponto do documento é a recomendação para a educação dos profissionais da atenção básica, incluindo-se o ACE e ACS, como meio de promoção a saúde, balizada em “ampla disseminação de estratégias e materiais de educação, informação e comunicação sobre as doenças da pobreza”. Os resultados observados nesse estudo mostraram um impacto positivo das ações de capacitação e atualização profissional realizadas, evidenciadas pelos amplos debates realizados entre professores, ACE e ACS. Outro ponto positivo foi a capacitação em identificação taxonômica de mosquitos vetores, mediada e com participação do autor para profissionais de Itaboraí e ministrada pela equipe de entomologia de Guapimirim. O desenvolvimento de material didático nesse estudo também tem sido encarado como um passo para o fortalecimento tanto de ACE e ACS, como pela continuidade nas atividades de educação em saúde para o público infantil. Espera-se ao longo do ano de 2018 e 2019 a conclusão das apostilas para os ACE e ACS, e a sua aplicação em novos cursos de capacitação a serem planejados pela coordenadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Veríssimo Junqueira e sua orientanda Cristina Maria Giordano Dias.

## Capítulo 4. Discussão

Parte fundamental das estratégias de controle de arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*, na ausência de uma vacina eficaz, baseia-se na participação comunitária, nas quais campanhas são intermediadas pelos ACS, ACE e também por campanhas publicitárias governamentais. Com efeito, fortes evidências apontam para a maior efetividade de ações de manejo integradas de vetores aliadas com participação comunitária (Lima et al. 2015). No estudo, os autores realizaram uma meta-análise envolvendo ações de controle vetorial realizadas em 15 países diferentes. Após as análises, verificou-se que a estratégia de controle mais efetiva envolvia o Manejo Integrado de Vetores, ou MIV (*Integrated Vector Management*, ou IVM), que, conforme recomendado pela Organização Mundial da Saúde, pode ser definido como “um processo racional de tomada de decisões para uso otimizado de recursos para controle vetorial.

A abordagem do MIV busca melhorar a eficácia, custo-efetividade, solidez ecológica e sustentabilidade do controle de vetores de doenças” (Coelho et al. 2012). No estudo analisado como o melhor pelos autores (Lima et al. 2015), a estratégia de MIV proposta incorporou quatro elementos: 1) uma combinação de abordagem vertical e horizontal e dependente do entendimento e envolvimento comunitário; 2) direcionamento prioritário de ações de controle, no caso, utilizando a produtividade larvária de criadouros em regiões distintas; 3) uso de controle biológico e 4) participação ativa de agentes de saúde, escolas, sociedade civil e voluntários (Kay & Nam 2005, Lima et al. 2015).

Tendo em vista o exposto acima, o nosso estudo visa contribuir com informações pertinentes e com potencial aplicabilidade no âmbito da tomada de decisões por parte de autoridades de saúde locais. Além disso, nosso estudo buscou integrar diferentes abordagens entomológicas, epidemiológicas, virológicas e educacionais, como: a vigilância entomológica e sua integração com o estudo de distribuição e segregação de espécies de mosquitos vetores (capítulos 3.1); a avaliação de diferentes métodos de coleta entomológica direcionada para os principais mosquitos de importância médica no país (capítulo 3.2); a vigilância virológica integrada à vigilância entomológica



(capítulo 3.2 e capítulo 3.3); o estudo do perfil epidemiológico do dengue em uma cidade endêmica, com o estudo da propagação de epidemias e detecção de áreas de maior risco (capítulo 3.4); e, por fim, na atuação do fortalecimento da atenção básica, sob a forma de atualização e capacitação de agentes de saúde e sua conseqüente valorização, os quais se colocam como um dos mais importantes elos no controle de arboviroses do país (capítulo 3.5).

Tendo em vista a necessidade de se incorporar “um processo racional de tomada de decisões para uso otimizado de recursos para controle vetorial” (Coelho et al. 2012), torna-se imprescindível a discussão de abordagens onde haja a delimitação de áreas de intervenção prioritárias, algo que tem se colocado como um paradigma das ações de controle (Vanlerberghe et al. 2017). Dessa forma, tem se tornado cada vez mais importante a inclusão do ambiente nos modelos teóricos e práticos na abordagem de doenças, especialmente as transmitidas por vetores (Reisen 2010).

Junto ao surgimento e emancipação da ecologia de paisagens como ciência, surgiu a proposta clássica de Pavlovski da nidalidade ou focalidade de doenças, onde estas estão associadas a paisagens específicas (Pavlovsky 1966). O conceito de nidalidade ou nicho de transmissão eventualmente se encontrou com a ecologia de paisagem, dando surgimento a ciência da epidemiologia de paisagem, descrita por Galuzo (Galuzo 1975). Nesta abordagem, a ocorrência da transmissão de um agravo é descrita pela interação da dinâmica temporal e espacial entre hospedeiros suscetíveis, vetores competentes e a população de patógenos em ambientes permissivos (Reisen 2010).

Conforme revisado por Kitron (1998), a integração do componente espacial no estudo da epidemiologia de doenças transmitidas por vetores pode ser realizada principalmente pelo uso de sistemas de informação geográfica (SIG), sistema de posicionamento global (GPS), sensoriamento remoto e análise espacial. Sua integração com a área da ecologia de paisagem permite a compreensão de um agravo levando em consideração o ambiente de interação entre vetores, hospedeiros e patógenos como “um mosaico heterogêneo formado por unidades interativas, sendo esta heterogeneidade existente para pelo menos um fator, segundo um observador e numa

determinada escala de observação”, conforme proposto e revisado por Metzger (2001). Em última análise, tal abordagem integrada permite não apenas compreender melhor a manutenção e transmissão de agravos, como arboviroses, mas também identificar e delinear áreas de risco e para atuação prioritária das autoridades de saúde (Barcellos et al. 2005, Reisen 2010, Vanlerberghe et al. 2017).

Sabe-se que diferentes atividades humanas são capazes de produzir profundas alterações ecológicas no ambiente, como desmatamento, empreendimento de obras, deslocamento de populações, dentre outros, impactando profundamente a dinâmica de transmissão de doenças (Morens et al. 2004). Tais alterações, por definição, afetam comunidades de organismos residentes, como hospedeiros vertebrados e vetores invertebrados, levando a seleção de algumas dessas espécies em favor da perda de diversidade (Frankie & Ehler 1978, McKinney 2002, 2008). Dessa forma, a dominância de algumas poucas espécies chaves, como vetores e/ou hospedeiros, acaba por favorecer ou ampliar a taxa de contato e transmissão de patógenos (Woolhouse et al. 2001).

No presente estudo, buscamos identificar o padrão de segregação espacial de 41 espécies de mosquitos, das quais diversas são considerados vetores principais ou potenciais de arboviroses ao ser humano. Observou-se maior número de espécies e riqueza nas paisagens periurbanas e rurais, e a maior parte das espécies mostrou associação com variáveis do eixo urbano-floresta, evidenciando um claro impacto na distribuição de espécies na área de estudo. Das principais espécies de mosquitos vetores, *Ae. aegypti* foi a única a demonstrar clara relação com áreas urbanas, enquanto *Ae. taeniorhynchys* demonstrou associação com áreas urbanas mas com presença de corpos d'água. Outros *Aedes*, como *Ae. fluviatilis* e *Ae. scapularis*, demonstraram relação, ainda que fraca, com áreas impactadas, como vegetação secundária e áreas de pastagem em baixadas. O *Ae. albopictus* não demonstrou associação com nenhuma das variáveis utilizadas. Os *Aedes* do Grupo Serratus foram associados a ambientes distintos. Já os membros do gênero *Psorophora* demonstraram associação também a diferentes áreas, com *Ps. ferox*, a espécie de maior importância médica coletada pertencente ao gênero, foi associada a

áreas de crescimento secundário. *Haemagogus leucocelaenus*, um dos mais importantes transmissores de febre amarela silvestre no país, demonstrou associação com florestas. Os anofelinos coletados no estudo, ainda que em baixo número, foram associados principalmente a ambientes de mata secundária. Membros da tribo Mansonini e do gênero *Uranotaenia* também exibiram associação diversa, de acordo com as espécies analisadas. Com exceção de *Li. durhamii*, associado a áreas de crescimento secundário, todos os outros Sabethini foram associados a áreas de floresta ou com proximidade de corpos d'água.

O maior número de espécies raras, incluindo alguns potenciais vetores de arboviroses, foi encontrado na paisagem rural. No entanto, *Ae. aegypti*, o principal vetor de dengue, chikungunya, Zika e febre amarela urbana, foi positivamente relacionado com a paisagem Urbana, mostrando mais uma vez a associação dessa espécie com a presença humana e o risco de transmissão de patógenos nessas áreas (Cox et al. 2007, Honorio et al. 2009). Do conjunto de espécies encontradas, diversas mostram capacidade de frequentar o ambiente alterado pelo ser humano, podendo atuar como potenciais vetores ou participarem em episódios de *spillover* (Weaver 2010, Lima-Camara 2016). É o caso de espécies como *Ae. albopictus*, o qual pode atuar hipoteticamente como ponte de introdução do vírus amarílico em ambientes urbanos a partir de silvestres (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004b, Maciel-de-Freitas et al. 2006, Pancetti et al. 2015), ou mesmo outras espécies, como *Ae. scapularis*, vetor provável durante a epidemia de rocio nos anos 1970 no Vale do Ribeira (Mitchell & Forattini 1984). Reforçamos que o conhecimento sobre a distribuição de espécies de mosquitos vetores em uma região é de fundamental importância para planejamento de ações de controle vetorial e de vigilância epidemiológica, permitindo que a tomada de decisões seja feita com maior precisão, eficácia e efetividade (Ferraguti et al. 2016, Reiskind et al. 2017).

Outra forma de se subsidiar as ações de planejamento e controle é avaliar os diferentes métodos de coleta disponíveis para o monitoramento entomológico de mosquitos vetores, principalmente o *Ae. aegypti* (Codeço et al. 2015). No nosso estudo, avaliamos cinco diferentes metodologias de coleta de mosquitos adultos (Adultrap, BG-Sentinel, CDC-like e aspiração automática em

ambientes intra e peridomiciliares), visando a coleta de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. O uso de armadilhas no monitoramento entomológico é dependente da fase de vida que se deseja amostrar, podendo fornecer índices tanto qualitativos (como presença/ausência por armadilha ou localidade) quanto quantitativos (como a densidade de indivíduos coletados por armadilha ou localidade) (Silver 2008).

O direcionamento de esforços de coleta para formas adultas tem sido considerado um método mais apropriado para fornecer informações referentes à real infestação vetorial em uma dada região (Sivagnaname & Gunasekaran 2012). Uma vez que se observa alta mortalidade no estágio larval, diferentes autores têm criticado o uso dos tradicionais índices de *Stegomyia* para monitoramento de *Ae. aegypti*, além das evidências contrastantes entre tais índices e transmissão de dengue (Kuno 1995, Tun-Lin et al. 1996, Focks 2003, Nathan et al. 2006, Morrison et al. 2008, Sivagnaname & Gunasekaran 2012).

Com efeito, foram comparados dois índices, positividade e densidade dos mosquitos coletados, de forma a identificar picos de positividade em cada tipo de método de coleta. Existe uma aparente relação entre os dois índices e que, a partir de determinados níveis intermediários de infestação (medidos pela densidade de adultos do local), demonstram tendência de saturação do índice de positividade, permitindo que o monitoramento entomológico seja realizado com maior eficácia e menor custo-benefício (Codeço et al. 2015). Nossos achados apontam não apenas para o uso de determinados métodos para cada espécie de culicídeo, mas também indicam que o uso integrado destes métodos pode subsidiar a vigilância entomológica. Ainda que o uso de BG-Sentinel tenha apresentado maiores índices de positividade para *Ae. aegypti*, ao levar em consideração a paisagem de coleta e os outros métodos de coleta, a aspiração intradomiciliar se apresentou com maior poder preditivo. Já para *Ae. albopictus*, apesar dos maiores índices de positividade terem sido obtidos pela aspiração peridomiciliar, o uso de BG-Sentinel se mostrou uma alternativa com maior poder preditivo ao inserir a paisagem nos modelos. Dessa forma, a vigilância entomológica poderia utilizar os métodos de aspiração para monitoramento das espécies quando houver possibilidade de adentrar um terreno particular, ou utilizar uma armadilha automática na impossibilidade.

Uma vez que fêmeas de mosquitos são as responsáveis diretamente pela transmissão de arbovírus e outros patógenos ao ser humano, o serviço de monitoramento entomológico necessita produzir índices que sejam reflexo da real infestação local, de forma a permitir a tomada de decisões com maior eficácia e efetividade por parte das autoridades de saúde (Sivagnaname & Gunasekaran 2012). Além dos pontos já mencionados, a coleta de adultos permite que sejam empregadas ferramentas moleculares para o monitoramento virológico das populações locais de mosquitos. Tal prática tem se mostrado extremamente promissora e frequentemente fornece importantes resultados para o serviço de saúde (Nogueira et al. 1988, Degallier et al. 2000, Pinheiro et al. 2005). Por exemplo, a vigilância virológica a partir de amostras de mosquitos coletados em campo tem permitido detectar a circulação de diferentes sorotipos de DENV durante epidemias (Guedes et al. 2010), além da introdução de sorotipos em regiões indenes (Castro et al. 2012). Nossos estudos evidenciaram dois resultados distintos. No estudo realizado em Itaboraí e Cachoeiras de Macacu, não foi possível detectar a circulação de sorotipos de DENV e dos CHIKV e ZIKV nas amostras coletadas, provavelmente pelo baixo número de *pools* (Guand Novak 2004, Gu et al. 2008), mesmo o estudo sendo realizado durante a expansão do CHIKV e ZIKV no território do estado do Rio de Janeiro. Por outro lado, no estudo realizado em área endêmica da cidade do Rio de Janeiro, foi possível detectar a circulação de ZIKV em mosquitos coletados antes do primeiro relato do vírus em pacientes humanos (Ayllón et al. 2017).

Nosso estudo também evidenciou algumas importantes informações sobre as epidemias de dengue ocorridas no município de Itaboraí. Verificaram-se padrões bastante heterogêneos na ocorrência e dispersão das quatro epidemias registradas no município. No entanto, ainda que as epidemias apresentassem seu início em locais distintos, as áreas de maior risco, representadas por *clusters* mais prováveis de casos, pouco mudaram, localizando-se em todas as ocasiões no distrito Centro. Tal fenômeno pode ter relação pelo fato da maior parte da população morar na região, e o acesso ao serviço público de saúde ser mais fácil nos bairros desta região. Sabe-se que as epidemias de dengue são moduladas por diversos fatores. Tem-se

verificado que diferentes determinantes impactam na sua ocorrência e magnitude, como as condições socioeconômicas e de infraestrutura (Tauil 2001, Teixeira & Medronho 2008, Almeida et al. 2009, Teixeira & Cruz 2011), perfil populacional (Mondini & Chiaravalloti-Neto 2008, Costa et al. 2013, Gibson et al. 2014), sorotipos circulantes (Bastos et al. 2012, Heringer et al. 2015, 2017), e também o clima (Wu et al. 2007, Cassab et al. 2008, Luz et al. 2008, Gasparrini & Armstrong 2010, Zaitchek et al. 2016).

O clima se apresenta como um fator para elucidação da dinâmica de doenças transmitidas por vetores, além de ser críticos na modulação da biologia e do ciclo de vida de vetores artrópodes (Kuno & Chan 2005), sua distribuição geográfica e temporal (Kraemer et al. 2015), alteração na competência vetorial para sua transmissão (Brady et al. 2014) e mesmo na dispersão de arbovírus (Gould & Higgs 2008). Dessa forma, é extremamente importante que informações climáticas sejam disponíveis, de fácil acesso e manipulação por pesquisadores e autoridades de saúde (Zaitchek et al. 2016).

Um outro aspecto abordado no presente estudo foi o fortalecimento dos profissionais de saúde que atuam no campo e no laboratório, através de encontros para atualização em temas importantes relacionados a doenças transmitidas por vetores. Foi possível notar grande heterogeneidade quanto à formação do público, assim como de suas experiências profissionais. O material didático desenvolvido posteriormente foi elaborado de forma a concentrar conhecimentos atualizados, escrito por especialistas em suas respectivas áreas. Iniciativas de educação em saúde para populações vulneráveis, assim como a atualização e capacitação de ACS e ACE, têm se mostrado importantes para a prevenção e controle de doenças transmissíveis, especialmente as de transmissão vetorial (Coura & Junqueira 2015, Wang et al. 2016).

Essas iniciativas integram o Plano Brasil Sem Miséria (BSM), lançado em junho de 2011, o qual foi um programa do governo federal que objetivou dar suporte a estratégias de combate e superação da pobreza extrema no país (Brasil 2015a). O Instituto Oswaldo Cruz, por meio da Nota Técnica N<sup>o</sup>1/2011, fez uma importante recomendação para que “o tema das “doenças da pobreza” fosse contemplado (...) objetivando contribuir para prevenir e controlar estas

doenças e promover a saúde da população a quem se dirigem tais ações” (Fiocruz 2011). Além disso, o documento recomendou a educação profissional dos profissionais da atenção básica como meio de promoção a saúde, com base em “ampla disseminação de estratégias e materiais de educação, informação e comunicação sobre as doenças da pobreza” (Fiocruz 2011).

Segundo Sabroza e colaboradores (1992), as dificuldades e impossibilidades de agentes do serviço público para ter acesso a áreas vulneráveis impede ações de vigilância rotineiras, como as relacionadas a identificação de focos e sua destruição. Condições de saneamento e infraestrutura urbana deficitárias, como abastecimento de água intermitente ou inexistente, falta de saneamento básico, dentre outros, leva a população a adotar comportamentos de risco, como armazenar água e manter criadouros potenciais para a proliferação de *Ae. aegypti* (Sabroza et al. 1992, Barcellos et al. 1998, Souza-Santos 1999). Nesse sentido, torna-se necessário o fortalecimento do trabalho dos ACS e ACE, de forma a atuarem como protagonistas na disseminação de informação de forma continuada para a população. A educação em saúde é um importante instrumento de transformação social, pelo qual possibilita a reformulação de antigos hábitos e aceitação de novos valores. Dessa maneira, sua atuação permite a transformação de uma situação de saúde em uma nova mais favorável (Forattini 2004).

No campo da formação continuada de agentes de saúde locais, destaca-se a importância de equipes de ACS e ACE motivadas e capazes de realizar seu trabalho com suporte governamental para tal. A necessidade de melhor preparo dos ACE e ACS, sob a forma de cursos de atualização e capacitação continuados tem se colocado como importante demanda pelos profissionais em diferentes ocasiões, evidenciando, com isso, a importância de iniciativas nessa direção (Baglini et al. 2005, Chiaravalloti-Neto et al. 2007). Iniciativas para fortalecimento da atenção básica, através da atualização e capacitação de profissionais, aliadas a ações de monitoramento entomológico e virológico consistente e constante, estudos epidemiológicos para determinação de áreas de maior risco de transmissão, e o uso de dados ambientais e climáticos, podem ser um caminho possível para se atingir “um

processo racional de tomada de decisões para uso otimizado de recursos para controle vetorial. Essa abordagem [Manejo Integrado de Vetores] busca melhorar a eficácia, custo-efetividade, solidez ecológica e sustentabilidade do controle de vetores de doenças” (Coelho et al. 2012).

Este estudo teve algumas limitações. Para conseguir realizar o estudo sobre distribuição e segregação espacial das espécies de mosquito residentes, foi necessário agregar os dados de todo o período de estudo. Isso impossibilitou uma análise de segregação temporal das espécies, o que poderia fornecer importantes informações sobre a dinâmica espacial e temporal, além de permitir analisar outras espécies de mosquitos através de modelos mais complexos, como modelos mistos generalizados e modelos mistos aditivos com componentes de correlação espaço-temporal (Zuur et al. 2009). Tal problema poderia ser contornado por um número maior de coletas realizadas em cada área ao longo dos dois anos de estudo. Adicionalmente, um maior número de observações poderia dar mais precisão aos indicadores entomológicos criados para os métodos de coleta empregados no estudo. Esse acréscimo no número de amostras permitiria, inclusive, estudar outras espécies de mosquitos de importância médica encontradas na área de estudo.

Um importante ponto para ser levado em consideração em estudos futuros é a integração de dados socioeconômicos e climáticos nos modelos, tanto para os estudos entomológicos quanto epidemiológicos. A inclusão dessas variáveis poderia aumentar o poder explicativo e preditivo dos modelos utilizados neste trabalho. Além disso, a utilização de escalas espaciais e temporais locais para o estudo de dispersão de epidemias e na detecção de *clusters* de transmissão se coloca como um importante passo para o estudo das arboviroses em nível local.

O presente estudo contribui para que novas iniciativas sejam realizadas no âmbito do fortalecimento da vigilância epidemiológica, entomológica e virológica, visando o enfrentamento de arboviroses no país. Novos estudos são necessários, levando em consideração as paisagens heterogêneas onde ocorre a interação entre populações de hospedeiros suscetíveis, vetores competentes e populações de patógenos, de forma a melhor definir áreas de



risco de transmissão e para atuação prioritária das autoridades de saúde. O conhecimento das áreas de distribuição de espécies de mosquitos vetores e sua relação com a paisagem onde se inserem é de suma importância para a tomada de decisões no âmbito da vigilância epidemiológica. O monitoramento contínuo dos arbovírus circulantes nessas populações de vetores também é uma importante ferramenta para identificar a introdução de sorotipos ou novos vírus no local. A integração desses dados com dados epidemiológicos sobre a notificação e ocorrência de casos pode ser uma ferramenta extremamente importante não apenas para identificar áreas de risco de transmissão, mas para melhor embasar decisões tomadas por autoridades de saúde. No fim, todos os esforços para o controle dessas doenças e seus vetores precisam ser balizados por três dos mais fundamentais e necessários direitos do indivíduo: o direito à vida, o direito à dignidade e o direito à saúde.

## Capítulo 5. Conclusões

- Áreas urbanas tendem a ter riqueza de espécies consideravelmente menor que áreas periurbanas e rurais. Ainda assim, as áreas urbanas e periurbanas tiveram maior dominância de três das espécies de grande importância epidemiológica: *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*;
- Apesar da menor abundância, a riqueza de espécies nas áreas rurais foi maior do que nas áreas urbanas e periurbanas, fato evidenciado também pelo maior número de espécies raras encontradas;
- A maioria das espécies demonstraram segregação com base no nível de urbanização e alteração humana na paisagem. Poucas espécies demonstraram segregação para áreas de alta urbanização, enquanto a maioria demonstrou relação com áreas de borda ou transição e de ambientes florestados;
- A presença de vetores competentes como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em grande parte da área de estudo evidencia a importância de um monitoramento entomológico constante e integrado;
- BG-Sentinela e a aspiração peridomiciliar foram os métodos com maiores índices de positividade para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, ao passo que a Adultraps e CDC, respectivamente, apresentaram os menores índices;
- Considerando-se a paisagem, verificou-se que o uso de aspiração intradomiciliar e a BG-Sentinela se tornam os métodos de coleta mais efetivos para *Ae. aegypti*, ao passo que a BG-Sentinela demonstra maior efetividade para *Ae. albopictus*, desse modo, refletindo a necessidade de uma abordagem integrada para o monitoramento de mosquitos vetores na área de estudo;
- Nenhum *pool* de *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* foi encontrado infectado por arbovírus na área de estudo de Itaboraí e Cachoeiras de Macacu, provavelmente pelo baixo número de exemplares coletados ao longo do período de estudo;

- Foi possível detectar a circulação de ZIKV em *Ae. aegypti* coletado em área endêmica na cidade do Rio de Janeiro a partir de uma metodologia de monitoramento entomológico integrada e baseada no rastreamento de casos febris;
- O padrão epidemiológico do dengue em Itaboraí mostra bastante heterogeneidade, porém, concentrando-se nas áreas de maior densidade humana. O estudo da dispersão de epidemias no município mostra que todas tiveram inícios distintos no território, porém, os *clusters* de transmissão mais prováveis pouco se deslocaram durante o período;
- A atualização e capacitação de ACS e ACE não é apenas uma forma de melhorar e otimizar o desempenho desses profissionais em suas atividades rotineiras, mas também uma importante valorização de seu papel na atenção básica.

## Capítulo 6. Referências bibliográficas

- Acharya BK, Cao Cx, Lakes T, Chen W, Naeem S. Spatiotemporal analysis of dengue fever in Nepal from 2010 to 2014. *BMC Public Health*. 2016; 16(1):849.
- Aguiar DB, Fontão A, Rufino P, Macedo VA, Rios-Velásquez CM, Castro MG, Honorio NA. Primeiro registro de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em Roraima, Brasil. *Acta Amazon*. 2008; 38:357-60.
- Akram W, Lee JJ. Effect of habitat characteristics on the distribution and behavior of *Aedes albopictus*. *J Vector Ecol*. 2004; 29(2):379-82.
- Alencar J, de Mello CF, Guimarães AÉ, Gil-Santana HR, Silva JS, Santos-Mallet JR, et al. Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE*. 2015; 10(3):e0122268.
- Alencar J, de Mello CF, Serra-Freire NM, Guimarães AÉ, Gil-Santana HR, Gleiser RM. Biodiversity and Temporal Distribution of Immature Culicidae in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro State, Brazil. *PLoS ONE*. 2016; 11(7):e0159240.
- Alencar J, Morone F, de Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AÉ. Immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a eutrophic landfill tank from State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revta Soc Bras Med Trop*. 2013; 46:769-71.
- Almeida AS, Medronho RA, Valencia IO. Análise espacial da dengue e o contexto socioeconômico no município do Rio de Janeiro, RJ. *Rev Saúde Pública*. 2009; 43:666-73.
- Alonso WJ, Acuña-Soto R, Giglio R, Nuckols J, Leyk S, Schuck-Paim C, et al. Spatio-temporal patterns of diarrhoeal mortality in Mexico. *Epidemiol Infect*. 2012 Jan;140(1):91-9.
- Alonso WJ, McCormick BJ. EPIPOI: A user-friendly analytical tool for the extraction and visualization of temporal parameters from epidemiological time series. *BMC Public Health*. 2012; 12(1):982.
- Alonso WJ, Viboud C, Simonsen L, Hirano EW, Daufenbach LZ, Miller MA. Seasonality of influenza in Brazil: a traveling wave from the Amazon to the subtropics. *Am J Epidemiol*. 2007; 165(12):1434-42.

- Alto BW, Juliano SA. Temperature effects on the dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations in the laboratory. *J Med Entomol.* 2001; 38(4):548-56.
- Andrade CSF, Brassolatti RC & Santos LU. Educação para o manejo integrado dos vetores da dengue. Manual UNICAMP: Campinas, 1997.
- Andrade EHP, Figueiredo LB, Vilela APP, Rosa JCC, Oliveira JG, Zibaoui HM, et al. Spatial–Temporal Co-Circulation of Dengue Virus 1, 2, 3, and 4 Associated with Coinfection Cases in a Hyperendemic Area of Brazil: A 4-Week Survey. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94(5):1080-4.
- Anno S, Imaoka K, Tadono T, Igarashi T, Sivaganesh S, Kannathasan S, et al. Space-time clustering characteristics of dengue based on ecological, socio-economic and demographic factors in northern Sri Lanka. *Geospat Health.* 2015 Nov 26;10(2):376. doi: 10.4081/gh.2015.376.
- Armstrong PM & Andreadis TG. Eastern Equine Encephalitis Virus in Mosquitoes and Their Role as Bridge Vectors. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(12):1869-74.
- Astrom C, Rocklov J, Hales S, Beguin A, Louis V, Sauerborn R. Potential distribution of dengue fever under scenarios of climate change and economic development. *EcoHealth.* 2012; 9:448-454.
- Aubry A, Teissier A, Roche C, Teururai S, Paulous S, Desprès P, Musso D, Mallet HP, Merceron S, Huart M, Sicard S, Deparis X, Cao-Lormeau VM. Serosurvey of dengue, Zika and other mosquito-borne viruses in French Polynesia. In: 64th Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2015 October 25-29; Philadelphia, United States of America. Philadelphia: American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2015. Abstract 765.
- Ayllón T, Campos RM, Brasil P, Morone FC, Câmara DCP, Meira GLS, et al. Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23(8):1411-12.
- Ayres C, Guedes D, Paiva M, Donato M, Barbosa P, Krovovsky L, et al. Response to: 'Lack of evidence for Zika virus transmission by *Culex* mosquitoes'. *Emerg Microbes Infect.* 2017; 6(10):e91.

- Ayres CF. Identification of Zika virus vectors and implications for control. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16(3):278-279.
- Azar SR, Roundy CM, Rossi SL, Huang JH, Leal G, Yun R, et al. Differential Vector Competency of *Aedes albopictus* Populations from the Americas for Zika Virus. *Am J Trop Med Hyg.* 2017; 97(2):330-339.
- Baglini V, Favaro EA, Ferreira AC, Mondini A, Dibo MR, Barbosa AAC, et al. Dengue control as viewed by agents and the target population in Sao Jose do Rio Preto, Sao Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2005; 21:1142-1152.
- Ball TS, Ritchie SR. Sampling biases of the BG-sentinel trap with respect to physiology, age, and body size of adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 2010; 47:649-56.
- Banu S, Hu W, Hurst C, Guo Y, Islam MZ, Tong S. Space-time clusters of dengue fever in Bangladesh. *Trop Med Int Health.* 2012; 17(9):1086-91.
- Barata EAMF, Costa AIP, Neto FC, Glasser CM, Barata JMS, Natal D. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. *Rev Saúde Pú. 2001; 35:237-242.*
- Barcellos C, Coutinho K, Pina MF, Magalhães MMAF, Paola JCMD, Santos SM. Inter-relacionamento de dados ambientais e de saúde: análise de risco à saúde aplicada ao abastecimento de água no Rio de Janeiro utilizando Sistemas de Informações Geográficas. *Cad. Saúde Pública.* 1998; 14(3):597-605.
- Barcellos C, Pustai AK, Weber MA, Brito MR. Identification of places with potential transmission of dengue fever in Porto Alegre using Geographical Information Systems. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005; 38(3):246-50.
- Barrera R, Amador M, MacKay AJ. Population dynamics of *Aedes aegypti* and dengue as influenced by weather and human behavior in San Juan, Puerto Rico. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5:e1378.
- Barrera R, Delgado N, Jiménez M, Villalobos I, Romero I. Estratificación de una ciudad hiperendémica en dengue hemorrágico. *Rev Panam Salud Publica.* 2000; 8:225–233.

- Barrett AD & Higgs S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. *Annu Rev Entomol.* 2007; 52:209-229.
- Barrett ADT, Monath TP. Epidemiology and ecology of yellow fever virus. *Adv Virus Res.* 2003; 61:291-315.
- Bastos MS, Figueiredo RM, Ramasawmy R, Itapirema E, Gimaque JB, Santos LO, et al. Simultaneous circulation of all four dengue serotypes in Manaus, State of Amazonas, Brazil in 2011. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012; 45(3):393-4.
- Beaty BJ, Tesh RB, Aitken TH. Transovarial transmission of yellow fever virus in *Stegomyia* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* 1980; 29(1):125-132.
- Belkin JN, Schick RX, Heinemann SJ. V. Mosquito studies (Diptera: Culicidae). Mosquitoes originally described from Middle America. *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor).* 1965; 1(5):1-95.
- Benchimol JL. Febre Amarela: A Doença e a Vacina, Uma História Inacabada. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2001.
- Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, Lounibos LP. Spread of the Tiger: Global Risk of Invasion by the Mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007; 7(1):76-85.
- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496(7446):504-507.
- Birungi J, Munstermann LE. Genetic structure of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations based on mitochondrial ND5 sequences: evidence for an independent invasion into Brazil and the United States. *Ann Entomol Soc Am.* 2002; 95:125-132.
- Blangiardo M, Cameletti M. Spatial and spatio-temporal Bayesian models with R - INLA. New York: John Wiley & Sons, 2015.
- Borcard D, Gillet F, Legendre P. Numerical ecology with R. New York: Springer, 2011.
- Brady OJ, Golding N, Pigott DM, Kraemer MU, Messina JP, Reiner RC, et al. Global temperature constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*

- persistence and competence for dengue virus transmission. *Parasites Vectors*. 2014; 7:338.
- Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde*. 2007; 16(2):113-118.
- Braks MAH, Honório NA, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA. Interspecific competition between two invasive species of container mosquitoes in Brazil. *Ann Entomol Soc Am*. 2004; 97:130-139.
- Braks MAH, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA, Lounibos LP. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida, USA. *J Med Entomol*. 2003; 40:785-794.
- Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A, et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(4):e0004636.
- Brassolatti RC, Andrade CFS. Evaluation of an educative intervention to prevent dengue. *Ciênc. saúde coletiva*. 2002; 7(2):243-51.
- Brathwaite Dick, O., San Martín, J. L., Montoya, R. H., del Diego, J., Zambrano, B., & Dayan, G. H. (2012). The History of Dengue Outbreaks in the Americas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(4), 584–593. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0770>
- Breteau H. La fièvre jaune en Afrique-Occidentale Française. Un aspect de la médecine préventive massive. *Bulletin of the World Health Organization*. 1954; 11:453-81.
- Brown JE, Evans B, Zheng W, Abas V, Barrera-Martinez L, Egizi A, et al. Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, the dengue and yellow fever mosquito. *Evolution*. 2013; 68(2):514-25.
- Camara DC, Codeço CT, Juliano SA, Lounibos LP, Riback TI, Pereira GR, et al. Seasonal Differences in Density But Similar Competitive Impact of *Aedes*



- albopictus* (Skuse) on *Aedes aegypti* (L.) in Rio de Janeiro, Brazil. PLoS One. 2016; 11(6):e0157120.
- Camargo-Neves VL, Poletto DW, Rodas LA, Pachio. li L, Cardoso RP, Scandar SA, et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in Sao Paulo State, Brazil. Cad Saúde Publ 2005; 21:1278-86.
- Campbell LP, Luther C, Moo-Llanes D, Ramsey JM, Danis-Lozano R, Peterson AT. Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015; 370(1665):20140135.
- Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis. 2015; 21:1885-1886.
- Canal MR, Ferreira ERS, Estofolete CF, Dias AM, Tukasan C, Bertoque AC, et al. Spatiotemporal-based clusters as a method for dengue surveillance. Rev Panam Salud Publica. 2017;41:e162.
- Cardoso CW, Paploski IA, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MM, Campos GS, et al. Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, chikungunya, and dengue viruses, Salvador, Brazil. Emerg Infect Dis. 2015; 21:2274-76.
- Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E, Fonseca DF, Sallum MAM, Noll CA, et al. Yellow Fever Virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* Mosquitoes, Southern Brazil, 2008. Emerg Infect Dis. 2010; 16(12):1918-24.
- Cardoso JC, Paula MB, Fernandes A, Santos ED, Almeida MA, Fonseca DF, et al. New records and epidemiological potential of certain species of mosquito (Diptera, Culicidae) in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2010; 43(5):552-6.
- Carter HR. Yellow Fever: An Epidemiological and Historical Study of Its Place of Origin. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1931.
- Carvalho AX, Silva GD, Almeida Júnior GR, Albuquerque PH. Bayesian rates for homicide mapping in Brazilian municipalities. Cad Saude Publica. 2012; 28(7):1249-62.

- Carvalho GC, Ceretti-Junior W, Barrio-Nuevo KM, Wilk-da-Silva R, Christie RO, Paula MC, et al. Composition and diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in urban parks in the South region of the city of São Paulo, Brazil. *Biota Neotropica* 17(2):e20160274.
- Carvalho GC, Malafronte RS, Izumisawa CM, Teixeira RS, Natal L, Marrelli MT. Blood meal sources of mosquitoes captured in municipal parks in São Paulo, Brazil. *J Vector Ecol.* 2014; 39(1):146-52.
- Carvalho MS, Cruz OG, Nobre FF. Spatial partitioning using multivariate cluster analysis and a contiguity algorithm. *Stat Med.* 1996; 15(17-18):1885-94.
- Carvalho MS, Souza-Santos R. Análise de dados espaciais em saúde: métodos, problemas e perspectivas. *Cadernos de Saúde Pública* 2005; 21(2):361-78.
- Carvalho RG, Lourenço-de-Oliveira R, Braga IA. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109(6):787-96.
- Cassab A, Morales V, Mattar S. Factores climáticos y casos de dengue em Montería, Colombia, 2003-2008. *Rev Salud Pública.* 2011; 13:115-28.
- Castro APR, Gonçalves AF, Caetano FHP, Souza LJEX. Brincando e aprendendo saúde. *Texto & Contexto Enferm.* 1998; 7:85-95.
- Castro MG, Nogueira RM, Filippis AM, Ferreira AA, Lima Mda R, Faria NR, et al. Dengue virus type 4 in Niterói, Rio de Janeiro: the role of molecular techniques in laboratory diagnosis and entomological surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012; 107:940-945.
- Castro MG, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Lourenço-de-Oliveira R. Dengue virus detection by using reverse transcription-polymerase chain reaction in saliva and progeny of experimentally infected *Aedes albopictus* from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99:809-814.
- Catão RC. Dengue no Brasil: Abordagem Geográfica na Escala Nacional. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2012

- Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Eyrolle-Guignot D, et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013-15: a retrospective study. *Lancet*. 2016;387(10033):2125-2132.
- Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil, 2000-2012. *Epidemiol Serv Saude*. 2016; 25(1):11-20.
- Cavalcante KRLJ, Tauil PL. Risk of re-emergence of urban yellow fever in Brazil. *Epidemiol Serv Saude*. 2017; 26(3):617-20.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention [homepage na internet]. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). 2010 [acesso em 25 ago 2017]. Disponível em. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/arbor/arbdet.htm>.
- Ceretti-Júnior W, Medeiros-Sousa AR, Wilke AB, Strobel RC, Dias Orico L, Souza Teixeira R, et al. Mosquito faunal survey in a central park of the city of São Paulo, Brazil. *J Am Mosq Control Assoc*. 2015; 31:172-6.
- Chang AY, Fuller DO, Carrasquillo O, Beier JC. Social justice, climate change, and dengue. *Health Hum Rights*. 2014; 16(1):93-104.
- Chao A, Chiu C-H. Nonparametric Estimation and Comparison of Species Richness. In: eLS. Chichester: John Wiley & Sons; 2016. P. 1-11.
- Chao A, Hwang W, Chen Y, Kuo C. Estimating the number of shared species in two communities. *Statistica Sinica*. 2000; 10(1):227-46.
- Chao A, Lee SM. Estimating the number of classes via sample coverage. *J Am Stat Assoc*. 1992; 87:210-7.
- Chao A, Ma KH, Hsieh TC, Chiu CH. SpadeR: Species-Richness Prediction and Diversity Estimation with R. R package version 0.1.1. 2016; <https://CRAN.R-project.org/package=SpadeR>
- Charrel RN, de Lamballerie X. Letter to the Editor - Chikungunya in north-eastern Italy: a consequence of seasonal synchronicity. *Euro Surveill*. 2008; 13(1).
- Chen CF, Shu PY, Teng HJ, Su CL, Wu JW, et al. Screening of dengue virus in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by one-step SYBR green-based reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay

- during 2004-2007 in southern Taiwan. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10:1017-25.
- Chen WR, Tesh RB, Rico-Hesse R. Genetic variation of Japanese encephalitis virus in nature. *J Gen Virol.* 1990; 71:2915-22.
- Chiaravalloti VB, Morais MS, Chiaravalloti-Neto F, Conversani DT, Fiorin AM, Barbosa AA, et al. O Programa de Controle do Dengue em São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil: dificuldades para a atuação dos agentes e adesão da população. *Cad Saude Publica.* 2007; 23:1656-64.
- Chiaravalloti-Neto F, Moraes MS de, Fernandes MA. Avaliação do resultado de atividades de incentivo à participação da comunidade no controle da dengue em um bairro periférico do município de São José do Rio Preto, São Paulo, e da relação entre conhecimento e práticas desta população. *Cad Saude Publica.* 1998; 14(Supl 2):101-9.
- Chomposri J, Thavara U, Tawatsin A, Boonserm R, Phumee A, Sangkitporn S, et al. Vertical transmission of Indian Ocean Lineage of chikungunya virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. *Parasit Vectors.* 2016; 9:227.
- Chouin-Carneiro T, Vega-Rua A, Vazeille M, Yebakima A, Girod R, Goindin D, et al. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(3):e0004543.
- Chow VT, Chan YC, Yong R, Lee KM, Lim LK, Chung YK, et al. Monitoring of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *Am J Trop Med Hyg.* 1998; 58:578-86.
- Christophers SR. *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito: its life history, bionomics and structure. Cambridge: Cambridge University Press; 1960.
- Clark GG, Seda H, Gubler DJ. Use of the "CDC backpack aspirator" for surveillance of *Aedes aegypti* in San Juan, Puerto Rico. *J Am Mosq Control Assoc.* 1994; 10(1):119-24.
- Clements AN. The biology of mosquitoes, volume 3: transmission of viruses and interactions with bacteria. Cambridge: CABI; 2012.

- Codeço CT, Lima AWS, Araújo SC, Lima JBP, Maciel-de-Freitas R, 3 Honório NA, et al. Surveillance of *Aedes aegypti*: Comparison of House Index with Four Alternative Traps. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9(2):e0003475.
- Coelho GE, Burattini MN, Teixeira M da G, Coutinho FA, Massad E. Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2008; 103(6): 535-9.
- Coelho GE. Challenges in the control of *Aedes aegypti*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2012; 54:S13-4.
- Colton YM, Chadee DD, Severson DW. Natural skip oviposition of the mosquito *Aedes aegypti* indicated by codominant genetic markers. Med Vet Entomol. 2003; 17(2):195-204.
- Conn JE, Wilkerson RC, Segura MNO, Souza RTL, Schlichting CD, Wirtz RA, et al. Emergence of a new neotropical malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. Am J Trop Med Hyg. 2002; 66:18-22.
- Connor ME, Monroe WM. *Stegomyia* indices and their value in yellow fever control. Am J Trop Med Hyg. 1923; 3:9-19.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1994.
- Corbet PS & Chadee DD. An improved method for detecting substrate preferences shown by mosquitoes that exhibit "skip oviposition". Phys Entomol. 1993; 18:114-8.
- Costa JV, Donalisio MR, Silveira LV. Spatial distribution of dengue incidence and socio-environmental conditions in Campinas, São Paulo State, Brazil, 2007. Cad Saude Publica. 2013; 29(8):1522-32.
- Coura JR, Junqueira AC. Surveillance, health promotion and control of Chagas disease in the Amazon Region - Medical attention in the Brazilian Amazon Region: a proposal. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015; 7:825-30.
- Couto-Lima D, Madec Y, Bersot MI, Campos SS, Motta MA, Santos FBD, et al. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. Sci Rep. 2017; 7(1):4848.

- Cox J, Grillet ME, Ramos OM, Amador M, Barrera R. Habitat segregation of dengue vectors along an urban environmental gradient. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76:820-826.
- Cuong HQ, Vu NT, Cazelles B, Boni MF, Thai KTD, Rabaa MA, Quang LC, Simmons CP, Huu TN, Anders KL 2013. Spatiotemporal Dynamics of Dengue Epidemics, Southern Vietnam. *Emerg Infect Dis* 19(6):945-53.
- Davis NC, Shannon RC. Studies on yellow fever in South America: attempts to transmit the virus with certain aedine and sabethine mosquitoes and with triatomas (Hemiptera). *Am J Trop Med Hyg.* 1931; 11:21-9.
- Dégallier N, Teixeira JM, Vilarinhos PD, Pinto SC, Pereira RD. First isolation of dengue 1 virus from *Aedes aegypti* in Federal District, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000; 33: 95-6.
- Degener CM, Eiras AE, Azara TM, Roque RA, Rösner S, Codeço CT, et al. Evaluation of the effectiveness of mass trapping with BG-sentinel traps for dengue vector control: a cluster randomized controlled trial in Manaus, Brazil. *J Med Entomol.* 2014; 51(2):408-20.
- Delatte H, Desvars A, Bouétard A, Bord S, Gimonneau G, Vourc'h G, et al: Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, a vector of Chikungunya on La Réunion. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(3):249-58.
- Dennett JA, Vessey NY, Parsons RE. A comparison of seven traps used for collection of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* originating from a large tire repository in Harris County (Houston), Texas. *J Am Mosq Control Assoc.* 2004 Dec;20(4):342-9.
- Diallo D, Sall AA, Buenemann M, Chen R, Faye O, Diagne CT, et al. Landscape Ecology of Sylvatic Chikungunya Virus and Mosquito Vectors in Southeastern Senegal. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012; 6(6):e1649.
- Diallo D, Sall AA, Diagne CT, Faye O, Faye O, Ba Y, et al. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS One.* 2014; 9(10):e109442.

- Diallo M, Ba Y, Sall AA, Diop OM, Ndione JA, Mondo M, et al. Amplification of the sylvatic cycle of dengue virus type 2, Senegal, 1999–2000: entomologic findings and epidemiologic considerations. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(3):362-7.
- Diallo M, Sall AA, Moncayo AC, Ba Y, Fernandez Z, Ortiz D, et al. Potential role of sylvatic and domestic African mosquito species in dengue emergence. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 73(2):445-9.
- Diallo M, Thonnon J, Traore-Lamizana M, Fontenille D. Vectors of chikungunya virus in Senegal: Current data and transmission cycles. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60:281-6.
- Dibo MR, Menezes RM, Ghirardelli CP, Mendonça AL, Chiaravalloti-Neto F. The presence of Culicidae species in medium-sized cities in the State of São Paulo, Brazil and the risk of West Nile fever and other arbovirus infection. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011; 44(4):496-503.
- Dick BO, Martín JLS, Montoya RH, Diego J, Zambrano B, Dayan GH. The History of Dengue Outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87(4):584-93.
- Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952; 46:509:20.
- Dick OB, Martín JLS, Montoya RH, Diego J, Zambrano B, Dayan GH. The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87(4):584-93.
- Donatti JE, Gomes AC: Adultrap: description of adult trap of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev Bras Entomol.* 2007, 51:255-256.
- Dorvillé LFM. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. *Stud Neotropical Fauna Environ.* 1996; 31:68-78.
- Drago A, Marini F, Caputo B, Coluzzi M, della Torre A, Pombi M. Looking for the gold standard: assessment of the effectiveness of four traps for monitoring mosquitoes in Italy. *J Vector Ecol.* 2012; 37(1):117-23.

- Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*. 2009; 360(24):2536-43.
- Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E, Daures M, John M, Grangeon JP, et al. Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21(2):381-2.
- Dusfour I, Issaly J, Carinci R, Gaborit P, Girod R. Incrimination of *Anopheles (Anopheles) intermedius* Peryassú, *An. (Nyssorhynchus) nuneztovari* Gabaldón, *An. (Nys.) oswaldoi* Peryassú as natural vectors of *Plasmodium falciparum* in French Guiana. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012; 107(3):429-32.
- Elizondo-Quiroga D, Medina-Sánchez A, Sánchez-González JM, Eckert KA, Villalobos-Sánchez E, Navarro-Zúñiga AR, et al. Zika Virus in Salivary Glands of Five Different Species of Wild-Caught Mosquitoes from Mexico. *Sci Rep*. 2018; 8(1):809.
- Ellis EC, Ramankutty N. Putting people in the map: anthropogenic biomes of the world. *Front Ecol Evol*. 2008; 6:439-47.
- Englbrecht C, Gordon S, Venturelli C, Rose A, Geier M. Evaluation of BG-Sentinel Trap as a Management Tool to Reduce *Aedes albopictus* Nuisance in an Urban Environment in Italy. *J Am Mosq Control Assoc*. 2015; 31(1):16-25.
- Enserink M. A mosquito goes global. *Science*. 2008; 320:864-6.
- Ezenwa VO, Godsey MS, King RJ, Guptill SC. Avian diversity and West Nile virus: testing associations between biodiversity and infectious disease risk. *Proc R Soc Lond B*. 2006; 273:109-17.
- Farajollahi A, Kesavaraju B, Price DC, Williams GM, Healy SP, Gaugler R, et al. Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. *J Med Entomol*. 2009; 46(4):919-25.
- Fares RCG, Souza KPR, Añez G, Rios M. Epidemiological Scenario of Dengue in Brazil. *Biomed Res Int*. 2015; 2015:321873.



- Faria NR, Azevedo RDS, Kraemer MUG, Souza R, Cunha MS, Hill SC, et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science*. 2016; 352(6283):345-9.
- Fernandes RS, Campos SS, Ferreira-de-Brito A, Miranda RM, Barbosa da Silva KA, Castro MG, et al. *Culex quinquefasciatus* from Rio de Janeiro Is Not Competent to Transmit the Local Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(9):e0004993.
- Ferraguti M, Puente JM, Roiz D, Ruiz S, Soriguer R, Figuerola J. Effects of landscape anthropization on mosquito community composition and abundance. *Sci Rep*. 2016 4; 6:29002.
- Figueiredo LT The Brazilian flaviviruses. *Microbes Infect*. 2000; 2:1643-9.
- Figueiredo LT. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007; 40:224-9.
- Figueiredo ML, Gomes AC, Amarilla AA, Leandro AS, Orrico AS, Araujo RF, et al. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. *Virology*. 2010; 7:152.
- FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz [homepage na internet]. NOTA TÉCNICA N.º 1/2011/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA. 2011 [acesso em 27 nov 2017]. Disponível em: [http://www.fiocruz.br/ioc/media/NotaTecnica\\_1\\_2011\\_IOCAtual.pdf](http://www.fiocruz.br/ioc/media/NotaTecnica_1_2011_IOCAtual.pdf).
- Fischer D, Thomas SM, Suk JE, Sudre B, Hess A, Tjaden NB, et al. Climate change effects on Chikungunya transmission in Europe: geospatial analysis of vector's climatic suitability and virus' temperature requirements. *Int J Health Geogr*. 2013; 12:51.
- Fischer S, Schweigmann N. *Culex* mosquitoes in temporary urban rain pools: seasonal dynamics and relation to environmental variables. 2004. *J Vector Ecol*; 29:365-73.
- Focks D, Alexander N. Multicountry study of *Aedes aegypti* pupal productivity survey methodology. Geneva: World Health Organization, 2006.

- Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E. Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62:11-8.
- Focks DA, Chadee DD. Pupal survey: an epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: an example using data from Trinidad. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 56:159-67.
- Focks DA, Chadee DD. Pupal survey: an epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: an example using data from Trinidad. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 56:159-67.
- Focks DA, Sackett SR, Bailey DL, Dame DA. Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, Louisiana with an estimate of the populations density of *Aedes aegypti* (L.). *Am J Trop Med Hyg.* 1981; 30:1329-335.
- Focks DA. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), Geneva, TDR/IDE/Den/03.1; 2009.
- Foo LC, Lim TW, Lee HL, Fang R. Rainfall, abundance of *Aedes aegypti* and dengue infection in Selangor, Malaysia. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health.* 1985; 16:560-8.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Santos JLF. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em matas primitivas da planície e perfis epidemiológicos de vários ambientes no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev Saude Pública.* 1986; 20:178-203
- Forattini OP, Ishiata GK, Rabello EX, Cotrin MD. Observations on *Culex* mosquitoes of S. Paulo City, Brazil. *Rev Saúde Pública.* 1973; 7:315-30.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 9 - Synanthropy and epidemiological role of *Aedes scapularis* in South-Eastern Brazil. *Rev Saude Publica* 1995; 29:199-207.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 2 - Immature stages research at a rice

- irrigation system location in South-Eastern Brazil. Rev Saúde Pública. 1993; 27(4):227-93.
- Forattini OP, Kakitani I, Sallum MA. Breeding places of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) in artificial containers. Rev Saude Publica. 1997; 31(5):519-22.
- Forattini OP. Culicidologia médica volume 2. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo; 2002.
- Forattini OP. Ecologia, epidemiologia e sociedade, 2nd ed. São Paulo: Artes Médicas; 2004.
- Forattini OP. Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil. Rev Saude Publica. 1986; 20:244-5.
- Fraga LS, Monteiro S. A gente é um passador de informação: práticas educativas de agentes de combate a endemias no serviço de controle de zoonoses em Belo Horizonte, MG. Saúde Soc. 2014; 23(3):993-1006.
- Franco O. História da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Departamento Nacional de Endemias Rurais; 1969.
- Frankie, G. W. & Ehler, L. E. Ecology of insects in urban environments. Annu Rev Entomol. 1978; 23:367-87.
- FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. Diretrizes de educação em saúde visando à promoção da saúde: documento base - documento I. Brasília: Funasa; 2007.
- Galuzo IG. Landscape epidemiology (epizootiology). Adv Vet Sci Comp Med. 1975; 19:73-96
- Garcia RN, Almeida EB, Distéfano EG, Farenzena E, Menegol R, Menegat D, et al. Agentes mirins de saúde: uma estratégia para formar multiplicadores de conhecimento. RSBO. 2009; 6:13-19.
- Gibson G 2012. Fatores Associados à Ocorrência de Dengue Grave: Análise dos Anos Epidêmicos de 2007/2008 no Rio de Janeiro. [Doutorado em Epidemiologia e Saúde Pública] - Escola Nacional de Saúde Pública Fiocruz; 2012.

- Gibson G, Souza-Santos R, Pedro AS, Honório NA, Sá Carvalho M. Occurrence of severe dengue in Rio de Janeiro: an ecological study. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014; 47(6):684-91.
- Giraldo D, Sant'Anna C, Perissé ARS, March MDFP, Souza AP, Mendes A, et al. Characteristics of children hospitalized with dengue fever in an outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011; 105(10):601-3.
- Gomes AC, de Souza JM, Bergamaschi DP, Santos JL, Andrade VR, Leite OF, et al. Anthropophilic activity of *Aedes aegypti* and of *Aedes albopictus* in area under control and surveillance. *Rev Saude Publica.* 2005; 39(2):206-10.
- Gomes AC, Marques GRAM. Encontro de criadouro natural de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 1988; 22:245.
- Gomes AC, Paula MB, Vitor Neto JB, Borsari R, Ferraudo AS. Culicidae (Diptera) in the dam area bordering the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotrop Entomol.* 2009; 38(4):553-5.
- Gomes AC, Silva NN, Bernal RTI, Leandro AS, Camargo NJ, Silva AM, et al. Specificity of the Adultrap for capturing females of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007; 40:216-9.
- Gould EA, Higgs S. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *R Soc Trop Med Hyg.* 2009; 103:109-21
- Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Ondo SM, Jiolle D, et al. Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(2):e2681.
- Gratz NG. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol.* 2004; 18:215-27.
- Gu W, Novak RJ. Short report: detection probability of arbovirus infection in mosquito populations. *Am J Trop Med Hyg.* 2004; 71:636-8.
- Gu W, Unnasch TR, Katholi CR, Lampman R, Novaka RJ. Fundamental issues in mosquito surveillance for arboviral transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102(8):817-22.

- Guagliardo SA, Morrison AC, Barboza JL, Requena E, Astete H, Vazquez-Prokopec G, et al. River Boats Contribute to the Regional Spread of the Dengue Vector *Aedes aegypti* in the Peruvian Amazon. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(4):e0003648.
- Gubler DJ, Kuno G. Dengue and dengue hemorrhagic fever. New York: CAB International; 1997.
- Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11: 480-496
- Gubler DJ. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2004; 27(5):319-30.
- Gubler DJ. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch Med Res*. 2002; 33(4):330-342.
- Gubler DJ. The global resurgence of arboviral diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996; 90:449-451.
- Guedes DR, Cordeiro MT, Melo-Santos MA, Magalhaes T, Marques E, Regis L, et al. Patient-based dengue virus surveillance in *Aedes aegypti* from Recife, Brazil. *J Vector Borne Dis*. 2010; 47:67-75.
- Guedes DR, Paiva MH, Donato MM, Barbosa PP, Krokovsky L, Rocha SWDS, et al. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg Microbes Infect*. 2017; 6(8):e69.
- Guedes MLP, Navarro-Silva MA. Mosquito community composition in dynamic landscapes from the Atlantic Forest biome (Diptera, Culicidae). *Rev Bras Entomol*. 2014; 58(1):88-94.
- Guimarães AE, Arlé M. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I- Distribuição Estacional. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1984; 79:309-23.
- Gurugama P, Garg P, Perera J, Wijewickrama A, Seneviratne SL. Dengue viral infections. *Indian J Dermatol*. 2010; 55:68-78
- Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol*. 2010; 8:s7-s16.

- Halstead SB. Dengue virus-mosquito interactions. *Annu Rev Entomol.* 2008; 53:273-91.
- Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science.* 1988; 239:476-81.
- Han J, Zhu L, Kulldorff M, Hostovich S, Stinchcomb DG, Tatalovich Z, et al. Using Gini coefficient to determining optimal cluster reporting sizes for spatial scan statistics. *Int J Health Geogr.* 2016; 15(1):27.
- Harrington LC, Ponlawat A, Edman JD, Scott TW, Vermeulen F. Influence of container size, location, and time of day on oviposition patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti*, in Thailand. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8(3):415-23.
- Hawley WA. The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc.* 1988; 4:1-40.
- Hayes EB. Zika Virus Outside Africa. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(9):1347-50.
- Heck KL, Van Belle G, Simberloff D. Explicit calculation of the rarefaction diversity measurement and the determination of sufficient sample size. *Ecology.* 1975; 56:1459-61.
- Heinemann SJ, Belkin JN. Collection records of the Project "Mosquitoes of Middle America" 11. Venezuela (VZ); Guianas: FrenchGuiana (FG, FGC), Guyana (GUY), Surinam (SUR). *Mosquito Syst.* 1978; 10:365-459.
- Heringer M, Nogueira RM, de Filippis AM, Lima MR, Faria NR, Nunes PC, et al. Impact of the emergence and re-emergence of different dengue viruses' serotypes in Rio de Janeiro, Brazil, 2010 to 2012. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2015; 109(4):268-74.
- Heringer M, Souza TMA, Lima MDRQ, Nunes PCG, Faria NRDC, de Bruycker-Nogueira F, et al. Dengue type 4 in Rio de Janeiro, Brazil: case characterization following its introduction in an endemic region. *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1):410.
- Higgs S, Vanlandingham D. Chikungunya virus and its mosquito vectors. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(4):231-40.

- Hoel DF, Kline DL, Allan SA. Evaluation of six mosquito traps for collection of *Aedes albopictus* and associated mosquito species in a suburban setting in north central Florida. *J Am Mosq Control Assoc.* 2009; 25(1):47-57.
- Holmes EC, Twiddy SS. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect Genet Evol.* 2003; 3:19-28.
- Honorio NA, Câmara DCP, Calvet GA, Brasil P. Chikungunya: an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. *Cad Saúde Pública.* 2015; 906-8.
- Honório NA, Castro MG, Barros FS, Magalhães MA, Sabroza PC. The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2009; 25(6):1203-14.
- Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MA, Lourenço-De-Oliveira R. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J Med Entomol.* 2009; 46(5):1001-14.
- Honório NA, Lourenço-De-Oliveira R. Frequency of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae and pupae in traps, Brazil. *Rev Saude Publica.* 2001; 35(4):385-91.
- Honorio NA, Nogueira RMR, Codeco CT, Carvalho MS, Cruz OG, et al. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009; 3(11)e545.
- Honorio NA, Silva W da C, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003; 98:191-8
- Hortal J, Borges PA, Gaspar C. Evaluating the performance of species richness estimators: sensitivity to sample grain size. *J Animal Ecol.* 2006; 75:274-87.
- Hsieh TC, Ma KH, Chao A. iNEXT: iNterpolation and EXTrapolation for species diversity. R package version 2.0.12. 2016; <http://chao.stat.nthu.edu.tw/blog/software-download/>

- Hull B, Tikasingh E, Souza M, Martinez R. Natural transovarial transmission of dengue 4 virus in *Aedes aegypti* in Trinidad. *Am J Trop Med Hyg.* 1984; 33:1248-50.
- Ibáñez-Bernal S, Briseño B, Mutebi JP, Argot E, Rodríguez G, Martínez-Campos C, et al. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Med Vet Entomol.* 1997; 11:305-9.
- Instituto Estadual do Ambiente – INEA. O Estado do Ambiente: Indicadores Ambientais do Rio de Janeiro. Secretaria do Estado de Ambiente: Rio de Janeiro, 2010.
- Iverson LB, Travassos-da-Rosa APA, Rosa MDB. Ocorrência recente de infecção humana por arbovírus Rocio na Região do Vale do Ribeira. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 1989; 31:28-31.
- Iverson LB. Aspects of the encephalitis epidemic caused by arbovirus in the Ribeira Valley, S. Paulo, Brazil, during 1975–1978. *Rev Saude Publica.* 1980; 14:9-35.
- Jensen T, Willis OR, Fukuda T, Barnard DR. Comparison of bi-directional Fay, omni-directional, CDC, and duplex cone taps for sampling adult *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in North Florida. *J Am Mosq Control Assoc.* 1994; 10:74-8.
- Johnson MF, Gomez A, Pinedo-Vasquez M. Land use and mosquito diversity in the Peruvian Amazon. *J Med Entomol.* 2008; 45:1023-30.
- Joshi V, Mourya DT, Sharma RC 2002. Persistence of dengue-3 virus through transovarial transmission passage in successive generations of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 67:158-161.
- Juliano SA, Lounibos LP, Nishimura N, Greene K. Your worst enemy could be your best friend: predator contributions to invasion resistance and persistence of natives. *Oecologia.* 2010; 162:709-18.



- Juliano SA, Lounibos LP, O'Meara GF. A field test for competitive effects of *Aedes albopictus* on *A. aegypti* in South Florida: differences between sites of coexistence and exclusion? *Oecologia*. 2004; 139:583-93.
- Juliano SA. Species introduction and replacement among mosquitoes: interspecific resource competition or apparent competition? *Ecology*. 1998; 79:255-68.
- Jupp PG, McIntosh BM. *Aedes furcifer* and other mosquitoes as vectors of chikungunya virus at Mica, Northeastern Transvaal, South Africa. *J Am Mosq Control Assoc*. 1990; 6:415-20.
- Kay B, Nam VS. New strategy against *Aedes aegypti* in Vietnam. *Lancet*. 2005; 365:613-7.
- Keasing F, Belden LK, Daszak P, Dobson A, Harvell CD, Holt RD, et al. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*. 2010; 468(7324):647-52.
- Keasing F, Holt R, Ostfeld R. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters*. 2006; 9:485-98.
- Khin MM, Than KA. Transovarial transmission of dengue 2 virus by *Aedes aegypti* in nature. *Am J Trop Med Hyg*. 1983; 32:590-594.
- Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ, Marra PP, Daszak P. West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS Biol*. 2006; 4(4):e82.
- Kitron U. Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: tools for spatial analysis. *J Med Entomol*. 1998; 35(4):435-45.
- Kleber de Oliveira W, Cortez-Escalante J, De Oliveira WT, do Carmo GM, Henriques CM, Coelho GE, et al. Increase in Reported Prevalence of Microcephaly in Infants Born to Women Living in Areas with Confirmed Zika Virus Transmission During the First Trimester of Pregnancy - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65(9):242-7.

- Klein TA, Lima JB, Tang AT. Seasonal distribution and diel biting patterns of culicine mosquitoes in Costa Marques, Rondônia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1992; 87:141-8.
- Koenraadt CJ, Aldstadt J, Kijchalao U, Sithiprasasna R, Getis A, Jones JW, et al. Spatial and temporal patterns in pupal and adult production of the dengue vector *Aedes aegypti* in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 79(2):230-8.
- Kotsakiozi P, Richardson JB, Pichler V, Favia G, Martins AJ, Urbanelli S, Armbruster PA, Caccone A. Population genomics of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*: insights into the recent worldwide invasion. *Ecol Evol*. 2017; 7(23):10143-57.
- Kow CY, Koon LL, Yin PF. Detection of dengue viroses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-specific PCR. *J Med Entomol*. 2001; 38: 475-9.
- Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne A, Shearer FM, Brady OJ, et al. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Sci Data*. 2015; 2:150035.
- Kulldorff M. 2009. SatScan Version 8.02: Software for the Spatial and Space-Time Scan Statistics. Silver Spring, MD: Information Management Services.
- Kulldorff M. A spatial scan statistic. *Commun Statist Theory Meth*. 1997; 26:1487-96.
- Kuno G, Chang GJ. Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18(4):608-37.
- Kuno G. Review of the factors modulating dengue transmission. *Epidemiol Rev*. 1995; 17:321-35.
- Lagrotta MT, Silva Wda C, Souza-Santos R. Identificação de áreas chave para o controle de *Aedes aegypti* por meio de geoprocessamento em Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2008; 24:70-80.

- Lana RM, Gomes MFdC, Lima TFMd, Honório NA, Codeço CT. The introduction of dengue follows transportation infrastructure changes in the state of Acre, Brazil: A network-based analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11(11):e0006070.
- Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14:1232-9.
- Lane J, Cerqueira NL. Os Sabetíneos da América (Diptera, Culicidae). *Arq Zool* 1942; 3:473-849.
- Lane J. Neotropical Culicidae. 2 Vol. Editora Universidade de São Paulo: São Paulo; 1953.
- Leroy EM, Nkoghe D, Ollomo B, Nze-Nkogue C, Becquart P, Grard G, Pourrut X, Charrel R, Moureau G, Ndjoyi-Mbiguino A, De-Lamballerie X. Concurrent chikungunya and dengue virus infections during simultaneous outbreaks, Gabon, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2009; 15(4):591-3.
- Li Z, Yin W, Clements A, Williams G, Lai S, Zhou H, et al. Spatiotemporal analysis of indigenous and imported dengue fever cases in Guangdong province, China. *BMC Infect Dis*. 2012; 12:132.
- Lima EP, Goulart MO2, Rolim Neto ML. Meta-analysis of studies on chemical, physical and biological agents in the control of *Aedes aegypti*. *BMC Public Health*. 2015; 15:858.
- Lima-Camara TN, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(10):109-118.
- Lima-Camara TN, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R. Parity and ovarian development of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) in metropolitan Rio de Janeiro. *J Vector Ecol*. 2007; 32(1):34-40.
- Lima-Camara TN. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2016; 50:36.

- Lopes J, Silva MAN, Borsato AM, Oliveira VDRB, Oliveira FJA. *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. and associated culicidae fauna in an urban area of southern, Brazil. Rev Saude Publica. 1993; 27:326-33.
- Lopes J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar, São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica. 1997; 31:370-7.
- Lopes OS, Coimbra TL, de Abreu Sacchetta L, Calisher CH. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. I. Isolation and characterization of the etiologic agent, Rocio virus. Am J Epidemiol. 1978; 107(5):444-9.
- Lopes OS, Sacchetta LA, Coimbra TLM, Pereira LE. Isolation of St. Louis encephalitis virus in South Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1979; 28:583-5.
- Lounibos LP. Invasions by insect vectors of human disease. Annu Rev Entomol. 2002; 47:233-66.
- Lourenço de Oliveira R, Vazeille M, de Filippis AM, Failloux AB. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. Am J Trop Med Hyg. 2003; 69:105-14.
- Lourenço-de-Oliveira R 2005. Principais insetos vetores e mecanismos de transmissão das doenças infecciosas e parasitárias. In: Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. pp. 75–97.
- Lourenço-de-Oliveira R, Castro MG, Braks MAH, Lounibos LP. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. J Vector Ecol. 2004a; 29:94-100.
- Lourenço-de-Oliveira R, Heyden R, Silva TF. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera, Culicidae) de uma área de planície (Granjas, Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. V. Criadouros. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1986; 81:265-71

- Lourenço-de-Oliveira R, Heyden R. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera:Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. IV. Preferências alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1986; 81(1):15-27.
- Lourenço-de-Oliveira R, Honório NA, Castro MG, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Alves JCR, et al. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002; 97:799-800.
- Lourenço-de-Oliveira R, Silva TF. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera:Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. III. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1985; 80(2):195-201.
- Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, de Filippis AM, Failloux AB. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2004b; 98:43-54.
- Lourenço-de-Oliveira R. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera:Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. I. Frequência Comparativa das Espécies em Diferentes Ambientes e Métodos de Coleta. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984; 79(4):479-90.
- Lourenço-de-Oliveira R. Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008; 103:627-8.
- Löwy I. Representing and intervening in public health: viruses, mosquitoes and Rockefeller Foundation experts in Brazil. Hist Cienc Saude Manguinhos 1999; 5(3):647-77.
- Lumsden WHR. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952–53: II. General description and epidemiology. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1955; 49:33-57.
- Luz PM, Mendes BV, Codeço CT, Struchiner CJ, Galvani AP. Time series analysis of dengue incidence in Rio de Janeiro, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2008; 79(6):933-9.

- Lyimo IN, Ferguson HM. Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors. *Trends Parasitol.* 2009; 25:189-96.
- Maciel-de-Freitas R, Eiras AE, Lourenço-de-Oliveira R. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006; 101(3):321-5.
- Maciel-de-Freitas R, Neto RB, Gonçalves JM, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Movement of dengue vectors between the human modified environment and an urban forest in Rio de Janeiro. *J Med Entomol.* 2006; 43:1112-20.
- Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB. Mosquito traps designed to capture *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females: preliminary comparison of Adultrap, MosquiTRAP and backpack aspirator efficiency in a dengue-endemic area of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008; 103(6):602-5.
- Macnamara FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1954; 48:139-45.
- Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed.* 2010; 21:221-38.
- Marra PP, Griffing SM, McLean RG. West Nile Virus and Wildlife Health. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(7):898-9.
- Martins VE, Martins MG, de Araújo JM, Silva LO, Monteiro HA, Castro FC, et al. First report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in the state of Ceará, Brazil. *Rev Saude Publica.* 2006; 40:737-9.
- Mavale M, Parashar D, Sudeep A, Gokhale M, Ghodke Y, Geevarghese G, et al. Venereal Transmission of Chikungunya Virus by *Aedes aegypti* Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 83(6):1242-4.
- McKinney ML. Urbanization, biodiversity, and conservation. *Bioscience.* 2002; 52:883-90.
- McKinney, M. L. Effects of urbanization on species richness: a review of plants and animals. *UrbanEcosyst.* 2008; 11:161-76.

- MDS - Ministério do Desenvolvimento Social [homepage na internet]. Apresentação. 2015a [acesso em 27 nov 2017]. Disponível em: <http://mds.gov.br/assuntos/brasil-sem-miseria/o-que-e>.
- MDS - Ministério do Desenvolvimento Social [homepage na internet]. Plano Brasil Sem Miséria: Caderno de Resultados. 2015a [acesso em 27 nov 2017]. Disponível em: [http://www.mds.gov.br/webarquivos/publicacao/brasil\\_sem\\_miseria/cadernodegraficosbsm-35anos.pdf](http://www.mds.gov.br/webarquivos/publicacao/brasil_sem_miseria/cadernodegraficosbsm-35anos.pdf).
- Medeiros-Sousa AR, Ceretti W Jr, Urbinatti PR, Carvalho GC, Paula MB, Fernandes A, et al. Mosquito fauna in municipal parks of São Paulo City, Brazil: a preliminary survey. *J Am Mosq Control Assoc*. 2013; 29(3):275-9.
- Medlock JM, Snow KR, Leach S. Potential transmission of West Nile virus in the British Isles: an ecological review of candidate mosquito bridge vectors. *Med Vet Entomol*. 2005; 19(1):2-21.
- Medronho RA. Dengue: increased severity and shift to childhood. *Cad Saúde Colet*. 2009; 17(2):301-4.
- Meeraus WH, Armistead JS, Arias JR. Field comparison of novel and gold standard traps for collecting *Aedes albopictus* in Northern Virginia. *J Am Mosq Control Assoc*. 2008; 24:244-8.
- Mendez W, Liria J, Navarro JC, Garcia CZ, Freier JE, Salas R, et al. Spatial dispersion of adult mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a sylvatic focus of Venezuelan equine encephalitis virus. *J Med Entomol*. 2001; 38(6):813-21.
- Messina JP, Brady OJ, Pigott DM, Golding N, Kraemer MU, Scott TW, et al. The many projected futures of dengue. *Nat Rev Microbiol*. 2015; 13:230-39.
- Metzger JP, Martensen AC, Dixo M, Bernacci LC, Ribeiro MC, Teixeira AMG, et al. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biol Conserv*. 2009 142:1166-77.
- Metzger JP. O que é ecologia da paisagem? *Biota Neotropica*. 2001; 1:1-9.

- Miagostovich MP, Nogueira RMR, Cavalcanti SMB, Marzochi KBF, Schatzmayr HG. Dengue epidemic in the State of Rio de Janeiro, Brazil: virological and epidemiological aspects. *Rev Inst Med Trop.* 1993; 35:149-54.
- Mitchell CJ, Forattini OP. Experimental transmission of Rocio encephalitis virus by *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) from the epidemic zone in Brazil. *J Med Entomol.* 1984; 21(1):34-7.
- Mitchell CJ, Miller BR. Vertical transmission of dengue viruses by strains of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil. *J Am Mosq Control Assoc.* 1990; 6:251–57.
- Mitchell CJ, Monath TP, Sabattini MS, Cropp CB, Daffner JF, Calisher CH, et al. Arbovirus investigations in Argentina, 1977–1980. II. Arthropod collections and virus isolations from Argentine mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* 1985;34:945–55
- Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med.* 2016; 374(10):951-8.
- Monath TP, Vasconcelos PF. Yellow fever. *J Clin Virol.* 2015; 64:160-73.
- Mondini A, Cardeal IL, Lázaro E, Nunes SH, Moreira CC, Rahal P, et al. Saint Louis encephalitis virus, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13(1):176-8.
- Mondini A, Chiaravalloti-Neto F. Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. *Sci Total Environ.* 2008; 393:241-8.
- Morelato LPC, Haddad CFB. Introduction. *The Brazilian Atlantic forest. Biotropica.* 2000 32:786-92.
- Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature.* 2004; 430(6996):242-9.
- Morrison AC, Gray K, Getis A, Astete H, Sihuincha M, Focks D et al. Temporal and geographic patterns of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) production in Iquitos, Peru. *J Med Entomol.* 2004; 41(6):1123-42.



- Morrison AC, Minnick SL, Rocha C, Forshey BM, Stoddard ST, Getis A, et al. Epidemiology of dengue virus in Iquitos, Peru 1999 to 2005: interepidemic and epidemic patterns of transmission. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4(5):e670.
- Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med*. 2008; 5(3):e68.
- MS - Ministério da Saúde (Brasil). Portaria nº 1007, de 4 de maio de 2010. Define critérios para regulamentar a incorporação do Agente de Combate às Endemias - ACE, ou dos agentes que desempenham essas atividades, mas com outras denominações, na atenção primária à saúde para fortalecer as ações de vigilância em saúde junto às equipes de Saúde da Família. Diário Oficial da União 4 mai 2010.
- MS - Ministério da Saúde (Brasil). Portaria Nº 2.488, de 21 de outubro de 2011. Aprova a Política Nacional de Atenção Básica, estabelecendo a revisão de diretrizes e normas para a organização da Atenção Básica, para a Estratégia Saúde da Família (ESF) e o Programa de Agentes Comunitários de Saúde (PACS). Diário Oficial da União 21 out 2011.
- MS - Ministério da Saúde. PNAB - Política Nacional de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2012
- Müller GA, Bona ACD, Marcondes CB, Navarro-Silva MA. Crepuscular activity of culicids (Diptera, Culicidae) in the peridomicile and in the remaining riparian forest in Tibagi river, State of Paraná, Brazil. *Rev Bras entomol*. 2012; 56(1):111-4.
- Murray KA, Daszak P. Human ecology in pathogenic landscapes: two hypotheses on how land use change drives viral emergence. *Curr Opin Virol*. 2013; 3(1):79-83.
- Musso D, Gubler DJ. Zika virus. *Clin Microbiol Rev*. 2016; 29:487–524.
- Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20:O595-O596.

- Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Potential Sexual Transmission of Zika Virus. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(2):359-361.
- Muturi EJ, Shililu J, Jacob B, Gu W, Githure J, Novak R. Mosquito species diversity and abundance in relation to land use in a riceland agroecosystem in Mwea, Kenya. *J Vector Ecol.* 2006; 31:129-36.
- Naish S, Tong S. Hot spot detection and spatio-temporal dynamics of dengue in Queensland, Australia. *Int Arch Photogramm Remote Sens Spat Inf Sci.* 2014; 1:197-204.
- Nasci RS. Movement of chikungunya virus into the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(8):1394-5.
- Nathan MB, Focks DA, Kroeger A. Pupal/demographic surveys to inform dengue-vector control. *Ann Trop Med Parasitol.* 2006; 100 Suppl 1:S1-S3.
- Niash S, Dale P, MacKenzie JS, McBride J, Mengersen K, Tong S. Climate change and dengue: a critical and systematic review of quantitative modelling approaches. *BMC Infect Dis.* 2014; 14:167-80.
- Nielsen ET, Nielsen AT. Field observations on the habits of *Aedes taeniorhynchus*. 1953; *Ecology* 34:141-56.
- Nimmannitya S, Halstead SB, Cohen SN, Margiotta MR. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964. I. Observations on hospitalized patients with hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg.* 1969; 18:954-71.
- Nogueira RM, Schatzmayr HG, de Filippis AM, dos Santos FB, da Cunha RV, Coelho JO, et al. Dengue virus type 3, Brazil, 2002. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(9):1376-81.
- Nogueira RM, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Farias MF, Farias Filho JD. Virological study of a dengue type 1 epidemic at Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1988; 83:219-25.
- Nogueira RMR, Araújo JMG, Schatzmayr HG. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. *Rev Panam Salud Publica.* 2007; 22:358-363.

- Nogueira RMR, Eppinghaus ALF. Dengue virus type 4 arrives in the state of Rio de Janeiro: a challenge for epidemiological surveillance and control. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011; 106:255-6.
- Nogueira RMR, et al. Ilheus virus isolation in the Pantanal, west-central Brazil.
- Nogueira RMR, Miagostovich MP, Filippis AMB, Pereira MAS Schatzmayr HG. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96(7):925-6.
- Norris DE. Mosquito-borne diseases as a consequence of land use change. EcoHealth. 2004; 1:19-24.
- Nunes MR, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MU, de Oliveira LF. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. BMC Med. 2015; 13:102.
- O'Meara GF, Evans LF, Gettman AD, Cuda JP. Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Florida. J Med Entomol. 1995; 32:554–562.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, et al. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-4. 2017; <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliveira GLA. Prevenção e controle da dengue no município de Sabará/MG: análise de materiais educativos impressos e das representações sociais de agentes de controle de endemias. [Mestrado em Ciências da Saúde - CNPQR Fiocruz; 2012.
- Oliveira, MVASC. A educação popular em saúde e a prática dos agentes de controle das endemias de Camaragibe: uma ciranda que acaba de começar. Revista APS. 2004; 7(4):66-79.
- Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo. Zika virus, a cause of fever in central Java, Indonesia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1981; 75:389-393.
- OMS - Organização Mundial da Saúde. Malaria elimination: a field manual for low and moderate endemic countries. Geneva: World Health Organization; 2007.

- OMS - Organização Mundial da Saúde. Ottawa charter for health promotion: an International Conference on Health Promotion, the move towards a new public health. Geneva: World Health Organization; 1986.
- OMS - Organização Mundial da Saúde. WHO Expert Committee on Malaria. Twelfth Report. Geneva: World Health Organization; 1966. Rep 324.
- OMS - Organização Mundial de Saúde [homepage na internet]. Yellow fever – Brazil. Disease outbreak news. 2018 [acesso em 25 jan 2018]. Disponível em: <http://www.who.int/csr/don/22-january-2018-yellow-fever-brazil/en/>
- OMS - Organização Mundial de Saúde. Dengue. Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: World Health Organization; 2009.
- OMS 2012. Global strategy for dengue prevention and control. 2012–2020. Geneva: WHO; 2012.
- Osanai CH, Travassos da Rosa AP, Tang AT, do Amaral RS, Passos AD, Tauil PL. Surto de Dengue em Boa Vista, Roraima. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1983; 25(1):53-4.
- Ostfeld RS, Keesing F. Effects of host diversity on infectious disease. Annu Rev Ecol Evol Syst. 2012; 43:157-182.
- Ostfeld RS, Keesing F. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. Can J Zool. 2000; 78: 2061-78.
- Owen J, Moore F, Panella N, Edwards E, Bru R, Hughes M, et al. Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile virus. EcoHealth. 2006;3:79-85.
- Pancetti FGM, Honório NA, Urbinatti PR, Lima-Camara TN. Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. Rev Soc Bras Med Trop. 2015; 48:87-9.
- Patz JA, Daszak P, Tabor GM, Aguirre AA, Pearl M, Epstein J, et al. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. Environ Health Perspect. 2004; 112:1092-8.
- Patz S. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015; 370(1665):20130561.

Pauvolid-Corrêa A, Kenney JL, Couto-Lima D, Campos ZMS, Schatzmayr HG, Pavloskiy EN. Natural Nidality of Transmissible Diseases with Special Reference to the Landscape Ecology of Zooanthroposes. Urbana: Univ. Ill. Press, 1966.

Pavlovsky N. The Natural Nidality of Transmissible Disease with Special Reference to the Landscape Ecology of Zooanthroposes. University of Illinois Press: Urbana; 1966.

Pecor JE, Harbach RE, Peyton EL, Roberts DR, Rejmankova E, Manguin S, et al. Mosquito studies in Belize, Central America: records, taxonomic notes, and a checklist of species. J Am Mosq Control Assoc 2002; 18:241-76.

Peiter P. A Geografia da Saúde na Faixa de Fronteira Continental do Brasil na Passagem do Milênio. Tese [Doutor em Geografia] - Instituto de Geociências; 2005.

Pessoa JPM, Oliveira ESF, Lemos CS, Teixeira RAG. Integração e articulação intersetorial no controle da dengue: a percepção dos agentes de combate de endemias. Indagatio Didactica. 2013; 5(2):2013.

Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, Strobel M. Chikungunya, an epidemic arbovirosis. Lancet Infect Dis 2007; 7:319-27.

Pilger D, Lenhart A, Manrique-Saide P, Siqueira JB, da Rocha WT, Kroeger A. Is routine dengue vector surveillance in central Brazil able to accurately monitor the *Aedes aegypti* population? Results from a pupal productivity survey. Trop Med Int Health. 2011; 16(9):1143-50.

Pinheiro VC, Tadei WP, Barros PM, Vasconcelos PF, Cruz AC. Detection of dengue virus serotype 3 by reverse transcription-polymerase chain reaction in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) captured in Manaus, Amazonas. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005; 100(8):833-9.

Pinheiro VC, Tadei WP. Frequency, diversity, and productivity study on the *Aedes aegypti* most preferred containers in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2002; 44(5):245-50.

PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7:1-8.

- Powell JR, Tabachnick WJ. History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013; 108(Suppl 1):11-7.
- Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of chikungunya and o'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. J Gen Virol. 2000; 81:471-9.
- Powers AM. Overview of emerging arboviruses. Future Virol. 2009; 4(4):391-401.
- Prata A. Yellow fever. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(Suppl. 1):183-187.
- Quiñones ML, Ruiz F, Calle DA, Harbach RE, Erazo HF, Linton YM. Incrimination of *Anopheles (Nyssorhynchus) rangeli* and *An. (Nys.) oswaldoi* as natural vectors of *Plasmodium vivax* in Southern Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006; 101(6):617-23.
- Reeves WC, Hardy JL, Reisen WK, Milby MM. Potential effect of global warming on mosquito-borne arboviruses. J Med Entomol. 1994; 31:323-32.
- Reis IC, Honório NA, Codeço CT, Magalhães Mde A, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C. Relevance of differentiating between residential and non-residential premises for surveillance and control of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro, Brazil. Acta Trop. 2010; 114(1):37-43.
- Reisen WK. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. Annu Rev Entomol. 2010; 55:461-83.
- Reiskind MH, Griffin RH, Janairo MS, Hopperstad KA. Mosquitoes of field and forest: the scale of habitat segregation in a diverse mosquito assemblage. Med Vet Entomol. 2017; 31(1):44-54.
- Reiskind MH, Lounibos LP. Spatial and temporal patterns of abundance of *Aedes aegypti* L. (*Stegomyia aegypti*) and *Aedes albopictus* (Skuse) [*Stegomyia albopictus* (Skuse)] in southern Florida. Med Vet Entomol. 2013; 27(4):421-9.
- Reiter P, Amador MA, Anderson RA, Clark GG. Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in a urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. Am J Trop Med Hyg. 1995; 52:177-9.

- Reiter P, Amador MA, Colon N. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. J Am Mosq Cont Assoc. 1991; 7:52-4.
- Reiter P. Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: implications for the efficacy of control strategies. Vector Borne Zoonotic Dis. 2007; 7(2):261-73.
- Ribeiro AF, Urbinatti PR, Duarte AMRC, Paula MB, Pereira DM, Mucci LF, et al: Mosquitoes in degraded and preserved areas of the Atlantic Forest and potential for vector-borne disease risk in the municipality of São Paulo, Brazil. J Vector Ecol 2012, 37:316-26.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. Biol Conserv. 2009 142:1141-53.
- Ribeiro SH, Costa MA. Optimal selection of the spatial scan parameters for cluster detection: a simulation study. Spat Spatiotemporal Epidemiol. 2012; 3(2):107-20.
- Ritchie SA, Moore P, Carruthers M, Williams C, Montgomery B, Foley P, et al. Discovery of a widespread infestation of *Aedes albopictus* in the Torres Strait, Australia. J Am Mosq Control Assoc. 2006; 22: 358-65.
- Roberts DR, Peyton EL, Pinheiro FP, Balderrama F, Vargas R. Associations of arbovirus vectors with gallery forest and domestic environments in southeastern Bolivia. PAHO Bull 1984; 18:337-50.
- Rogers DJ, Hay SI, Packer MJ. Predicting the distribution of tsetse flies in West Africa using temporal Fourier processed meteorological satellite data. Ann Trop Med Parasitol. 1996; 90(3):225-41.
- Rogers DJ, Wilson AJ, Hay SI, Graham AJ. The global distribution of yellow fever and dengue. Adv Parasitol. 2006; 62:181-220.
- Rogers DJ. Satellites, space, time and the African trypanosomiases. Adv Parasitol. 2000; 47:129-71

- Romano AP, Costa ZG, Ramos DG, Andrade MA, Jayme VS, Almeida MA, et al. Yellow Fever outbreaks in unvaccinated populations, Brazil, 2008-2009. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8(3):e2740.
- Romano APM, Ramos DG, Araujo FAA, Siqueira GAM, Ribeiro MPD, Leal SG, et al. Febre amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. *Epidemiol Serv Saude*. 2011; 20(1):101-6.
- Romero-Vivas CME & Falconar AKI. Investigation of relationships between *Aedes aegypti* egg, larvae, pupae, and adult density indices where their main breeding sites were located indoors. *J Am Mosq Control Assoc*. 2005; 21:15-21.
- Rosa-Freitas MG, Lourenço-de-Oliveira R, de Carvalho-Pinto CJ, Flores-Mendoza C, Silva-do-Nascimento TF. Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998; 93(5):651-5.
- Rosen L, Shroyer DA, Tesh RB, Freier JE, Lien JC. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg*. 1983; 32(5):1108-19.
- Rosen L. Sexual transmission of dengue viruses by *Aedes albopictus*. *Am J Trop Med Hyg*. 1987; 37:398-402.
- Rossetto EV, Angerami RN, Luna EJA. What to expect from the 2017 yellow fever outbreak in Brazil? *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2017; 59:e17.
- Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, et al. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections - an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012-2014. *Euro Surveill*. 2014; 19(41).
- Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11:532-543.
- Roundy CM, Azar SR, Brault AC, Ebel GD, Failloux AB, Fernandez-Salas I, et al. Lack of evidence for Zika virus transmission by *Culex* mosquitoes. *Emerg Microbes Infect*. 2017; 6(10):e90.



- Rudnick A, Hammon WM. Entomological aspects of Thai hemorrhagic fever epidemics in Bangkok, the Phillipines and Singapore, 1956–1961. SEATO Med Res Monograph. 1962; 2: 24-9.
- Rudnick A. Ecology of dengue virus. Asian J Infect Dis. 1978; 2:156-60.
- Rudnick A. Studies of the ecology of dengue in Malaysia: a preliminary report. J Med Entomol. 1965; 2:203-208.
- Rue H, Martino S, Chopin N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. J R Stat Soc Ser B Stat Methodol. 2009; 71:319-92.
- Saad LD, Barata RB. Yellow fever outbreaks in São Paulo State, Brazil, 2000-2010. Epidemiol Serv Saúde. 2016; 25:531-40.
- Sabroza PC, Toledo L, Osanai CH. Organização do espaço e os processos endêmico-epidêmicos. In: Leal MC, Sabroza PC, Rodriguez RH, Buss PM. Saúde, ambiente e desenvolvimento. 1ª ed. Abrasco/Hucitec, Rio de Janeiro; 1992. pp 56-77.
- Sales FMS. Ações de educação em saúde para prevenção e controle da dengue: um estudo em Icaraí, Caucaia, Ceará. Cienc Saude Coletiva. 2008; 13(1):175-84.
- Sall AA, Faye O, Diallo M, Firth C, Kitchen A, Holmes EC. Yellow fever virus exhibits slower evolutionary dynamics than dengue virus. J Virol. 2010; 84:765-72.
- Santos FO, Oliveira JC, Lima SC. Promoção da saúde, mobilização comunitária e intersectorialidade para o combate ao *Aedes aegypti*, em Uberlândia, Minas Gerais. Em Extensão. 2016; 15(2):64-75.
- Santos RLC. Updating of the distribution of *Aedes albopictus* in Brazil (1997–2002). Rev Saude Publica. 2003; 37:671-673.
- Schall V, Struchiner M. Health education: new perspectives. Cad Saude Publ. 1999; 15(Suppl 2):4-6.
- Scherer WF. Ecological studies of Japanese encephalitis in Japan, parts I–IX. Am J Trop Med Hyg. 1959; 8:644-722.

- Schoeler GB, Schleich SS, Manweiler SA, Sifuentes VL. Evaluation of surveillance devices for monitoring *Aedes aegypti* in an urban area of northeastern Peru. *J Am Mosq Control Assoc.* 2004; 20(1):6-11.
- Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IML, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al, Brazilian Medical Genetics Society-Zika Embryopathy Task Force. Possible association between Zika virus infection and microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016; 65:59-62.
- Scott TW, Clark GG, Lorenz LH, Amerasinghe PH, Reiter P, Edman JD. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. *J Med Entomol.* 1993; 30(1):94-9.
- Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GC, Strickman D, Kittayapong P, et al. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. *J Med Entomol.* 2000; 37:77-88.
- Serufo JC, de Oca HM, Tavares VA, Souza AM, Rosa RV, Jamal MC, et al. Isolation of dengue virus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1993; 88(3):503-4.
- Shannon RC, Whitman L, Franca M. Yellow fever virus in jungle mosquitoes. *Science.* 1938; 88:110-11.
- Silva AM, Menezes RMT. Occurrence of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) in artificial breeding area of Southern Brazil. *Rev Saude Publica.* 1996; 30:103-4.
- Silver JB. *Mosquito ecology: field sampling methods.* Vol. 3rd. New York: Springer; 2008.
- Silvério EC, Urbinatti PR. The presence of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in flood containment reservoirs in the eastern region of the City of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011; 44(4):504-7.
- Siqueira-Junior JB, Maciel IJ, Barcellos C, Souza WV, Carvalho MS, Nascimento NE, et al. Spatial point analysis based on dengue surveys at household level in central Brazil. *BMC Public Health* 2008; 8:361.

- Sivagnaname N, Gunasekaran K. Need for an efficient adult trap for the surveillance of dengue vectors. *Indian J Med Res.* 2012; 136: 739-49.
- Smartt CT, Stenn TMS, Chen TY, Teixeira MG, Queiroz EP, Santos LS, et al. Evidence of Zika Virus RNA Fragments in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Field-Collected Eggs From Camaçari, Bahia, Brazil. *J Med Entomol.* 2017; 54(4):1085-7.
- Soper FL, Penna HA, Cardoso E, Serafin J, Frobisher M, Pinheiro J. Yellow fever without *Aedes aegypti*: study of a rural epidemic in the Valle do Chanaan, Espirito Santo, Brazil, 1932. *Am J Trop Med Hyg.* 1933; 18:555–87.
- Soper FL. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. *Am J Trop Med Hyg.* 1965; 14(6):887-91.
- Southwood TRE, Murdle G, Yasuno M, Tonn RJ, Reader PM. Studies on the life budget of *Aedes aegypti* in Wat Samphaya, Bangkok, Thailand. *Bull World Health Organ.* 1972; 46:211-26.
- Souza-Santos R. Fatores associados à ocorrência de formas imaturas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999; 32(4):373-82.
- Spence L, Anderson CR, Aitken THG, Downs WG. Melao virus, a new agent isolated from Trinidadian mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* 1962; 11:687-90.
- Sprenger D, Wuithiranyagool T. The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris County, Texas, USA. *J Am Mosq Control Assoc.* 1986; 2:217-19.
- Staples JE, Breiman RF, Powers AM. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Infect Dis.* 2009; 49(6):942-8.
- Sudia WA, Chamberlain RW. Battery operated light trap an improved model. *Mosquitoes News.* 1962; 22:126-9
- Sulaiman S, Pawanchee ZA, Arifin Z, Wahab A. Relationship between Breteau and House indices and cases of dengue/dengue hemorrhagic fever in Kuala Lumpur, Malaysia. *J Am Mosq Control Assoc.* 1996; 12(3):494-6.

Sun W, Xue L, Xie X. Spatial-temporal distribution of dengue and climate characteristics for two clusters in Sri Lanka from 2012 to 2016. Sci Rep. 2017; 7:12884.

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 46 N° 3 - 2015a [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/janeiro/19/2015-002---BE-at---SE-53.pdf>

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 46 N° 44 - 2015b [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/07/2015-svs-be-pncd-se48.pdf>

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 47 N° 38 - 2016a [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/dezembro/20/2016-033---Dengue-SE49-publicacao.pdf>

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 47 N° 3 - 2016b [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/15/svs2016-be003-dengue-se52.pdf>

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 48 N° 29 - 2017a [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/15/2017-028->

[Monitoramento-dos-casos-de-dengue--febre-de-chikungunya-e-febre-pelo-virus-Zika-ate-a-Semana-Epidemiologica-35.pdf](#)

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 48 N° 24 – 2017b [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: [http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/agosto/16/BE-2017\\_024-Monitoramento-integrado-de-alteracoes-no-crescimento-e-desenvolvimento-relacionadas-a-infeccao-pelo-virus-Zika.pdf](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/agosto/16/BE-2017_024-Monitoramento-integrado-de-alteracoes-no-crescimento-e-desenvolvimento-relacionadas-a-infeccao-pelo-virus-Zika.pdf)

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 48 N° 28 – 2017c [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: [http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/06/2017\\_027.pdf](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/06/2017_027.pdf)

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 49 N° 2 – 2018 [acesso em 9 mar 2018]. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/23/Boletim-2018-001-Dengue.pdf>

SVS/MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico Volume 47 N° 15 - 2016 [acesso em 6 dez 2017]. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/abril/05/2016-012---Relatorio-reuniao-especialistas-Aedes-publica----o.pdf>

Swaddle J. Calos P. Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: observation of the dilution effect. PLoS ONE. 2008; 3:e2488.

Tabachnick WJ. Climate Change and the Arboviruses: Lessons from the Evolution of the Dengue and Yellow Fever Viruses. Annu Rev Virol. 2016; 3(1):125-145.

Tauil P. A urbanização e ecologia do dengue. Cad Saude Publica. 2001; 17: 99-102.

Tauil PL. Critical aspects of yellow fever control in Brazil. Rev Saude Publica. 2010; 44(3):555-8.

- Teixeira MG, Andrade AM, Costa MC, Castro JN, Oliveira FL, Goes CS, et al. East/Central/South African genotype chikungunya virus, Brazil, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2015 May;21(5):906-7.
- Teixeira MG, Costa MC, Barreto FR, Barreto ML. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2009; 25:s7-s18.
- Teixeira MG, Costa MC, Coelho GE, Barreto ML. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14:1663.
- Teixeira TR, Cruz OG. Spatial modeling of dengue and socio-environmental indicators in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2011; 27(3):591-602.
- Teixeira TR, Cruz OG. Spatial modeling of dengue and socio-environmental indicators in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2011; 27(3):591-602.
- Teixeira TRA, Medronho RA. Indicadores sociodemográficos e a epidemia de dengue em 2002 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2008; 24:2160-70.
- Temporão JG, Penna GO, Carmo EH, Coelho GE, do Socorro Silva, Azevedo R, et al. Dengue virus serotype 4, Roraima state, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17:938-40
- Ter Braak C. The analysis of vegetation-environment relationships by canonical correspondence analysis. *Vegetatio.* 1987; 69:69-77.
- Thammapalo S, Chongsuvivatwong V, Geater A, Dueravee M. Environmental factors and incidence of dengue fever and dengue hemorrhagic fever in a urban area, Southern Thailand. *Epidemiol Infect.* 2008; 136:135-43.
- Thompson WH, and Beaty BJ. Venereal transmission of La Crosse virus from male to female *Aedes triseriatus*. *Am J Trop Med Hyg.* 1978; 27:187-96.
- Tiriba AC, Miziara AM, Lorenço R, da Costa RB, Costa CS, Pinto GH. Encefalite humana primária epidêmica por arbovírus observada no litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev Assoc Med Bras.* 1976; 22:415-20.

- Torres R. Agentes de combate a endemias: a construção de uma identidade sólida e a formação ampla em vigilância são desafios dessa categoria. R Poli: Saúde Educ Trab. 2009; (3):16-17.
- Tsetsarkin KA, Chen R, Sherman MB, Weaver SC. Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. Curr Opin Virol. 2011; 1(4):310-7.
- Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE, Higgs S. A Single Mutation in Chikungunya Virus Affects Vector Specificity and Epidemic Potential. PLoS Pathog. 2007; 3:e201.
- Tun-Lin W, Burkot TR, Kay BH. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. Med Vet Entomol. 2000; 14(1):31-7.
- Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A, Forsyth S. Critical examination of *Aedes aegypti* indices: correlations with abundance. Am J Trop Med Hyg. 1996; 54:543-7.
- Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A. The premise condition index: a tool for streamlining surveys of *Aedes aegypti*. Am J Trop Med Hyg. 1995; 56(6):591-4.
- Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A. Understanding productivity, a key to *Aedes aegypti* surveillance. Am J Trop Med Hyg. 1995; 53:595-601.
- Unlu I, Wayne L, Kramer WL, Roy AF, Foil LD. Detection of West Nile virus RNA in mosquitoes and identification of mosquito blood meals collected at alligator farms in Louisiana. J Med Entomol. 2010; 47:625-33.
- Vanlerberghe V, Gómez-Dantés H, Vazquez-Prokopec G, Alexander N, Manrique-Saide P, Coelho G, et al. Changing paradigms in *Aedes* control: considering the spatial heterogeneity of dengue transmission. Rev Panam Salud Publica. 2017; 41:e16.
- Vasconcelos PF, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Barros VL, et al. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. Lancet. 2001; 358:91-7.
- Vasconcelos PF, Sperb AF, Monteiro HA, Torres MA, Sousa MR, Vasconcelos HB, et al. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2003; 97(1):60-2.

- Vasconcelos PF. Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas. *Rev Saude Publica*. 2010; 44(6):1144-9.
- Vasconcelos PFC, Travassos-da-Rosa JFS, Travassos-da-Rosa APA, Degallier N, Pinheiro FP, Sá-Filho GC. Epidemiologia das encefalites por arbovírus na Amazônia brasileira. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1991; 33:465-76.
- Vasconcelos PFC. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? *Rev Pan-amaz Saúde* 2015; 6:9-10.
- Vasconcelos PFC. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003; 36(2):275-93.
- Vasilakis N, Cardoso J, Hanley KA, Holmes EC, Weaver SC. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. *Nat Rev Microbiol*. 2011; 9(7):532-41.
- Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, et al. Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. *PLoS One*. 2007; 2(11):e1168.
- Vazquez-Prokopec GM, Galvin WA, Kelly R, Kitron U. A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. *J Med Entomol*. 2009; 46(6):1256-9.
- Vazquez-Prokopec GM, Kitron U, Montgomery B, Horne P, Ritchie SA. Quantifying the Spatial Dimension of Dengue Virus Epidemic Spread within a Tropical Urban Environment. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4(12):e920.
- Vega-Rúa A, Lourenço-de-Oliveira R, Mousson L, Vazeille M, Fuchs S, Yébakima A, et al. Chikungunya virus transmission potential by local *Aedes* mosquitoes in the Americas and Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(5):e0003780.
- Vega-Rúa A, Zouache K, Girod R, Failloux AB, Lourenço-de-Oliveira R. High Level of Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya Virus. *J Virol*. 2014; 88(11):6294-06.
- Victor TJ 2009. Detection of dengue viral infections in *Aedes* mosquitoes: an essential tool for epidemiological surveillance. *Indian J Med Res* 129(6):634-6.



- Vorou R. Zika virus, vectors, reservoirs, amplifying hosts, and their potential to spread worldwide: what we know and what we should investigate urgently. *Int J Infect Dis.* 2016; 48:85-90.
- Wang E, Ni H, Xu R, Barrett AD, Watowich SJ, Gubler DJ, et al. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J Virol* 2000; 74:3227-34.
- Wang J, Li T, Huang S, Cong W, Zhu X. Major parasitic diseases of poverty in mainland China: perspectives for better control. *Infect Dis Poverty* 2016; 5:67-80.
- Weaver SC, Barrett AD. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2(10):789-801.
- Weaver SC, Charlier C, Vasilakis N, Lecuit M. Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. *Annu Rev Med.* 2018; 69:395-408.
- Weaver SC, Ferro C, Barrera R, Boshell J, Navarro JC. Venezuelan equine encephalitis. 2004; *Annu Rev Entomol.* 49:141-74.
- Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 2010; 85(2):328-45.
- Weaver SC. Arrival of Chikungunya Virus in the New World: Prospects for Spread and Impact on Public Health. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(6): e2921.
- Weaver SC. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends Microbiol.* 2013; 21(8):360-3.
- Weiss RA, McMichael AJ. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. *Nat Med.* 2004; 10(12 Suppl):S70-6.
- Wellborn GA, Skelly DK, Werner EE. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. *Annu Rev Ecol Syst.* 1996; 27:337-63.
- Wong J, Stoddard ST, Astete H, Morrison AC, Scott TW. Oviposition site selection by the dengue vector *Aedes aegypti* and its implications for dengue control. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(4):e1015.

- Woolhouse MEJ, Taylor LE, Haydon DT. Population biology of multihost pathogens. *Science*. 2001; 292:1109-12.
- Wu PC, Guo HR, Lung SC, Lin CY, Su HJ. Weather as an effective predictor for occurrence of dengue fever in Taiwan. *Acta Trop* 2007; 103:50-7.
- Xavier DR, Magalhães MAFM, Gracie R, Reis IC, Matos VP, Barcellos C. Difusão espaço-tempo do dengue no Município do Rio de Janeiro, Brasil, no período de 2000-2013. *Cad Saúde Pública*. 2017; 33(2):e00186615.
- Xu G1, Dong H, Shi N, Liu S, Zhou A, Cheng Z, et al. An outbreak of dengue virus serotype 1 infection in Cixi, Ningbo, People's Republic of China, 2004, associated with a traveler from Thailand and high density of *Aedes albopictus*. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 76(6):1182-8.
- Xue RD, Edman JD, Scott TW. Age and body size effects on blood meal size and multiple blood feeding by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 1995; 32(4):471-4.
- Yee DA, Juliano SA. Consequences of detritus type in an aquatic microsystem: effects on water quality, micro-organisms and performance of the dominant consumer. *Freshw Biol*. 2006 Mar; 51(3) 448-59.
- Zaitchik BF, Hayden MH, Villela DAM, Lord CC, Kitron UD, Carvajal JJ, Câmara DCP, Reis IC. Climate information for arbovirus risk monitoring: opportunities and challenges. *Bull Amer Meteor Soc*. 2016; 97(5): ES107-ES111.
- Zanluca C, Campos V, Melo A De, Mosimann LP, Igor G 2015. Primeiro relatório da transmissão autóctone do vírus Zika no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015;1-5.
- Zuur A, Ieno EN, Walker N, Saveliev AA, Smith GM. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. New York: Springer; 2009.

# Capítulo 7. Anexos

## 7.1. Licenças de coleta em área rural e protegida



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-1	<b>Data da Emissão:</b> 19/12/2014 10:33	<b>Data para Revalidação*:</b> 18/01/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovíroses em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Atividades de coleta bimensal de culicídeos nas áreas urbanas, periurbanas e silvestres	02/2015	02/2017
2	Deteção molecular e isolamento viral de arbovírus nas amostras de culicídeos coletados	07/2016	07/2017

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.bama.gov.br">www.bama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/gen">www.mma.gov.br/gen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Outras ressalvas

1	Consultar os gestores da Reserva Ecológica de Guapiáçu e informar os períodos de coleta
2	JOSE JOAQUIN CARVAJAL CORTES, membro estrangeiro da equipe possui o vínculo de Aluno estrangeiro matriculado em instituição Brasileira. Dispensado de autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Nidimar Honorio Rocha	Orientadora	003.551.697-62	083379800 Detran-RJ	Brasileira
2	JOSE JOAQUIN CARVAJAL CORTES	Apoio técnico e científico	081.758.867-54	1606040-0 DPF-RJ	Estrangeira
3	Celio da Silva Pires	Apoio técnico e científico	810.647.667-00	066683188 IFF-RJ	Brasileira
4	Isabel Cristina dos Reis	Apoio técnico e científico	055.460.027-78	126635048 DIC-RJ	Brasileira
5	Claudia Torres Codeço	Orientadora	010.839.077-27	01083907727 IFF-RJ-RJ	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 61695877



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-1	<b>Data da Emissão:</b> 19/12/2014 10:33	<b>Data para Revalidação*:</b> 18/01/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovírus em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CACHOEIRAS DE MACACU	RJ	Reserva Ecológica de Guapiaçu	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Culicidae (*Oide: 10000)

\* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Rede entomológica, Captura manual, Outros métodos de captura/coleta (Armadilha com atrativo químico (CO2)), Coleta manual, Pucá, Armadilha luminosa
---	---	---

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 61695877



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-1	<b>Data da Emissão:</b> 19/12/2014 10:33	<b>Data para Revalidação*:</b> 18/01/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovíroses em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Taxonº	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 61695877**



Página 3/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-1	<b>Data da Emissão:</b> 19/12/2014 10:33	<b>Data para Revalidação*:</b> 18/01/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovírus em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 61695877**



Página 4/4





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-2	<b>Data da Emissão:</b> 17/01/2016 15:32	<b>Data para Revalidação*:</b> 15/02/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.067-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicídeos com ênfase na emergência de arbovírus em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0004-35

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Atividades de coleta bimensal de culicídeos nas áreas urbanas, periurbanas e silvestres	02/2016	02/2017
2	Deteção molecular e isolamento viral de arbovírus nas amostras de culicídeos coletados	07/2016	07/2017

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.tbama.gov.br">www.tbama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa declaração de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/gen">www.mma.gov.br/gen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contatar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DARTAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Outras ressalvas

1	Consultar os gestores da Reserva Ecológica de Guapiacu e informar os períodos de coleta
2	JOSE JOAQUIN CARVAJAL CORTES, membro estrangeiro da equipe possui o vínculo de Aluno estrangeiro matriculado em instituição Brasileira. Dispensado de autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Nidimar Honório Rocha	Orientadora	003.551.897-62	D83379800 Detran-RJ	Brasileira
2	JOSE JOAQUIN CARVAJAL CORTES	Apoio técnico e científico	061.758.867-54	V606040-0 DPF-RJ	Estrangeira
3	Celso da Silva Pínel	Apoio técnico e científico	810.647.567-00	066688186 IFF-RJ	Brasileira
4	Isabel Cristina dos Reis	Apoio técnico e científico	055.460.027-78	128535048 DIC-RJ	Brasileira
5	Claudia Torres Codeço	Orientadora	010.839.077-27	01083907727 IFF-RJ-RJ	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 23936228



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-2	<b>Data da Emissão:</b> 17/01/2016 15:32	<b>Data para Revalidação*:</b> 15/02/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovírus em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CACHOEIRAS DEMACACU	RJ	Reserva Ecológica de Guapiaçu	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Culicidae (*Oide: 10000)

\* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Rede entomológica, Captura manual, Outros métodos de captura/coleta (Armadilha com atrativo químico (CO2)), Coleta manual, Puçá, Armadilha luminosa
---	---	---

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 23936228



Página 2/4





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-2	<b>Data da Emissão:</b> 17/01/2016 15:32	<b>Data para Revalidação*:</b> 15/02/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovírus em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Taxonº	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 23936228



Página 3/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 46931-2	<b>Data da Emissão:</b> 17/01/2016 15:32	<b>Data para Revalidação*:</b> 15/02/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Daniel Cardoso Portela Camara	CPF: 108.749.057-02
Título do Projeto: Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arbovíroses em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação:** 23936228



Página 4/4

## 7.2. Termo de anuência municipal

### TERMO DE ANUÊNCIA

Eu, José Antônio Santos Soares, coordenador da vigilância ambiental em saúde da Secretaria Municipal de Saúde do município de Itaboraí, Estado do Rio de Janeiro, pelo presente termo de anuência, reitero minha total concordância com o desenvolvimento da pesquisa intitulada *"Diversidade e vigilância de Culicidae com ênfase na emergência de arboviroses em transecto urbano-silvestre, na Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro"*, a qual será desenvolvida nos municípios de Itaboraí e Cachoeiras de Macacu em parceria com os programas municipais de controle vetorial do *Aedes aegypti*, sob a coordenação da Dra. Nildimar Honório Rocha do Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ). O projeto refere-se ao doutorado do Msc. Daniel Cardoso Portela Câmara e está vinculado ao Programa de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz- IOC.

Atenciosamente,



---

Daniel Cardoso Portela Câmara  
Doutorando em Medicina Tropical – Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ  
Ministério da Saúde



---

José Antônio Santos Soares  
Coordenação da Vigilância Ambiental em Saúde  
Secretaria Municipal de Saúde de Itaboraí – RJ

## 7.3. Demais produção bibliográfica

PERSPECTIVAS PERSPECTIVES 1

### Chikungunya: an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil

Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil

Chikungunya: una arbovirosis en establecimiento y desarrollo en Brasil

Nildimar Alves Honório <sup>1,2</sup>  
Daniel Cardoso Portela Câmara <sup>1,2</sup>  
Guilherme Amaral Calvet <sup>3</sup>  
Patrícia Brasil <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.  
<sup>2</sup> Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos, Verena, Rio de Janeiro, Brazil.  
<sup>3</sup> Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

#### Correspondence

N. A. Honório  
Laboratório de Transmissão de Hematófagos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz,  
Av. Brasil 4305, Rio de Janeiro, RJ 21040-900, Brazil.  
n.honorio@ioc.fiocruz.br

Within the group of emerging and reemerging infectious diseases, mosquito-borne arboviruses like dengue virus (DENV) and chikungunya virus (CHIKV) are considered important public health challenges. In addition to the scenario caused by DENV, which is endemic in nearly all of Brazil and has caused epidemics for decades, the movement of CHIKV into Brazilian territory has raised major concern. Both viruses are transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*, particularly *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, two invasive and cosmopolitan species. *Aedes aegypti* displays anthropophilic behavior and is mostly found in places with human clustering, taking its blood meals and resting inside homes. *Aedes albopictus* displays diversified feeding behavior and is more common in areas with lower human density, preferentially feeding and resting in the peridomicile <sup>1</sup>.

CHIKV is an alphavirus originated in Africa, where it is maintained in sylvatic cycles involving vector species of the *Aedes* genus and non-human primates, with three genotypes: West Africa, East/Central/South Africa, and Asian. First isolated in 1952, in Tanzania, the first documented emergence of CHIKV occurred with its introduction in Southeast Asia and India, circulating in a sporadic urban cycle that still continues to this day with *Ae. aegypti* acting as the main vector <sup>2</sup>. The second emergence occurred in Kenya, in 2004, and in the following years it was disseminated

through several Indian Ocean islands, reaching India and Southeast Asia. In 2006, on Réunion Island, an epidemic resulted from viral mutations leading to more effective transmission by *Ae. albopictus* <sup>3</sup>. Autochthonous transmission was also detected in Italy and France, where *Ae. albopictus* acted as vector. In October 2013, CHIKV reached the Americas through the Caribbean, resulting in thousands of infections. In Brazil, autochthonous transmission was first detected in September 2014 in the city of Oiapoque, Amapá State. Over the course of 2014, 2,772 cases of CHIKV were confirmed in Brazil, distributed in six Federation Units: Amapá (1,554 cases), Bahia (1,214), Distrito Federal (2), Mato Grosso do Sul (1), Roraima (1), and Goiás (1). In 2015, as of the 12<sup>th</sup> epidemiological week, 1,513 cases, 735 had been confirmed in Amapá, where the CHIKV genotype was determined to be the Asian and 778 cases in Bahia, caused by the African genotype <sup>4,5</sup>.

CHIKV infection produces a debilitating febrile syndrome with a sudden onset and intense joint symptoms which gave rise to the name chikungunya, which means "to walk bent over" in Makonde, an African language. Arthralgia appears to affect 80% of patients and can persist for months and even years. The spectrum of post-chikungunya rheumatic and musculoskeletal manifestations includes persistent pain, even rheumatoid arthritis, which develops



RESEARCH ARTICLE

# Epidemic and Endemic Malaria Transmission Related to Fish Farming Ponds in the Amazon Frontier

Izabel Cristina dos Reis<sup>1,2\*</sup>, Nildimar Alves Honório<sup>3,7\*</sup>, Fábio Saito Monteiro de Barros<sup>3\*</sup>, Christovam Barcellos<sup>4†</sup>, Uriel Kitron<sup>5†</sup>, Daniel Cardoso Portela Camara<sup>2†</sup>, Glaucio Rocha Pereira<sup>7†</sup>, Erlei Cassiano Keppeler<sup>2†</sup>, Mônica da Silva-Nunes<sup>2†</sup>, Cláudia Torres Codeço<sup>1\*</sup>

**1** Programa de Computação Científica, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, **2** Laboratório Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, **3** Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil, **4** Laboratório de Informação em Saúde, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICICT), Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, **5** Department of Environmental Studies, Emory University, Atlanta, Georgia, United States of America, **6** Universidade Federal do Acre—Universidade da Floresta, Centro Multidisciplinar do Campus Floresta, Cruzeta do Sul, Acre, **7** Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores—DIRAC/IOC/VFAAPS, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, **8** Centro de Ciências da Saúde e do Desporto—Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Reis IC, Honório NA, Barros FSM, Barcellos C, Kitron U, Camara DC, et al. (2015) Epidemic and Endemic Malaria Transmission Related to Fish Farming Ponds in the Amazon Frontier. *PLoS ONE* 10(9): e0137521. doi:10.1371/journal.pone.0137521

**Editor:** Nigel Beebe, University of Queensland & CSIRO Bioscience Flagship, AUSTRALIA

**Received:** March 27, 2015

**Accepted:** August 17, 2015

**Published:** September 11, 2015

**Copyright:** © 2015 Reis et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** Funding was provided by Brazilian Council for Scientific and Technological Development (Grants 40402/2012-3 to NAR, 47987/2008-9 to CTC, 471296/2011-8 to MASN and Climate and Health Observatory 552746/2011-8 to CB), Carlos Chagas Filho Foundation for the Support of Research in the State of Rio de Janeiro (Grants E-26/111.500/2011 to CTC), Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (Grants 3341-13-5 from Science without Borders program to ICIR), Universidade

\* These authors contributed equally to this work.  
 † These authors also contributed equally to this work.  
 \* [izabel2005@gmail.com](mailto:izabel2005@gmail.com)

## Abstract

Fish farming in the Amazon has been stimulated as a solution to increase economic development. However, poorly managed fish ponds have been sometimes associated with the presence of *Anopheles* spp. and consequently, with malaria transmission. In this study, we analyzed the spatial and temporal dynamics of malaria in the state of Acre (and more closely within a single county) to investigate the potential links between aquaculture and malaria transmission in this region. At the state level, we classified the 22 counties into three malaria endemicity patterns, based on the correlation between notification time series. Furthermore, the study period (2003–2013) was divided into two phases (epidemic and post-epidemic). Higher fish pond construction coincided both spatially and temporally with increased rate of malaria notification. Within one malaria endemic county, we investigated the relationship between the geolocation of malaria cases (2011–2012) and their distance to fish ponds. Entomological surveys carried out in these ponds provided measurements of anopheline abundance that were significantly associated with the abundance of malaria cases within 100 m of the ponds ( $P < 0.005$ ;  $r = 0.39$ ). These results taken together suggest that fish farming contributes to the maintenance of high transmission levels of malaria in this region.



RESEARCH ARTICLE

# Seasonal Differences in Density But Similar Competitive Impact of *Aedes albopictus* (Skuse) on *Aedes aegypti* (L.) in Rio de Janeiro, Brazil

Daniel Cardoso Portela Camara<sup>1,2\*</sup>, Claudia Torres Codeço<sup>3</sup>, Steven A. Juliano<sup>4</sup>, L. Philip Lounibos<sup>5</sup>, Thais Irene Souza Riback<sup>3</sup>, Glaucio Rocha Pereira<sup>2</sup>, Nildimar Alves Honorio<sup>1,2</sup>

**1** Laboratório de Transmissores de Hematozoários – LATHEMA, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, **2** Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – NOSMOVE, DIBRAC – IOC – VPAAPS, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, **3** Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, **4** School of Biological Sciences, Behavior, Ecology, Evolution and Systematics Section, Illinois State University, Normal Illinois, United States of America, **5** Florida Medical Entomology Laboratory, University of Florida, Vero Beach Florida, United States of America



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Camara DCP, Codeço CT, Juliano SA, Lounibos LP, Riback TI, Pereira GR, et al. (2016) Seasonal Differences in Density But Similar Competitive Impact of *Aedes albopictus* (Skuse) on *Aedes aegypti* (L.) in Rio de Janeiro, Brazil. PLOS ONE 11(6): e0157120. doi:10.1371/journal.pone.0157120

**Editor:** Shannon L. LaDeau, Cary Institute of Ecosystem Studies, UNITED STATES

**Received:** July 21, 2015

**Accepted:** May 25, 2016

**Published:** June 20, 2016

**Copyright:** This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This research was funded by US National Institutes of Health Fogarty International Center FIRCA grant R03TW007446-D1A1 - received by LPL and SAJ, by INCT-EM/CNPq – FAPES V grant 407744/2012-6, Rede Dengue FIOCRUZ and funds from Instituto Oswaldo Cruz, Brazil, received by NAH. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

\* [dcccamara.ioc@gmail.com](mailto:dcccamara.ioc@gmail.com)

## Abstract

Previous studies have shown that the negative effects of density of *Ae. albopictus* on *Ae. aegypti* exceed those of *Ae. aegypti* on *Ae. albopictus* for population growth, adult size, survivorship, and developmental rate. This competitive superiority has been invoked to explain the displacement of *Ae. aegypti* by *Ae. albopictus* in the southeastern USA. In Brazil, these species coexist in many vegetated suburban and rural areas. We investigated a related, but less-well-studied question: do effects of *Ae. albopictus* on *Ae. aegypti* larval development and survival occur under field conditions at realistic densities across multiple seasons in Brazil? We conducted additive competition experiments in a vegetated area of Rio de Janeiro where these species coexist. We tested the hypothesis that *Ae. aegypti* (the focal species, at a fixed density) suffers negative effects on development and survivorship across a gradient of increasing densities of *Ae. albopictus* (the associate species) in three seasons. The results showed statistically significant effects of both season and larval density on *Ae. aegypti* survivorship, and significant effects of season on development rate, with no significant season-density interactions. Densities of *Aedes* larvae in these habitats differed among seasons by a factor of up to 7x. Overall, Spring was the most favorable season for *Ae. aegypti* survivorship and development. Results showed that under natural conditions the negative competitive effects of *Ae. albopictus* on *Ae. aegypti* were expressed primarily as lower survivorship. Coexistence between *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in vegetated areas is likely affected by seasonal environmental differences, such as detrital resource levels or egg desiccation, which can influence competition between these species. Interactions between these *Aedes* are important in Brazil, where both species are well established and widely distributed and vector dengue, Zika and chikungunya viruses.

# CLIMATE INFORMATION FOR ARBOVIRUS RISK MONITORING

## Opportunities and Challenges

BY BENJAMIN F. ZAITCHIK, MARY H. HAYDEN, DANIEL A. M. VILLELA, CYNTHIA C. LORD, URIEL D. KITRON, JOSÉ JOAQUÍN CARVAJAL, DANIEL C. P. CAMARA, AND IZABEL C. DOS REIS

**A**rthropodborne viruses (arboviruses) have presented a health threat to humans throughout history. In recent years, however, high-profile arbovirus introductions and modifications of range areas of susceptibility have raised concern about our ability to anticipate new epidemics and to manage them after onset. These include the expanding threat presented by Lyme disease and West Nile virus in North America, dengue epidemics in cities across the tropics and subtropics, and dramatic outbreaks in the Western Hemisphere, such as that of Chikungunya virus in 2013/14 and the current Zika virus crisis (Ventura et al. 2016). These arboviruses present researchers with a host of complexities, ranging from pathogen genetics to human behavior.

**AFFILIATIONS:** ZAITCHIK—Department of Earth and Planetary Sciences, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland; HAYDEN—Research Applications Laboratory, National Center for Atmospheric Research, Boulder, Colorado; VILLELA, CARVAJAL, CAMARA, AND DOS REIS—Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; LORD—Florida Medical Entomology Laboratory, University of Florida, Vero Beach, Florida; KITRON—Department of Environmental Sciences, Emory University, Atlanta, Georgia.  
**CORRESPONDING AUTHOR:** Benjamin Zaitchik, Department of Earth and Planetary Sciences, Johns Hopkins University, 3400 N. Charles St., Baltimore, MD 21218  
E-mail: zaitchik@jhu.edu

DOI:10.1175/BAMS-D-16-0016.1

In final form 21 January 2016  
©2016 American Meteorological Society

### THE NIH–FIOCRUZ ARBOVIRUS SEMINAR: GLOBAL HEALTH CHALLENGES AND COLLABORATIVE OPPORTUNITIES IN ARBOVIRUS RESEARCH

**What:** The B4 researchers and public health officials from universities, research institutes, and operational agencies discussed opportunities to apply climate information to arbovirus monitoring and prediction.  
**When:** 30 November–3 December 2015  
**Where:** Manaus, Brazil

Arbovirus dynamics also involve environmental and ecological systems in a manner that often leads to significant climate sensitivity (e.g., Chaves et al. 2012; Naish et al. 2014; Tabachnick 2010). This sensitivity presents opportunities for risk monitoring and early warning systems (Lowe et al. 2014). It also suggests that the range and dynamics of these diseases might be altered by a changing climate (Campbell et al. 2015), alongside changing socioeconomic and environmental conditions.

In this context, the U.S. National Institutes of Health (NIH) and Brazil's Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) convened the NIH–Fiocruz Arbovirus Seminar: Global Health Challenges and Collaborative Opportunities in Arbovirus Research (<https://respond.niaid.nih.gov/conferences/fiocruz/Pages/default.aspx>). A key objective of the seminar was to establish new cross-disciplinary collaborations by engaging virologists, epidemiologists,





## Sperm dimorphism in the *Triatoma brasiliensis* species complex and its applications

A. F. BAFFA<sup>1,2</sup>, D. C. P. CAMARA<sup>3</sup>, J. R. SANTOS-MALLET<sup>1</sup>,  
E. R. DASILVA<sup>3</sup>, J. COSTA<sup>4</sup> and S. P. C. FREITAS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil, <sup>2</sup>Laboratório de Insetos Aquáticos, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, <sup>3</sup>Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil and <sup>4</sup>Laboratório de Biodiversidade Entomológica, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

**Abstract.** Morphological and structural features of the sperm of the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae) species complex were examined in this first study investigating the sperm of Heteroptera and the genus *Triatoma*. Males were dissected and their seminal vesicles removed. For measurement, seminal vesicles were squashed on glass slides, spread, fixed and observed under a photomicroscope. The images were analysed and measures of sperm were made. Data were analysed using one-way analysis of variance and Tukey's test to detect differentiation among taxa. Furthermore, seminal vesicles were prepared for studies of transmission electron microscopy. All taxa studied showed polymorphic (short and long) sperm. The sperm of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* was significantly longer (in total length) than that of the other four members of the complex, which supports the hypothesis of hybrid speciation of this member of the complex as an increase in the size of typical hybrids under heterosis was previously shown. The sperm cells of the five taxa have similar ultrastructural morphology. The ultrastructural features observed confirm the hypothesis, raised by previous studies, that they are synapomorphic to the suborder Heteroptera.

**Key words.** Heteroptera, insect vector, male reproductive system, reproduction.

### Introduction

The sperm cell is among the most diverse of cell types and its morphology and ultrastructure can provide reliable data with which to distinguish taxa and phylogenetic relationships. The greatest diversity in these cells is found in invertebrates, mainly in insects (Alzelius *et al.*, 1985; Lee, 1985; Jamieson, 1987; Bão & De Souza, 1994; Chawanji *et al.*, 2005, 2006; Araújo *et al.*, 2011, 2012).

The rapid and divergent evolution of sperm is a widespread pattern that occurs in some insect groups. An example of the diversification of sperm morphology is sperm polymorphism, in which two or more types of sperm are found in a single male ejaculate. This phenomenon can include variations in the length and structure of these cells (Swallow & Wilkinson,

2002). Some species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) produce nucleated sperm with two different sizes, a type of polymorphism called 'polymegaly' (Pasin *et al.*, 1996).

The most intriguing implication of sperm polymorphism is the production and maintenance of two different types of cell with different probabilities of fertilizing eggs. There are some possible explanations for this phenomenon: different sperm may function as buffers (Woodward, 1940; Baker & Bellis, 1988; Ladle & Foster, 1992) supplying nutrients to females (Sivinski, 1980), or 'bundles' of sperm may be released as an alternative mating strategy (Joly *et al.*, 1991; Tili-Bottraud *et al.*, 2005).

In Hemiptera, the production of polymorphic sperm that differ in the length of the head and/or flagellum have been recorded in Pentatominae (Araújo *et al.*, 2011), Largidae (Araújo *et al.*, 2012) and Cicadidae (Kubo-Irie *et al.*, 2003; Chawanji *et al.*,

Correspondence: Simone P. C. Freitas, Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Avenida Brasil 4365, Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil. Tel.: + 55 21 2562 1232; Fax: + 55 21 2562 1308; E-mail: sfreitas2@gmail.com



## Diversity of *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) in an Amazonian Urban Area

IC REIS<sup>1,2</sup>, CT CODEÇO<sup>3</sup>, DCP CÂMARA<sup>1,2</sup>, JJ CARVAJAL<sup>1,2</sup>, GR PEREIRA<sup>2</sup>, EC KEPPELER<sup>4</sup>, NA HONÓRIO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Lab de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>2</sup>Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – Nosmove/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>3</sup>Programa de Computação Científica -PROCC, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>4</sup>Centro Multidisciplinar, Univ Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil

### Keywords

malaria, urban area, Amazon, fish ponds, landscape, entomological surveillance

### Correspondence

IC Reis, Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores – Nosmove/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil; izabio2005@gmail.com

Edited by Rodrigo G Gonçalves – UnB

Received 18 July 2017 and accepted 25 January 2018

© Sociedade Entomológica do Brasil 2018

### Abstract

The genus *Anopheles* encompasses several species considered as vectors of human infecting *Plasmodium*. Environmental changes are responsible for behavior changes in these vectors and therefore the pattern of malaria transmission. To better understand the dynamics of malaria transmission, this study aimed at identify the species of adult anophelines found in a malaria endemic urban area of the Amazon region, Mâncio Lima, located in the Acre State Brazil. Using Shannon-type light traps installed at 11 collection points near fish ponds, a total of 116 anophelines were collected belonging to nine species. *Anopheles darlingi* Root 1926 and *An. albitarsis* s.l. Lynch-Arribalzaga 1878 were the most abundant and predominant species. Despite the low number of captured adult anophelines, the occurrence of *An. darlingi* throughout all urban area and the presence of secondary vectors reinforce the need of a permanent and continuous entomological surveillance.

### Introduction

Malaria is still considered one of the most important parasitic diseases in the tropics. It is caused by parasites of the genus *Plasmodium*, and transmitted by mosquitoes of the genus *Anopheles*. Anophelines have also been implicated as local or secondary vectors in the transmission cycles of microfilariae and arboviruses in Africa and Argentina (Mitchell *et al* 1985, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Diallo *et al* 2014). Anthropogenic environmental changes have altered the behavior of *Anopheles* spp. and consequently, patterns of malaria endemicity in the Amazon region.

Brazilian anophelines are diverse, with 55 described species of which 33 occur in the Amazon region (Tadei *et al* 1998, Rebêlo *et al* 2007). It must be noted that the anopheline fauna may be more diverse than found in this study of Rebêlo *et al* (2007). Several of the observed species are part of cryptical species complex, which share some degree of sympatry and

have different levels of susceptibility to *Plasmodium* spp. (Mulamba *et al* 2014, Scarpassa *et al* 2016).

The main vector of malaria in the Amazon region is *Anopheles* (*Nys.*) *darlingi* Root 1926, but other species belonging to the subgenus *Nyssorhynchus* have also been incriminated as malaria vectors, including *An. albitarsis* s.l. Lynch-Arribalzaga 1878, *An. deaneorum* Rosa-Freitas 1989, *An. braziliensis* Chagas 1907, *An. nuneztovari* Galbadon 1940, *An. oswaldoi* s.l. Peryassú 1922, *An. triannulatus* Neiva & Pinto 1922, *An. strodei* Root 1926, *An. evansae* Brêthes 1926, *An. galvaai* Causey, Deane & Deane, 1943, and *An. aquasalis* Curry 1932. The subgenus *Anopheles* has comparatively lower association with malaria transmission, for example, *An. mattogrossensis* Lutz & Neiva 1911, *An. peryassui* Dyar & Knab 1908 and *An. mediopunctatus* s.l. Theobald 1903, which are considered secondary vectors of malaria when compared to *An. darlingi* (Deane 1989, Branquinho *et al* 1996, Hiwat & Bretas 2011).